

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JULIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CÂMPUS DE ARARAQUARA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E BIOPROCESSOS

MESTRADO PROFISSIONAL

DESENVOLVIMENTO DE CURATIVO DÉRMICO À BASE DE LÁTEX NATURAL
CARREADO COM EXTRATOS DE URUCUM PARA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS

FLÁVIO DE CÁSSIO APPOLINÁRIO

ARARAQUARA – S.P.

2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA

DESENVOLVIMENTO DE CURATIVO DÉRMICO À BASE DE LÁTEX NATURAL
CARREADO COM EXTRATOS DE URUCUM PARA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS

FLÁVIO DE CÁSSIO APPOLINÁRIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos – Mestrado Profissional, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Carlos Frederico de Oliveira Graeff
COORIENTADOR: Prof. Dr. Rondinelli Donizetti Herculano

ARARAQUARA – S.P.
2020

A648d

Appolinário, Flávio de Cássio.

Desenvolvimento de curativo dérmico à base de látex natural
carreado com extratos de urucum para cicatrização de feridas / Flávio
de Cássio Appolinário. – Araraquara, 2020.

75 f. : il.

Orientador: Carlos Frederico de Oliveira Graeff.

Coorientador: Rondinelli Donizetti Herculano.

Dissertação (Mestrado Profissional) – Universidade Estadual
Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências
Farmacêuticas. Programa de Pós-graduação em Engenharia de
Biomateriais e Bioprocessos.

1. Curativo dérmico. 2. Látex natural. 3. Cicatrização de feridas. 4.
Extratos de urucum. 5. Norbixina. 6. Bixina. 7. Polímeros. I. Graeff,
Carlos Frederico de Oliveira, orient. II. Herculano, Rondinelli Donizetti,
coorient. III. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araraquara



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: DESENVOLVIMENTO DE CURATIVO DÉRMICO À BASE DE LÁTEX NATURAL CARREADO COM EXTRATOS DE URUCUM PARA TRATAMENTO DE FERIDAS

AUTOR: FLAVIO DE CASSIO APPOLINÁRIO

ORIENTADOR: CARLOS FREDERICO DE OLIVEIRA GRAEFF

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E BIOPROCESSOS, área: Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. CARLOS FREDERICO DE OLIVEIRA GRAEFF
Departamento de Física / Faculdade de Ciências - UNESP - Bauru

Prof. Dr. HERNANE DA SILVA BARUD
Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia / Universidade de Araraquara-UNIARA

Prof. Dr. ANDRÉ GONZAGA DOS SANTOS
Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia / Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP

Araraquara, 28 de fevereiro de 2020

“Nada como a crença para criar sonhos. E nada como o sonho para criar o futuro. Hoje utopia, amanhã carne e osso.”

Victor Hugo, 1862

RESUMO

A utilização de polímeros na confecção de curativos dérmicos permite ótima adesão à ferida, facilidade de aplicação e mantém o tecido intacto durante sua remoção; possibilita personalização de seu tamanho, formato e combinação com uma ou mais substâncias com propriedades terapêuticas, sendo o látex natural um dos mais promissores devido à ampla disponibilidade na flora brasileira e biocompatibilidade, ou seja, não causa reações adversas ao paciente. O curativo dérmico à base de látex natural (LN), enquanto aplicado sob a pele, libera seus compostos de forma gradativa, reduzindo a frequência de trocas periódicas e consequentemente os custos de aplicação, possuindo comprovada propriedade de reparação tecidual, e permitindo atuar como matriz carreadora de compostos com finalidades diversas. Este estudo apresenta o desenvolvimento de uma nova aplicação composta por LN e Extratos de Urucum, uma vez que ambos vêm sendo estudados devido suas propriedades cicatrizantes, tornando-os importantes candidatos na formação de um curativo dérmico natural biocompatível. As propriedades elásticas do látex foram preservadas na formação do curativo, bem como as características químicas avaliadas durante a liberação prolongada. A incorporação das versões hidrofílica e lipofílica de extratos de urucum ao LN na formação de curativos dérmicos foi avaliada física e quimicamente. Por fim, observou-se, através de ensaio de hemólise, ausência de citotoxicidade *in vitro*, com tempo de liberação e estabilidade dos compostos desejáveis a um curativo dérmico, tornando o látex natural combinado com extratos de urucum promissor no tratamento de feridas.

Palavras-chave: curativo dérmico; látex natural; cicatrização de feridas; extratos de urucum; norbixina; bixina; polímeros

ABSTRACT

The use of polymers in the production of dermal dressings allows for excellent adherence to the wound, ease of application, and maintains tissue integrity during removal. It enables customization in terms of size, shape, and combination with one or more substances with therapeutic properties, with natural latex being one of the most promising due to its widespread availability in the Brazilian flora and biocompatibility, meaning it does not cause adverse reactions to the patient. Dermal dressings based on Natural Latex (NL), when applied to the skin, release their compounds gradually, reducing the frequency of periodic changes and consequently the application costs, possessing a proven tissue repair property and allowing them to act as a carrier matrix for compounds for various purposes. This study presents the development of a new application composed of NL and Urucum Extracts, as both have been studied due to their healing properties, making them important candidates in the formation of a biocompatible natural dermal dressing. The elastic properties of latex were preserved in the formation of the dressing, as well as the chemical characteristics evaluated during prolonged release. The incorporation of hydrophilic and lipophilic versions of urucum extracts into NL in the formation of dermal dressings was evaluated both physically and chemically. Finally, it was observed, through a hemolysis assay, the absence of in vitro cytotoxicity, with release time and stability of the compounds desirable for a dermal dressing, making natural latex combined with urucum extracts promising in wound treatment.

Keywords: natural rubber; dermic dressing; drug release system; healing wound; annato extract; norbixin; bixin; polimers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Curativo dérmico no tratamento de feridas	18
Figura 2 - Extração de látex da <i>Hevea brasiliensis</i> L.	20
Figura 3 - Estrutura química <i>cis</i> -1,4-poliisopreno do látex natural.....	21
Figura 4 - Ferida crônica após 4 meses de tratamento com curativo dérmico de LN22	
Figura 5 - Fruto do urucum (A). Semente de urucum (B)	24
Figura 6 – Produção mundial de urucum	24
Figura 7 - Estrutura química da bixina.....	26
Figura 8 – Estrutura química da norbixina.....	26
Figura 9 - Hidrólise da bixa em norbixina	27
Figura 10 - Comportamento mecânico dos elastômeros	37
Figura 11 – Preparo de amostras e ensaio de hemólise	39
Figura 12 – Caracterização do padrão	42
Figura 13 – Cromatograma de bixina em solução padrão de referência.....	44
Figura 14 - Representação tridimensional dos espectros do padrão de referência...44	
Figura 15 - Espectro da bixina obtido em DAD	45
Figura 16 - Cromatograma da solução padrão caracterizado.	46
Figura 17 - Representação tridimensional dos espectros do padrão caracterizado ..46	
Figura 18 – Outros carotenoides presentes na solução padrão caracterizado	47
Figura 19 - Sobreposição de espectros da bixina com carotenoides desconhecido presentes no padrão caracterizado. Fonte: Arquivo Pessoal	47
Figura 20 - Sobreposição dos espectros de bixina entre o padrão de referência e padrão caracterizado.....	48
Figura 21 - Ensaio de pureza de pico para bixina	49
Figura 22 - Teor de bixina em padrão de referência em percentagem de área.	50
Figura 23 – Teor de bixina em percentagem de área.....	50
Figura 24 - Cromatograma da norbixina em Extrato A	51
Figura 25 - Cromatograma da bixina em Extrato B	52
Figura 26 – Representação tridimensional dos demais carotenoides do extrato B ...52	
Figura 27 - Sobreposição da bixina em Extrato B ao padrão de referência	53
Figura 28 – Espectro da bixina em padrão de referência.....	53
Figura 29 – Espectro da bixina em padrão caracterizado	54
Figura 30 – Espectros de bixina para curva de calibração	55
Figura 31 – Curva de calibração da bixina	55
Figura 32 – Espectro de norbixina no extrato A	56
Figura 33 – Espectro do extrato B expresso como bixina	57
Figura 34 – Estudo de degradação da norbixina.....	58
Figura 35 – Ensaio de estabilidade do extrato A.....	60
Figura 36 - Curativos dérmicos, esquerda para a direita: LN, LNA e LNB	61
Figura 37 - Sobreposição dos espectrogramas da bixina e norbixina à representação gráfica do espectro de luz	62
Figura 38 - Espectros em FT-IR dos curativos dérmicos	63
Figura 39 – Comportamento elástico dos curativos dérmicos	65

Figura 40 – Ensaio de atividade hemolítica.....	66
Figura 41 - Cinética de liberação do curativo dérmico rico em norbixina	67
Figura 42 – Espectro do curativo dérmico carregado com extrato A após 170 minutos de liberação.....	68
Figura 43 - Cinética de liberação do curativo dérmico carregado com Extrato B	68
Figura 44 - Espectro do curativo dérmico carregado com Extrato B após 170 minutos de liberação.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição do látex natural.....	21
Tabela 2 - Composição da semente de urucum.....	25
Tabela 3 - Outros carotenoides presentes na semente de urucum.....	28
Tabela 4 - Especificação e Resultados do padrão de bixina.....	30
Tabela 5 - Parâmetros de Adequação do Sistema.....	32
Tabela 6 - Soluções utilizadas no ensaio de degradação	35
Tabela 7 - Determinação de umidade	42
Tabela 8 - Determinação da concentração do extrato A	56
Tabela 9 - Determinação da concentração do Extrato B.....	58
Tabela 10 - Degradação do Extrato A em diferentes condições	59
Tabela 11 - Resultados de Resistência Mecânica.....	64
Tabela 12 - Resultados de atividade hemolítica.....	66

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 – Determinação de umidade	29
Equação 2 - Determinação do teor de bixina em percentagem de área	33
Equação 6 - Teor de bixina em padrão caracterizado	33
Equação 4 - Curva de calibração da bixina.....	34
Equação 5 – Determinação de concentração de carotenoide	34
Equação 6 – Lei de Lambert-Beer.....	35
Equação 7 - Teor dos curativos dérmicos	37
Equação 8 - Módulo de Young	38
Equação 9 - Atividade hemolítica	40
Equação 10 - Cinética de liberação da norbixina	40
Equação 11 - Cinética de liberação da bixina	41

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	15
2.1. Justificativa.....	15
3. REVISÃO.....	17
3.1. Reparação Tecidual	17
3.2. Curativo Dérmico.....	18
3.3. Viabilidade econômica	19
3.4. Látex Natural (<i>Hevea brasiliensis</i> L.).....	20
3.5. Urucum (<i>Bixa orellana</i> L.).....	23
3.5.1. Composição nutricional da semente de urucum	25
3.5.1.1. Outros carotenoides.....	28
4. MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1. Coleta de matérias-primas	29
4.1.1. Látex Natural.....	29
4.1.2. Urucum (<i>Bixa orellana</i> L.)	29
4.2. Determinação do teor de umidade das sementes e urucum	29
4.3. Extração de carotenoides do urucum.....	30
4.3.1. Extrato A (rico em norbixina)	30
4.3.2. Extrato B (rico em bixina).....	30
4.4. Caracterização de Padrões de Bixina	30
4.4.1. Preparo e análise do padrão de referência.....	30
4.4.2. Preparo e análise do padrão caracterizado	31
4.4.3. Análises dos carotenoides em espectrofotometria UV-Vis	34
4.5. Perfil de degradação	35
4.6. Estabilidade.....	36
4.7. Confeção e análise do curativo dérmico.....	36
4.7.1. Análise de resistência mecânica.....	37
4.7.2. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier	38
4.8. Atividade hemolítica	39
4.9. Cinética de liberação.....	40
4.9.1. Curativo dérmico rico em norbixina.....	40
4.9.2. Curativo dérmico rico em bixina.....	41

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1. Determinação de umidade	42
5.2. Caracterização dos padrões de bixina	43
5.3. Identificação do padrão secundário para ensaio em UV-Vis.....	53
5.3.1. Ensaio de identificação	53
5.3.2. Análise de teor em espectrofotômetro UV-Vis	56
5.4. Perfil de degradação	58
5.5. Estabilidade.....	60
5.6. Confecção e análise dos curativos dérmicos	61
5.6.1. Teor dos Curativos Dérmicos.....	63
5.6.2. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier	63
5.6.3. Resistência Mecânica	64
5.6.4. Atividade Hemolítica	65
5.7. Cinética de liberação dos compostos do curativo dérmico.....	67
5.7.1. Curativo dérmico de látex natural com extrato de norbixina	67
5.7.2. Curativo dérmico de látex natural com extrato de bixina	68
6. CONCLUSÃO	70
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

1. INTRODUÇÃO

O processo de cicatrização de feridas é intrinsicamente complexo, ocorrendo em um ciclo bem estabelecido e dividido em etapas no organismo. Entretanto, fatores como processos infecciosos ou diabetes podem afetar adversamente uma ou mais etapas desse processo regenerativo, culminando em complicações que impactam tanto a saúde física quanto os aspectos sociais do paciente.

Para restaurar a integridade dos tecidos lesionados, frequentemente recorre-se aos curativos dérmicos, cuja complexidade varia conforme a gravidade da lesão. A tecnologia empregada no desenvolvimento desses curativos encarece consideravelmente os custos de produção, podendo exigir recursos financeiros substanciais e dificultando o acesso à melhor alternativa terapêutica, agravando, consequentemente, a condição da lesão.

Um curativo dérmico seguro e eficaz deve ser biocompatível e oferecer condições ideais para o restabelecimento do tecido lesionado no menor tempo possível, prevenindo complicações de origem externa. Diversos compostos naturais se alinham a essas características favoráveis ao desenvolvimento de curativos dérmicos. Ressalta-se que os primeiros curativos utilizados pela humanidade foram extraídos do ambiente natural (Broughton, 2006).

Nesse contexto, a pesquisa das propriedades do Látex Natural (LN) para tratamento de feridas tem sido objeto de estudo, beneficiando a angiogênese e a reparação tecidual (Herculano et al., 2009). O LN destaca-se por sua capacidade de servir como matriz polimérica, permitindo a liberação gradual e prolongada de compostos, possibilitando a incorporação de substâncias que potencializam e complementam a ação do curativo dérmico. Ademais, substâncias naturais têm se mostrado promissoras para o tratamento de feridas. Entre elas, os extratos provenientes da *Bixa orellana* L., conhecida como urucum.

Apesar de historicamente utilizado como corante alimentício, estudos recentes evidenciam a capacidade dos compostos do urucum em acelerar o processo de cicatrização, com ação pró-inflamatória e antimicrobiana, contribuindo para a prevenção de infecções, frequentemente observadas em feridas de difícil cicatrização.

A ação benéfica do urucum como agente cicatrizante ainda carece de uma compreensão integral. Acredita-se que seus carotenoides, especialmente a bixina e a

norbixina, sejam responsáveis por acelerar o processo de cicatrização. Tais carotenoides constituem cerca de 93% do total dos carotenoides presentes no urucum. Destaca-se que a bixina apresenta uma estrutura lipofílica, enquanto a norbixina é hidrofílica, o que influencia tanto a extração a partir do fruto quanto a incorporação dos extratos ao LN. A confecção de duas versões de curativos dérmicos, enriquecidas com bixina ou norbixina, pode facilitar a compreensão de como esses carotenoides interagem com o LN, desde a concepção até a liberação.

Vários fatores posicionam o Látex Natural e os Extratos de Urucum como candidatos promissores na confecção de curativos dérmicos, pois ambos pertencem à biodiversidade brasileira e são facilmente obtidos. Ademais, a comprovada biocompatibilidade desses compostos, ainda que em estudos isolados, justifica o desafio de combinar ambos e buscar os meios que favoreçam uma liberação segura e eficaz.

2. OBJETIVOS

- **Otimização da extração de carotenoides:** Implementar métodos de extração avançados que considerem a lipofilicidade da bixina e da norbixina, os principais carotenoides encontrados no urucum. O objetivo é preservar integralmente suas propriedades físico-químicas, garantindo a integridade e a qualidade dos compostos extraídos.

- **Análise avançada por cromatografia e espectroscopia:** Utilizar técnicas de cromatografia líquida e espectroscopia para uma análise detalhada dos carotenoides extraídos do urucum. Este enfoque permitirá a identificação precisa das substâncias presentes e a quantificação de suas concentrações, promovendo uma profunda compreensão das propriedades intrínsecas desses compostos.

- **Avaliação da integridade estrutural do curativo:** Aplicar espectroscopia FT-IR e resistência mecânica para investigar as possíveis alterações nas propriedades físicas do curativo dérmico após a incorporação dos extratos de urucum. Esta análise será crucial para elucidar o impacto dos compostos extraídos sobre as propriedades estruturais e funcionais do curativo.

- **Estudo da cinética de liberação de compostos:** Utilizar espectroscopia na região ultravioleta e visível (UV-Vis) para monitorar a liberação cinética dos compostos contidos no curativo dérmico ao longo do tempo. Este estudo visa compreender a taxa de liberação dos compostos do urucum incorporados ao látex natural em forma de curativo.

- **Avaliação de segurança e biocompatibilidade:** Realizar uma avaliação abrangente da toxicidade dos curativos dérmicos desenvolvidos. O foco será garantir sua segurança biológica e sua viabilidade clínica, visando assegurar a ausência de efeitos adversos e promover a confiança no uso terapêutico dos curativos.

2.1. Justificativa

Os estudos recentes que exploram os benefícios dos curativos dérmicos de Látex Natural têm evidenciado uma alternativa eficaz, segura e economicamente viável para o tratamento de feridas. Esses curativos, além de atuarem como matriz

polimérica para liberação controlada de substâncias terapêuticas, têm se destacado como uma opção de baixo custo e elevada eficácia terapêutica. Essa linha de pesquisa motivou a busca por novas possibilidades de aprimoramento no campo da cicatrização de feridas.

Nesse contexto, a proposta de incorporação de extratos de urucum ao látex natural surge como um novo enfoque, aproveitando outro biomaterial proveniente da rica biodiversidade brasileira. Os extratos de urucum, reconhecidos por suas propriedades cicatrizantes, apresentam a promessa de conferir uma atividade sinérgica ao tratamento de diversos tipos de feridas. A potencial sinergia entre o Látex Natural e os extratos de urucum pode representar um avanço significativo na terapêutica de feridas, oferecendo uma abordagem promissora, não apenas eficaz clinicamente, mas também sustentável economicamente.

A investigação da interação entre esses materiais e a avaliação de seus efeitos combinados no processo de cicatrização de feridas visam aprimorar a eficácia terapêutica dos curativos dérmicos, podendo representar um avanço significativo no desenvolvimento de tratamentos para feridas, contribuindo não apenas para a saúde do paciente, mas também para a otimização dos recursos disponíveis no sistema de saúde.

3. REVISÃO

3.1.Reparação Tecidual

A cicatrização de feridas, apesar dos avanços tecnológicos, continua a representar um desafio clínico significativo. A complexidade do processo muitas vezes requer a conciliação entre a eficácia do tratamento e uma abordagem de baixo custo, com fatores determinantes como a gravidade da lesão e a frequência de troca dos curativos (Bezerra, 2015).

O processo de cicatrização é intrinsecamente dividido em quatro estágios principais: coagulação, inflamação, cicatrização e remodelagem. Após a lesão inicial, forma-se um coágulo de fibrina, e as plaquetas desempenham um papel fundamental na sinalização para o início do processo de reparação tecidual (Simon, 2016).

Nas primeiras 48 horas pós-lesão, os neutrófilos são os principais protagonistas na resposta imunológica, atuando na eliminação de bactérias e detritos celulares (Velnar, 2009). A migração subsequente de macrófagos, entre 48 e 72 horas após a lesão, é essencial para a limpeza da ferida, removendo células mortas e microrganismos remanescentes, além de estimular a regeneração tecidual (Simon, 2016). A fase de cicatrização é marcada pela formação de um novo tecido sobre a ferida. Durante esse estágio, a produção de colágeno pelos fibroblastos desempenha um papel crucial na reconstituição dos tecidos, culminando na formação do tecido de granulação, composto por fibroblastos, novos vasos sanguíneos e colágeno, contribuindo para o fechamento da ferida. No estágio de remodelagem, o tecido cicatricial amadurece gradualmente. Aos aproximadamente 21 dias pós-lesão, a cicatriz atinge uma etapa em que as fibras de colágeno se organizam, resultando em uma resistência maior à tração, embora ainda não equiparável à de um tecido não lesionado (Fabbrocini, 2010).

