

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS – UFSCar
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

ANA GABRIELI LEMOS

Desenvolvimento e caracterização de filmes
biopoliméricos contendo vidro bioativo

SOROCABA - SP

2023

UFSCar

CAMPUS SOROCABA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

ANA GABRIELI LEMOS

Desenvolvimento e caracterização de filmes
biopoliméricos contendo vidro bioativo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, da Universidade Federal de São Carlos, *campus* Sorocaba, para obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Orientação: Prof.^a Dra. Kelly Roberta Francisco Murici de Paula.

SOROCABA - SP

2023

ANA GABRIELLI LEMOS

Lemos, Ana Gabrielli

Desenvolvimento e caracterização de filmes
biopoliméricos contendo vidro bioativo / Ana Gabrielli
Lemos -- 2023.
61f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São
Carlos, campus Sorocaba, Sorocaba
Orientador (a): Kelly Roberta Francisco Murici de Paula
Banca Examinadora: Adriano Lopes de Souza, Rafael
César Russo Chagas
Bibliografia

1. Zeína. 2. Periodontite. 3. Biovidro. I. Lemos, Ana
Gabrielli. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Maria Aparecida de Lourdes Mariano -
CRB/8 6979



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências e Tecnologias Para a Sustentabilidade
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Ana Gabrielli Lemos, realizada em 28/03/2023.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Kelly Roberta Francisco Muruci de Paula (UFSCar)

Prof. Dr. Adriano Lopes de Souza (UFSCar)

Prof. Dr. Rafael Cesar Russo Chagas (UFSJ)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais.

Aos meus pais, Sandra Ramos e Carlos Lemos, especialmente minha mãe, pelo apoio incondicional, aporte, amor e carinho.

A todas as pessoas incríveis que me motivaram e ajudaram durante minha passagem pela UFSCar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por minha vida e por traçar os caminhos que me trouxeram até aqui.

Aos meus pais, que além de me incentivar desde o princípio, investiram em mim seu tempo, determinação e amor incondicional tornando possível a concretização desse sonho.

À minha família por toda a dedicação e paciência contribuindo diretamente com o sucesso dessa trajetória. Especialmente à minha avó Aparecida Ramos, que sempre me deu todo carinho, amor e assistência para que chegasse até aqui, obrigada pela ajuda com os jalecos mais impecáveis que eu já vi até hoje.

À Universidade Federal de São Carlos, direção, administração, ao campus por terem me dado a chance de pertencer a essa instituição e por terem fornecido as ferramentas que me permitiram chegar com sucesso ao final dessa etapa.

A minha professora e orientadora Kelly Roberta Francisco Murici de Paula, que continua me incentivando desde a graduação. Agradeço a paciência, cuidado, atenção, tempos de qualidade, conselhos, correções, por toda disposição em me ajudar em todas as situações que precisei, e principalmente, por acreditar em mim e me incentivar a alçar longos voos.

A minha colega de graduação e mestrado, Julia Helena, por todo o suporte, incentivo e parceria.

Aos técnicos responsáveis pelo laboratório de ensino, principalmente ao Humberto e Yves por toda a ajuda, ensinamentos e suporte, os quais foram essenciais para a realização deste trabalho.

À empresa Buntech, por todo o apoio durante o curso e pela oportunidade de realizar o trabalho com equipamentos disponibilizados pelo laboratório, além de todo o apoio e auxílio sempre que se fez necessário.

“Porque sou eu que conheço os planos que tenho para vocês, diz o Senhor, planos de fazê-los prosperar e não de causar dano, planos de dar a vocês esperança e um futuro.”

Jeremias 29:11.

RESUMO

As cáries dentais e a doença periodontal são consideradas os problemas globais mais frequentes, que acometem a saúde oral humana. Porém nos casos de periodontite, a resposta imunológica e inflamatória exacerbada do próprio organismo é, em grande parte, responsável pela destruição do ligamento periodontal e osso de sustentação. Assim, a abordagem terapêutica no que diz respeito à minimização dos danos aos tecidos, bem como sua recuperação pode ser considerada tão relevante quanto combater os microrganismos causadores da doença. Um material promissor para essa aplicação é o vidro bioativo (biovidro) que tem se mostrado um excelente osteoindutor e eficiente na inibição de alguns microrganismos. Visando o restabelecimento dos tecidos periodontais, o presente trabalho desenvolveu um sistema de liberação filmógeno contendo biovidro e permitindo sua liberação prolongada. Foi selecionado como material principal para formação do filme a zeína, uma proteína hidrofóbica obtida a partir do milho. O vidro bioativo, quando em contato com fluidos biológicos, forma uma camada similar à hidroxiapatita, que é responsável pela ligação ao osso. Apresenta, ainda, capacidade osteoindutora, de ligação a tecidos moles e atividade antibacteriana devido ao alto pH resultante da liberação de íons. Os resultados apontam que a matriz obtida é estável e os precursores apresentaram sinergia na formação do filme. Com a incorporação do biovidro, o material ficou ainda mais homogêneo e com morfologia mais regular. Os ensaios de liberação indicaram que o biovidro apresentou atividade de liberação iônica, portanto foi liberado no fluido biológico simulado.

Palavras-chave: periodontite, zeína, biovidro, compósito.

ABSTRACT

Dental caries and periodontal disease are considered the most frequent global problems that affect human oral health. However, in cases of periodontitis, the exacerbated immune and inflammatory response of the organism itself is largely responsible for the destruction of the periodontal ligament and supporting bone. Thus, the therapeutic approach regarding the minimization of tissue damage, as well as their recovery, can be considered as relevant as combating the disease-causing microorganisms. A promising material for this application is bioactive glass (bioactive glass), which has been shown to be an excellent osteoinducer and efficient in inhibiting some microorganisms. In order to restore periodontal tissues, the present work developed a film-forming delivery system containing bioactive glass and allowing its prolonged release. Zein, a hydrophobic protein obtained from corn, was selected as the main material for film formation. When bioactive glass meets biological fluids, it forms a layer similar to hydroxyapatite, which is responsible for binding to bone. It also has osteoinductive capacity, soft tissue binding and antibacterial activity due to the high pH resulting from ion release. The results indicate that the obtained matrix is stable, and the precursors presented synergy in the film formation. With the incorporation of bioactive glass, the material became even more homogeneous and with more regular morphology. The release assays indicated that bioactive glass exhibited ion release activity and was therefore released in the simulated biological fluid.

Keywords: periodontitis, zein, bioactive glass, composite.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema das redes inorgânicas e orgânicas interpenetrantes de um material híbrido. Três nanopartículas da rede contínua de sílica estão destacadas. Adaptado de: JONES, J. R. Review of bioactive glass: From Hench to hybrids. Acta Biomaterialia, v. 9, n. 1, p. 4457–4486, jan. 2013.	23
Figura 2: Classificação dos biopolímeros de acordo com sua origem. Adaptado de: IBRAHIM, S. et al. Biopolymers From Crop Plants. Em: Reference Module in Materials Science and Materials Engineering. Elsevier, 2019.	27
Figura 3: Capacidade global de produção de bioplásticos em 2018 e previsão para os anos seguintes.	28
Figura 4: Capacidade global de produção de bioplásticos em 2021 e previsão para os anos seguintes.	29
Figura 5: Estrutura química da hidroxipropilcelulose (HPC).	32
Figura 6: representação esquemática do preparo dos filmes.	36
Figura 7: Filmes formados por zeína e HPC com e sem a adição de PEG e biovidro.	39
Figura 8: Espectro na região do infravermelho de zeína e HPC, precursores dos biofilmes. ...	41
Figura 9: Espectro na região do infravermelho dos filmes de composição A (4,2% zeína e 1,8% HPC) e B (3,6% zeína e 2,4% HPC).	42
Figura 10: Espectro na região do infravermelho dos filmes de composição A (4,2% zeína e 1,8% HPC) com adição de plastificante PEG e Biovidro.	43
Figura 11: Espectro na região do infravermelho dos filmes de composição B (3,6% zeína e 2,4% HPC) com adição de plastificante PEG e Biovidro.	44
Figura 12: Difratoograma dos precursores dos filmes, (A) zeína e (B) hidroxipropilcelulose (HPC).	45
Figura 13: Difratoograma dos filmes de composição A (4,2% zeína e 1,8% HPC) e B (3,6% zeína e 2,4% HPC).	45
Figura 14: Difratoograma dos filmes de composição A (4,2% zeína e 1,8% HPC).	46
Figura 15: Difratoograma dos filmes de composição B (3,6% zeína e 2,4% HPC).	47
Figura 16: Curvas de DSC dos filmes A e B com e sem a adição de PEG e biovidro.	47
Figura 17: Micrografias dos filmes de composição A (4,2% zeína e 1,8% HPC) e composição B (3,6% zeína e 2,4% HPC) nos aumentos de 500x e 2000x.	50
Figura 18: Micrografias dos filmes de composição A (4,2% zeína e 1,8% HPC) com acréscimo de PEG e biovidro.	51

Figura 19: Micrografias dos filmes de composição B (3,6% zeína e 2,4% HPC) com acréscimo de PEG e biovidro.	52
Figura 20: Gráfico com os resultados de concentração de Ca^{2+} em solução, ao longo de 24h para os filmes A-PEG-BV e B-PEG-BV.....	53
Figura 21: Fotografias da parte superior e inferior dos filmes de composição A-PEG-BV e B-PEG-BV.....	55

LISTA DE SIGLAS

HPC – Hidroxipropilcelulose

PEG – Polietilenoglicol

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

PG – Propilenoglicol

DRX – Difração de Raios-X

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

FTIR – Infravermelho por Transformada de Fourier

pH – Potencial hidrogeniônico

rpm – Rotação por minuto

Tg – Transição Vítrea

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1. <i>Periodontite</i>	16
2.2. <i>Vidro bioativo</i>	18
2.3. <i>Compósitos</i>	23
2.4. <i>Biopolímeros</i>	26
2.5. <i>Zeína</i>	30
2.6. <i>Hidroxipropilcelulose</i>	32
3. OBJETIVOS.....	33
3.1. <i>Objetivo Geral</i>	33
3.2. <i>Objetivos Específicos</i>	33
4. METODOLOGIA	34
4.1 <i>Preparo das dispersões poliméricas</i>	34
4.2 <i>Preparo da dispersão de vidro bioativo</i>	34
4.3 <i>Obtenção dos filmes</i>	35
4.4 <i>Ângulo de Contato</i>	36
4.5 <i>Espectroscopia de Absorção na região do Infravermelho (FTIR)</i>	36
4.6 <i>Difração de Raios-X (DRX)</i>	36
4.7 <i>Calorimetria Exploratório Diferencial (DSC)</i>	37
4.8 <i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	37
4.9 <i>Ensaio de Liberação do Biovidro</i>	37
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1 <i>Ângulo do contato</i>	38
5.2 <i>Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FTIR)</i>	40
5.3 <i>Difração de Raios-X (DRX)</i>	44

5.4	<i>Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)</i>	47
5.5	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	49
5.6	<i>Ensaio de liberação e quantificação de cálcio</i>	52
6.	CONCLUSÃO	56
7.	REFERÊNCIAS	57

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, projetos de pesquisa envolvendo o desenvolvimento de materiais avançados, como os de fácil degradação no meio ambiente visando desenvolvimento sustentável, têm sido fomentados pelo Governo Federal, devido ao potencial de desenvolvimento econômico e social do país (BRASIL, 2021). Porém, muitas vezes justamente por conta das propriedades buscadas, os materiais desenvolvidos têm o desafio de performar bem em propriedades mecânicas, boa durabilidade, entre outros aspectos que algumas vezes são inferiores aos materiais poliméricos provenientes de origem fóssil (YU et al., 2006). Com os avanços recentes na ciência, tem havido um grande investimento em pesquisas que busquem alternativas para síntese de polímeros biodegradáveis a partir de matérias primas naturais, ou ainda, obtenção de biomateriais provenientes de macromoléculas como a classe dos carboidratos, proteínas, entre outros (YU et al., 2006; RIBEIRO, 2014).

Dentre esses materiais, se destaca a zeína, uma proteína encontrada no milho e que é responsável por sua maior composição proteica, sendo encontrada especificamente no endosperma desse vegetal (TAVARES, 2010). Ela se tornou um material de grande importância na área acadêmica e setores da indústria, sendo uma das bases de estudo do presente trabalho. Suas propriedades singulares, como a alta afinidade com álcool e alta solubilidade, além do hidrofobicidade e possibilidade de obtenção de filmes com propriedades modificáveis de acordo com as blendas realizadas, biocompatibilidade e não-toxicidade, faz com que esse material seja versátil na produção de biofilmes com aplicações em materiais voltados à área médica, área de embalagem, revestimento e demais aplicações (TAVARES, 2010). No entanto, sabe-se pelos estudos já realizados que, independentemente da proporção de mistura entre zeína e solvente, os filmes obtidos são extremamente frágeis, o que dificulta a aplicação nas áreas mencionadas anteriormente (TAVARES, 2010). Portanto, se faz necessária a adição de plastificantes e preparo de mistura (*blend*) com demais biopolímeros formadores de filmes flexíveis, como polietilenoglicol (PEG), propilenoglicol (PG) e hidroxipropilcelulose (HPC), respectivamente. Portanto, no presente trabalho, além da zeína, também foi utilizado PEG e HPC, buscando proporcionar flexibilidade e resistência mecânica aos materiais de interesse (FORATO et al., 2016).

Alguns estudos (VILLAÇA, et al. 2005; CROVACE et al., 2016; GABBAI-ARMELIN, 2015; TIRAPELLI, 2011; HUANG, 2017) apontam que o biovidro possui capacidade osteoindutora, além de ser biocompatível e apresentar efeito bactericida, sendo relevante e indispensável o aprofundamento em tais parâmetros no presente estudo. Em vista disto, o

presente trabalho visa encontrar uma composição biopolimérica a base de proteína e celulose modificada, além de plastificantes, que consigam sustentar o biovidro, tornando possível sua aplicação no tratamento de doenças bucais.

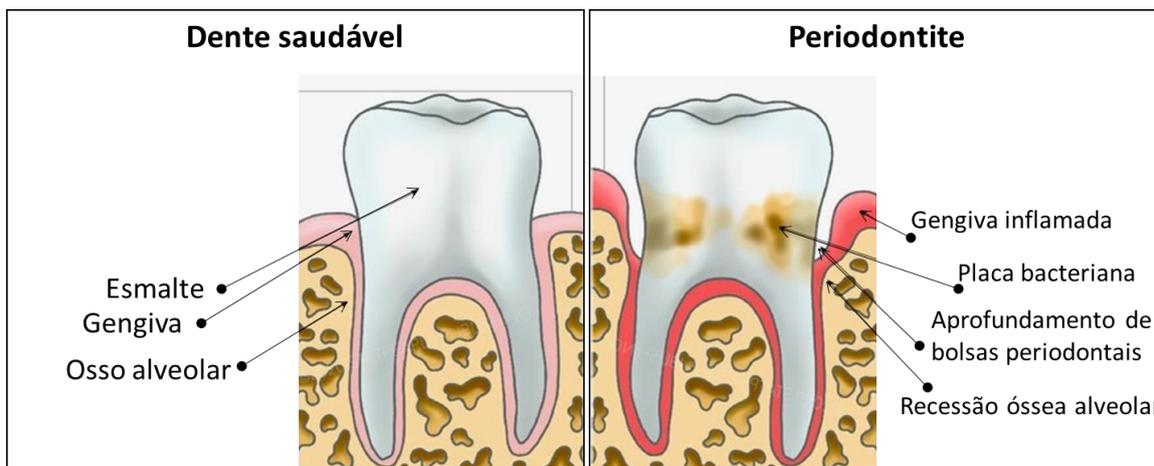
Dentre os estudos já desenvolvidos, é recorrente encontrar trabalhos que se dediquem a compreensão do comportamento físico-químico da zeína ou da HPC como matriz polimérica de interesse para obtenção de novos materiais, entretanto não há estudos que direcionem suas pesquisas para a formação de compósitos com o biovidro, disponibilizando esse material em forma de filme. Portanto, o presente trabalho tem priorizado a compreensão e análise das propriedades destes novos materiais gerados, além de propor o uso de biovidro para obtenção de compósitos com propriedades mais satisfatórias do ponto de vista térmico, mecânico e morfológico. Neste contexto, a produção de compósitos e blendas com alto valor agregado, provenientes de fontes sustentáveis, renováveis e abundantes, são estratégicas, não apenas do ponto de vista econômico e tecnológico, mas também do ponto de vista ambiental (LUECHA et al., 2010; COLETTA, et al., 2013).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Periodontite

A periodontite é uma condição inflamatória crônica que afeta o tecido periodontal e pode levar à perda óssea e dentária (STEFFENS; MARCANTONIO, 2018). No Brasil, essa doença é uma das principais causas de perda dentária em adultos. De acordo última pesquisa epidemiológica nacional realizada pelo Ministério da Saúde em 2010 (BRASIL, 2012), a periodontite afeta cerca de 50% dos adultos brasileiros com mais de 35 anos de idade, uma proporção considerável e preocupante. Além disso, a pesquisa revelou que fatores de risco como idade, baixa renda, baixa escolaridade, falta de acesso a serviços de saúde bucal e tabagismo estavam associados a uma maior prevalência e gravidade das doenças bucais (BRASIL, 2012).

Figura 1: Ilustração comparativa entre dente saudável e com periodontite - adaptado de (MEHROTRA; SINGH, 2023).



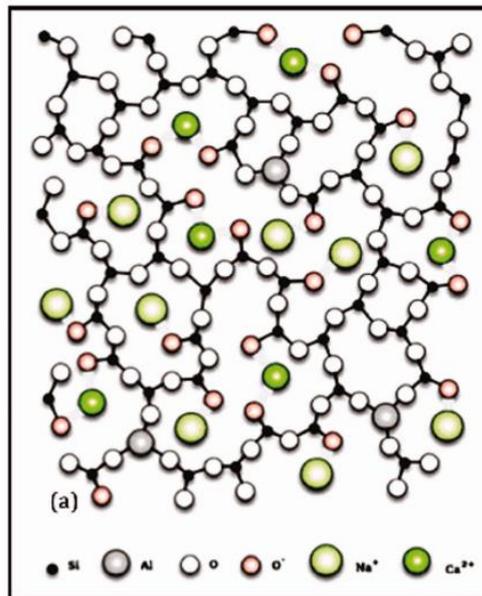
O tratamento convencional da periodontite inclui a raspagem e alisamento radicular, um procedimento realizado pelo dentista que tem como objetivo remover a placa bacteriana e o tártaro das raízes dentárias (CUGINI et al., 2000; LINDHE; LANG; KARRING, 2010). Esse tratamento pode ser eficaz para controlar a progressão da doença em casos leves a moderados. No entanto, em casos graves de periodontite, ou casos que apresentam recaídas após tratamento convencional, pode ser necessário um tratamento adicional para promover a regeneração óssea, reparar o dano causado pela doença, destruir a placa bacteriana causadora da doença ou diminuir a inflamação local (BELLIA; RUGGIERO; NICOLÒ, 2020; O'LEARY, 1986; CARUSO et al., 2008). Para efetivamente gerenciar a periodontite, o tratamento escolhido deve visar controlar as fases de atividade da doença, porém com a abordagem menos invasiva e mais direta possível (BELLIA; RUGGIERO; NICOLÒ, 2020). Nesse sentido, o uso do vidro bioativo se destaca como uma opção promissora para o tratamento de periodontite (NICHOLSON, 2022). O vidro bioativo é um material capaz de liberar íons que estimulam a regeneração óssea e possui propriedades antimicrobianas que ajudam a combater as bactérias que causam a doença (WILLIAMS, 2022; ALLAN; NEWMAN; WILSON, 2001; FERRANDO; PART; BAEZA, 2017). Portanto, o uso de compósitos de vidro bioativo pode ser uma estratégia terapêutica adicional, que contribui para um melhor controle da doença e melhora da saúde bucal dos pacientes.

No cenário do país e tendo como base os dados mais recentes disponíveis sobre a periodontite na população brasileira (BRASIL, 2012), é interessante que as alternativas para tratamento da periodontite sejam de baixo custo, uma vez que a prevalência da doença esteja associada a fatores de risco como baixa renda.

2.2. Vidro bioativo

Nos anos 70, o Prof. Hench revolucionou o campo da pesquisa com biomateriais ao desenvolver um material que apresentava alta biocompatibilidade e formava uma camada de hidroxiapatita fisicamente e quimicamente equivalente aos minerais da estrutura óssea, hoje conhecido como biovidro (HUANG, 2017). O vidro é um material amorfo, que possui uma estrutura desordenada de átomos devido ao rápido resfriamento da cerâmica fundida (KALOGERAS; LOBLAND, 2012). Dentro dessa classificação, existem os biovidros, que são uma série de vidros especialmente projetados à base de sílica, que possuem uma rede tridimensional de SiO_2 modificada pela incorporação de Na_2O , CaO e P_2O_5 , conforme Figura 2 (HENCH; JONES, 2015).

Figura 2: Estrutura do Biovidro 45S5 proposta por KAUR et al., 2014.



Ao contrário do vidro tradicional, que é inerte e não interage com tecidos biológicos, o biovidro é projetado para interagir com tecidos vivos e promover o crescimento de um osso novo (SORDI et al., 2022). Sua composição é uma mistura de silício, cálcio e fósforo, que são os mesmos elementos encontrados no tecido ósseo natural. Quando o biovidro é implantado no corpo, ele libera íons que estimulam o crescimento do tecido ósseo e estimulam a formação de uma forte ligação entre o implante e o osso circundante (ALMULHIM et al., 2022). O mecanismo de nucleação e crescimento similar ao osso a partir de apatita foi descrito pela primeira vez por Kokubo (1998). Este mecanismo consiste na troca entre íons Ca^{2+} do biovidro e os íons H_3O^+ da solução de fluido corporal simulado (*simulated body fluid* - SBF). Por sua vez, isso provoca a formação de grupos Si-OH na superfície do biovidro e induz a nucleação e

o crescimento da hidroxiapatita. Numerosos estudos (YAZDANPANAHI et al., 2012; SEPAHVANDI et al., 2011; NEZAFATI et al., 2011) foram realizados com os vidros obtidos pelo método sol-gel. Eles pertencem a diferentes sistemas, como CaO-P₂O₅-SiO₂ e o que os ensaios revelaram foi que a imersão de biovidro em solução de plasma simulado (*simulated body fluid* – SBF) aumenta a concentração de Ca²⁺ e, conseqüentemente, o pH devido à dissolução parcial da rede de sílica. Obviamente, essas mudanças afetam a taxa de formação de apatita e a integração do implante ósseo (YAZDANPANAHI et al., 2012).