Contudo, a cicatrização nem sempre é previsível, pois infecções persistentes podem causar um ciclo inflamatório crônico, prejudicando a formação adequada do tecido cicatricial (Johnson, 2015). A cronicidade das feridas, associada à dificuldade na restauração da vascularização sanguínea, representa um desafio na prática clínica (Demidova-Rice et al., 2012).

A complexidade do processo de cicatrização tem motivado a pesquisa em produtos naturais para auxiliar na reparação tecidual, dada sua biocompatibilidade dérmica (Minatel et al., 2010). No Brasil, as úlceras crônicas dos pés e pernas são

uma das principais causas de afastamento do trabalho (Mandelbaum, 2003), evidenciando a necessidade de terapias mais eficazes e acessíveis.

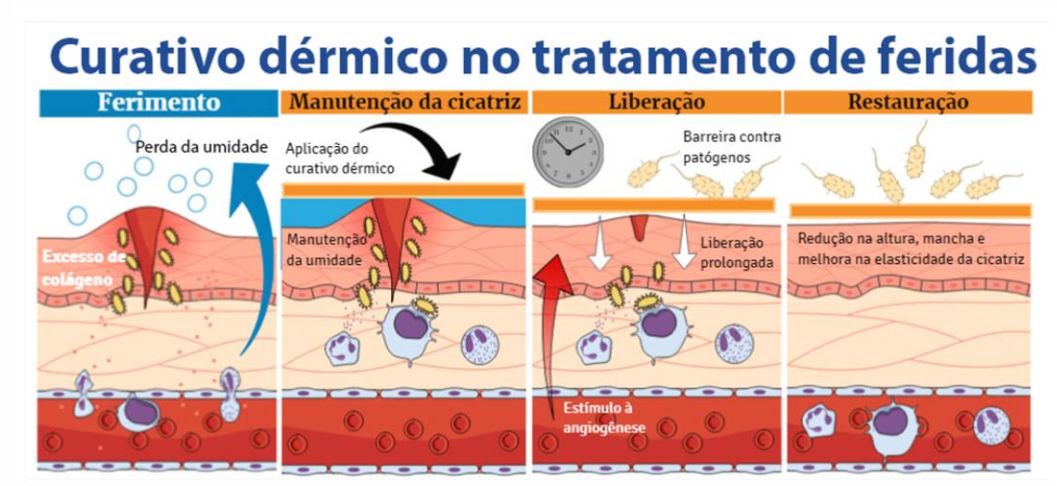
3.2. Curativo Dérmico

Os registros históricos datados de 2200 AC descrevem o uso pioneiro de curativos dérmicos, compostos por uma mistura de plantas, ervas, mel e argila, utilizados tanto para proteger as feridas quanto para absorver o exsudato. Essa prática ancestral, transmitida por curandeiros ao longo das gerações, mantém sua relevância na medicina contemporânea, uma vez que muitos desses componentes ainda são empregados com eficácia comprovada no tratamento de diversas lesões (Broughton, 2006).

No contexto atual, a medicina enfrenta um desafio considerável com as feridas crônicas ou de difícil cicatrização, cuja persistência pode se estender por meses ou anos, sendo associadas a queimaduras, traumas ou condições sistêmicas como diabetes *mellitus* (Ministério da Saúde, 2011).

Para atender a essa demanda, os curativos dérmicos têm sido amplamente adotados como uma ferramenta crucial (Figura 1). Esses curativos funcionam como Sistemas de Liberação (SL), contendo substâncias que são aplicadas diretamente na pele, liberando gradualmente seus componentes ativos ao longo do tempo. Eles desempenham um papel fundamental ao criar um ambiente propício para facilitar as etapas naturais do processo de cicatrização.

Figura 1 – Curativo dérmico no tratamento de feridas



Fonte: Arquivo Pessoal (2019)

Além de regular a quantidade de colágeno, mantendo o equilíbrio de umidade na área lesionada e prevenindo a formação de queloides, esses curativos têm sido cada vez mais sofisticados em sua composição e design. Novos materiais, como hidrogéis, membranas bioativas e curativos inteligentes, integram tecnologias inovadoras que proporcionam condições ideais para a recuperação tecidual (Dhivya, 2015).

Apesar dos avanços, desafios persistem no desenvolvimento e uso dos curativos dérmicos, limitações técnicas, aspectos de custo, adequação aos diferentes tipos de feridas e a necessidade de personalização dos tratamentos para cada paciente são considerações essenciais em busca de terapias mais eficazes e acessíveis.

Em resumo, os curativos dérmicos, ao longo da história e na contemporaneidade, representam uma ferramenta valiosa na promoção da cicatrização eficaz de feridas. Entretanto, as pesquisas e inovações continuam a desempenhar um papel crucial na melhoria desses dispositivos, visando aprimorar sua eficácia e acessibilidade para uma gama mais ampla de pacientes.

3.3. Viabilidade econômica

Uma análise recente, focada nos custos associados ao tratamento de úlceras venosas em um ambulatório, revelou dados importantes ao segmentar as feridas em dois grupos distintos, de acordo com o tamanho das feridas (menores e maiores que 24 cm²), foi possível constatar que aproximadamente 54% das feridas possuem mais de 24 cm². A partir deste levantamento, apresentaram a estatística descritiva para os dois grupos ao utilizar curativos à base de hidrogel. A análise demonstrou que o custo médio mensal para o tratamento de feridas de até 24 cm² foi de R\$344,81 por paciente, já para o grupo acometido de feridas maiores que 24 cm², o valor foi de R\$705,36. Considerando-se que o tratamento de feridas de difícil cicatrização pode se estender por longos períodos, o custo médio de um tratamento avaliando o período de 90 dias foi de R\$2027,84 (Mata, 2012).

Outro importante levantamento pode ser obtido através do processo licitatório (sistema de registro de preços) realizado na cidade de Araraquara-SP no ano de 2017, onde é possível observar o investimento municipal de diversos itens utilizados como

curativos e materiais para tratamento de feridas, com valor estimado de R\$ 560.874,50. Dentre todos os itens presentes na lista, destaca-se o custo de um curativo estéril de alta tecnologia, composto por carboximetilcelulose e prata iônica, de valor estimado de R\$300,00 por unidade (PMA, 2017).

É importante ressaltar que os custos significativos associados ao tratamento de feridas de difícil cicatrização estimulam a busca por alternativas economicamente viáveis. Nesse sentido, a pesquisa e desenvolvimento de curativos dérmicos compostos por biomateriais naturais têm ganhado destaque, não apenas devido à sua biocompatibilidade, mas também devido à redução substancial nos custos de produção.

Os estudos recentes direcionados ao desenvolvimento desses curativos dérmicos estimam um custo de confecção em torno de R\$0,20 e R\$0,30 (não considerados os custos para produção em escala comercial), o que representa um custo consideravelmente menor se comparado a alguns curativos utilizados para a mesma finalidade (G1, 2016).

3.4. Látex Natural (*Hevea brasiliensis* L.)

O látex natural (LN) é um material de origem vegetal, sendo formado através do processo enzimático em diversas plantas, pertencentes principalmente às famílias da Euphorbiaceae, Compositae, Moraceae e Apocynaceae. Para fins industriais a principal fonte de obtenção provém de uma árvore chamada *H. brasiliensis*, conhecida popularmente no Brasil como “seringueira” (Figura 2) e pertencente à família Euphorbiaceae.

Figura 2 - Extração de látex da *Hevea brasiliensis* L.



Fonte: (Videoblocks, 2018)

O desenvolvimento da seringueira ocorre em ambientes quentes e úmidos, típicos de climas predominantes na porção norte da América do sul (Brasil e Guatemala) no sudeste da Ásia (Malásia, Índia, China, Sri Lanka e Vietnam) e no sudoeste da África (D'Agostini, 2013).

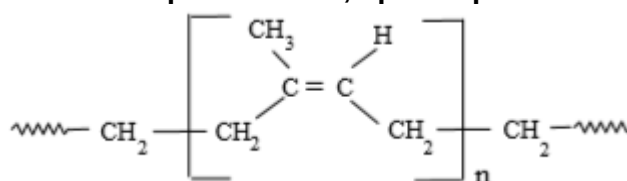
O consumo anual de látex natural aproxima-se de 20 milhões de toneladas, sendo que a produtividade de um único exemplar de *H. brasiliensis* é de 50 a 100 gramas de látex por dia e é composto principalmente pelo polímero *cis*-1,4-poliisopreno (Puskas et al., 2014) conforme detalhado na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição do látex natural	
Composto	Quantidade (%)
<i>cis</i> -1,4-poliisopreno (PIP)	25 - 35
Proteínas	1 – 1,8
Carboidratos	1 – 2
Lipídios	0,4 – 1,1
Aminoácidos	0,5 – 0,8
Água	50 - 70

Fonte: Puskas et al., 2014

Nas extremidades de suas macromoléculas, pode haver ligações de unidades estruturais não isoprênicas, principalmente proteínas, aminoácidos e fosfolipídios (Figura 3).

Figura 3 - Estrutura química *cis*-1,4-poliisopreno do látex natural



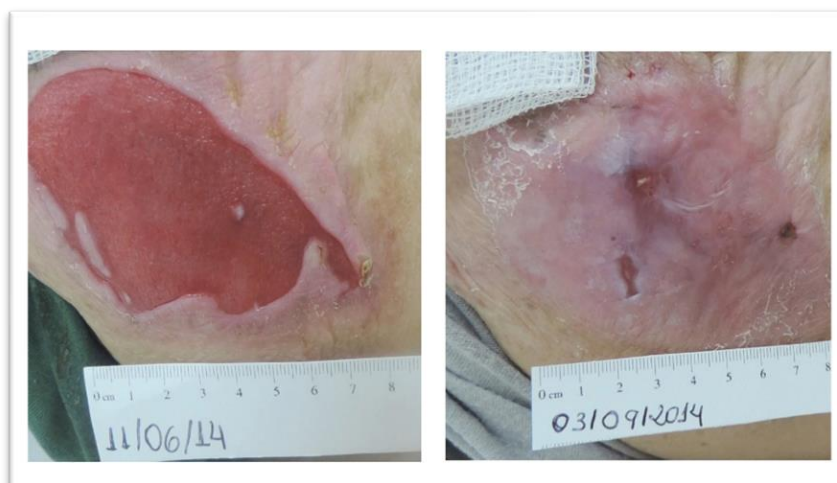
Fonte: (Continental, 2007)

Existem no mercado, ao menos 40 mil tipos de produtos fabricados com látex natural, entre eles mais de 400 com aplicação médica (Mooibroek & Cornish, 2000). Uma das maiores preocupações da utilização do látex natural em aplicações médicas é a reação alérgica, denominada alergia de látex (hipersensibilidade tipo I), que embora tenha sido estudada a partir dos anos 80, seu mecanismo ainda não está completamente elucidado. Acredita-se que o processo alérgico seja causado pelas proteínas presentes no látex da *H. brasiliensis*, estimulando as células B a produzirem

anticorpos IgE (imunoglobulina E). Em reações alérgicas, os anticorpos IgE ligam-se a receptores dos mastócitos e causa a secreção de histamina no organismo, desencadeando uma resposta imune. Existem mais de 200 tipos de proteínas no LN e acredita-se que aproximadamente um quarto delas seja responsável por reações alérgicas (Puskas et al., 2014), sinalizando a importância em evitar a presença de proteínas no LN utilizado em aplicações médicas.

Uma das aplicações médicas estudadas atualmente é desenvolvimento de curativos dérmicos para queimaduras, regeneração óssea e ferimentos (Figura 4), uma vez que o LN possui característica biocompatível e propriedades que auxiliam a regeneração tecidual e estímulo à neoangiogênese (Herculano et al., 2009).

Figura 4 - Ferida crônica após 4 meses de tratamento com curativo dérmico de LN



Fonte: (Herculano, 2009)

Estudos relatam que os curativos compostos por LN têm a capacidade de remover tecido necrótico e estimular a angiogênese e repitelização, mesmo em pacientes acometidos de feridas crônicas, originadas de complicações de diabetes, ou casos de complicações cirúrgicas (Frade, 2004).

Atualmente vem sendo estudado o desenvolvimento de curativos de LN compostos, com efeito sinérgico sobre o tratamento de feridas ou até mesmo de dupla ação. Como exemplo, nos curativos compostos por LN e extrato de própolis, os dois compostos se complementam potencializando a ação cicatrizante e ainda conferindo ao curativo propriedades antimicrobianas (Zancanela et al., 2019); o LN mostrou-se também benéfico quando utilizado como matriz de liberação de medicamentos, onde o composto incorporado à matriz será liberado de forma gradativa e prolongada, uma

vez que o curativo possui a capacidade de retê-los e ao contato com pele ou outro tecido, ser liberado durante vários dias, assim como a escopolamina no tratamento de cialorréia (Beatriz et al., 2016) ou acetato de desmopressina no tratamento de enurese. Neste último comprovou-se que a matriz polimérica permitiu a liberação de 60% do composto após 96h de liberação (Barros et al., 2017).

3.5. Urucum (*Bixa orellana* L.)

A etimologia da palavra "urucum" origina da linguagem Tupi-Guarani e significa "vermelho" (uru-ku). Sua denominação científica, *Bixa orellana* L., foi uma homenagem de Linnaeus a Francisco Orellana (1490-1546), explorador espanhol que navegou pelo rio Amazonas (United States Department of Agriculture, 1945).

A primeira referência documental ao urucum pode ser atribuída Pero Vaz de Caminha em sua carta ao rei de Portugal Dom Manuel informando a descoberta do Brasil (Ministério da Cultura). Diz em um trecho da carta:

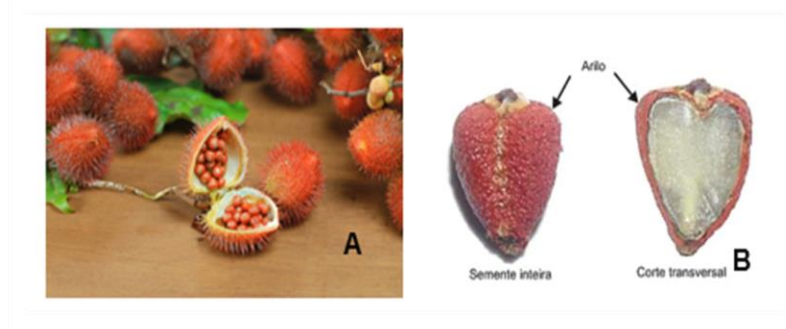
Alguns traziam uns ouriços verdes, de árvores, que, na cor, queriam parecer de castanheiros, embora mais pequenos. E eram cheios duns grãos vermelhos pequenos, que, esmagando-os entre os dedos, faziam tintura muito vermelha, de que eles andavam tintos. E quanto mais se molhavam, tanto mais vermelhos ficavam.

É possível notar através da correspondência, as referências ao urucum e até mesmo algum relato sobre as características físico-químicas observadas no fruto, como a lipofilicidade de seu principal constituinte, que conforme trecho da carta, quanto mais os índios se molhavam, mais vermelho ficavam, uma vez que os carotenoides de tonalidades menos intensas são hidrofílicos, sendo removidos da pele em contato com a água, permanecendo assim o carotenoide mais avermelhado. Os europeus logo foram atraídos pela coloração vermelha sempre presente nas peles dos indígenas, nascendo daí a expressão “pele vermelha” (NIIR Board of Consultants and Engineers, 2006). Além de ser utilizado como tintura ornamental para alguns rituais, caças e combates, os indígenas também utilizavam o urucum como agente protetor solar e contra insetos (United States Department of Agriculture, 1945).

O arbusto de *Bixa orellana* L. pode atingir até 5 metros de altura; seu tronco é revestido por casca de coloração parda, possui copa bem desenvolvida com folhagem alternada e persistente; seu fruto (Figura 5) é espinhoso e ovóide, contendo

em seu bojo, de 30 a 50 sementes com arilo ceroso de cor vermelha ou laranja, reunidos em cachos de até 17 unidades (Carvalho et al., 1989).

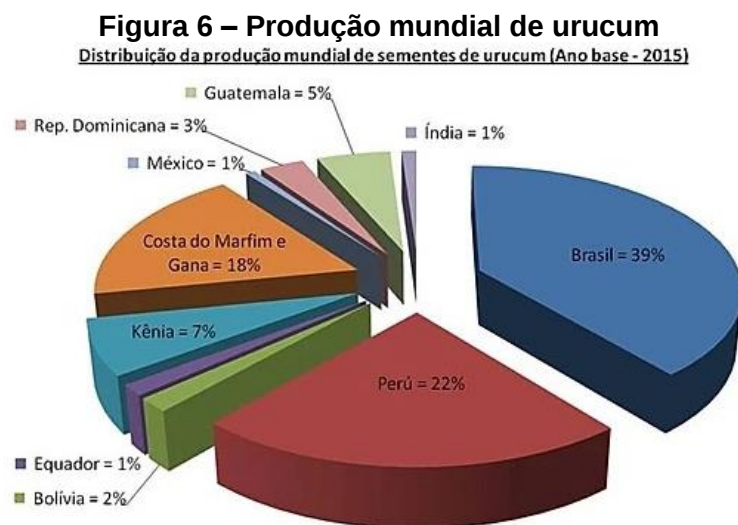
Figura 5 - Fruto do urucum (A). Semente de urucum (B)



Fonte: (Carvalho et al., 1989)

Embora o urucum tenha sido apresentado aos europeus pelos índios, logo que chegaram à América, foi somente no século XVIII que os ingleses descobriram que o urucum poderia ser utilizado como corante ao se ligar a proteína do leite e não se perder durante a cura, tornando sua aparência mais atrativa. Neste momento o urucum deixava de ser útil apenas às tribos indígenas para ser um produto de enorme fator comercial na Europa. Estima-se que somente em 1944 mais de 15 toneladas de sementes de urucum foram transportadas para a Europa (Patino, 1967).

O Brasil é líder mundial na produção de urucum, com mais de 10 mil toneladas, o que representa 39% da produção mundial (Figura 6).



Fonte: (Mansin, 2015)

Atualmente o urucum ocupa a segunda posição no ranking mundial dentre os corantes de maior importância econômica, sendo o mais utilizado na indústria de alimentos (Lauro, 2000).

Embora o urucum já tenha sido utilizado pelos índios como agente protetor para a pele e contra insetos, sua utilização em larga escala esteve sempre associada ao uso como corante, porém nos últimos anos uma nova aplicação foi encontrada de forma acidental, quando o mecânico Aloísio José Pires, na tentativa de utilizar o corante no desenvolvimento de um lápis percebeu que os pequenos ferimentos decorrentes das atividades em sua oficina e que estavam presentes em sua mão cicatrizaram-se de forma acelerada durante a manipulação do corante. O fato curioso foi compartilhado com cientistas na Universidade Federal de Viçosa (UFV). A partir deste relato, iniciaram as pesquisas que resultaram no desenvolvimento de pomada cicatrizante contendo urucum (John, 2016).

3.5.1. Composição nutricional da semente de urucum

A semente de urucum apresenta em sua superfície um arilo (pericarpo) que possui várias substâncias além do pigmento vermelho característico, como demonstrado anteriormente na Figura 5. Este arilo representa cerca de 5 a 10% do peso da semente, dos quais aproximadamente 30% são representados pelos carotenoides. A Tabela 2 apresenta a composição nutricional das sementes de urucum.

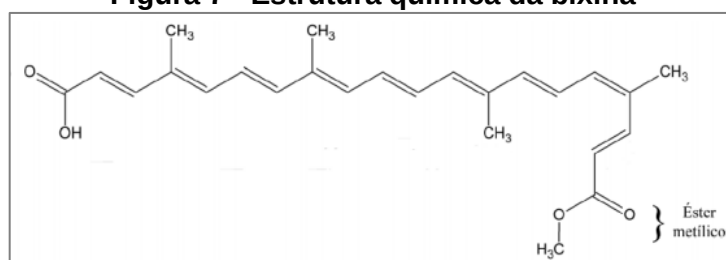
Tabela 2 - Composição da semente de urucum		
Composição (g/100g)	Semente (sem arilo)	Arilo
Cinzas	4,6	2,0
Proteína Bruta (%N x 6,25)	10,8	2,5
Extrato etéreo	4,8	30,0
Carboidratos totais	70,0	32,0
Carotenoides totais	-	30,0

Fonte: (Carvalho et al., 1989)

Dentre os carotenoides, o mais abundante é a bixina, que corresponde a mais de 80% do total encontrado nas sementes, possui propriedade lipossolúvel devido à presença do éster metílico (Figura 7) (Carvalho et al., 1989).