As três principais características que distinguem os biovidros dos tradicionais são baseadas em sua composição: (a) teor de SiO₂ menor que 60%, (b) maior teor de Na₂O e CaO e (3) maior relação CaO:P₂O₅ (HENCH, 1991). Essa característica de composições tornam a superfície altamente reativa quando exposta a um meio aquoso, além do teor de sílica influenciar a bioatividade do vidro (CANNIO. et al., 2021). Biovidro de composição entre 42% e 53% de SiO₂ (vidro derivado de fusão) forma rapidamente (em alguns dias) ligação direta ao osso, além de também formar uma ligação aderente aos tecidos moles. Já o biovidro de composição entre 54% e 60% SiO₂ requer de 2 a 4 semanas para aderir ao osso e não tem capacidade de aderir aos tecidos moles. O biovidro com mais de 60% de SiO₂ não se liga a nenhum tecido ósseo vivo (HENCH, 2006). No entanto, dependendo do processamento ao qual esse biovidro é submetido, por exemplo sol-gel, a faixa de composição do vidro bioativo pode ser estendida até 100% de SiO₂ (HUANG, 2017). Os íons solúveis de Si e Ca são biologicamente ativos, e gradualmente vão sendo liberados do biovidro para o meio, sendo capazes de promover osteoindução quando presentes em uma certa proporção, que se encontra na faixa de concentração crítica entre 15 e 30 ppm Si e 60 a 90 ppm de Ca (HENCH, 2009).

O biovidro demonstrou ser uma solução eficaz para a doença periodontal devido à sua capacidade de promover o crescimento ósseo e estimular a regeneração do tecido perdido (NICHOLSON, 2022). Quando o biovidro é implantado na bolsa periodontal, ele libera íons, como cálcio, que estimulam o crescimento de novo tecido ósseo e estimulam a formação de uma forte ligação entre o implante e o osso circundante. Isso pode ajudar a regenerar o tecido danificado na bolsa periodontal e promover a cicatrização da área afetada (SOHRABI et al., 2012). Durante esse processo de troca iônica, os íons de cálcio presentes na superfície do biovidro são trocados por outros íons presentes no fluido do meio em que o material foi exposto, como íons de sódio e fosfato. Esse processo cria um gradiente de concentração, com maior concentração de íons na superfície do biovidro e menor concentração no fluido circundante, assim como o contrário (BINGEL et al., 2015). Os íons liberados também podem ter

propriedades antibacterianas, pela formação de um meio levemente mais alcalino, logo ajuda a eliminar bactérias que causam doenças periodontais (BEGUM et al., 2016; HU et al., 2009; WALTIMO et al., 2007).

Tradicionalmente, o biovidro 45S5 é obtido pelo método de fusão e têmpera, em que uma mistura precursora é fundida em alta temperatura (por exemplo, 1.300°C) e em seguida, resfriada (QAZI et al., 2017). Uma das formas de obtenção do biovidro é síntese sol-gel, que envolve a transformação de um sol (suspensão de partículas coloidais) em um gel (rede tridimensional interconectada). É uma abordagem que trabalha em uma faixa de temperatura relativamente baixa, comparada a fusão (sol-gel: 500 a 700°C) (PEREIRA et al., 2012), formando uma rede inorgânica de sílica ligada covalentemente que pode ser seca e aquecida para produzir vidros com alta pureza (HUANG, 2017). Outra forma de obtenção do biovidro é na forma de fibra, e pode ser produzido pelo método de fiação por fusão (eletrofiação), que resulta um diâmetro da fibra que é geralmente em escala micrométrica (por exemplo, dezenas a centenas de micrômetros). A eletrofiação é a técnica capaz de produzir diversas fibras poliméricas na faixa de 10 a 1000 nm, e tem sido aplicada para produzir fibras de vidro bioativas em micro e nano escala, utilizando o vidro sol-gel como precursor (KIM; KIM; KNOWLES; 2006). Uma das vantagens de obter biovidro em escala nanométrica, é que sua atividade antimicrobiana pode ser otimizada, uma vez que a liberação de íons cálcio e sílica é potencializada, como aponta o estudo in vitro realizado por Waltimo, et al. (2007).

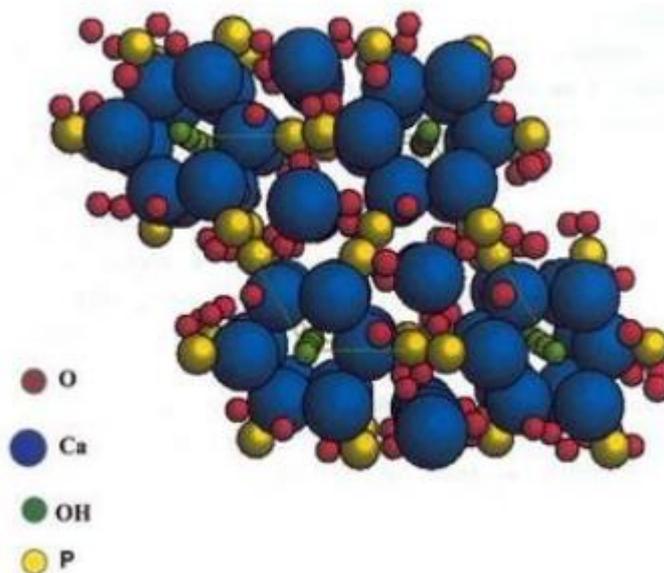
O produto para tratamento de doenças bucais a base de vidro bioativo disponível no mercado internacional, é veiculado na forma de pó (PerioGlas®, Novabone) (“PerioGlas - NovaBone India”, [s.d.]). Entretanto, o material não está disponível no Brasil e apresenta alto custo para importação. Portanto, esse trabalho tem como objetivo explorar as possibilidades de desenvolvimento de material, visando a aplicação no tratamento de periodontite com biovidro disponível em um suporte (filme), visando baixo custo, alta disponibilidade de matérias primas e boas propriedades de liberação do ativo.

Em geral, as vantagens dos vidros bioativos são a velocidade de sua reatividade superficial e a capacidade de se ligar a uma variedade de tecidos, simplesmente alterando sua composição química, como comentado anteriormente. A principal desvantagem são suas propriedades mecânicas - resistência e tenacidade relativamente baixa (RIZWAN; HAMDI; BASIRUN, 2017; FERNANDES et al., 2018).

O vidro bioativo que será avaliado neste trabalho foi desenvolvido pelo grupo do Dr. Edgar Zanotto, do Laboratório de Materiais Vítreos (LaMaV) do DEMa, Universidade Federal de São Carlos (VILLAÇA, et al. 2005). Trata-se de um material modificado em relação à composição original dos primeiros vidros bioativos, é uma cerâmica vítrea do sistema $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5$. Com as modificações realizadas, foi possível obter melhora de propriedades mecânicas e aumento da porosidade e solubilidade. O material está sendo estudado por uma rede de pesquisadores (Biomaterials Research and Technology Network – Bionetec), e já foram realizados testes in vitro, in vivo (CROVACE et al., 2016) e clínicos, incluindo cito e genotoxicidade in vitro (GABBAI-ARMELIN, 2015). e histocompatibilidade in vivo (TIRAPELLI, 2011), o que fornece indicativos de segurança do material (FAPESP, 2016).

A camada de hidroxiapatita se forma na superfície de materiais bioativos mediante a ocorrência de reações no próprio material, sendo que sua velocidade aumenta proporcionalmente ao nível de bioatividade, conforme relatou Peitl et al. (2001).

Figura 3: Representação esquemática da estrutura da hidroxiapatita (BRASIL et al., 2015).



Essas reações foram resumidas por Bellon (2012) em cinco fases, apresentados a seguir:

Fase I: Rápida troca de Na^+ ou K^+ com H_3O^+ da solução;

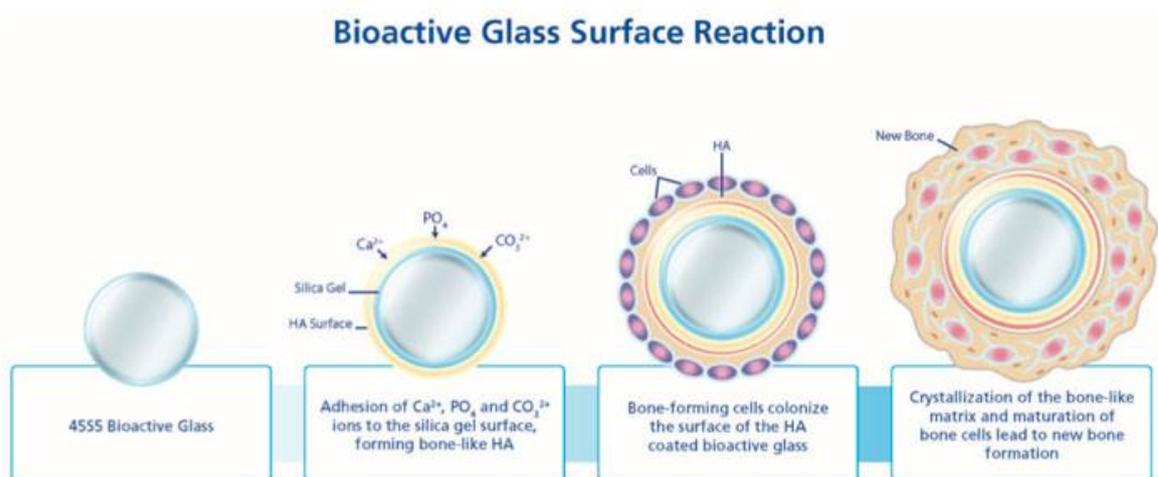
Fase II: Perda da sílica solúvel na forma de Si(OH)_4 para a solução, que é o resultado da quebra das ligações Si-O-Si e formação de Si-OH (silanóis) na interface entre o vidro e a solução;

Fase III: Condensação e re-polimerização da camada com SiO_2 em abundância na superfície que é esgotada em álcalis e cátions de alcalinos;

Fase IV: Migração de Ca^{2+} e PO_4^{3-} para a camada rica em SiO_2 formando um filme com $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ sobre essa superfície, seguido do crescimento de um filme amorfo rico em $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ pela incorporação de cálcio solúvel e fosfato da solução.

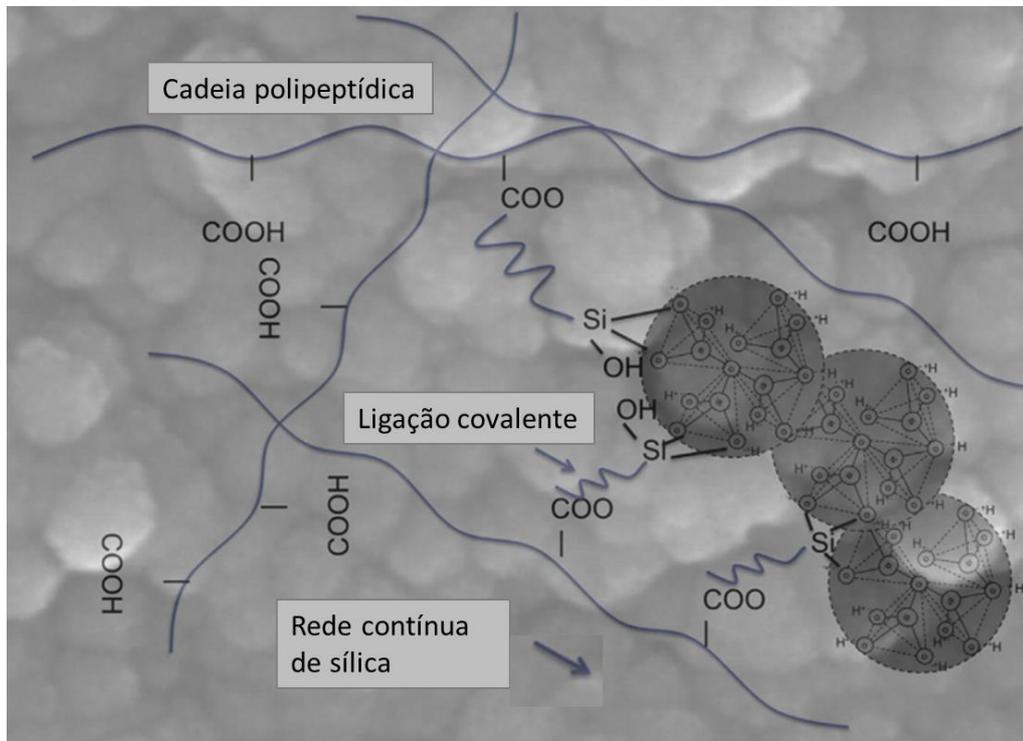
Fase V: Cristalização do filme amorfo de $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ pela incorporação de OH^- , CO_3^{2-} da solução para formar uma camada mista de hidroxiapatita.