A eficiência da bixina foi estudada quando um grupo de camundongos diabéticos com ferida cutânea foi tratado com nanofibra de policaprolactona carregada com bixina. O resultado demonstrou que a nanofibra contendo bixina acelerou o processo de cicatrização de ferida, além de reduzir o tecido cicatricial, quando comparado ao grupo de camundongos tratados com a nanofibra sem a adição da bixina (Prinzón-Garcia et al, 2017).

Figura 7 - Estrutura química da bixina



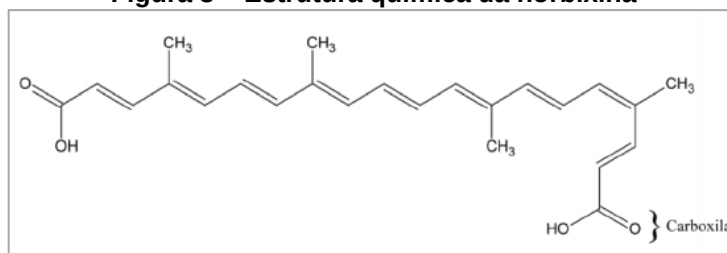
Fonte: Arquivo Pessoal

Em outro estudo, Pérez e Gonzáles (2010) observaram aceleração no processo de cicatrização em camundongos com lesão química induzida e tratados com creme de urucum por 3 dias, onde o aspecto das feridas tratadas com o creme apresentou melhora na cicatrização quando comparado ao grupo de controle.

Estudos realizados por Capella (2015) comprovaram a eficácia deste carotenoide ao acelerar as fases iniciais de cicatrização em feridas abertas. Em seu estudo, Capella relatou a ação pró-inflamatória do extrato oleoso de urucum, onde ocorreu maior formação de crostas e epitelização em menor tempo em relação ao grupo de controle. O estudo também demonstrou que o grupo tratado com extrato oleoso de urucum apresentou maior retração cicatricial durante o reparo tecidual.

A norbixina, outro carotenoide, cuja estrutura está representada na Figura 8, é encontrada em pequena quantidade no urucum, porém pode ser originado a partir da retirada do grupo metil éster da bixina, através da hidrólise alcalina em uma reação de saponificação (Silva, 2006).

Figura 8 – Estrutura química da norbixina

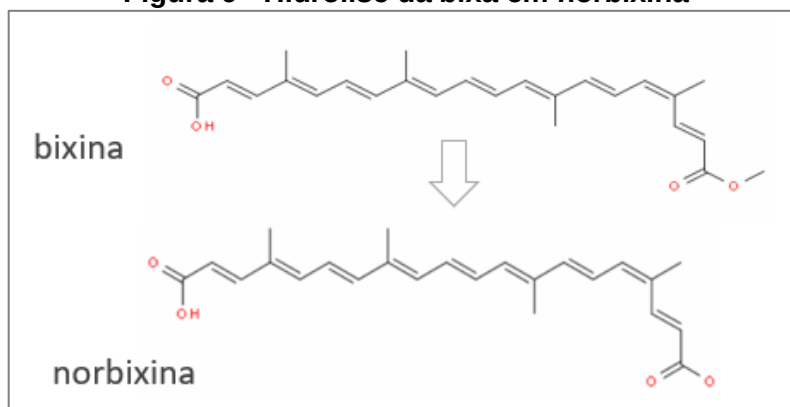


Fonte: Arquivo Pessoal

A norbixina apresenta maior solubilidade aquosa em razão do grupamento carboxila, sítio de interações com moléculas de água (Garcia, 2012), precipita em meio ácido e reage com água, produzindo solução nebulosa (Maga, 1994).

Silva (2009) realizou um estudo a fim de identificar as melhores condições para extração da norbixina por saponificação (Figura 9), primeiramente agrupando amostras de sementes de urucum em seis grupos e utilizando como solvente KOH em diferentes concentrações (0,6 – 5%), todas expostas a 50°C de temperatura.

Figura 9 - Hidrólise da bixa em norbixina



Fonte: Arquivo pessoal

Após análise em cromatografia líquida verificou-se que a saponificação ocorre com melhor eficiência em concentrações de KOH de 4%, com 68% da bixina saponificada. Em seguida, foi avaliada a influência da temperatura, dividindo as amostras em quatro grupos e utilizando KOH a 4% como solvente. O tempo de extração para as quatro frações foi de 1 hora. Para cada amostra foram ajustadas diferentes temperaturas, na faixa de 25 – 70°C. Este estudo pode determinar que a temperatura também influencia o processo de saponificação da bixina em norbixina. Ao submeter o extrato ao ensaio cromatográfico, observou-se que 100% da bixina presente na amostra foi saponificada.

Santos (2014) avaliou o processo de cicatrizações cutâneas em feridas abertas induzidas em ratos tratados com extrato de urucum contendo 2,5% de norbixina. O estudo permitiu concluir que o extrato de urucum contendo norbixina influenciou todas as fases do reparo tecidual, com relevante efeito pró-inflamatório e indução de angiogênese.

3.5.1.1. Outros carotenoides

Jondiko & Pattenden (1989) apresentaram uma relação contendo outros carotenoides presentes no urucum, em quantidades inferiores a 1% do total de carotenoides (Tabela 3).

Tabela 3 - Outros carotenoides presentes na semente de urucum

Metil, 9'- cis-apo-6'-licopenato	Dimetil 9'-cis-6,6'-diapocaroteno-6-6'-dioato (metil bixina)
Dimetil-9-cis-9'-cis-6,6'-diapocaroteno-6,6'- dioato	Metil 9-cis-8'-oxo-6,8'- diapocaroteno-6-oato
Metil-9-cis-6'-oxo-6,6'-diapocaroteno-6-oato	Metil-9-cis-6'-oxo-6,5'-diapocaroteno-6-oato
Metil-9-cis-10'-oxo-6,10'-diapocaroteno-6-oato	Metil-4-cis-4,8-dimetil-12-oxo-dodecil-2,4,6,8,10-pentaenoato
6-geranigeranil-8'-metil-6,8'-diapocaroteno-6-8'-dioato	6-geranigeranil-6'-metil-9-cis-6,6'-diapocaroteno-6-6'-dioato
6-geranigeranil-6'-metil-6,6'-diapoca- roteno-6-6'-dioato	Metil-(all-E)-apo-8'-licopenato
Metil-(all-E)-apo-6'-licopenato	Metil-(9-cis)-apo-8'-licopenato
Metil-(7,9,9'-cis)-apo-6'-licopenato	Metil-(all-E)-8'-apo-b-caroteno-8'-oato

Fonte: Jondiko & Pattenden (1989)

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Coleta de matérias-primas

4.1.1. Látex Natural

O látex natural proveniente da seringueira *Hevea brasiliensis* L. (clone RRIM 600) foi obtido da empresa BDF Látex Ltda., localizada em Guarantã/SP. Após a extração, optou-se por manter o material em estado líquido utilizando amônia (pH=10). Em seguida, realizou-se uma centrifugação a 8000g, visando a remoção de proteínas de alto peso molecular conhecidas por serem causadoras de alergias, conforme descrito por Herculano et al. (2009). Este procedimento visa garantir a qualidade e segurança do látex utilizado nas análises e experimentos subsequentes.

4.1.2. Urucum (*Bixa orellana* L.)

Os frutos de urucum foram coletados no Sítio São Francisco, situado no assentamento Horto de Bueno de Andrada, lote 23, na cidade de Araraquara-SP (Latitude: -21.6682856, Longitude: -48.2461973). As sementes foram delicadamente extraídas e, em seguida, armazenadas em um refrigerador, acondicionadas em frascos com proteção contra a incidência de luz, garantindo condições ideais para a preservação de sua integridade e qualidade.

4.2. Determinação do teor de umidade das sementes e urucum

Uma amostra, composta por 1,07g de sementes de urucum, foi submetida a um ensaio preciso de determinação do teor de umidade por meio de um analisador de umidade Mettler Toledo, utilizando a técnica de secagem a 105°C até alcançar massa constante. O resultado desta análise foi calculado empregando a Equação 1.

$$Umidade (\%) = \frac{(MI - MF)}{MI} * 100 \quad (1)$$

Onde:

MI = representa a massa inicial da amostra

MF = representa a massa da amostra após secagem

Esta abordagem rigorosa proporcionou resultados confiáveis para a determinação precisa do teor de umidade nas sementes de urucum, contribuindo para a robustez dos dados obtidos.

4.3. Extração de carotenoides do urucum

4.3.1. Extrato A (rico em norbixina)

Foram utilizados 10,04g de sementes de urucum, mergulhadas em 75mL de solução de hidróxido de potássio 4% (p/v) e colocadas sobre agitação a 100 RPM e temperatura constante de 70°C por 1 hora. Ao término do processo de extração, o volume final foi determinado e o extrato armazenado em frasco de vidro âmbar, acondicionado em refrigerador.

4.3.2. Extrato B (rico em bixina)

A Solução Extrativa de bixina foi obtida utilizando-se 8,02g de sementes de urucum, mergulhadas em 40mL de dimetilsulfóxido, permanecendo por 1 hora em banho ultrassônico. O extrato foi filtrado e transferido para proveta de 50mL, tendo seu volume completado a 40mL, para ser acondicionado em frasco de vidro âmbar sob refrigeração.

4.4. Caracterização de Padrões de Bixina

4.4.1. Preparo e análise do padrão de referência

O padrão de bixina da marca Sigma-Aldrich, lote BCBZ8757, foi adquirido para servir como referência nos ensaios relacionados ao carotenoide, estabelecendo uma base confiável na análise quantitativa do composto. A Tabela 4 apresenta as especificações e resultados apresentados no certificado de análise do padrão:

Tabela 4 - Especificação e Resultados do padrão de bixina

Teste	Especificação	Resultado
Cor	vermelho a vermelho escuro e roxo a roxo escuro	vermelho-roxo
Forma	Pó	Pó

Teste	Especificação	Resultado
Pureza (% área em HPLC)	≥ 90%	99,2%
Comprimento de onda (UV-Vis)	465 – 475nm	470,4nm
Solvente (UV-Vis)	Clorofórmio	Clorofórmio

Fonte: Arquivo pessoal

Para os ensaios de cromatografia líquida, a solução estoque foi preparada com 0,52mg do padrão de referência, transferida para balão de 20mL e completada com metanol.

A solução estoque utilizada no ensaio de identificação em espectrofotometria foi preparada a partir da pesagem de 0,48mg de padrão referência de bixina em balança analítica Shimadzu modelo AUW220, a quantidade foi transferida para balão de ensaio de 20mL e completado com clorofórmio.

4.4.2. Preparo e análise do padrão caracterizado

Para preparar o padrão caracterizado, 10g de sementes de urucum foram lavadas com éter de petróleo e hexano para remoção de lipídios. As sementes foram extraídas com clorofórmio, agitadas e mantidas a 60°C por 30 minutos, passando por duas extrações sucessivas. O extrato foi evaporado, filtrado e armazenado. Após 24 horas, foi refiltrado, recristalizado e armazenado sob refrigeração.

4.4.2.1. Ensaios de cromatografia líquida (HPLC)

Os ensaios em HPLC utilizaram um instrumento Agilent 1260, com bomba quaternária ajustada em 0,7 mL/min, amostrador automático e sensor DAD ajustado em 460 nm para sinal de aquisição e de 190 a 500 nm para obtenção dos espectros. A coluna Agilent Poroshell 120 EC-C18 de 4,6 x 50 mm e 2,7 µm foi empregada, mantendo as amostras a 20°C e a temperatura da coluna a 40°C. A fase móvel consistiu em uma mistura de acetonitrila:água acidificada em ácido acético (5%), na proporção de 75:25.

4.4.2.1. Adequação do sistema (System Suitability)

Os testes de Adequação do Sistema verificam se o sistema cromatográfico está adequado aos ensaios que serão realizados. Os testes são baseados no conceito de que o equipamento, a eletrônica, operações analíticas e amostras a serem analisadas constituem um sistema integral e que pode ser avaliado como tal (United States Pharmacopeia, 2006). Os testes de Adequação do Sistema utilizados no desenvolvimento do método adotado para o presente estudo são apresentados na Tabela 5:

Tabela 5 - Parâmetros de Adequação do Sistema

Parâmetro	Especificação	Definição
Tempo de Retenção (t_R)	Aproximadamente 3,5 minutos	Tempo em que o composto de interesse permanece retido na coluna cromatográfica antes de ser detectado. Este parâmetro requer um valor aproximado do valor definido durante o desenvolvimento do método. Este valor será utilizado pelo sistema de dados como parâmetro para identificação de um composto; picos que se apresentarem fora do intervalo estabelecido não serão identificados.
Resolução	Maior que 1,5	Verifica a capacidade da coluna para separar um analito dos outros na mistura. Dois picos serão considerados resolvidos se o fator de resposta calculado for maior que 1,5.
Assimetria	Menor que 2	Os valores quantitativos de assimetria de pico são importantes, especialmente ao se lidar com componentes de rastreamento. Além disso, como a assimetria pode variar no decorrer da vida útil de uma coluna, pode ser importante rastrear esses dados continuamente.
Pratos teóricos	Maior que 2000	O cálculo do número de chapas é um indicador importante da eficiência da coluna. Muitos cromatógrafos preferem monitorar o número de chapas como um indício de quando a coluna deverá ser substituída.

Fonte: Arquivo pessoal

4.4.2.2. Checagem da Pureza de Pico

Um parâmetro importante após obtenção dos dados é checar a pureza dos picos detectados, para excluir a possibilidade de haver impurezas co-eluído com o composto principal. A pureza dos picos identificados neste estudo foi determinada pelo detector DAD, ao verificar se um pico é espectralmente homogêneo. O *software* sistema sobrepõe o espectro de cada ponto ao longo do pico, exceto seu ápice, este por sua vez será utilizado como referência para o cálculo. A partir de um índice de similaridade (maior que 0,99), cada espectro encontrado ao longo do pico é

comparado com o espectro de referência. A soma da área dos picos onde o espectro é dado como semelhante é dividida pela área total do pico, o que resulta no valor de pureza de pico.

4.4.2.3. Teor de bixina no padrão caracterizado

O teor relativo de bixina presente nos padrões foi realizado para comparar o valor apresentado no certificado do produto, utilizando o mesmo método de cálculo utilizado para obter o resultado apresentado no certificado do padrão de referência (Equação 2), determinando o resultado através percentagem de área do pico de bixina em relação aos demais picos apresentados.

$$bixina^* (\%) = \frac{AB}{\sum AD} * 100 \quad (2)$$

Onde:

AB = área de bixina

AD = área de picos desconhecidos

* em relação aos demais picos apresentados

O teor real de bixina do padrão caracterizado foi realizado em relação ao teor do padrão de referência utilizando a Equação 3.

$$bixina (\%) = \frac{AC}{AR} * \frac{MR}{MP} * \frac{T}{100} * 100 \quad (3)$$

Onde:

AC = área de bixina em padrão caracterizado

AR = área de bixina em padrão de referência

MR = massa de bixina em padrão de referência

MP = massa de bixina em padrão caracterizado

T = Teor de bixina em padrão de referência

É esperado que o teor de bixina em percentagem de área no padrão caracterizado se apresente semelhante ao do padrão de referência, pois realiza a comparação com outros carotenoides que são identificados na amostra, porém o resultado de teor real deve ser relativamente inferior, pois espera-se que o padrão caracterizado possua outros compostos presentes nas sementes de urucum por não haver um processo de purificação com precisão ao nível do padrão de referência.

4.4.3. Análises dos carotenoides em espectrofotometria UV-Vis

Os ensaios foram conduzidos em um espectrofotômetro Agilent modelo 8453, com cubeta de quartzo de 10mm, operando na faixa de 200 a 800nm. Os dados foram processados pelos softwares Agilent ChemStation UV-Vis e Minitab 17.

As bandas de absorbâncias máximas do espectro de bixina da solução padrão caracterizado foi comparada com o espectro obtido na solução padrão de referência para a identificação da bixina.

4.4.3.1. Calibração da curva analítica

Seis soluções de concentração conhecida foram preparadas (1,3 – 26 µg/mL) a partir da solução estoque para a curva de calibração. A média da absorbância de cada solução foi usada na Equação 4 pelo método linear.

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 x_i + \varepsilon_i \quad (4)$$

$$i = 1, \dots, k$$

Onde:

Y_i = sinal analítico

x_i = concentração

β_0 = coeficiente linear ou intercepto

β_1 = coeficiente angular

ε = erro experimental

k = quantidade de níveis

O resultado da curva de calibração foi utilizado para quantificação de carotenoides nas diversas etapas deste estudo conforme Equação 5. Esta é uma variação da Lei de Lambert-Beer, que relaciona a absorção da luz às propriedades do material no qual ela se propaga, sendo que a absorbância varia proporcionalmente à distância em que a luz viaja através do material e sua concentração (Crystal-IS, 2019).

$$\text{concentração} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{Abs} + \text{CL}}{\text{CA}} \times \frac{\text{VB}}{\text{VA}}^* \quad (5)$$

Onde:

Abs= absorbância

CL= coeficiente linear

CA = coeficiente angular

VA = volume da alíquota

VB = volume do balão

* multiplica-se por 0,96 para quantificar a norbixina

A partir da Lei de Lambert-Beer (Equação 5) foi possível realizar um ajuste a partir das massas moleculares da bixina e norbixina e assim obter um fator de correção (Fc) a ser usado para quantificar a norbixina em função da curva de calibração da bixina. No presente estudo, na ausência de um padrão primário para a norbixina, a obtenção de sua concentração foi obtida utilizando um fator de conversão a partir da massa molecular de ambos os carotenoides.

Na equação de Lambert-Beer, a concentração molar (c) da bixina é obtida a partir de sua massa molar de 394,5g/mol; a massa molar da norbixina é de 380,52g/mol. Sendo assim, a relação norbixina/bixina é de 0,96. Com isto, o valor de 0,96 foi adotado como fator de correção, que utilizado na Equação 6 resultará na concentração de norbixina.

$$A = a.b.c \quad (6)$$

onde
 A=absorbância
 a = absortividade molar
 b = caminho óptico
 c = concentração molar

4.5. Perfil de degradação

Devido à conhecida sensibilidade dos carotenoides em meio aquoso, conforme discutido por Maga (1994), realizamos uma análise detalhada do perfil de degradação do extrato de norbixina. Para isso, foram coletadas alíquotas de 1 mL, diluídas na mesma proporção em uma solução apropriada, seguindo as condições detalhadas na Tabela 6. As soluções foram mantidas nessas condições controladas por um período de 12 horas antes de serem submetidas aos ensaios espectrofotométricos. Este cuidadoso procedimento visa garantir a integridade e confiabilidade dos dados, minimizando possíveis efeitos adversos decorrentes da exposição prolongada em meio aquoso.

Tabela 6 - Soluções utilizadas no ensaio de degradação

Condição	Solução
Degradação básica	Hidróxido de sódio 0,1N
Degradação ácida	Ácido clorídrico 0,1N
Temperatura ambiente (com incidência de luz)	Água purificada
Temperatura a 70°C	Água purificada
Condicionado em refrigerador	Água purificada

Fonte: Arquivo pessoal

Para estabelecer um valor de referência neste ensaio, determinamos a absorbância em 480nm de uma alíquota do Extrato A no momento da leitura. Essa alíquota foi preparada da mesma forma que as amostras em teste, garantindo uniformidade nos procedimentos. Este valor de referência serve como uma base comparativa essencial para avaliar qualquer alteração na absorbância durante o período de exposição controlada do Extrato A, assegurando a confiabilidade dos resultados obtidos nos ensaios espectrofotométricos.

4.6. Estabilidade

Com o propósito de determinar o intervalo de tempo adequado para a utilização do extrato na elaboração dos curativos, realizamos o ensaio de estabilidade. Nesse estudo, o extrato foi mantido nas melhores condições estabelecidas após a análise de degradação forçada (conforme descrito no item 4.6).