Figura 4: Esquema de reatividade do biovidro (YOUNG , 2014).



Uma maneira de utilizar ainda mais a alta bioatividade de vidros bioativos é através do desenvolvimento de compósitos, como revestimento bioativo em implantes metálicos mecanicamente fortes, mas bioinertes (PAITAL; DAHOTRE, 2009). Isso combina os pontos fortes de ambos os materiais, ou seja, alta bioatividade do revestimento biocerâmico e excelente resistência mecânica dos implantes metálicos. Para melhorar as propriedades mecânicas do biovidro, materiais híbridos orgânico-inorgânicos foram sintetizados combinando componentes inorgânicos e orgânicos com interações em escala molecular, como mostra a imagem abaixo. Um híbrido é diferente de um compósito (uma combinação de dois ou mais componentes distinguíveis); seus componentes são indistinguíveis no nível sub-micrométrico. No próximo tópico, serão apresentadas as vantagens da obtenção de compósitos com biovidro e biopolímeros.

Figura 5: Esquema das redes inorgânicas e orgânicas interpenetrantes de um material híbrido. Três nanopartículas da rede contínua de sílica estão destacadas. Adaptado de: JONES, J. R. Review of bioactive glass: From Hench to hybrids. Acta Biomaterialia, v. 9, n. 1, p. 4457–4486, jan. 2013.



2.3. Compósitos

Os compósitos são materiais formados pela união de duas ou mais substâncias diferentes, geralmente com características físicas, químicas e mecânicas distintas (SACHDEVA; SINGH; RHEE, 2021). A combinação dessas substâncias permite a obtenção de novas propriedades que não existem individualmente em cada componente, resultando em um material com características superiores em relação a seus constituintes originais (RAJESWARI; STOBEL CHRISTY; PIUS, 2021). Os compósitos têm sido amplamente utilizados em diversas áreas, desde a construção civil até a indústria aeroespacial (TABASUM et al., 2018).

Dentre essa classe de materiais, se destacam os compósitos a base de biopolímeros, os biocompósitos, que são aqueles que utilizam como matéria-prima substâncias de origem biológica, como amido, celulose, proteínas e ácidos nucleicos (DÍEZ-PASCUAL, 2022). Esses materiais apresentam vantagens em relação aos compósitos tradicionais, pois são biodegradáveis, renováveis e apresentam menor impacto ambiental (GOWTHAMAN et al., 2021). Os biocompósitos têm sido estudados com frequência nos últimos anos, devido à sua relevância para a sustentabilidade e para a substituição de materiais plásticos derivados do petróleo. Esses materiais apresentam potencialidades significativas, tais como a obtenção de

materiais mais leves, resistentes e flexíveis, e sua utilização pode contribuir para a redução do impacto ambiental causado por materiais não biodegradáveis (RAJESWARI; STOBEL CHRISTY; PIUS, 2021). Em resumo, os compósitos a base de biopolímeros têm se mostrado como alternativas promissoras para a produção de materiais sustentáveis, com menor impacto ambiental e menor pegada de carbono. Esses materiais apresentam características superiores aos materiais tradicionais e tem sido utilizado em diversas aplicações, o que demonstra a importância do estudo e desenvolvimento desses materiais para a indústria e para a sociedade (RAJESWARI; STOBEL CHRISTY; PIUS, 2021).

Em aplicações de liberação controlada, os compósitos podem ser utilizados devido à sua capacidade de proporcionar uma liberação gradual e controlada de substâncias ativas. Isso ocorre porque os compósitos podem ser projetados com uma matriz polimérica que possui porosidade controlada, o que permite que as substâncias ativas sejam gradualmente liberadas ao longo do tempo (HELLER, 1980; SHEIKH et al., 2015).

Dias et. al. desenvolveram um filme compósito de quitosana e polivinilpirrolidona (PVP) para liberação sustentada de vidro bioativo, entretanto, em função da alta hidrossolubilidade dos polímeros, foi necessário a reticulação com glutaraldeído (DIAS et al., 2011). No trabalho desenvolvido por Dias et al. (2011) o filme formado por 23% de vidro bioativo possibilitou a formação da camada de hidroxiapatita já no primeiro dia de avaliação, evoluindo até o 28º dia.

O estudo realizado por Soubhagya et al. (2022) relata a síntese e caracterização de filmes compostos por quitosana-carboximetil-pululano e biovidro para uso em cicatrização de feridas. Os resultados mostraram que os filmes compósitos possuem propriedades mecânicas e de barreira adequadas, além de atividade antimicrobiana contra bactérias comuns em feridas, efeito provocado pela presença do vidro bioativo. Os autores concluíram que os filmes compostos têm potencial para serem usados como curativos em aplicações clínicas devido ao ganho de propriedades mecânicas e boa interação da matriz com o biovidro. Porém nesse trabalho, não foi avaliado o potencial para uso no tratamento de periodontite, ou visando essa aplicação.

Misra et al. (2007) desenvolveram e caracterizaram um compósito biodegradável a base de poli(3-hidroxiбутirato) (PHB) e biovidro, voltado para aplicação em engenharia de tecidos e regeneração óssea. Os resultados mostraram que a adição de biovidro melhorou as propriedades mecânicas e a biocompatibilidade do PHB, além de aumentar a formação de apatita e a proliferação de células ósseas. Como conclusão do trabalho, os autores afirmaram que o

compósito de PHB/biovidro é uma opção promissora para ser usada como implante ósseo biodegradável.

Embora menos explorados, já existem estudos que avaliam o uso de proteínas como zeína para formação de compósitos com biovidro. Wang et al. (2018) fabricaram *scaffolds* (suportes) de compósito de zeína/biovidro usando um método de liofilização. Os suportes foram então caracterizados por suas propriedades mecânicas, biodegradabilidade e capacidade de sustentar o crescimento de células ósseas. Os resultados mostraram que os *scaffolds* (suportes) de compósito de zeína/biovidro apresentavam boas propriedades mecânicas, eram biodegradáveis e suportavam o crescimento de células ósseas, tendo potencial para uso em aplicações de engenharia de tecido ósseo.

Outro estudo que também combina zeína e biovidro, foi desenvolvido por Ahmed et al. (2020) e tinha como objetivo avaliar a deposição de vidro bioativo 45S5 e zeína via deposição eletroforética (DE) em substratos de magnésio (Mg) puro pré-tratados para controlar a rápida degradação do magnésio e melhorar as propriedades bioativas dos implantes de Mg. Inicialmente, os parâmetros de DE foram otimizados em aço inoxidável e, em seguida, os parâmetros de DE ideais foram aplicados para obter revestimentos compósitos de zeína/vidro bioativo em substratos de Mg. A cinética do processo de DE foi estudada plotando o gráfico entre a densidade de corrente e o tempo de deposição em tensão aplicada fixa. A morfologia e a composição química (qualitativamente) dos revestimentos obtidos foram estudadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), respectivamente. Os resultados de MEV e FTIR mostraram que tanto a zeína quanto o vidro bioativo foram depositados com sucesso e um filme homogêneo de zeína/vidro bioativo foi formado na superfície do substrato. As medidas de ângulo de contato confirmaram que os revestimentos de zeína/vidro bioativo são adequados para a adesão inicial de proteínas. Portanto, a partir desse trabalho foi possível ter uma melhor compreensão da compatibilidade dessa proteína com o ativo estudado no presente trabalho.

Porém a aplicação mencionada no estudo de Ahmed et al. (2020) não tem tantas correlações com o presente trabalho, diferentemente da pesquisa feita por Naseri et al. (2015) que avaliou a combinação de zeína e biovidro para possível aplicação em engenharia de tecido. A justificativa do estudo é que a aplicação de proteínas de origem vegetal, como a zeína, na engenharia de tecido tem recebido crescente atenção nos últimos anos. Então o estudo teve como objetivo desenvolver novos suportes porosos de zeína/biovidro com melhoria da

bioatividade e propriedades mecânicas adequadas. Através de caracterizações morfológicas e químicas, os pesquisadores confirmaram que os suportes (*scaffolds*) compósitos de zeína-biovidro apresentaram bioatividade aumentada em comparação com o suporte contendo apenas zeína após 14 dias de condicionamento em solução de fluido corporal simulado. Esses resultados sugerem que os suportes compostos têm grande potencial para uso em aplicações de engenharia tecidual óssea em áreas de baixa carga. Embora alguns dos trabalhos apresentem abordagem biomédica, nenhum dos estudos avaliou a combinação de zeína e biovidro para tratamento de periodontite ou visando melhoria das propriedades, obtenção de material estável para possível aplicação em tratamento periodontal (NASERI et al., 2015).

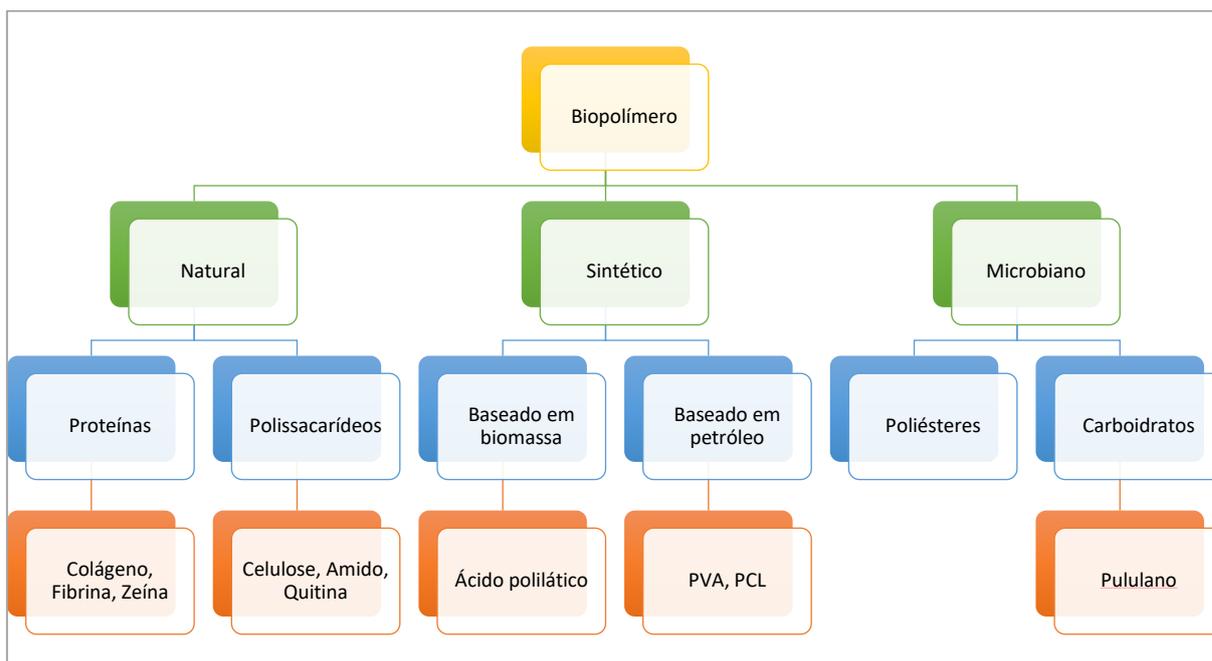
Portanto, visando a obtenção de um material contendo biovidro que possa auxiliar no tratamento da periodontite, por conta das propriedades osteoindutoras e antibacterianas (HUANG et al., 2011), e que apresente biocompatibilidade, boas propriedades mecânicas e muco adesão, o presente trabalho propõe a formulação de um compósito de zeína, hidroxipropilcelulose, plastificante e biovidro, na forma de filme obtido pela técnica de casting.