Leituras espectrofotométricas foram conduzidas em intervalos regulares, analisando a variação percentual na redução da absorbância da norbixina ao longo do tempo. Estabelecemos um critério de aceitação, definido dentro da faixa de um desvio padrão (1σ) da média dos resultados. O limite de tempo foi determinado como o último valor dentro das especificações antes de dois resultados consecutivos ultrapassarem o critério de aceitação, assegurando assim a confiabilidade e consistência do extrato ao longo do tempo.

4.7. Confecção e análise do curativo dérmico

Foram coletadas duas alíquotas de 45 mL de látex natural, transferidas individualmente para tubos de plástico com tampa. Em seguida, alíquotas de 3 mL de cada extrato de urucum foram adicionadas a cada tubo, resultando em soluções Extrato:LN na proporção de 1:15. As soluções contendo Extrato A e Extrato B foram submetidas a agitação vigorosa em vortex para garantir homogeneidade.

Após aproximadamente 10 minutos de repouso, as soluções foram transferidas para moldes de acrílico de 55 mm de largura x 0,55 mm de altura (1,3 mL). Essa etapa

visou a obtenção de curativos dérmicos carregados com o Extrato A (rico em norbixina) e curativos dérmicos carregados com o Extrato B (rico em bixina) de urucum.

As membranas resultantes foram então acondicionadas em estufa para secagem a 37°C, seguindo um período de 48 horas para completa polimerização, conforme descrito por Herculano em 2009.

Para determinar o teor de urucum presente nos curativos, expresso pelos carotenoides bixina e norbixina, aplicamos a Equação 7.

$$\text{Concentração } (\mu\text{g/curativo}) = \frac{V \cdot T}{15} * 1000 \quad (7)$$

Onde:

V = Volume de solução látex/urucum

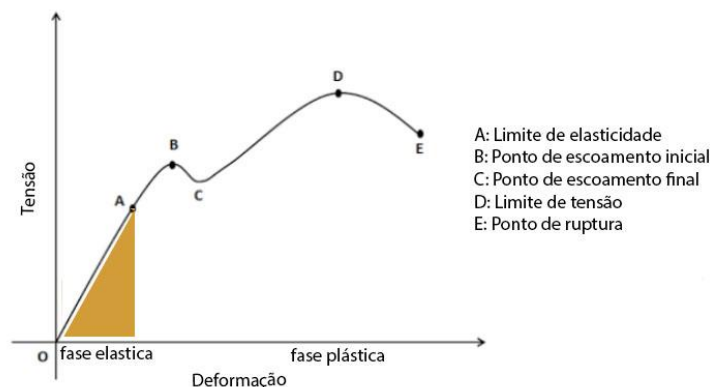
T = teor de urucum no Extrato

Essa abordagem proporciona uma avaliação quantitativa precisa, fundamental para o controle de qualidade dos curativos derivados do látex natural enriquecido com extratos de urucum.

4.7.1. Análise de resistência mecânica

O Látex Natural está classificado no grupo dos elastômeros, materiais de comportamento elástico ao sofrerem tensão; possuem um limite de elasticidade à aplicação de determinada tensão, abaixo da qual retornam ao comprimento inicial, obedecendo à lei de Hooke (Figura 10).

Figura 10 - Comportamento mecânico dos elastômeros



Fonte: Arquivo Pessoal

O ensaio de resistência mecânica foi aplicado a corpos de prova de curativos dérmicos (30mm x 30mm), utilizando instrumento universal de ensaios EMIC DL 2000 com célula de carga de 50kgf.

O objetivo do ensaio de resistência mecânica foi avaliar o comportamento elástico das amostras ao comparar o módulo de Young (Módulo de Elasticidade) do curativo dérmico composto látex natural, comparado às versões A (contendo extrato A) e B (contendo extrato B) dos curativos dérmicos.

O Módulo de Young (E) é definido como a inclinação da curva da relação tensão/deformação na seção elástica, conforme a Equação 8.

$$E = \frac{\sum_{i=1}^n (\sigma_i - \bar{\sigma})(\varepsilon_i - \bar{\varepsilon})}{(\sigma_i - \bar{\sigma})^2} \quad (8)$$

Onde:

σ = tensão aplicada em Mpa

ε = deformação elástica longitudinal do corpo de prova

Os resultados foram confrontados aos valores esperados para o látex natural, com módulo de elasticidade abaixo de 2,5MPa (CUED, 2003) e comparados com os resultados obtidos por Borges, que apresentou módulo de Young de 0,8 MPa para membranas compostas por látex natural com fins farmacêuticos (Borges, 2015).

4.7.2. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

O ensaio de espectroscopia por transformada de Fourier (FT-IR) avalia se as propriedades físicas do LN não foram afetadas após a incorporação dos extratos, por exemplo, a elasticidade do LN, que é fator importante em aplicações biomédicas (Herculano, 2009).

Desta forma, as possíveis interações entre o LN e os Extratos A e B foram avaliadas por meio de espectroscopia no infravermelho com o auxílio de um espectrômetro FT-IR - TENSOR 27/BRUKER.

A análise de dados no equipamento utilizando a técnica de transformada de Fourier, com o método de refletância total atenuada (ATR) e transmitância, permite a identificação de bandas vibracionais, e assim proporcionar o estudo das possíveis interações entre os compostos a partir dos espectros obtidos na região compreendida

entre 500 e 4000 cm^{-1} , empregando-se fonte de laser HeNe e detector DLaTGS com resolução 4 cm^{-1} , com 32 varreduras.

4.8. Atividade hemolítica

O ensaio da atividade hemolítica (também denominado hemólise) do curativo dérmico contendo extrato A foi realizado conforme descrito por Borges *et al*, 2015, com intuito de avaliar a capacidade da membrana de látex natural carregada com extrato de urucum em causar danos às hemácias.

Para o estudo, foi empregado sangue de carneiro desfibrilado, adquirido comercialmente do fornecedor NEW PROV, código 1189, Paraná, Brasil.

Os curativos dérmicos foram recortados em discos de 6mm de diâmetro, para em seguida serem incubados à temperatura de 37°C em contato com 1 mL de solução composta por 5% de eritrócitos por 1 hora.

Para o controle negativo (CN) nenhum material foi utilizado; para o controle positivo (CP) foi utilizado água destilada.

Em seguida as amostras foram centrifugadas a 1000 RPM por 10 minutos. Após a centrifugação, 100 μL do sobrenadante foram transferidos para placas de 96 poços e a densidade ótica (DO) foi mensurada a 540nm em leitora de microplaca.

A sequência de preparo e leitura pode ser visualizada através das ilustrações presentes na Figura 11. Na ausência de atividade hemolítica, as hemácias permanecem intactas e o instrumento detecta atividade hemolítica quando ocorrer a lise das hemácias.

Figura 11 – Preparo de amostras e ensaio de hemólise



Fonte: Arquivo pessoal

O experimento foi realizado em quintuplicata e o resultado da atividade hemolítica apresentado conforme a Equação 9.

$$Hemólise (\%) = \frac{DO_{amostra} - DO_{CN}}{DO_{CP} - DO_{CN}} * 100 \quad (9)$$

Onde:

DO = densidade ótica

CN = controle negativo

CP = controle positivo

4.9. Cinética de liberação

4.9.1. Curativo dérmico rico em norbixina

O ensaio de cinética de liberação foi realizado em quadruplicata, inserindo individualmente cada curativo dérmico em tubo plástico contendo 45mL de meio de liberação.

O meio de liberação foi composto por solução tampão fosfato de potássio pH 7,4. A necessidade de se trabalhar com meio de liberação tamponado deve-se à acidificação do meio aquoso durante a liberação, face à comprovada degradação em meio ácido conforme descrito na seção 3.5.1.

Alíquotas de 1mL foram coletadas em intervalos regulares (60 minutos durante as 8 primeiras horas e a cada 24 horas a partir do segundo dia) utilizando pipetador automático Eppendorf, transferida para cubeta de quartzo com máscara negra, com 1mL de volume interno e 10mm de caminho ótico.

O resultado para a quantidade de Extrato A, expresso como norbixina é obtido através da Equação 10.

$$quantidade\ de\ norbixina\ (\mu g) = \frac{Abs + CL}{CA} * 0,96 * 1000 * V + A \quad (10)$$

Onde:

Abs = absorvância em 480nm

CL= coeficiente linear da curva de calibração

CA = coeficiente angular da curva de calibração

V = volume atual

A = quantidade (mg) retirada na alíquota do tempo anterior

4.9.2. Curativo dérmico rico em bixina

O ensaio de liberação foi realizado em quadruplicata, inserindo individualmente cada membrana em tubo Falcon contendo 45mL de solução aquosa de lauriléter sulfato de sódio 0,5%.

Alíquotas de 0,5mL foram coletadas em intervalos regulares (60 minutos durante as 8 primeiras horas e a cada 24 horas a partir do segundo dia) utilizando pipetador automático Eppendorf, transferida para tubo contendo 0,5mL de etanol. A solução foi agitada e deixada em repouso por 60 segundos, antes de ser transferida para cubeta de quartzo com máscara negra de 1mL de volume e 10mm de caminho ótico.

O resultado para a quantidade de Extrato B, expresso como bixina é obtido através da Equação 11.

$$\text{quantidade de bixina (mg)} = \frac{Abs + CL}{CA} * 1000 * V + A \quad (11)$$

Onde:

Abs= absorbância em 482

CL= coeficiente linear da curva de calibração

CA = coeficiente angular da curva de calibração

V = volume atual

A = quantidade (mg) retirada na alíquota do tempo anterior

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Determinação de umidade

Os ensaios deste estudo foram iniciados com a determinação do teor de umidade das sementes de urucum. Esta etapa inicial é fundamental para assegurar a utilização da massa correta durante a padronização e os demais testes subsequentes. O teor de umidade para as sementes de urucum foi avaliado em 2,5%, conforme Tabela 7

Tabela 7 - Determinação de umidade

Teor de umidade	
Massa inicial	1,066g
Massa final	1,039g
Umidade (massa)	0,027g
Teor de umidade	2,533%

Fonte: Arquivo pessoal

A umidade presente nas sementes de urucum utilizadas neste estudo corrobora com o preconizado por Franco para sementes Tipo I, com teor de umidade abaixo de 10% (Franco, 2002).

A caracterização do padrão é fundamental para validar e comparar os resultados obtidos. A extração dos carotenoides resultou em cristais com coloração vermelha, semelhantes ao padrão de referência (Figura 12). Estes cristais foram posteriormente triturados até adquirirem uma forma de pó, sendo então armazenados em um frasco âmbar e conservados em um congelador.

Figura 12 – Caracterização do padrão



Fonte: Arquivo Pessoal

Durante o processo de lavagem das sementes com éter de petróleo e hexano, obteve-se um extrato de coloração vermelho-alaranjado. Após ser mantido em um béquer à temperatura ambiente até sua completa secagem, este extrato se transformou em uma pasta gordurosa avermelhada, resultante da presença de lipídios. Embora este material não tenha sido utilizado diretamente nos experimentos, ele fornece insights valiosos sobre as propriedades das sementes de urucum, conforme detalhado no presente estudo.

5.2. Caracterização dos padrões de bixina

A caracterização do padrão de bixina é crucial para validar a identidade e qualidade deste carotenoide, presente nas sementes de urucum. Essa caracterização permite a quantificação precisa em análises, assegurando resultados confiáveis em estudos experimentais. Além disso, facilita o desenvolvimento de métodos analíticos e a otimização de formulações que utilizam a bixina, contribuindo para a qualidade e eficácia de produtos em diversas aplicações, como cosméticos, alimentos e medicamentos.

5.2.1. Adequabilidade do Sistema cromatográfico

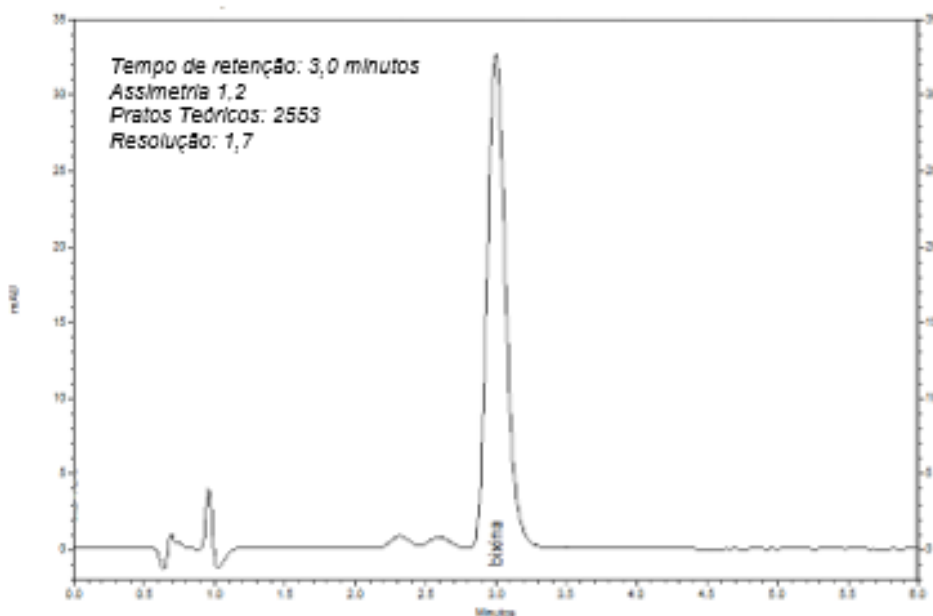
A adequabilidade do sistema utilizado nos testes de HPLC da bixina é fundamental para garantir a precisão, sensibilidade e reprodutibilidade das análises. Um sistema bem calibrado e otimizado assegura a separação eficiente dos compostos, permitindo a identificação e quantificação precisa da bixina em amostras complexas. Isso é crucial para validar os resultados e assegurar a qualidade dos dados obtidos, possibilitando a comparação confiável entre diferentes amostras e estudos, e facilitando o desenvolvimento de métodos analíticos robustos para a caracterização e aplicação da bixina em diversas indústrias e aplicações.

5.2.1.1. Análise do padrão de referência

O tempo de retenção (t_R) da bixina presente na solução padrão de referência foi determinado em 3,4 minutos. O cromatograma apresenta dois picos anteriores à

bixina que representam prováveis isômeros do carotenoide, porém foi apresentada ótima resolução entre o pico principal e o secundário (Figura 13). A coluna cromatográfica teve ótima avaliação de eficiência, com 2553 pratos teóricos.

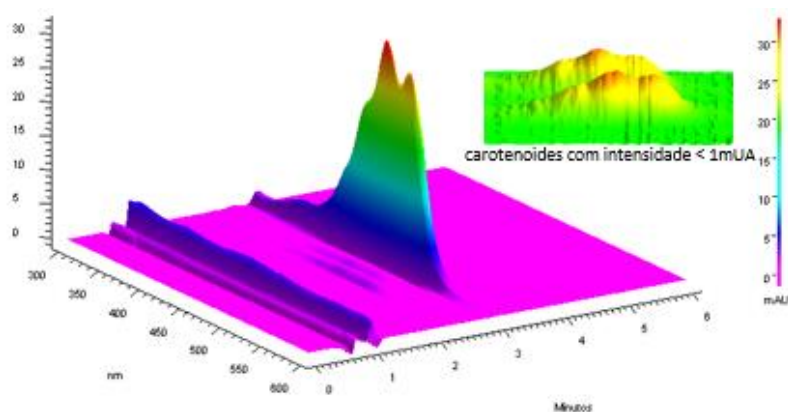
Figura 13 – Cromatograma de bixina em solução padrão de referência



Fonte: Arquivo Pessoal

Uma visão tridimensional da absorbância versus o comprimento de onda, pode ser observada na Figura 14, em todo o intervalo de tempo da corrida cromatográfica, onde é possível identificar a bixina contendo os três picos característicos do carotenoide.

Figura 14 - Representação tridimensional dos espectros do padrão de referência



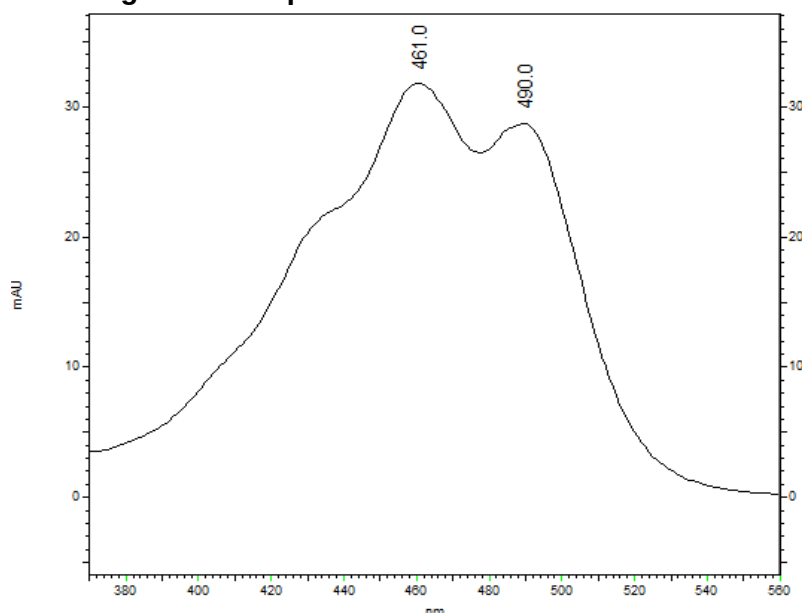
Fonte: Arquivo Pessoal

Os dois prováveis isômeros da bixina apresentados previamente na Figura 13 estão representados em duas faixas de baixa intensidade, conforme demonstrado no detalhe ampliado.

O principal fator a ser observado nesse gráfico é a ausência de bandas com absorbância distinta das apresentadas para o comprimento de onda (460nm) utilizado na obtenção dos picos no cromatograma da Figura 14.

A banda máxima de absorbância do espectro ocorre em 461nm e a segunda maior ocorre em 490nm. Este espectro representa a bixina pura, com a primeira banda do espectro com intensidade menor que as bandas II e III (Figura 15).

Figura 15 - Espectro da bixina obtido em DAD



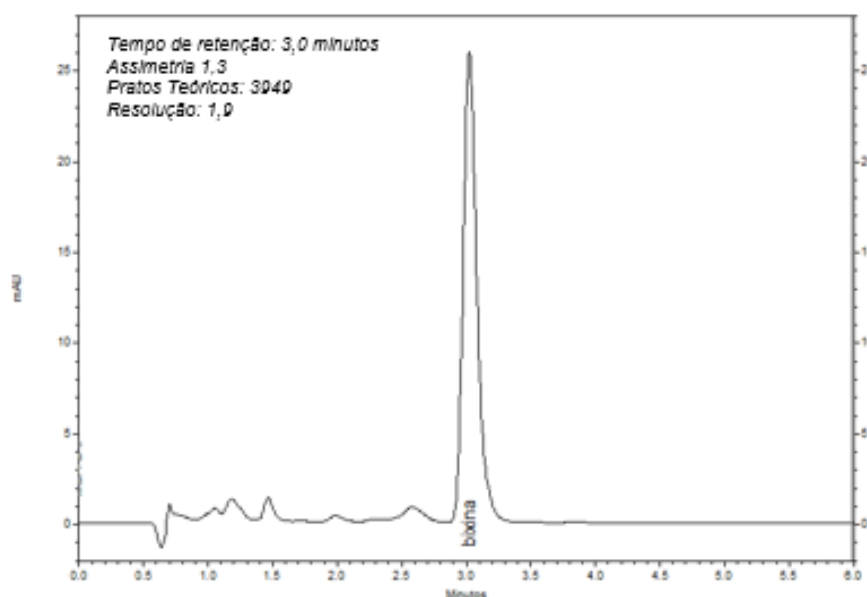
Fonte: Arquivo Pessoal

5.2.2. Análise de cromatografia líquida do padrão caracterizado

O Tempo de Retenção da bixina apresentou-se em 3,0 minutos, como pode ser observado na Figura 16, mesmo tempo apresentado pelo padrão de referência.

Os demais parâmetros pertencentes à adequação do sistema permaneceram dentro da especificação.

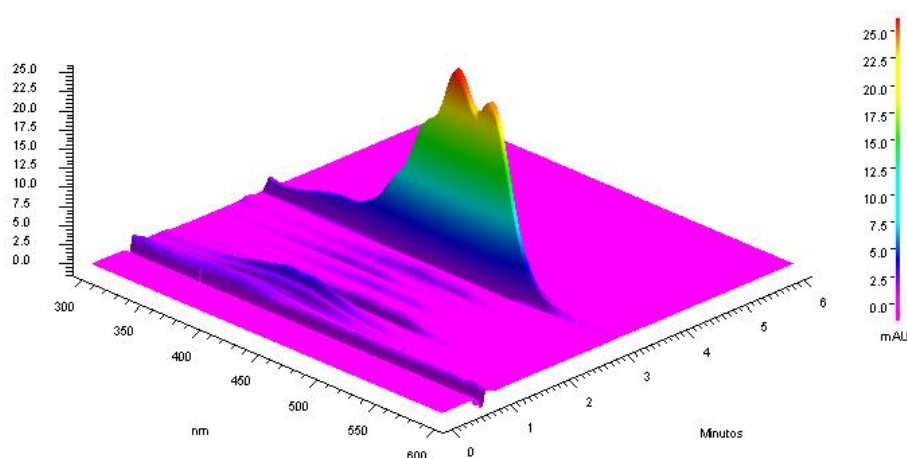
Figura 16 - Cromatograma da solução padrão caracterizado



Fonte: Arquivo Pessoal

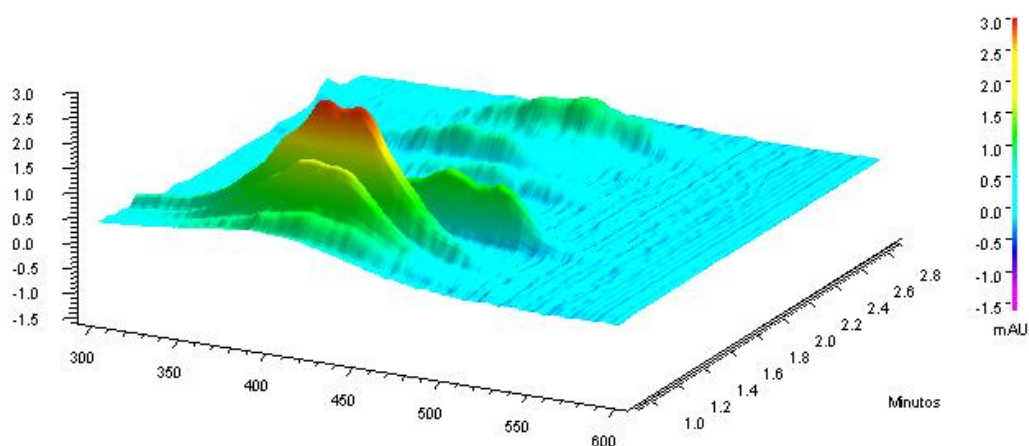
A representação gráfica tridimensional do padrão caracterizado apresenta o espectro da bixina integro, assim como no padrão de referência; diversos espectros aparecem em todo o intervalo entre o primeiro pico não retido e o pico principal, o que sugere a presença de outros carotenoides pertencentes ao urucum. A presença destes carotenoides é esperada, pois representa os mesmos compostos presentes no extrato B. Através da Figura 17 é possível verificar a presença das diversas bandas características destes carotenoides, em destaque na Figura 18.

Figura 17 - Representação tridimensional dos espectros do padrão caracterizado



Fonte: Arquivo Pessoal

Figura 18 – Outros carotenoides presentes na solução padrão caracterizado



Fonte: Arquivo Pessoal

O espectro de maior intensidade exibido na Figura 18 apresenta um deslocamento hipsocrômico em relação à bixina. Este desvio pode ser melhor observado através da sobreposição dos dois carotenoides, como apresentado na Figura 19. Diferentemente da bixina, com absorbância máxima em 461nm, este carotenoide possui absorbância máxima em 409nm.

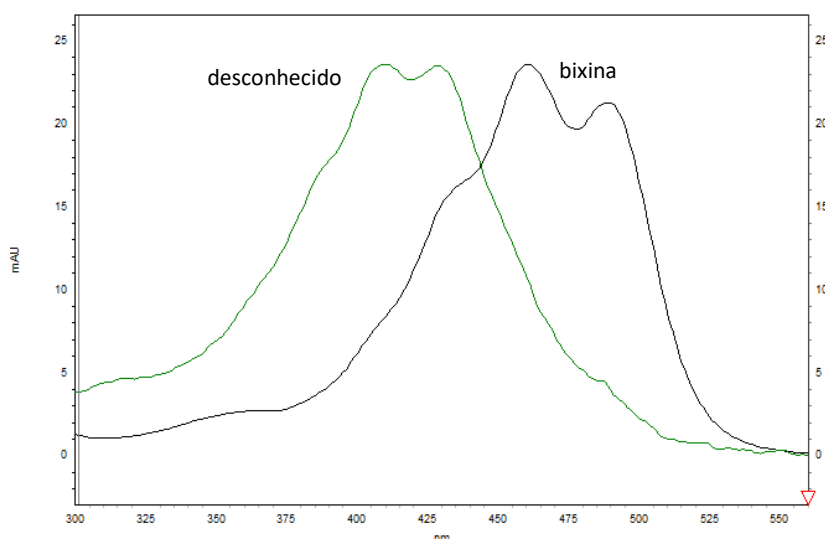


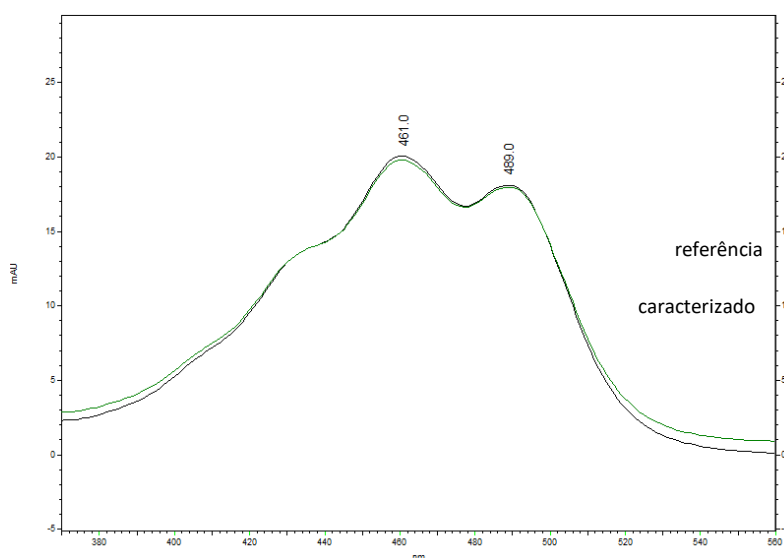
Figura 19 - Sobreposição de espectros da bixina com carotenoides desconhecido presentes no padrão caracterizado. Fonte: Arquivo Pessoal

Dentre os carotenoides desconhecidos, nenhum possui deslocamento batocrômico (deslocamento de λ_{max} para o maior comprimento de onda).

5.2.3. Pureza de pico

Devido à presença de diversos carotenoides no padrão caracterizado, foi realizada a análise pureza de pico da bixina, a fim de certificar que nenhum outro composto esteja co-eluído com a bixina durante a separação cromatográfica. A Figura 20 apresenta a sobreposição dos espectros. Apesar da bixina em padrão caracterizado apresentar um leve alargamento em sua base, ao ser comparada ao espectro da bixina de referência, suas três bandas são idênticas.

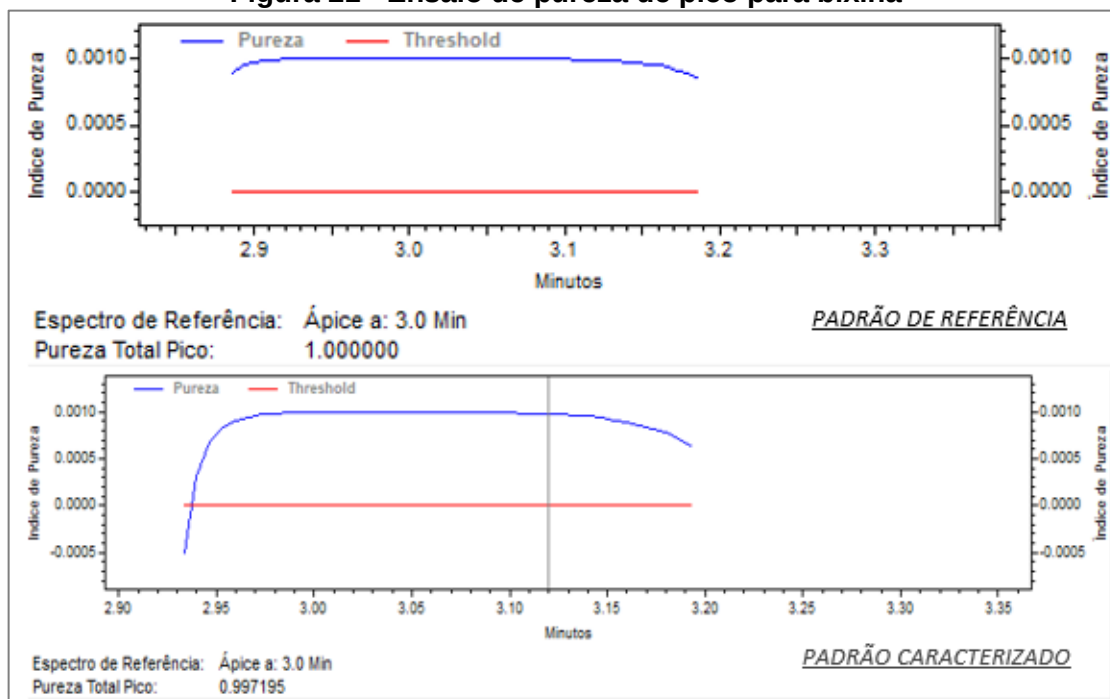
Figura 20 - Sobreposição dos espectros de bixina entre o padrão de referência e padrão caracterizado



Fonte: Arquivo Pessoal

O cálculo de pureza foi realizado para atestar o grau de pureza dos picos de ambas as amostras. Nos gráficos apresentados na Figura 21, a linha vermelha (inferior) representa limite de similaridade e a linha azul (superior) representa o grau de pureza. A interpretação deste gráfico leva em conta a distância entre as duas linhas, sendo que ambas preenchem o intervalo que compreende o início e o fim do pico no cromatograma; enquanto a linha permanece acima do limite, considera-se uma relação espectral pura e abaixo da linha, considera-se a presença de impureza.

Figura 21 - Ensaio de pureza de pico para bixina



Fonte: Arquivo Pessoal

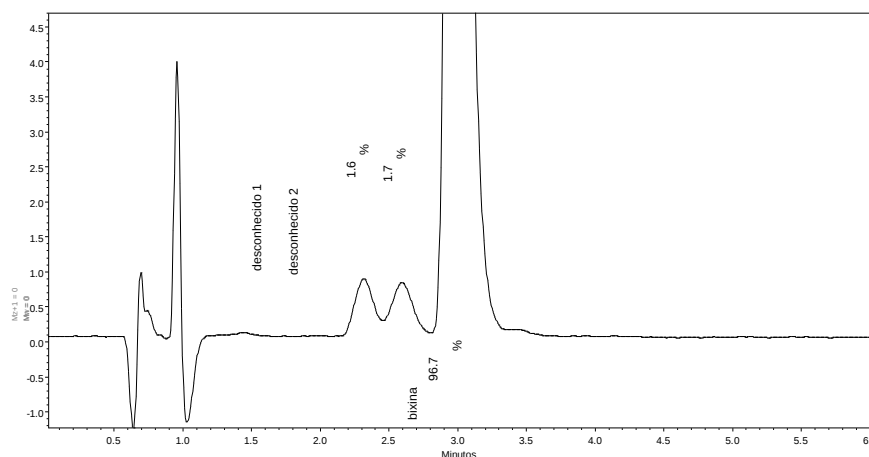
A bixina de referência possui índice máximo de pureza (1,000) e a bixina caracterizada possui um leve grau de impureza no início do gráfico, onde se observa que a linha cruza o limite de especificação. Isto significa que apenas no início do pico, o espectro tem característica diferente do pico encontrado em seu ápice. Considerando-se que a especificação para a pureza do pico é de 0,990, e a pureza da bixina caracterizada é de 0,997, o pico possui alto grau de pureza.

5.2.4. Teor de bixina no padrão de referência e padrão caracterizado

A percentagem de bixina em relação aos demais carotenoides presentes na solução de padrão de referência apresentou-se em 96,7% (ver destaque na Figura 22).

Nesta amostra foram identificados dois outros carotenoides além da bixina, conforme já apresentado na Seção 5.2.2.1.

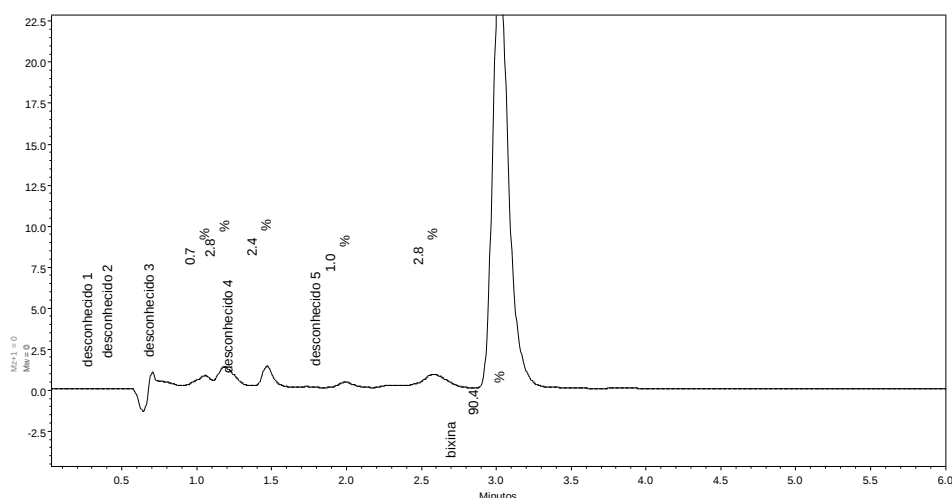
Figura 22 - Teor de bixina em padrão de referência em percentagem de área.



Fonte: Arquivo Pessoal

A percentagem de bixina no padrão caracterizado em relação aos demais carotenoides foi de 90,4% (Figura 23), valor superior ao limite mínimo aceitável para o teor de bixina entre os demais carotenoides.

Figura 23 – Teor de bixina em percentagem de área



Fonte: Arquivo Pessoal

Ao calcular o teor ponderal de bixina, o valor encontrado esteve abaixo do teor do padrão de referência, o que já era esperado, uma vez que outros compostos permaneceram presentes durante a extração.

O resultado obtido para o teor de bixina no padrão de referência foi de 60,0%, o que não o credencia a ser usado na constituição da curva de calibração, porém será utilizado para explicar a conformação espectral durante a cinética de liberação do curativo dérmico rico em bixina, assegurando que a maior intensidade apresentada

na banda 1 não se trata de produto de degradação ou qualquer outra hipótese que possa afetar o ensaio, e sim a característica apresentada pela sobreposição de outros carotenoides à bixina no Extrato B.

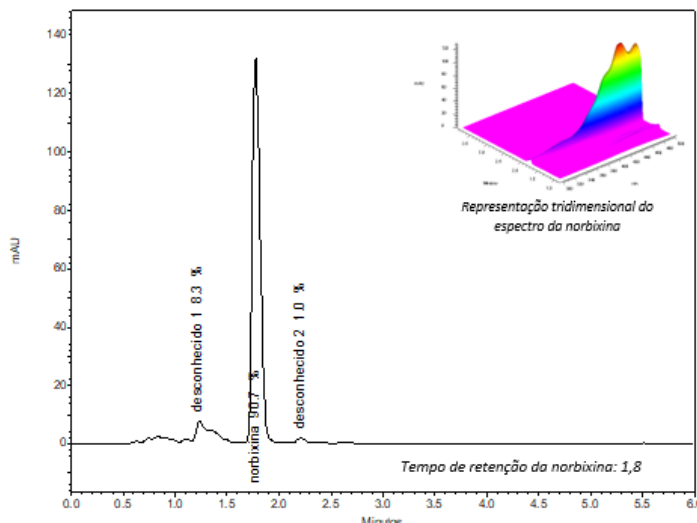
Outro importante fator a ser considerado é que de forma inversa, podemos atribuir a presença de 40% de outros compostos no Extrato B, podendo ou não estar associados aos processos de cicatrização de feridas.

5.2.5. Teor de norbixina no Extrato A

Após injeção de 10µL da solução contendo extrato A, o tempo de norbixina foi determinado em 1,8 minutos, com percentagem de área de 91% em relação aos demais picos detectados (Figura 24). Não houve detecção de picos no tempo de retenção esperado para a bixina (aproximadamente 3,5min.).

A ausência da bixina e alta percentagem de norbixina presente na amostra demonstra a eficácia de sua hidrólise durante a extração. Os demais picos foram identificados como sendo carotenoides minoritários ou isômeros da bixina que podem ocorrer durante o processo de extração.

Figura 24 - Cromatograma da norbixina em Extrato A



Fonte: Arquivo Pessoal

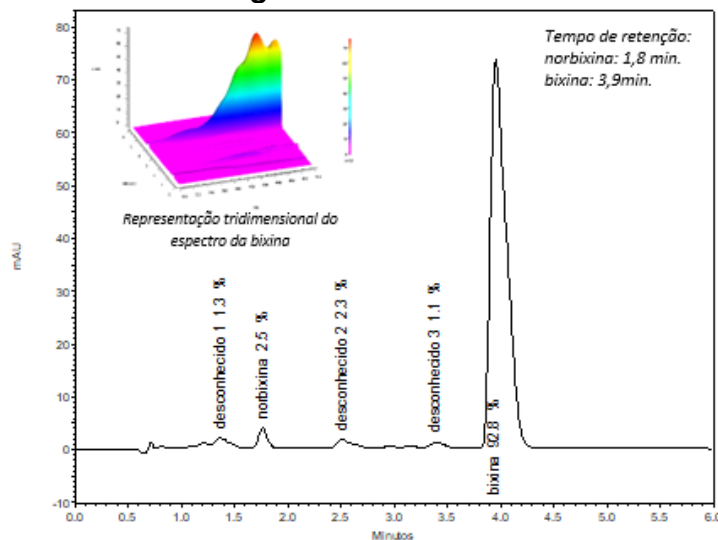
5.2.6. Teor de bixina no Extrato B

Para a identificação dos carotenoides presentes no extrato foram injetados 10µL da solução alcoólica de extrato de urucum e identificados os carotenoides

majoritários (bixina e norbixina) após 6 minutos de corrida. A norbixina foi identificada no mesmo tempo determinado no extrato A, 1,8 minutos e a bixina em e 3,9 minutos.

A concentração da bixina apresentou-se em 92,3% e a norbixina em 2,5%, os demais picos apresentados foram identificados como outros carotenoides presentes nas sementes de urucum (Figura 25).

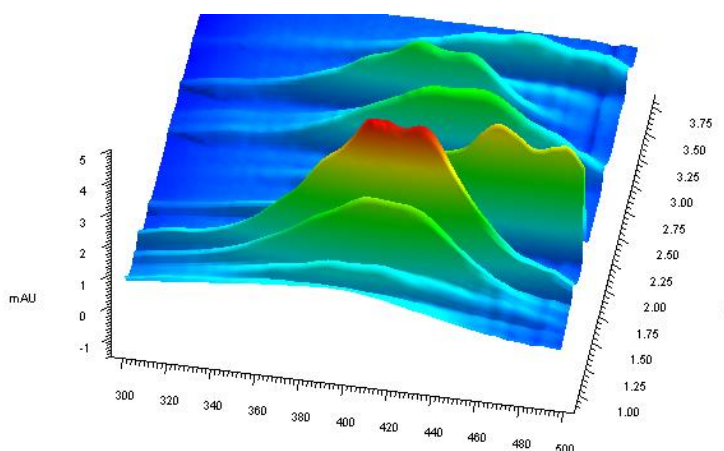
Figura 25 - Cromatograma da bixina em Extrato B



Fonte: Arquivo Pessoal

A representação tridimensional dos espectros apresenta a norbixina e os demais carotenóide minoritários identificados (Figura 26).