2.4. Biopolímeros

A preocupação com os problemas ambientais causados pelo uso de polímeros petroquímicos não-degradáveis tem causado um interesse crescente em materiais obtidos a partir de polímeros degradáveis, especialmente biopolímeros obtidos de plantas cultivadas (IBRAHIM et al., 2019). Além disso, essas macromoléculas apresentam propriedades de biocompatibilidade (BENEKE; VILJOEN; HAMMAN, 2009), são bioadesivas, apresentam não-toxicidade (VROMAN; TIGHZERT, 2009), ou seja, são seguras para aplicação oral, além de apresentarem disponibilidade abundante devido a sua origem renovável (NIAOUNAKIS, 2015).

Os biopolímeros podem ser classificados de diversas formas diferentes, uma delas leva em consideração sua origem, e são distinguidos em três tipos de biopolímeros: biopolímeros naturais, sintéticos e microbianos, conforme mostrado na Fig. 1 (VROMAN; TIGHZERT, 2009; IBRAHIM et al., 2019).

Figura 6: Classificação dos biopolímeros de acordo com sua origem. Adaptado de: IBRAHIM, S. et al. Biopolymers From Crop Plants. Em: Reference Module in Materials Science and Materials Engineering. Elsevier, 2019.



Outra característica que pode ser usada para classificar os biopolímeros, é a degradabilidade, diferenciando os polímeros em duas famílias, principalmente, biodegradáveis e não biodegradáveis. Essa classificação vai além da origem do material e é um pouco mais restritiva, afinal, nem todos os polímeros de base biológica são necessariamente biodegradáveis, como é o caso de algumas poliamidas, poliuretanas de origem natural, resinas fenólicas, entre outros (IBRAHIM et al., 2019; NIAOUNAKIS, 2015; VROMAN; TIGHZERT, 2009).

Os biopolímeros oferecem benefícios ambientais por utilizarem recursos de fonte renovável e reduzirem as emissões de gases causadores do efeito estufa. Nos últimos anos, os polímeros naturais, especialmente as plantas cultivadas e commodities estão se tornando cada vez mais utilizados em diferentes aplicações, o que é confirmado pelo número de artigos e patentes recentemente publicados (STANISZ; KLAPISZEWSKI; JESIONOWSKI, 2020; LUTZU et al., 2021; KUČUK et al., 2023). Atualmente, a indústria de biopolímeros está experimentando um crescimento interessante. Alguns aspectos econômicos e ambientais, levam a estudos mais aprofundados sobre os biopolímeros, e nota-se que eles têm se expandido significativamente devido à sua origem biológica e principalmente à sua natureza biodegradável (SUKUMARAN; GOPI, 2021). Os biopolímeros oferecem grandes oportunidades de desenvolvimento em um número significativo de setores industriais: automotivo, embalagens, construção civil, biomédico, esportivo, adesivo, tintas (GOWTHAMAN et al., 2021). De fato, em um mundo

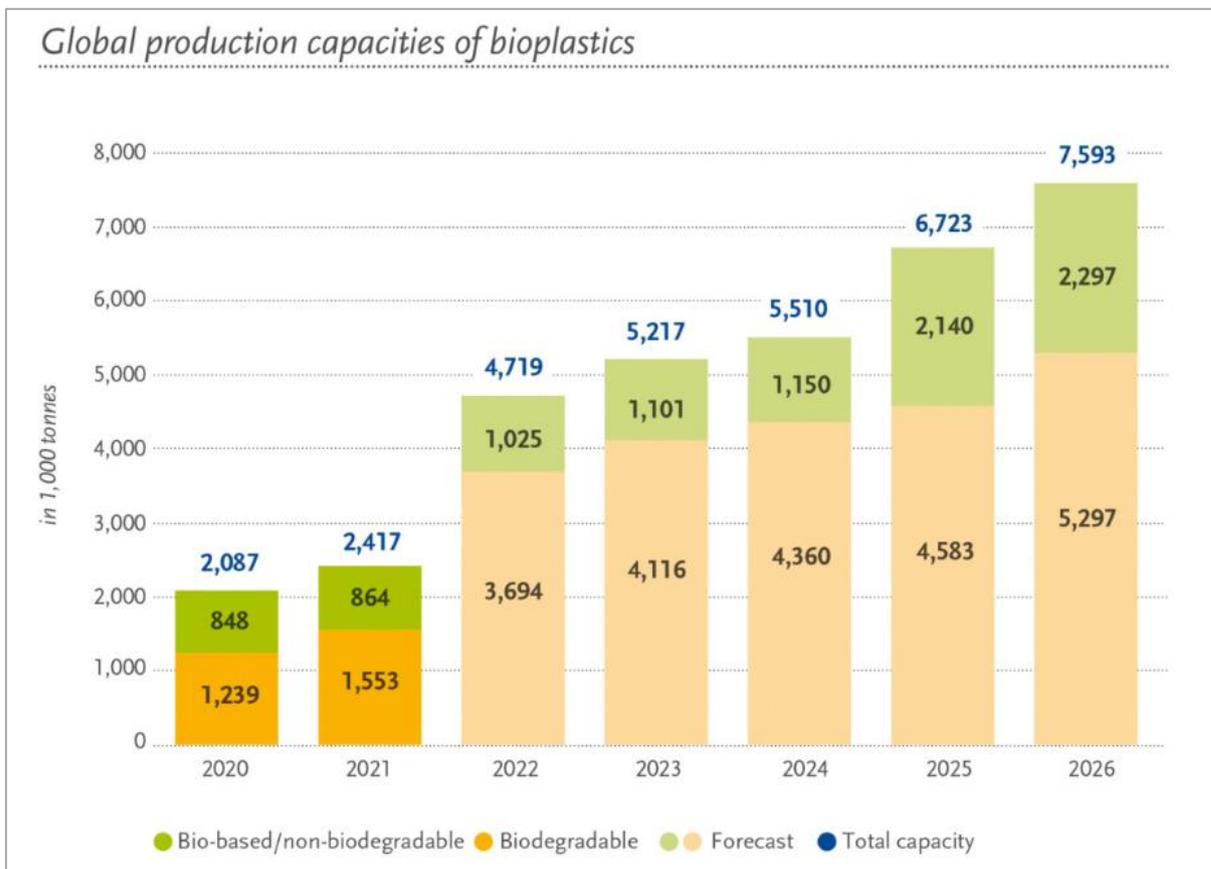
onde os materiais recicláveis ou biodegradáveis estão gradualmente assumindo o controle, os biopolímeros são cada vez mais valorizados. Estimava-se em 2018 que a capacidade global de produção de biopolímeros em 2021 aumentaria de 2,112 milhões de toneladas para aproximadamente 2,205 milhões de toneladas, e em 2023 alcançaria 2,616 milhões de toneladas, conforme apresentado na Figura 7 (European Bioplastics, [s.d.]).

Figura 7: Capacidade global de produção de bioplásticos em 2018 e previsão para os anos seguintes (European Bioplastics, [s.d.]).



Porém, o que se percebe é que a demanda por bioplásticos foi ainda maior que o previsto e na realidade a produção global em 2021 atingiu 2,417 milhões de toneladas e o previsto para 2023 é 5,217 milhões de toneladas (Fig. 3), ou seja, praticamente o dobro da previsão feita há 4 anos atrás, de acordo com os últimos dados de mercado compilados pela European Bioplastics em cooperação com o New-Institute. Portanto, a participação dos bioplásticos na produção de plástico global ultrapassará a marca de dois por cento pela primeira vez (European Bioplastics, [s.d.]).

Figura 8: Capacidade global de produção de bioplásticos em 2021 e previsão para os anos seguintes (European Bioplastics, [s.d.]).



Os biopolímeros são adequados para várias aplicações biomédicas, inclusive algumas nas quais outros polímeros não podem ser utilizados. De fato, os biopolímeros degeram naturalmente no corpo humano, sem produzir quaisquer efeitos colaterais nocivos, por isso são bons candidatos para uso em aplicações médicas e essa característica têm despertado grande interesse nos últimos anos. Eles são usados em diferentes aplicações, como na engenharia de tecidos, sendo utilizados como transportadores farmacêuticos e dispositivos médicos (SIONKOWSKA, 2011; VARMA; GOPI, 2021). A gelatina, por exemplo, é um dos biopolímeros amplamente utilizados na medicina para curar feridas, como adesivo etc. (VARMA; GOPI, 2021). Dentro das aplicações possíveis para os biomateriais, algumas proteínas se sobressaem devido a sua disponibilidade e dentre elas, a zeína tem ganhado destaque por sua capacidade de auto-organização. A zeína tem sido usada na formulação de sistemas de transporte e liberação de ativos em aplicações de biomateriais, incluindo administração oral de medicamentos e nutrientes (PALIWAL; PALAKURTHI, 2014; SUKUMARAN; GOPI, 2021).