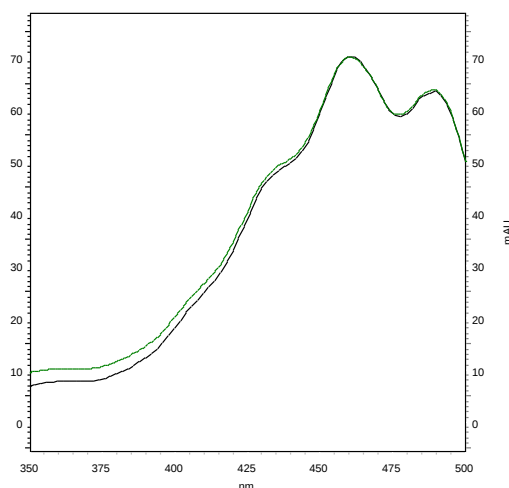
Figura 26 – Representação tridimensional dos demais carotenoides do extrato B



Fonte: Arquivo Pessoal

Ao sobrepor os espectros de bixina originados do extrato B e padrão de referência pode-se confirmar a identidade do carotenoide (Figura 27).

Figura 27 - Sobreposição da bixina em Extrato B ao padrão de referência



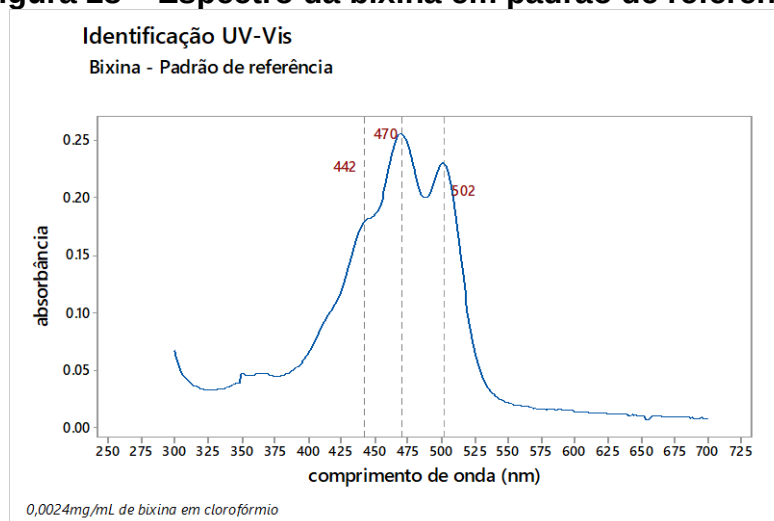
Fonte: Arquivo Pessoal

5.3. Identificação do padrão secundário para ensaio em UV-Vis

5.3.1. Ensaio de identificação

A identificação da bixina do padrão de referência em espectroscopia apresentou máximo de absorbância em 470nm (Figura 28), mesmo comprimento de onda apresentado no certificado analítico fornecido pelo fornecedor do padrão.

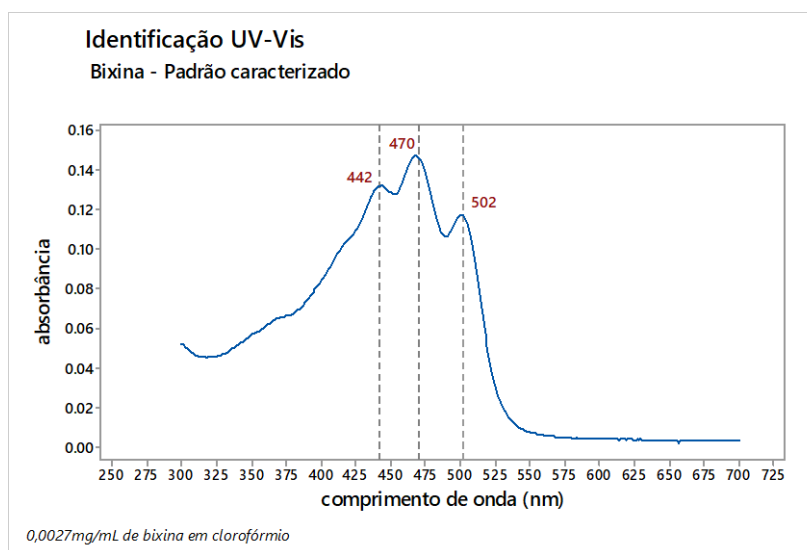
Figura 28 – Espectro da bixina em padrão de referência



Fonte: Arquivo Pessoal

O padrão caracterizado também exibiu um máximo de absorbância em 470nm, porém o pico I apresentou uma intensidade superior ao pico II, como demonstrado na Figura 29. Este fenômeno sugere a presença de outros carotenoides com absorbância hipsocrômica, ou seja, com deslocamento do λ_{max} para comprimentos de onda menores em relação à bixina. Esta abordagem foi explorada em maior detalhe após a separação cromatográfica desses compostos por HPLC, conforme descrito na seção 5.2.2.

Figura 29 – Espectro da bixina em padrão caracterizado



Fonte: Arquivo Pessoal

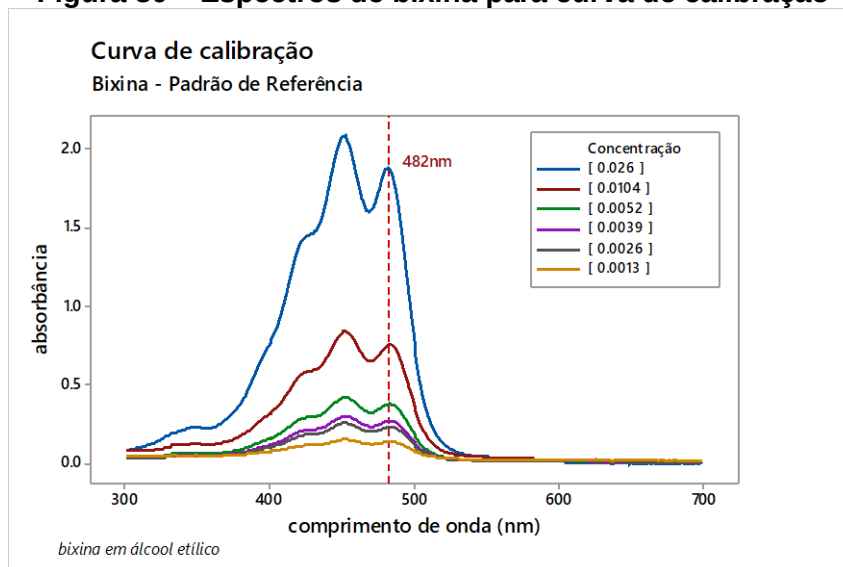
A comparação espectral entre os dois padrões é crucial para identificar as bandas máximas de absorbância ocorrendo nos mesmos intervalos de onda. É natural que haja variações nas intensidades devido à presença de outros compostos no padrão caracterizado, assim como no extrato utilizado na fabricação dos curativos. Portanto, a caracterização precisa do padrão é essencial para descartar a hipótese de degradação da bixina nos curativos durante a etapa de liberação.

É fundamental investigar como a presença de outros carotenoides afeta o espectro da bixina. Ao assegurar que os demais carotenoides não interferem na região do pico III, este se torna a banda mais adequada para a quantificação precisa da bixina.

5.3.1.1. Calibração da Curva Analítica

A Figura 30 apresenta os espectros obtidos para a curva de calibração da bixina utilizando o padrão de referência.

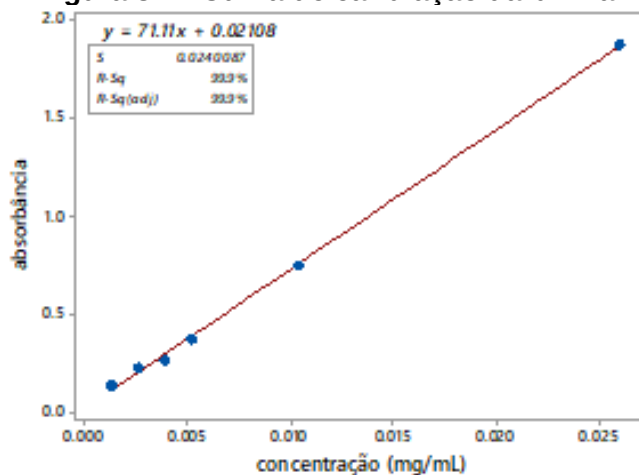
Figura 30 – Espectros de bixina para curva de calibração



Fonte: Arquivo Pessoal

A curva de calibração da bixina apresentou coeficiente angular de 71,11, coeficiente linear de +0,02108 e coeficiente de determinação de 0,999 (Figura 31). Estes valores foram adotados aos cálculos de quantificação em espectroscopia para todos os ensaios. Para a quantificação de norbixina, utilizou-se o fator de correção de 0,96 referente à relação de massa molecular entre a norbixina e bixina.

Figura 31 – Curva de calibração da bixina



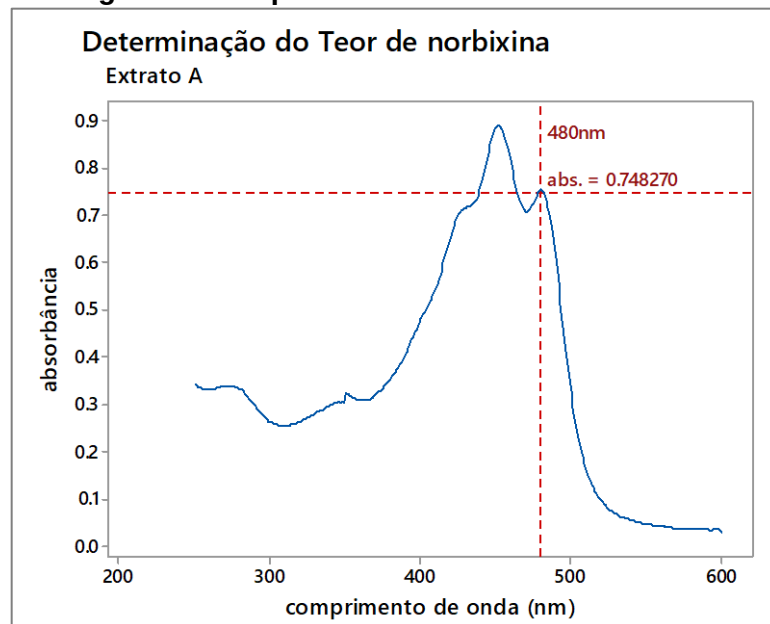
Fonte: Arquivo Pessoal

5.3.2. Análise de teor em espectrofotômetro UV-Vis

5.3.2.1. Extrato A expresso como norbixina

O teor foi determinado inserindo o valor de absorbância obtido de 0,748270 à Equação 3 e utilizando o fator de correção de 0,96 para a norbixina. O resultado determina o teor do Extrato A em 10,38mg/mL (Figura 32).

Figura 32 – Espectro de norbixina no extrato A



Fonte: Arquivo Pessoal

A partir deste valor é possível calcular a quantidade de norbixina extraída, multiplicando pelo volume do extrato (30mL), resultando em 312mg de norbixina. Considerando que a quantidade de bixina representa 90,4% dos carotenoides (segundo dados obtidos em HPLC apresentados na seção 5.2.2.4), a quantidade de carotenoides extraída é de 216mg. Segundo a tabela 8, este valor representa 30% da massa do arilo presente nas sementes, ou seja, foram extraídos aproximadamente 720mg, o que representa o valor de 9% de arilo presente nas sementes de urucum utilizadas no estudo.

Tabela 8 - Determinação da concentração do extrato A

Quantidade de norbixina	Volume final (mL)	Concentração
312mg	30	10,38mg/mL

Fonte: Arquivo pessoal

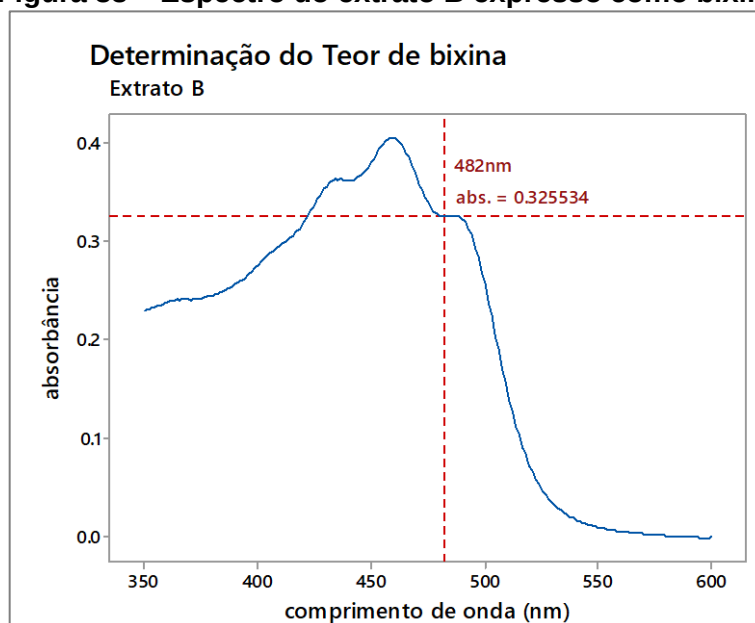
A quantidade de arilo extraída (9,8%) na produção do extrato A, corrobora com o preconizado por Franco (2002) para sementes Tipo I (5 – 10% de arilo).

5.3.2.2. Extrato B expressos como bixina

O teor de bixina no extrato B foi determinado coletando 0,1mL da solução e transferindo para balão volumétrico de 100mL, completado com álcool etílico. A solução então foi analisada em espectrofotômetro UV-Vis e obteve o espectro apresentado na Figura 33. O espectro obtido tem as mesmas características do espectro obtido do padrão caracterizado, com absorbância do Pico I sobressaindo em relação ao Pico III.

O teor foi determinado inserindo o valor de absorbância obtido de 0,325534 à Equação 3. O resultado determina o teor do extrato B em 4,87mg/mL.

Figura 33 – Espectro do extrato B expresso como bixina



Fonte: Arquivo Pessoal

A partir deste valor é possível calcular a quantidade de bixina extraída, multiplicando pelo volume do extrato (40mL), resultando em 195mg de bixina. Considerando que a quantidade de bixina representa 90,4% dos carotenoides (segundo dados obtidos em HPLC apresentados na seção 5.2.2.4), a quantidade de carotenoides extraída é de 216mg. De acordo com a Tabela 9, este valor representa

30% da massa do arilo presente nas sementes, ou seja, foram extraídos aproximadamente 720mg, o que representa o valor de 9% de arilo presente nas sementes de urucum utilizadas no estudo.

Tabela 9 - Determinação da concentração do Extrato B

Quantidade de bixina	Volume de extrato	Concentração do extrato
195mg	40mL	4,87mg/mL

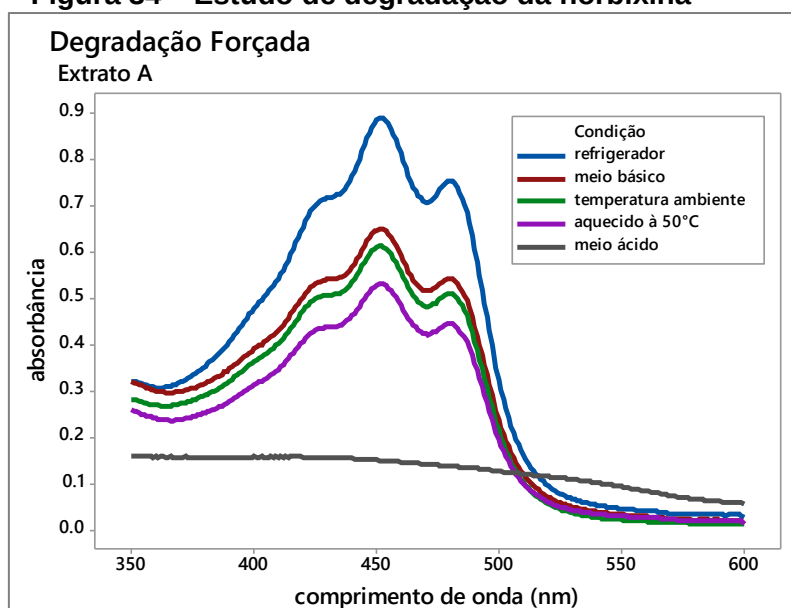
Fonte: Arquivo pessoal

A considerar os dados apresentados por Franco (2002), as sementes utilizadas neste estudo possuem qualidade Tipo 1 (5 – 10% de arilo).

5.4. Perfil de degradação

A realização do estudo de perfil de degradação é de suma importância para avaliar a estabilidade e a robustez do extrato de norbixina em condições adversas que possam ser encontradas durante o armazenamento, processamento ou uso em aplicações industriais e comerciais. Como é sabido que o carotenoide é instável em meio aquoso, submeter o extrato de norbixina a diferentes temperaturas e valores de pH permite identificar e compreender os principais fatores que contribuem para a sua degradação (Figura 34).

Figura 34 – Estudo de degradação da norbixina



Fonte: Arquivo Pessoal

Este ensaio ajuda a determinar os parâmetros ideais de armazenamento e processamento que minimizam a degradação da norbixina, garantindo assim a manutenção da sua qualidade, potência e eficácia ao longo do tempo. Além disso, fornece insights valiosos para o desenvolvimento de formulações e tecnologias que estabilizem o carotenoide, maximizando o seu aproveitamento e aplicação em produtos finais, como alimentos, cosméticos e medicamentos.

A análise espectroscópica em UV-Vis do Extrato A exposto à diferentes condições corroboram com a descrição fornecida por Maga (1994) sobre a degradação da norbixina em meio aquoso.

Como apresentado na Figura 34, a condição mais crítica para a solução aquosa contendo norbixina foi identificada em meio ácido, impossibilitando a quantificação em UV-Vis devido à deformação do espectro do carotenoide.

A Tabela 10 apresenta a percentagem de degradação das demais amostras, demonstrando a influência da temperatura na amostra ao reduzir a concentração do carotenoide em 37%. A amostra em temperatura ambiente apresentou redução de 29% na concentração, porém o estudo não foi elaborado de forma a avaliar de que forma a incidência de luz pode ter impactado neste resultado.

Tabela 10 - Degradação do Extrato A em diferentes condições	
Condição	Degradação
Refrigerador	0%
Base	25%
Temperatura ambiente (sob incidência de luz)	29%
50°C	37%
Ácido	ocorre deformação do espectro

Fonte: Arquivo pessoal

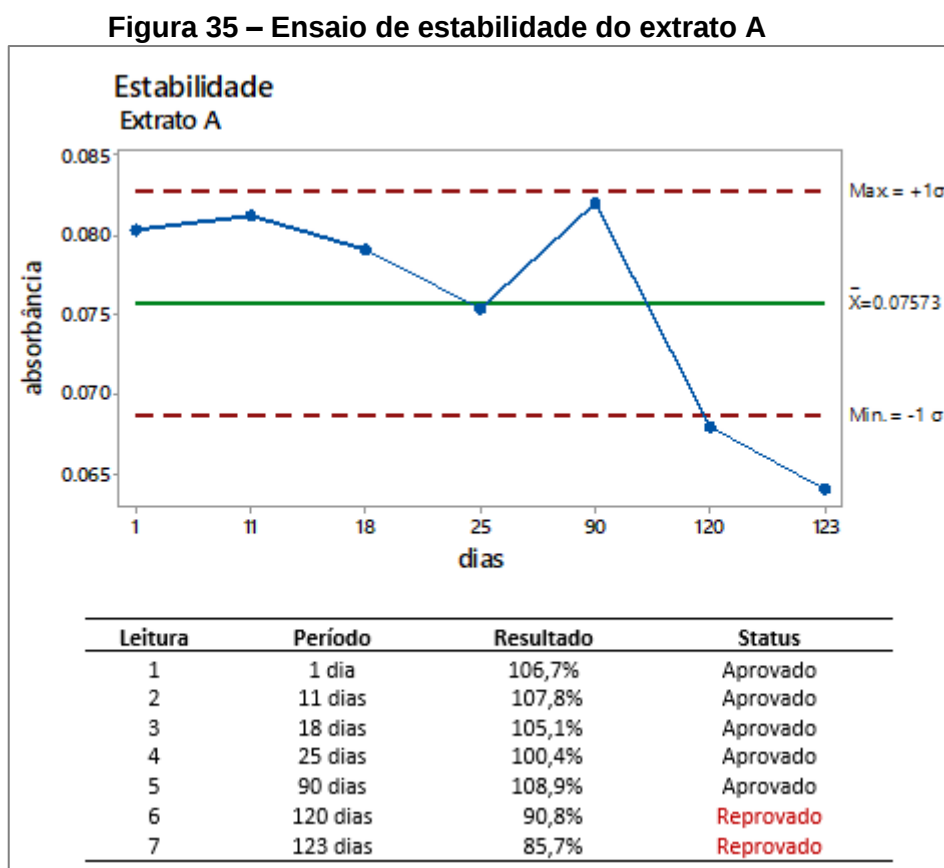
O estudo também não permite avaliar se a degradação observada em meio básico pode ser atribuída à temperatura (ambiente) de exposição. Durante a degradação observou-se a redução da pigmentação vermelha dos carotenoides presentes nas amostras.