2.5. Zeína

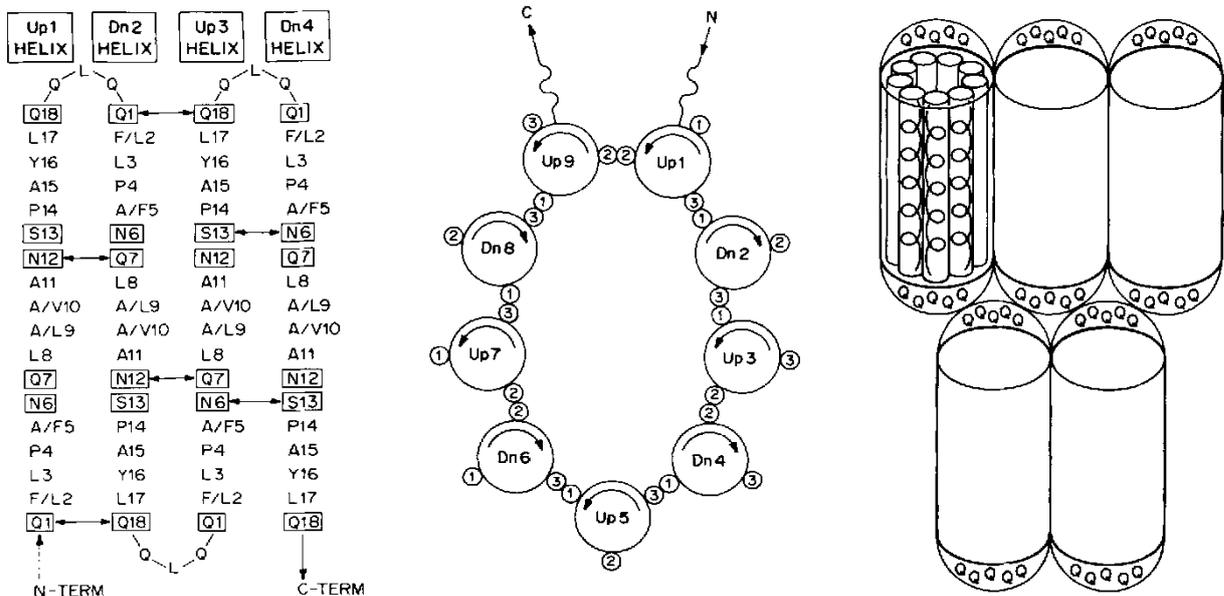
A zeína é uma das principais componentes de milho e corresponde a 60% da proteína total no endosperma, que constitui 82% da massa total do grão de milho (WILSON, 1987; EARLE, et al., 1946). Pesquisas recentes, propõem a aplicação de zeína em diversos produtos, incluindo revestimentos para comprimidos farmacêuticos, revestimento de papel e adesivos. Novas aplicações estão relacionadas à liberação controlada de fármacos, filtração de ar e plásticos biodegradáveis. (FERREIRA, 2022; BAYER, 2021; LIU et al. 2021). A zeína pertence à classe característica de proteínas conhecidas como prolaminas e suas principais propriedades são biodegradabilidade e biocompatibilidade, o que a torna uma boa candidata para uso em diferentes campos, especialmente biomateriais. No passado, a zeína não recebia muita atenção devido ao alto valor do produto. No entanto, com a descoberta de novas aplicações baseadas nessa proteína e alta disponibilidade na indústria por ser um subproduto do processamento de milho e produção de etanol (SINGH et al., 2012), o interesse pelo desenvolvimento de novos materiais tem crescido (PAPALIA e LONDERO, 2015).

Em relação às suas características físico-químicas, a zeína é um pó semicristalino (SHUKLA; CHERYAN, 2001), hidrofóbico devido aos seus aminoácidos apolares (NEDI, et al., 2012) bastante estável abaixo de 200°C sem apresentar sinais de degradação térmica até 320°C (BERARDI et al., 2018). Na classificação das proteínas, a zeína é enquadrada como prolamina, que consiste em uma mistura de polipeptídios. Esses polipeptídios podem ser categorizados com base em seus vários pesos moleculares (WILSON, 1991) e sua solubilidade em soluções contendo 60 a 95% de álcool isopropílico (ESEN, 1986). As três frações primárias da zeína incluem α -zeína, β -zeína e γ -zeína, que representam 75-80%, 10-15% e 5-10% da zeína total, respectivamente (SHUKLA; CHERYAN, 2001). No entanto, γ -zeína é classificada como a segunda fração mais abundante (15-20% do total) por Lawton (2002). Além disso, uma fração menor chamada δ -zeína, também foi identificada. É importante destacar que a zeína comercial consiste principalmente de α -zeína.

A estrutura primária da zeína é rica em ácido glutâmico, leucina, prolina e alanina, mas deficiente em aminoácidos básicos e ácidos (LAWTON, 2002). Como resultado, a zeína é essencialmente hidrofóbica e insolúvel em água devido ao desequilíbrio entre a grande quantidade de aminoácidos hidrofóbicos e não polares e o conteúdo muito limitado de aminoácidos básicos e ácidos. Os polipeptídios mais longos são responsáveis pelas propriedades hidrofóbicas da zeína, conforme ilustrado na Figura 9, enquanto os polipeptídios mais curtos contêm menos aminoácidos não polares e são menos hidrofóbicos (WILSON,

1987). O solvente mais comum utilizado para a zeína é a mistura etanol-água e de acordo os estudos de Augustine e Baianu (1989) a proporção de 70% v/v (etanol/água) apresenta maior solubilidade, no entanto o limite de solubilidade da zeína para essa mistura é 15 mg proteína/ml. Além da solubilidade, outra propriedade há muito tempo reconhecida é sua capacidade de formar filmes (REINERS et al., 1974; FORATO et al., 2012; PAPALIA e LONDERO, 2015). Os filmes formados, geralmente são preparados pela técnica de casting, que consiste na disposição da mistura do solvente com a proteína sobre uma superfície sólida e posterior evaporação do solvente, de maneira que o filme obtido possa ser removido inteiramente do suporte (GENNADIOS e CURTIS, 1990). Entretanto, os filmes de zeína pura são bastante friáveis e, por sua natureza hidrofóbica, com baixa captação de água. Ainda, por ser uma proteína, de estrutura complexa, as condições de processamento do material bem como sua interação/compatibilidade com outros componentes, deve ser cuidadosamente avaliada de modo a se obter filmes homogêneos e com estabilidade satisfatória (ZHANG et al., 2015).

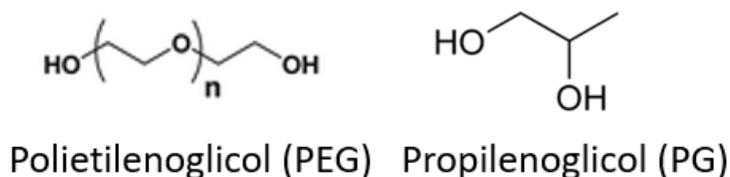
Figura 9: Estrutura proposta por Kim et al. (2004) que ilustra as possíveis interações do tipo ligações de hidrogênio entre grupos polares, conformados em hélices.



Uma estratégia para resolver esse problema, é adicionar plastificantes à formulação dos filmes (NEDI et al., 2012), como propilenoglicol (PG) e polietilenoglicol (PEG) pois estes podem incorporar-se entre as cadeias da proteína e reduzir as interações intermoleculares e intramoleculares das moléculas de polímero, diminuindo assim a temperatura de transição vítrea (Tg) do filme, melhorando também a flexibilidade (MELLAN, 1961). Se for aplicado agitação mecânica vigorosa e calor, é possível que ocorra desnaturação da estrutura hierárquica da zeína e se formem emaranhados moleculares que contribuam para a formação de material

termoplástico (NEDI et al., 2012). Plastificantes, como glicerol e polietilenoglicol, foram avaliados no intuito de aumentar as deformações de tração de filmes de zeína e retardar a formação de trincas, além de formar filmes de maior homogeneidade (EMMAMBUX e STADING, 2007).

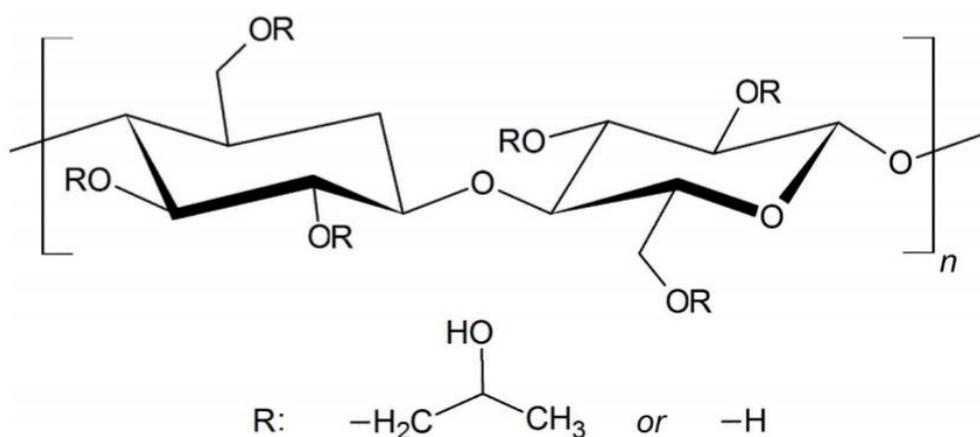
Figura 10: Estrutura do polietilenoglicol (PEG) e propilenoglicol (PG), frequentemente usados como plastificantes. Adaptado de Parshad et al. (2020).



2.6. Hidroxipropilcelulose

A hidroxipropilcelulose (HPC) é um derivado semissintético da celulose, um éter de celulose polimérico, obtido por processo de eterificação da celulose, semirrígido, não carregado, solúvel em água e em vários solventes orgânicos (REHMAN, 2014). O polímero é oficialmente classificado em diferentes farmacopeias (por exemplo, European Pharmacopoeia, United States Pharmacopoeia) e amplamente aplicado para fins farmacêuticos em formas de dosagem oral e tópica (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2009). A estrutura química de HPC é ilustrada na Figura 11.

Figura 11: Estrutura química da hidroxipropilcelulose (HPC).



Na tecnologia farmacêutica, a HPC é usada principalmente como aglutinante de comprimidos, agente de revestimento de filme e formador de matriz de liberação prolongada. O polímero é solúvel em água (abaixo de 38°C) e em solventes orgânicos polares, como etanol,

dioxano, propanol (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2009). Este derivado de celulose tem sido amplamente estudado devido a substituição molecular de grupos hidroxilpropil e pela facilidade de interação quando solubilizado em álcool. Além de bom aglutinante, a hidroxipropilcelulose é conhecida por ser uma boa formadora de filmes. Ela é um polímero solúvel em água que é frequentemente usado como um agente espessante e ligante em formulações de revestimento, como revestimentos de comprimidos farmacêuticos (DAHIYA; SAHA; SHAHIWALA, 2009).

A HPC forma filmes flexíveis e uniformes quando aplicada a uma superfície, proporcionando uma barreira física que pode ajudar a proteger o substrato subjacente. Além disso, a HPC é solúvel em água, o que torna os filmes formados por ela facilmente removíveis por meio de lavagem ou dissolução em água (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2009).

No entanto, é importante notar que as propriedades do filme formado pela HPC podem ser influenciadas por vários fatores, como a concentração da solução de HPC, o tipo de solvente usado, o pH do meio e as condições de secagem. Portanto, é necessário levar em consideração esses fatores ao formular um revestimento com HPC para garantir que o filme formado tenha as propriedades desejadas (DAHIYA; SAHA; SHAHIWALA, 2009).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Esse trabalho teve como principal objetivo desenvolver material, de baixo custo e com aplicação odontológica em potencial, por meio da formação de filmes maleáveis e adesivos a partir das matrizes biopoliméricas de zeína e HPC, com incremento de vidro bioativo e plastificante utilizando o método de secagem *casting*. Foram investigadas as interações intermoleculares estabelecidas entre a matriz e o biovidro, além do perfil de liberação do ativo ao longo do tempo em solução simulada de saliva em ambiente com temperatura controlada.

3.2. Objetivos Específicos

- Preparar filmes estáveis formados por zeína, HPC e PEG;
- Preparar filmes compósitos estáveis formados por zeína, HPC, PEG e vidro bioativo;
- Caracterizar os filmes através de técnicas de investigação da composição química, morfologia e estrutura;
- Avaliar as propriedades térmicas dos filmes compósitos;

- Avaliar a morfologia dos materiais obtidos;
- Analisar o efeito da composição dos filmes e da incorporação de biovidro nas propriedades e na compatibilidade do material com as matrizes empregadas;
- Avaliar a interação entre as fases constituintes.

4. METODOLOGIA

4.1 Preparo das dispersões poliméricas

Para a produção dos filmes foram utilizados como matriz zeína e hidroxipropilcelulose (Klucel™ Hydroxypropylcellulose), obtidos da empresa Sigma Aldrich e Ashland, respectivamente. Utilizou-se água deionizada e álcool etílico absoluto P.A. – A.C.S 99,5% adquirido na Synth-Brasil no preparo das dispersões, além de Polietilenoglicol (PEG) 400 fornecido pela VETEC®-Química Fina.