Como não houve degradação significativa dos carotenoides em amostra armazenada em refrigerador (2°C a 8°C), o extrato permaneceu nesta condição por todo o tempo do estudo.

5.5. Estabilidade

A realização de um estudo de estabilidade é crucial para determinar a vida útil e a robustez do extrato de norbixina armazenado em condições de refrigerador, especialmente considerando os resultados do ensaio de degradação forçada que indicaram a estabilidade do carotenoide sob estas condições específicas. Este estudo permitirá avaliar por quantos dias o extrato permanece estável, mantendo suas propriedades químicas, físicas e funcionais dentro dos padrões aceitáveis para uso em aplicações industriais e terapêuticas.

A carta de controle presente na Figura 35 demonstra a taxa de degradação da norbixina quando armazenada em refrigerador.



Fonte: Arquivo pessoal

O ensaio de estabilidade foi meticulosamente realizado até que dois resultados consecutivos ultrapassaram o limite estabelecido de ± 1 desvio padrão (1σ), momento atingido após 123 dias de monitoramento rigoroso. Assim, o último registro que se manteve dentro dos padrões estabelecidos ocorreu aos 90 dias de análise, conforme

ilustrado na Figura 35. Este período de 90 dias foi, portanto, identificado como o tempo de estabilidade do Extrato A sob as condições específicas de armazenamento avaliadas.

A determinação do tempo de estabilidade e degradação forçada do Extrato A mostraram-se útil, uma vez que se observou que a quantidade de norbixina liberada durante os ensaios iniciais do presente estudo apresentava resultados incoerentes. Após breve investigação percebeu-se correlação entre o tempo em que o extrato permaneceu armazenado e sua absorbância da, sugerindo que o extrato estava se degradando pelo tempo ou condição de armazenamento incorreta. Após estes estudos concluiu-se que os dois fatores estavam afetando os resultados, sendo necessária a adequação das condições para reinício das seções de coleta de dados.

5.6. Confeção e análise dos curativos dérmicos

Para o presente estudo, foram preparadas três formulações distintas de curativos, conforme ilustrado na Figura 36: Curativos de Látex Natural (LN), Curativos de látex natural enriquecidos com extrato A (LNA) e curativos de látex Natural enriquecidos com extrato B (LNB). A incorporação de curativos à base de LN é essencial para investigar possíveis alterações químicas decorrentes da adição dos extratos.

Figura 36 - Curativos dérmicos, esquerda para a direita: LN, LNA e LNB



Fonte: Arquivo Pessoal

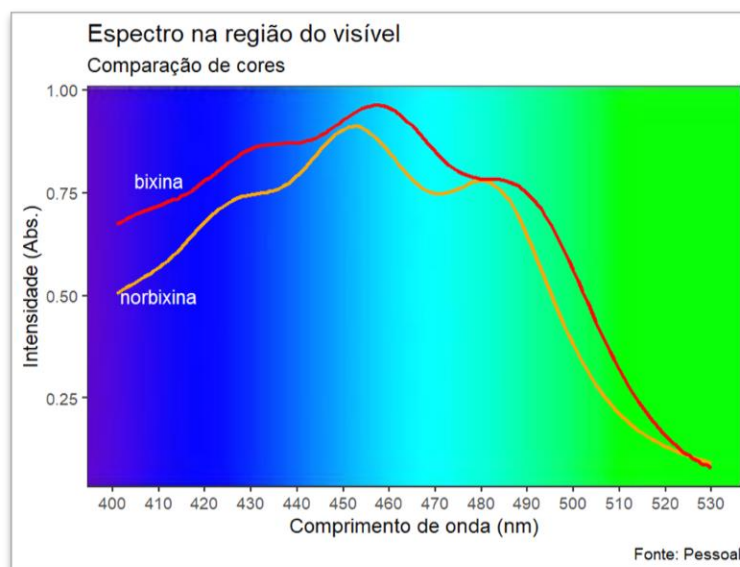
A confecção dos curativos foi realizada utilizando moldes de acrílico de volume pré-determinado, garantindo dimensões precisas e superfícies planas, sem bordas

salientes, o que é crucial para a acurácia dos resultados nos ensaios de cinética de liberação. As dimensões escolhidas para os curativos foram baseadas em ensaios preliminares de liberação, nos quais foi avaliada a relação entre a espessura do curativo e a quantidade de extrato liberado ao longo do tempo.

Surpreendentemente, verificou-se que, apesar dos curativos de 1mm conterem o dobro de extrato, eles liberavam quantidades semelhantes de extrato em comparação aos curativos de 0,5mm. Isso indicou a inexistência de uma correlação direta entre a espessura do curativo e a quantidade de extrato liberado. Portanto, optou-se por curativos com 0,5mm de espessura, que oferecem melhor aderência à pele e eficiência de liberação comparável, além de serem mais econômicos para se produzir.

A presença de pigmentação nos extratos confere aos curativos uma coloração avermelhada, sendo esta tonalidade mais pronunciada na formulação contendo o Extrato B. Tal fenômeno pode ser elucidado pela Figura 37, que mostra a sobreposição dos espectros de absorbância dos carotenoides bixina e norbixina. Devido ao deslocamento batocrômico da bixina em relação à norbixina, esta última absorve intensamente na região verde (acima de 480nm), resultando em uma coloração vermelha mais intensa. Por outro lado, a norbixina, com menor capacidade de absorbância nesta região, apresenta uma tonalidade alaranjada quando visualizada.

Figura 37 - Sobreposição dos espectrogramas da bixina e norbixina à representação gráfica do espectro de luz



Fonte: Arquivo Pessoal

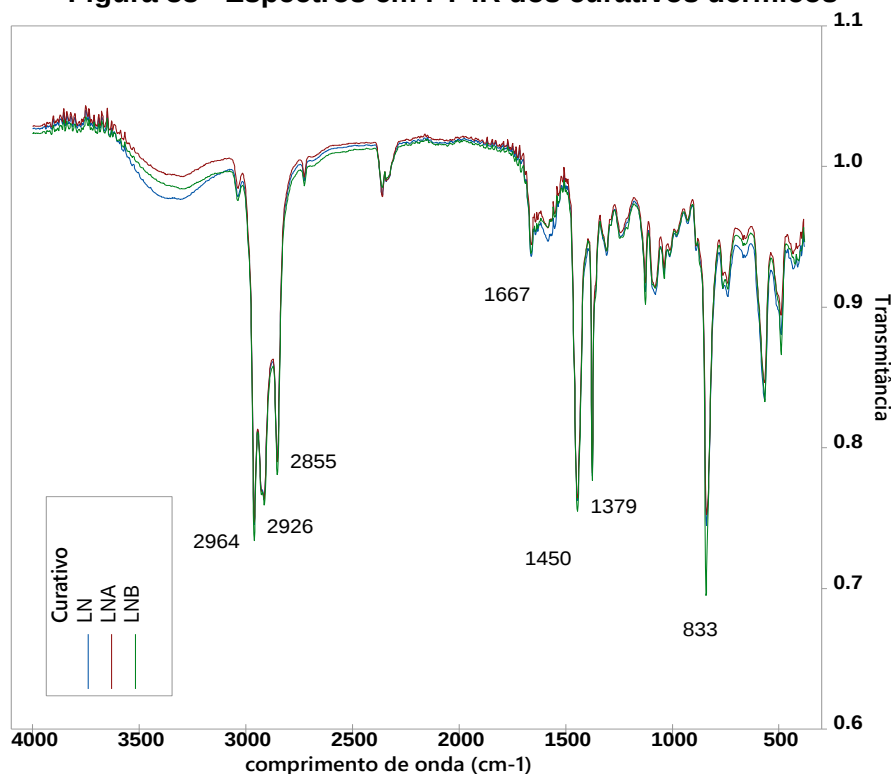
5.6.1. Teor dos Curativos Dérmicos

O teor dos curativos dérmicos enriquecidos com Extrato A foi quantificado em 900µg de urucum, expresso como norbixina, por unidade de curativo. Já para a formulação contendo o Extrato B, a concentração foi estabelecida em 422µg de bixina por curativo.

5.6.2. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

Na análise por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR) na faixa de 4000 a 500 cm^{-1} , a comparação entre os espectros dos curativos de Látex Natural (LN) carregados com extratos de urucum e o curativo composto apenas por LN revelou uma correspondência precisa entre as estruturas (Figura 38).

Figura 38 - Espectros em FT-IR dos curativos dérmicos



Fonte: Arquivo Pessoal

Notavelmente, as bandas de alta intensidade permaneceram consistentes e inalteradas ao longo do processo de confecção dos curativos. Este comportamento é

corroborado pelos achados de Mohan (2015), que investigou o espectro vibracional do cis-1,4-polisopreno (polímero de borracha natural encontrado no látex de algumas plantas, incluindo a seringueira), reforçando a estabilidade e a integridade das estruturas dos curativos durante o processo de formulação.

5.6.3. Resistência Mecânica

As propriedades mecânicas dos polímeros refletem a maneira como esses materiais respondem às cargas mecânicas aplicadas, e essa resposta pode ser avaliada por meio da relação tensão-deformação observada nas amostras, conforme descrito por Canevarolo (2006).

Os resultados dos ensaios de resistência mecânica realizados nos curativos de LN, LNA e LNB apresentaram valores médios do módulo de Young; para as amostras de LN foram de 0,53 MPa, demonstrando-se bastante similares aos obtidos para o LNA. Por outro lado, o LNB apresentou um aumento em sua rigidez, contudo, essa variação é plenamente aceitável. Isso ocorre porque o LNB foi categorizado com um baixo módulo de Young, mantendo-se abaixo do limite de 2,5 MPa estabelecido para elastômeros, conforme especificado pela CUED (2003) e evidenciado na Tabela 11.

Tabela 11 - Resultados de Resistência Mecânica		
Curativo	Módulo de Young	Deformação
Látex Natural	0,53 ($\pm$ 0,03)	1026 ($\pm$ 68)
Látex Natural com Extrato A	0,51 ($\pm$ 0,05)	951 ($\pm$ 52)
Látex Natural com Extrato B	0,66 ($\pm$ 0,08)	910 ($\pm$ 28)

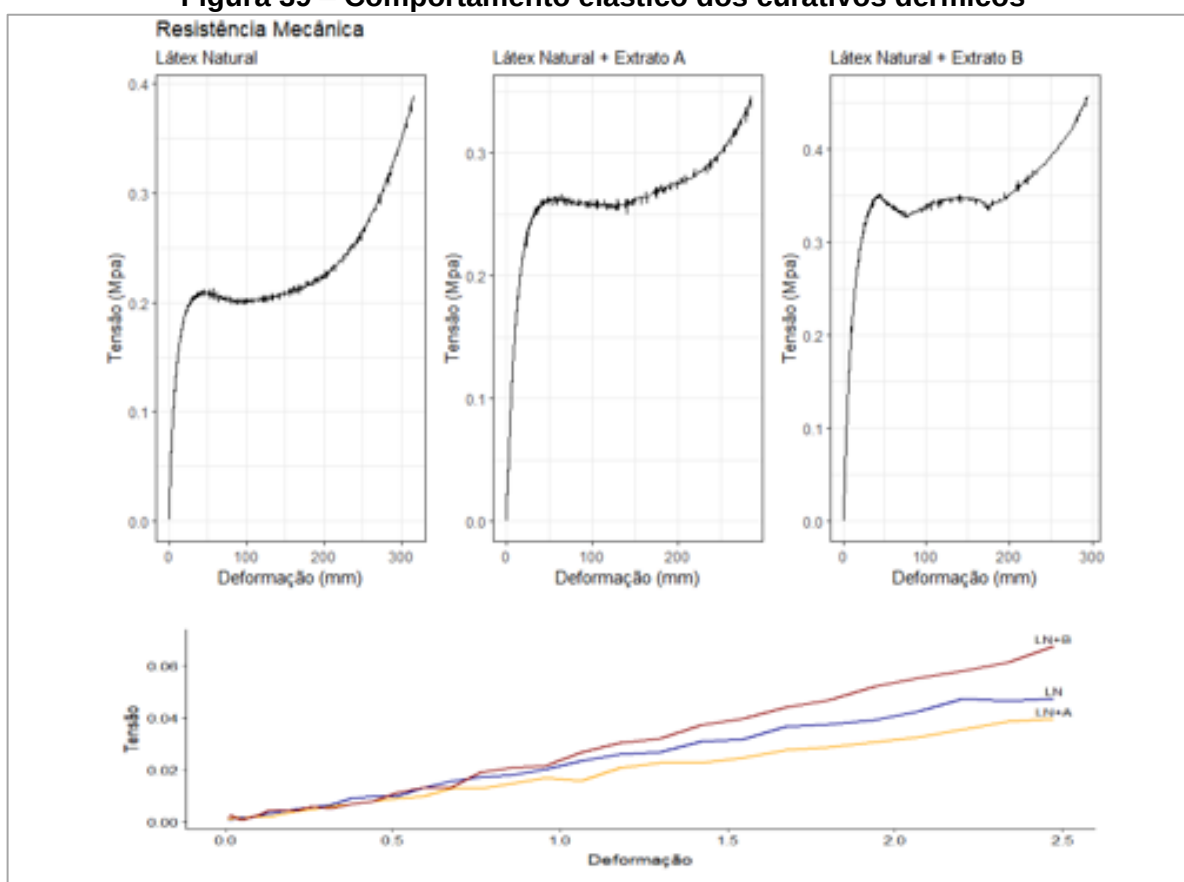
Fonte: Arquivo pessoal

A Figura 39 destaca outra variável crucial: a deformação dos corpos de prova do LN mostrou-se ligeiramente mais elevada, atingindo cerca de 1026% de deformação. Em seguida, o LN+A registrou uma deformação de aproximadamente 951%, enquanto o LN+B apresentou 911% de deformação. Assim como evidenciado para o módulo de elasticidade, as pequenas variações nos valores de deformação não comprometem as propriedades físicas dos curativos para aplicações biomédicas.

O comportamento elástico dos curativos dérmicos é detalhado na Figura 39, permitindo visualizar a evolução da deformação em função da tensão aplicada e a inclinação da curva de relação tensão/deformação. Notavelmente, o LN apresenta uma posição intermediária entre as versões LNA e LNB em termos de comportamento elástico.

Conforme destacado na Figura 39, a curva exibe todas as etapas características dos elastômeros, seguindo os princípios da lei de Hooke, conforme representado na Figura 10.

Figura 39 – Comportamento elástico dos curativos dérmicos



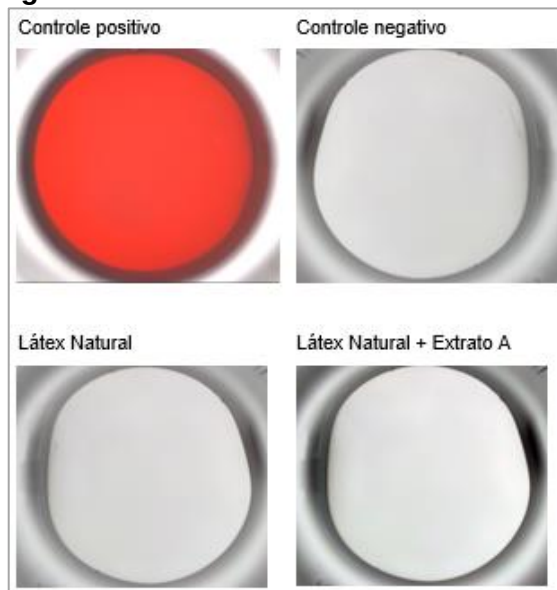
Fonte: Arquivo pessoal

5.6.4. Atividade Hemolítica

O ensaio de atividade hemolítica avalia a biocompatibilidade do sistema, evitando-se o rompimento das hemácias durante a utilização de um curativo dérmico. Desta forma, o ensaio foi realizado para avaliar se os compostos liberados pelo LN e pelo LNA são capazes de romper a membrana das células sanguíneas de carneiro.

A Figura 40 representa imagens adquiridas dos poços de placa contendo amostras de controle positivo, controle negativo, LN e LNA, para ensaio de atividade hemolítica. A coloração vermelha intensa representa atividade máxima de hemólise (100% de atividade) como controle positivo e como controle negativo, a ausência de atividade hemolítica (0% de atividade).

Figura 40 – Ensaio de atividade hemolítica



Fonte: Arquivo pessoal

A ausência de coloração vermelha nas amostras de curativos dérmicos LN e LNA representa que os curativos não possuem atividade hemolítica ou a atividade é insignificante.

Os resultados que confirmam a baixa atividade hemolítica nos curativos dérmicos são apresentados na Tabela 12, onde é possível observar que a atividade hemolítica do curativo dérmico LN é de aproximadamente 0,18%. A incorporação do Extrato A ao LN não apresentou diferença significativa em atividade hemolítica, com resultado de apenas 0,60%.

Tabela 12 - Resultados de atividade hemolítica

Amostra	Média	Mínimo	Máximo	DP
Controle Positivo	100,00%	92,67%	104,74	5,28
Controle Negativo	0,00%	-0,12%	0,20%	0,12
Látex Natural	0,18%	0,05%	0,20%	0,17
Látex Natural + Extrato A	0,60%	0,23%	0,90%	0,60

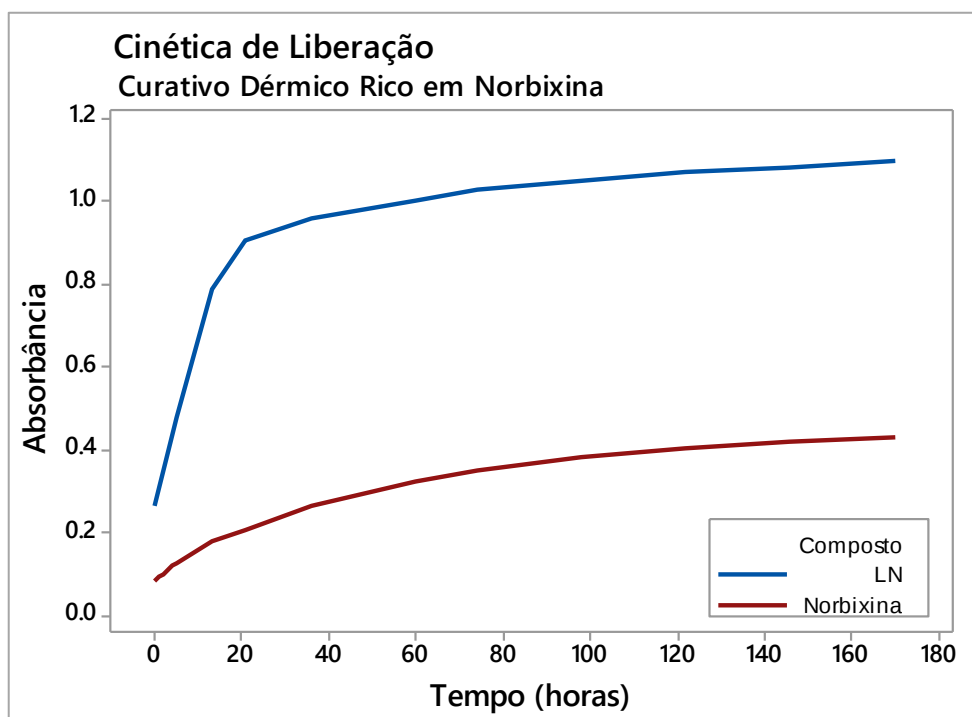
Fonte: Arquivo pessoal

5.7. Cinética de liberação dos compostos do curativo dérmico

5.7.1. Curativo dérmico de látex natural com extrato de norbixina

A cinética de liberação do curativo dérmico enriquecido com bixina apresenta *burst release* (liberação imediata) nas primeiras 18 horas, conforme demonstrado na Figura 41. Diferentemente do comportamento do LN na versão de curativo dérmico contendo norbixina, a cinética de liberação do látex apresentou-se longe de atingir o platô durante o intervalo de tempo do estudo.