Como solvente para preparo das dispersões, foi utilizada solução hidroalcoólica com 70% (m/m) de etanol e 30% (m/m) de água deionizada. Inicialmente, foram preparadas separadamente dispersões de zeína e HPC na concentração de 10% (m/m) em relação ao solvente. No preparo das dispersões precursoras da blenda, a zeína e a HPC foram mantidas em repouso por 24 horas na solução hidroalcoólica para intumescimento dos polímeros. Em seguida, a zeína e a HPC foram agitados a 1500 rpm durante 30 minutos para completa dispersão dos polímeros no solvente.

Essas soluções foram mantidas sob repouso por 3h em vidraria completamente vedada para evitar a evaporação do solvente e alteração da concentração de polímero, para promover a retirada das bolhas formadas durante a agitação e evitar defeitos nos filmes.

4.2 Preparo da dispersão de vidro bioativo

A mesma solução hidroalcoólica preparada para dispersão dos polímeros, foi utilizada para o preparo da dispersão de vidro bioativo, a fim de evitar incompatibilidade entre as dispersões ao preparar a blenda. Pesou-se 0,450g de biovidro em béquer de 50ml e adicionou-se 30ml de solução hidroalcoólica, em seguida esse material foi levado para agitação mecânica por 30 minutos, para diminuição dos aglomerados de biovidro e obtenção de partículas em tamanho diminuto.

4.3 Obtenção dos filmes

Os filmes biopoliméricos foram produzidos pela técnica de *casting* e a concentração total de macromoléculas (zeína e HPC) foi mantida em 6%, que representa 1,8g da dispersão formadora do filme (30g total), mas a proporção entre os constituintes variou. O plastificante foi utilizado no intuito de conferir melhores propriedades mecânicas ao filme e sua concentração foi de 1,8% (m/m) em relação à dispersão precursora do filme. O biovidro foi adicionado na concentração de 1,5% (m/m) em relação à dispersão e 16% (m/m) em relação aos sólidos totais da composição. Utilizou-se duas composições de filmes (Tabela 1) durante a realização do trabalho, devido aos melhores aspectos físicos das blendas confeccionadas.

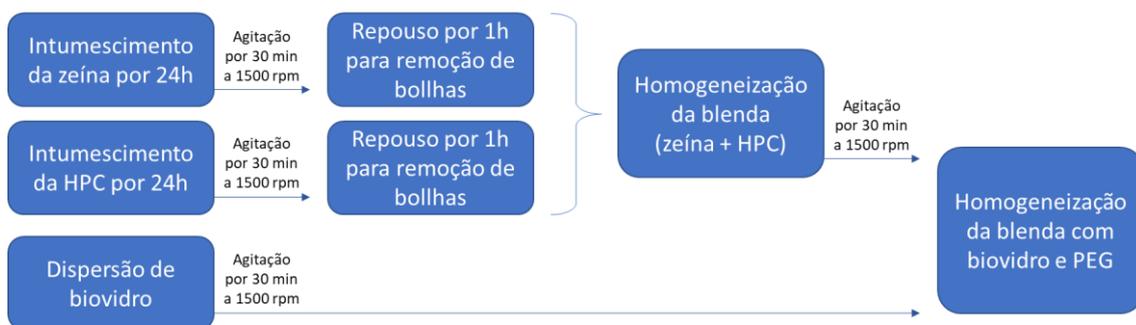
Para facilitar a identificação dos filmes, foram criados os seguintes códigos de acordo com a composição das dispersões.

Tabela 1: Identificação dos filmes de acordo com a composição das dispersões

Identificação	Zeína (g)	HPC (g)	PEG ou PG (g)	BV (g)
A	1,26	0,54	-	-
A-PEG	1,26	0,54	0,54	-
A-PG	1,26	0,54	0,54	-
A-PEG-BV	1,26	0,54	0,54	0,45
B	1,08	0,72	-	-
B-PEG	1,08	0,72	0,54	-
B-PG	1,08	0,72	0,54	-
B-PEG-BV	1,08	0,72	0,54	0,45

As dispersões precursoras da blenda foram incorporadas seguindo a proporção descrita na Tabela 1 juntamente ao plastificante e à dispersão biovidro que foi preparada em solução hidroalcoólica 70/30 e agitação magnética. As misturas foram homogeneizadas por agitação mecânica durante 30 minutos a 1500 rpm. A Figura 12 representa a sequência do processo de obtenção das dispersões precursoras dos filmes.

Figura 12: representação esquemática do preparo dos filmes.



Para obtenção de filmes homogêneos e com menor ocorrência possível de bolhas, as amostras foram submetidas ao ultrassom com frequência 55Hz por 30 minutos. Em seguida, as dispersões formadoras do filme foram distribuídas sobre placas de poliestireno com 9 cm de diâmetro e levadas a secagem em estufa a 40° C por 24 horas. Os filmes obtidos foram deixados no dessecador por pelo menos 48 horas antes de serem analisados.

4.4 Ângulo de Contato

As medidas de ângulo de contato foram obtidas empregando-se o equipamento Drop Shape Analyzer, modelo DSA 100 da marca KRÜSS, operado a temperatura ambiente. Os ângulos de contato foram obtidos a partir da deposição de gotículas de água destilada com volume de 15µL sobre a superfície do filme e captura da imagem da gota em tempo real por uma câmera digital acoplada ao equipamento. Os ângulos de contato médio foram automaticamente calculados pelo software DSA 100 instalado em computador acoplado ao equipamento. Foram realizadas dez medidas em três pontos diferentes dos filmes.

4.5 Espectroscopia de Absorção na região do Infravermelho (FTIR)

O espectro de infravermelho dos filmes formados por zeína, HPC, biovidro e plastificante foi investigado utilizando um espectrômetro FTIR modelo Tensor II (Bruker). Foi utilizado o método de Reflectância Total Atenuada (ATR) em um intervalo de 500 cm⁻¹ a 4000 cm⁻¹, com resolução de 2 cm⁻¹ e número de varreduras igual a 64.

4.6 Difração de Raios-X (DRX)

Os espectros de difração de raios-x (DRX) das amostras foram obtidos utilizando um difratômetro modelo MiniFlex-XRD da marca Rigaku. Os parâmetros utilizados foram radiação

CuK α de 1.5418 Å, 40 kV e 30 mA. Os difratogramas foram obtidos entre os valores de 2.0° a 70.0°, com intervalos de 10.0°/min.

4.7 Calorimetria Exploratório Diferencial (DSC)

Os filmes foram analisados por DSC (PerkinElmer modelo DSC 6000), pesando-se cerca de 4 a 5 mg das amostras, depositando-as em porta amostra de alumínio que foi selado hermeticamente por prensagem. As medidas foram feitas sob atmosfera inerte de gás nitrogênio com fluxo de 50 ml/min, com isoterma a -70 °C por 10 minutos seguida por aquecimento até 310°C a uma taxa de aquecimento de 10°C/min.

4.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia dos filmes formados por zeína, HPC, plastificante e biovidro foram observadas utilizando um microscópio eletrônico de varredura modelo Philip XL-30 FEG da marca Bruker. As micrografias foram obtidas nas ampliações de 500x, 1000x e 2000x.

4.9 Ensaio de Liberação do Biovidro

Os ensaios foram realizados na USP campus Ribeirão Preto, na Faculdade de Ciências Farmacêuticas. O fluido corporal simulado SBF-K9 (Simulated Body Fluid), foi preparado conforme descrito por Kokubo e Takadama (2006). Em um balão volumétrico de 1L, foi adicionado 2,380g de Na₂HPO₄, 0,190g de KH₂PO₄ e 8,00g de NaCl, então completado até o volume de 1L com água destilada e deionizada. O pH final dessa solução foi 6,8. Com essa solução, foram preenchidas 6 cubas com 300ml de solução em cada, a fim de serem 6 análises simultâneas para a mesma amostra de filme, sextuplicadas. No porta amostras, pedaços de 1cm de altura e 2cm de largura foram suspensos e mantidos em agitação durante toda a avaliação, que foi realizada de 0h a 24h nos seguintes intervalos de tempo: 15min, 30min, 45min, 1h, 2h, 3h, 4h, 6h e 24h. Os filmes foram mantidos em fluido corporal simulado a 37°C sob constante agitação. Em cada intervalo de tempo, foram coletados 2ml da solução com auxílio de uma seringa, em seguida as amostras foram filtradas em filtros de polipropileno com tamanho de poro de 0,22 microns para evitar que qualquer partícula de filme permanecesse na alíquota coletada e gerasse uma liberação de ativo, comprometendo os resultados. As amostras foram, então, acondicionadas em tubos Eppendorf de 3ml e mantidos sobre refrigeração entre 5°C e

10°C. A concentração de cálcio nas amostras, foi determinada por Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES) (SpectroBlue, Ametek).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Ângulo do contato

Filmes de zeína e HPC foram obtidos inicialmente utilizando dois plastificantes, polietilenoglicol PEG 400 e propilenoglicol (PG). Medidas de ângulo de contato foram obtidas para determinar qual desses plastificantes conferia melhor molhabilidade. A partir dessas medidas, seria definido qual plastificante ou qual proporção seria utilizada na obtenção do compósito contendo biovidro. Os resultados obtidos pela deposição de gotículas de água sobre o filme, formando ângulos de contato com o substrato, são indicativos da molhabilidade das superfícies do filme, que indica natureza da interação entre a superfície do filme e a água, presente na mucosa oral, portanto é um indicativo da facilidade de adesão do filme na cavidade bucal, fator importante para evitar que o material se desprenda do local de aplicação (JOSHI et al., 2016). A Tabela 2 apresenta os valores de ângulos de contato dos filmes sem biovidro.

Tabela 2: Resultados de ângulo de contato para os filmes de composição A e B com a adição de PEG ou PG.