Figura 41 - Cinética de liberação do curativo dérmico rico em norbixina



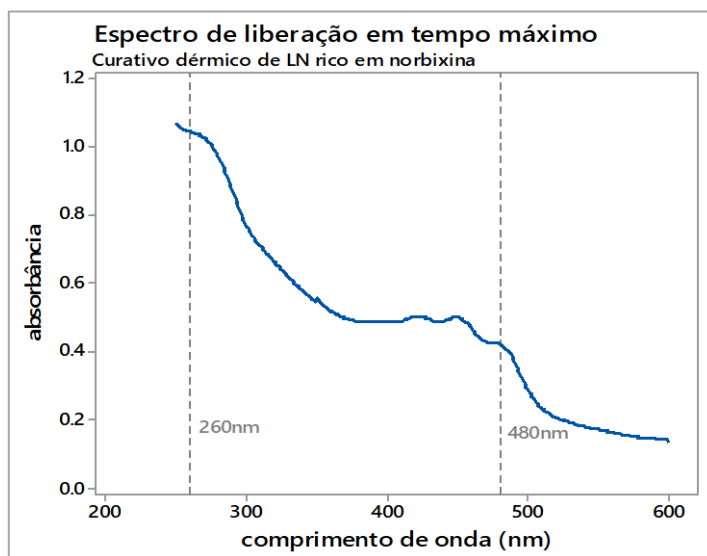
Fonte: Arquivo Pessoal

Através da Figura 42 é possível observar que as bandas referentes ao LN (260nm) e norbixina (480nm) estão bem resolvidas, não havendo interferência que impacte no resultado. O meio tamponado mostrou-se eficaz ao evitar a acidificação e consequentemente a perda da conformação do espectro da norbixina.

Ao término do ensaio, a quantidade de norbixina liberada foi de 209µg, o equivalente a 23% da quantidade presente no curativo dérmico.

Durante o estudo de liberação observou-se que apenas uma das faces do curativo dérmico liberou a norbixina, o que explica sua baixa taxa de liberação.

Figura 42 – Espectro do curativo dérmico carregado com extrato A após 170 minutos de liberação

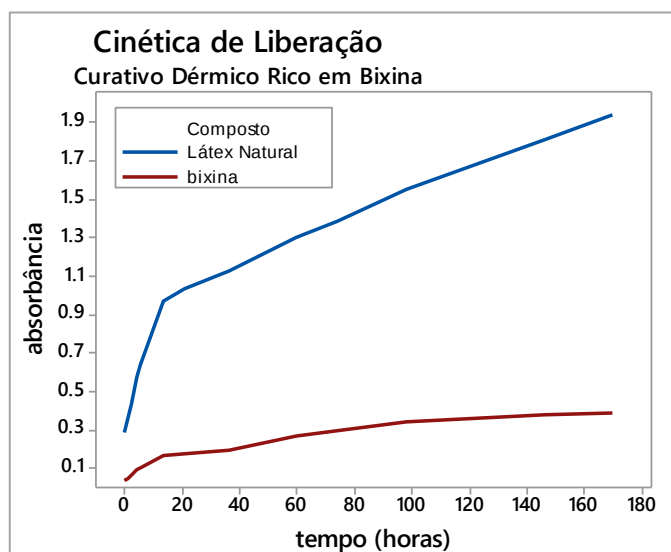


Fonte: Arquivo Pessoal

5.7.2. Curativo dérmico de látex natural com extrato de bixina

A cinética de liberação do curativo dérmico enriquecido com bixina apresenta *burst release*, para o LN e bixina, nas primeiras 18 horas (Figura 43).

Figura 43 - Cinética de liberação do curativo dérmico carregado com Extrato B

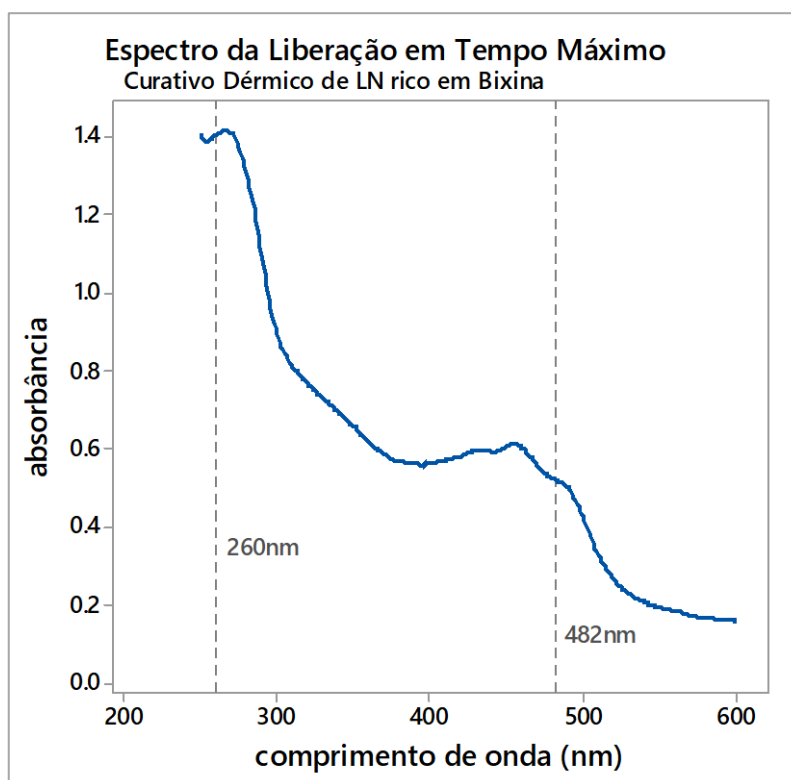


Fonte: Arquivo Pessoal

Diferentemente do comportamento do LN na versão de curativo dérmico contendo norbixina, a cinética de liberação do látex apresentou-se longe de atingir o platô durante o intervalo de tempo do estudo.

Através da Figura 44 é possível observar que as bandas referentes ao LN (260nm) e bixina (482nm) estão bem resolvidas, não havendo interferência que impacte no resultado.

Figura 44 - Espectro do curativo dérmico carregado com Extrato B após 170 minutos de liberação



Fonte: Arquivo Pessoal

Ao término do ensaio, a quantidade de norbixina liberada foi de 220µg, o equivalente a 52% da quantidade presente no curativo dérmico.

Diferentemente do curativo dérmico rico em norbixina, nesta versão houve liberação nas duas faces do curativo, o que explica aproximadamente o dobro de liberação em relação à primeira versão.

A utilização de um tensoativo no meio de liberação mostrou-se eficiente na liberação do extrato de urucum ao observar visualmente redução da pigmentação de forma uniforme nas duas faces do curativo dérmico.

6. CONCLUSÃO

O presente estudo proporcionou uma análise detalhada da interação entre o látex natural (LN) e o extrato de urucum. Os resultados obtidos, evidenciam uma excelente compatibilidade entre os componentes estudados. Os ensaios físico-químicos realizados confirmaram a estabilidade do LN quando combinado com o extrato de urucum, garantindo a preservação de suas propriedades intrínsecas. Observou-se que o extrato, ao ser incorporado ao LN, não comprometeu significativamente as características originais deste material, o que é fundamental para sua aplicabilidade em diferentes contextos biomédicos.

A análise da cinética de liberação dos curativos dérmicos revelou padrões distintos de liberação do extrato. Notavelmente, a formulação enriquecida com bixina apresentou uma liberação equilibrada em ambas as faces do curativo, enquanto a versão contendo norbixina demonstrou uma liberação mais focalizada em uma das faces. Essa discrepância sugere a necessidade de investigações adicionais para elucidar as possíveis variáveis que influenciam a liberação do extrato e otimizar o design dos curativos para futuras aplicações clínicas.

Os estudos preliminares de biocompatibilidade posicionaram o sistema LN e norbixina como um biomaterial promissor, mostrando-se seguro e com potencial aplicação clínica. A ausência de indução significativa de hemólise em avaliações realizadas até 24 horas reforça a segurança deste sistema, embora estudos de longo prazo sejam necessários para avaliar sua estabilidade e biocompatibilidade em condições mais prolongadas. Considerando a lacuna existente na literatura científica sobre as moléculas do urucum com potencial cicatrizante, o extrato B, rico em bixina e outros carotenoides, emerge como um candidato promissor para estudos futuros. A complexidade química do urucum sugere que a sinergia entre diversos compostos presentes pode potencializar a atividade regenerativa e reparadora em tecidos lesados, justificando a investigação aprofundada de suas propriedades e mecanismos de ação.

Em conclusão, os resultados obtidos neste estudo indicam que o sistema desenvolvido é não apenas adequado, mas também promissor para aplicações biomédicas. A combinação de LN e extrato de urucum demonstrou potencial significativo no tratamento de feridas cutâneas, abrindo novas perspectivas para o desenvolvimento de terapias inovadoras e eficazes.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACNE. **Wound Healing in the Skin**. USA: acne.org, [2019]. Disponível em: <https://www.acne.org/wound-healing-in-the-skin.html#Stage1:BloodClotting>. Acesso em 2 ago. 2019.
- PREFEITURA MUNICIPAL DE ARARAQUARA - PMA. **PE_164_2017 Materiais para curativos**. Araraquara, SP, Brasil, 2017. Disponível em: <http://www3.araraquara.sp.gov.br/file/Imprensa01/saude/2017/>. Acesso em: 28 nov. 2017.
- BARROS, N. R. et al. **Natural rubber latex: Development and in vitro characterization of a future transdermal patch for enuresis treatment**. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, v. 66, n. 17, p. 871-876, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00914037.2017.1280795>. Acesso em: 27 mai. 2018.
- BEATRIZ, A. P. et al. **Desenvolvimento e caracterização de membranas de látex carregadas com escopolamina para tratamento de sialorreia**. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo (IFSP), 2016.
- BEZERRA, S. E. **Avaliação do custo e da efetividade no tratamento de feridas em um serviço público especializado**. 2015. Disponível em: <http://sobest.org.br/textod/33>. Acesso em: jul. 2018.
- BIODERMIS. **Biodermis**. Disponível em: <https://www.biodermis.com/what-are-the-stages-of-wound-healing-s/221.htm>. Acesso em: 23 jun. 2019.
- BORGES, F. A. **Aplicação da membrana de látex natural como suporte para cultura de células osteogênicas MC3T3-E1 para regeneração óssea guiada**. Araraquara, 2015.
- BORGES, F. A. **Natural rubber latex coated with calcium phosphate for biomedical application**. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, v. 26, p. 1256-1268, 2015.
- BORGES, F. A. **Natural rubber latex coated with calcium phosphate for biomedical application**. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, v. 26, p. 1-10, 2015.
- BROUGHTON, E. A. **A brief history of wound care**. *Plastic and Reconstructive Surgery*, v. 117, p. 65-115, jun. 2006.
- CANEVAROLO, J. R. **Ciência dos Polímeros: Um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. São Paulo: Artliber Editora, 2006.
- CAPELLA, S. O. **Avaliações da cicatrização de feridas abertas tratadas com Bixa orellana L**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2015.
- CARVALHO, A. V. et al. **Urucum: Uma fonte de corante natural**. In: *Coletânea do ITAL*, São Paulo, pp. 25-33, 1989. Disponível em: <https://www.ibflorestas.org.br/images/2016/urucum.pdf>. Acesso em: 25 maio 2018.
- CONTINENTAL, M. R. **Laroverket**. 2007. Disponível em: http://laroverket.com/wp-content/uploads/2015/03/rubber_chemistry.pdf. Acesso em: 22 jun. 2019.
- CRYSTAL-IS. 2019. **Glossário**. Disponível em: <http://www.cisuvc.com/ask-an-expert/glossary>. Acesso em: 14 jan. 2020.

CUED. **Materials Data Book**. Cambridge: Cambridge University Engineering Department, 2003.

D'AGOSTINI, S. **Ciclo econômico da borracha – seringueira *Hevea brasiliensis* (HBK)** M. Arg. *Instituto Biológico*, v. 9, p. 6-14, 2013.

DEMIDOVA-RICE, T.; DURHAM, J.; HERMAN, I. **Wound Healing Angiogenesis: Innovations and Challenges in Acute and Chronic Wound Healing**. *Advances in Wound Care*, 2012.

DHIVYA, S. et al. **Wound Dressing: A Review**. *BioMedicine*, novembro de 2015.

FABBROCINI, G. et al. **Acne Scars: Pathogenesis, Classification and Treatment**. *Dermatology Research and Practice*, 2010.

FRANCO, C. F. **Urucuzeiro: agronegócio de corantes naturais**. João Pessoa: EMEPA, SAIA, 2002. 120 p.

G1. **Grupo une látex e barbatimão e cria membrana cicatrizante de R\$ 0,20**. São Carlos, 14 dez. 2016. Disponível em: <http://g1.globo.com/sp/sao-carlos-regiao/noticia/2016/12/grupo-une-latex-e-barbatimao-e-cria-membrana-cicatrizante-de-r-020.html>. Acesso em: 10 jan. 2020.

GALLARDO-CABRERA, C.; ROJAS-BARAHONA, A. **Stability study of an aqueous formulation of the annatto dye**. *International Food Research Journal*, 2015.

GARCIA, C. E. **Carotenoides bixina e norbixina extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) como antioxidantes em produtos cárneos**. *Ciência Rural*, v. 42, 2012.

HERCULANO, R. D. et al. **Natural rubber latex used as drug delivery system in guided bone regeneration**. *Materials Research*, v. 12, pp. 253-256, 2009.

HERCULANO, R. D. **Desenvolvimento de membranas de látex natural para aplicações médicas**. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

HISTORY CHANNEL. **Modern Marvels: Rubber**. 2004. Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=Rnwd9g0XWy8>. Acesso em: 04 jan. 2020.

JOHN, L. **Urucum trata feridas difíceis e queimaduras**. *Conexão Planeta*, 29 set. 2016. Disponível em: <http://conexaoplaneta.com.br/blog/urucum-trata-feridas-dificeis-e-queimaduras/>. Acesso em: 16 jan. 2020

JOHNSON, S. **JCN**. 2015. Disponível em: <https://www.jcn.co.uk>. Acesso em: 26 maio 2018.

JONDIKO, I. J. O.; PATTENDEN, G. **Terpenoids and an apocarotenoid from seeds of *Bixa orellana***. *Phytochemistry*, v. 28, p. 3159-3162, 1989.

KOHJIVA, S.; IKEDA, Y. **Chemistry, Manufacture and Applications of Natural Rubber**. In: E. S. Technology (Ed.). *How Rubber Moved to Asia*, 2014.

LAURO, G. J. **Natural Food Colorants: Science and Technology**. CRC Press, 2000.

LIM, T. K. **Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 1, Fruits**. p. 519. 2012.

MAGA, J. **Food Additive Toxicology**. Nova York: Marcel Dekker, 1994.

MANDELBAUM, S. H. **Cicatrização: Conceitos atuais e recursos auxiliares.** *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 78, n. 4, p. 393-410, 2003.

MANSIN, P. P. **Panorama do mercado nacional e internacional de urucum.** Palestra apresentada no Encontro sobre o Agronegócio da Cultura do Urucum, 28 maio 2015. Disponível em: <https://www.ourucum.com.br/mercado?lightbox=dataltm-j078gsyu>. Acesso em: 17 jan. 2020.

FRADE, Marco Andrey Cipriano et al. **Management of Diabetic Skin Wounds with a Natural Latex Biomembrane.** *Medicina Cutânea Ibero-Latino-Americana*, 2004.

MATA, V. E. **Análise de custo minimização do curativo com hidrogel e papaína em clientes com úlcera venosa,** Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

MINATEL, I. O. et al. **Estudo clínico para validação da eficácia de pomada contendo barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) na cicatrização de úlceras de decúbito.** *Revista Brasileira de Medicina*, v. 67, pp. 250-256, 2010.

MINISTÉRIO DA CULTURA. **A Carta de Pero Vaz de Caminha.** Disponível em: http://objdigital.bn.br/Acervo_Digital/livros_eletronicos/carta.pdf. Acesso em: 10 jan. 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Avaliação de Múltiplas Tecnologias em Feridas Crônicas e Queimaduras.** Parecer Técnico-Científico. Maio de 2011.

MOHAN, S. **Vibrational spectra of cis-1,4-polyisoprene.** *The Arabian Journal for Science and Engineering*, v. 29, 2015.

MOOIBROEK, H.; CORNISH, K. **Alternative sources of natural rubber.** *Applied Microbiology and Biotechnology*, p. 355-365, 2000.

NIIR BOARD OF CONSULTANTS AND ENGINEERS. **The Complete Book on Spices & Condiments with Cultivation, Processing & Uses.** PA: NIIR Project Consultancy Services, 2006.

PATÍÑO, V. M. **Plantas cultivadas em América Equinoccial.** Cali: Imprenta Departamental de Cali, 1967. p. 210-213.

PÉREZ, H. C. L.; GONZÁLEZ, G. M. **The *Bixa orellana* L. in treatment of stomatology affections: a subject that hasn't studied yet.** *Revista Cubana de Farmacia*, p. 231-244, 2010.

PRINZÓN-GARCIA, H. et al. **Efficient cutaneous wound healing using bixin-loaded PCL nanofibers in diabetic mice.** *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 2017.

PRIYADARSHAN, P. M. **Biology of Hevea Rubber.** Kerala, 2017.

PUSKAS, J. E. (Ed.). **Chemistry, Manufacture and Applications of Natural Rubber.** 2014.

REIS, Arthur Cezar Ferreira. **O Seringal e o seringueiro.** Ilustração Percy Lau. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, *Serviço de Informação Agrícola*, 1953. 149 p.: il.

RURAL, G. **Revista Globo Rural**. 17 jun. 2014. Disponível em: <https://revistagloborural.globo.com/Noticias/Agricultura/noticia/2014/06/brasil-produz- apenas-35-da-demanda-nacional-por-borracha-natural.html>. Acesso em: 28 jul. 2019.

SANTOS, J. A. A.; SOUSA, M. F. A. M.; SILVA, E. L. V.; AGUIAR JÚNIOR, F. C. A. **Avaliação histomorfométrica do efeito do extrato aquoso de urucum (norbixina) no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos**. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, Campinas, v. 16, n. 3, supl. I, p. 637-643, 2014.

SILVA, Pollyanna Ibrahim; NACHTIGALL, Aline Manke; STRINGHETA, Paulo César. **Fatores que influenciam a reação de saponificação dos carotenoides presentes no urucum (*Bixa orellana* L.)**. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 1892-1897, 2009.

SILVA, M. L. **Extração de corantes de urucum (*Bixa orellana* L.) utilizando sistema de recirculação de solventes**. Orientadores: Lênio José Guerreiro de Faria. 2006. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Centro Tecnológico, Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Belém.

SIMON, P. **Skin Wound Healing**. Disponível em: <http://emedicine.medscape.com/article/884594-overview#a1>. Acesso em: 8 jul. 2019.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Agriculture in the Americas**. Stanford, 1945.

UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. **USP 29 Chapter 29**. 2006.

VASU, S. **Microwave facilitated extraction of bixin from *Bixa orellana* and its in-vitro antioxidant activity**. *Der Pharmacia Lettre*, p. 479-485, 2010.

VELNAR, T.; et al. **The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms**. *Journal of International Medical Research*, v. 37, 2009.

VIDEObLOCKS. **Milky latex extracted from tapped rubber tree (*Hevea brasiliensis*) as a source of natural rubber**. 2018. Disponível em: <https://www.videoblocks.com/video/milky-latex-extracted-from-tapped-rubber-tree-hevea-brasiliensis-as-a-source-of-natural-rubber-hflez0kqis7iqmrm>. Acesso em: 07 jul. 2019.

ZANCANELLA, D. C. et al. **Natural rubber latex membranes incorporated with three different types of propolis: Physical-chemistry and antimicrobial behaviours**. *Materials Science and Engineering*, v. 97, p. 578-582, 2019.

ZIĘBA-PALUS, J. **The usefulness of infrared spectroscopy in examinations of adhesive tapes for forensic purposes**. *Forensic Science and Criminology*, 2017.