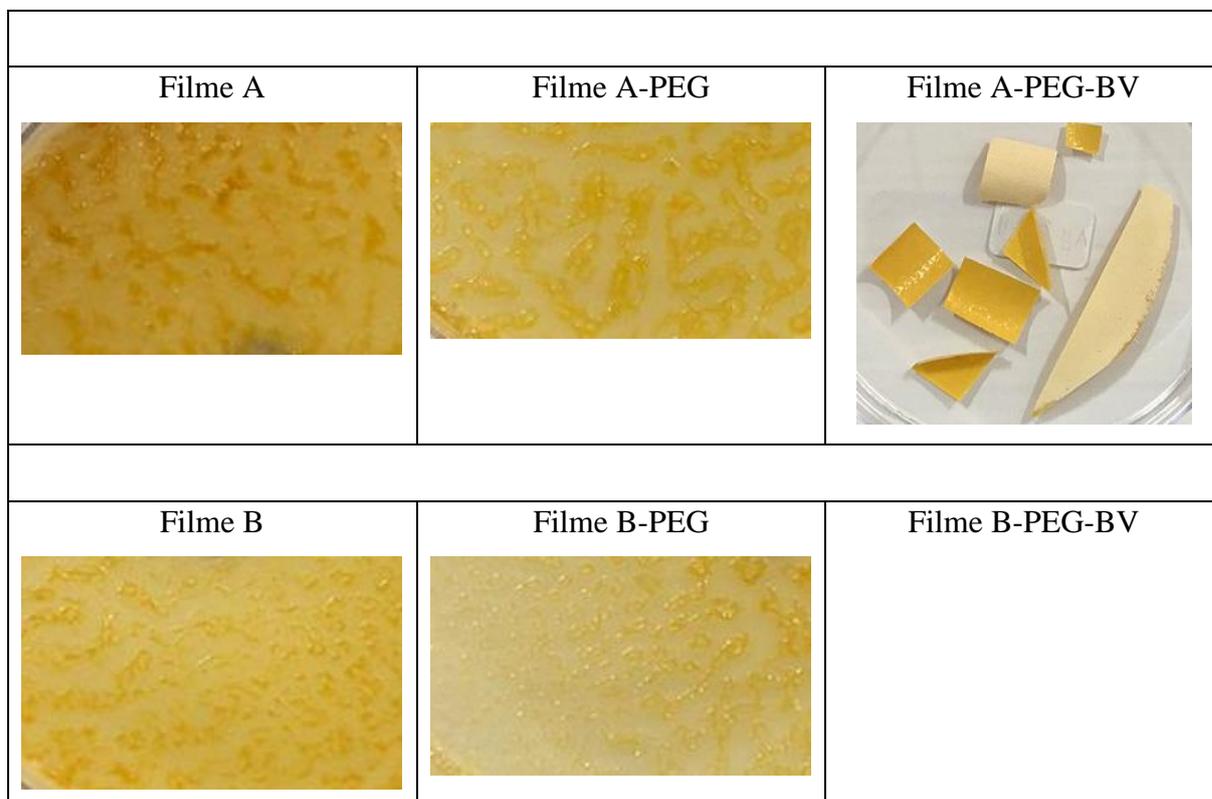
Filmes	Ângulo de contato (°)
A-PEG	25,9
A-PG	51,2
B-PEG	16,9
B-PG	18,6

Todos os valores de ângulo de contato obtidos entre o filme e a água, foram menores que 90°C, o que indica uma ótima interação entre os materiais e água, portanto todos podem ser classificados como hidrofílicos (SACHDEVA; SINGH; RHEE, 2021) para as duas composições com adição de PEG. De maneira mais prática, quando o solvente utilizado na análise é água, altos valores de ângulo de contato indicam uma superfície hidrofóbica, enquanto baixos valores de ângulo de contato indicam uma superfície hidrofílica. Esse comportamento pode ser explicado pela diferença na estrutura do plastificante PG em relação ao PEG, uma vez que o PG possui um grupamento metila a mais que o PEG, diminuindo a tendência de interação

com a água devido ao aumento do caráter apolar (GUAZZELLI, GALLI, MARTINELLI, 2020). O PEG possui cadeias poliméricas hidrofílicas que melhoram a molhabilidade do material quando é imobilizado na superfície da membrana. O resultado também pode ser parcialmente atribuído à disponibilidade da hidroxila terminal dos grupos de PEG já que –OH, possivelmente melhora a hidroflicidade de biomateriais (ZHANG, et al. 2002). Ademais, os filmes de composição A apresentaram um caráter menos hidrofílico, possivelmente devido ao maior conteúdo de zeína, que corresponde a 70% das macromoléculas no filme de composição A e 60% nos filmes de composição B. Resultados semelhantes foram obtidos por Tihminlioglu, Atik e Özen (2011), em que o incremento de zeína levou ao aumento do caráter hidrofóbico dos materiais.

Neste trabalho, os filmes contendo o plastificante PEG 400 foram selecionados para a confecção dos materiais contendo o vidro ativo, uma vez que esses filmes apresentaram valores mais baixos de ângulo de contato (maior molhabilidade). A Figura 13 mostra os filmes obtidos com e sem a adição do agente plastificante e o biovidro.

Figura 13: Filmes formados por zeína e HPC com e sem a adição de PEG e biovidro



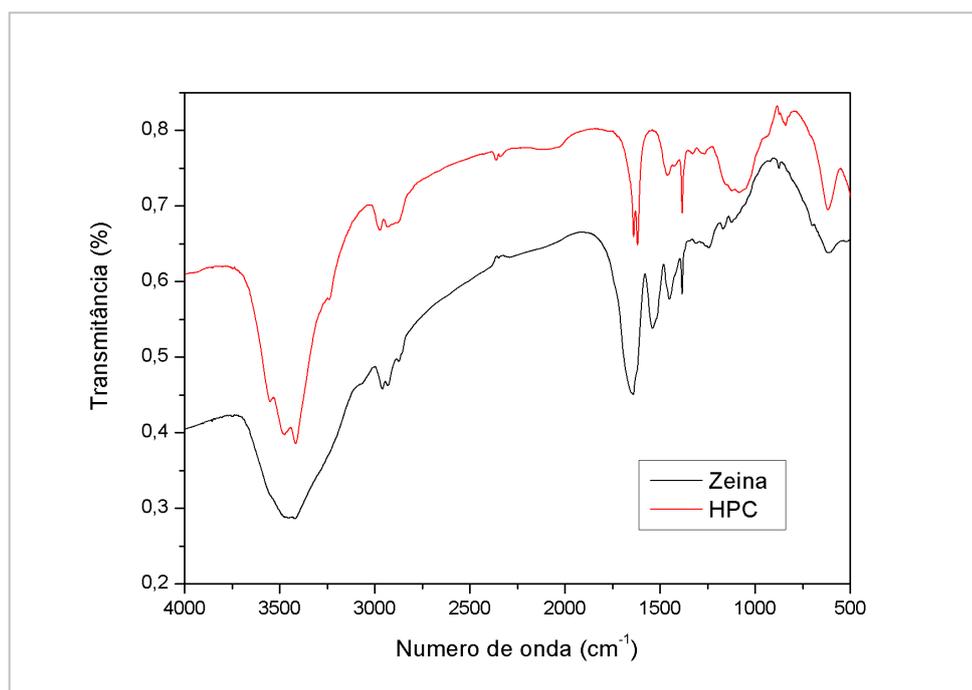


Os filmes sem adição de PEG apresentaram coloração amarela, aspecto translúcido, quebradiços e com superfície rugosa. A adição de PEG conferiu certa flexibilidade aos filmes, sendo possível manuseá-los por serem menos quebradiços que os filmes sem plastificante. Entretanto, esses filmes apresentaram estruturas com aspecto de colmeia, tornando a superfície desses filmes mais rugosa. Os filmes contendo o biovidro (A-PEG-BV e B-PEG-BV) apresentaram um aspecto opaco, sendo mais flexíveis e, portanto, foram facilmente cortados sem que houvesse fragmentação e apresentaram uma superfície mais lisa. Os aspectos macroscópicos observados nos filmes contendo biovidro são desejáveis no tratamento de doenças periodontais, tendo em vista que esses filmes podem se conformar e aderir na cavidade da bolsa periodontal sem provocar incômodo durante a aplicação e utilização (JOSHI et al., 2016).

5.2 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FTIR)

A Espectroscopia de Absorção na região do Infravermelho por Transformada de Fourier foi utilizada como análise complementar para avaliação da interação entre os componentes do filme. As bandas referentes às amidas I e II, que são as principais porções para caracterização de proteínas, são observadas na faixa de 4000 cm^{-1} a 1200 cm^{-1} (GEORGET. BARKER, BELTON, 2008). A Figura 14 mostra o espectro de infravermelho da zeína e do HPC puros.

Figura 14: Espectro na região do infravermelho de zeína e HPC, precursores dos biofilmes.

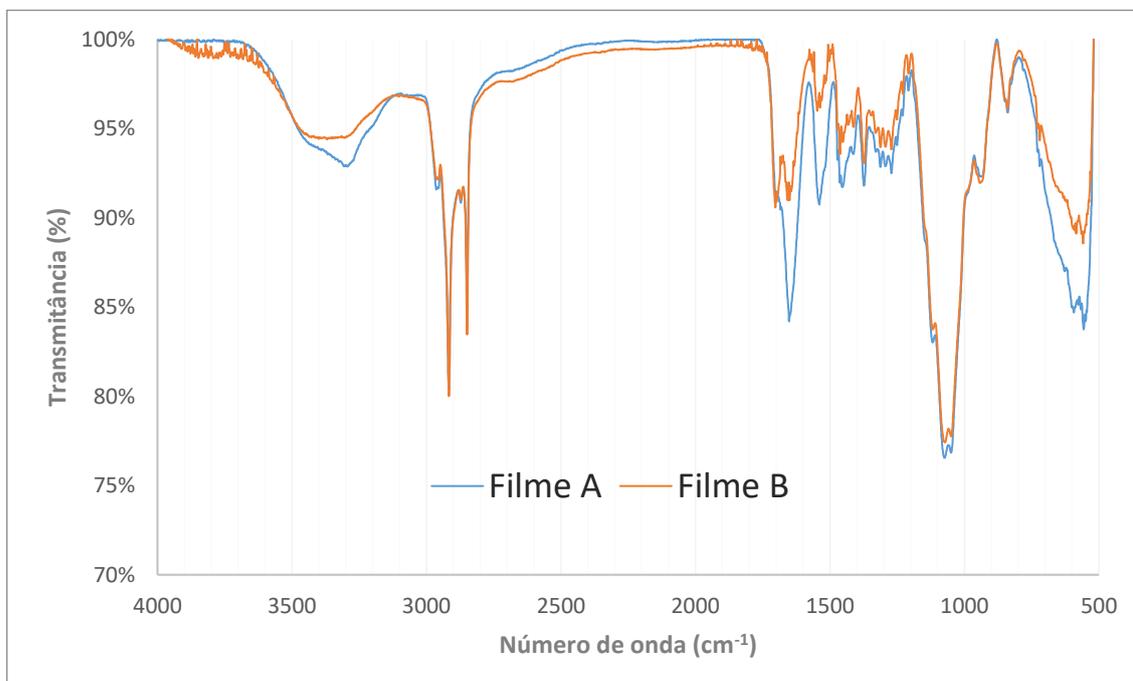


Os espectros de FTIR dos componentes originais dos filmes estão apresentados na Figura 14. As principais bandas observadas no espectro de infravermelho da cadeia polimérica do HPC são um duplete em 3475 cm^{-1} e 3416 cm^{-1} , relativas aos estiramentos das ligações O-H, uma banda na região de 2930 cm^{-1} , atribuídas aos estiramentos C-H, uma banda em 1620 cm^{-1} devido à deformação angular do grupo C-O-H e uma banda larga em 1100 cm^{-1} devido ao estiramento da ligação C-O (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRIL, 1974). As principais bandas de absorção para a amostra da zeína são: uma banda larga em 3400 cm^{-1} , associada aos estiramentos das ligações N-H e O-H dos aminoácidos que compõem as proteínas, uma banda em 2960 cm^{-1} , referente ao estiramento C-H, uma banda intensa em 1639 cm^{-1} relativa ao estiramento da carbonila (C=O) da função amida, uma banda em 1539 cm^{-1} relativa à deformação angular do grupo N-H e uma banda em 1241 cm^{-1} relativa à deformação axial da ligação C-N (FORATO; BERNARDES; COLNAGO, 1998).

Os espectros dos biofilmes (Figura 15) apresentaram uma banda de absorção larga em 3100 cm^{-1} e 3700 cm^{-1} relacionada às sobreposições de estiramento O-H e/ou N-H presentes na zeína, HPC e no plastificante PEG (WEI, et al. 2019; ZHANG et al., 2016; EGUCHI, KAWABATA, GOTO, 2017). As bandas menos intensas em torno de 2900 cm^{-1} são características do alongamento C-H presente nas cadeias de zeína, bem como no plastificante PEG e na matriz de HPC (GUNES, AMBURACI, TIHMINLIOGLU, 2020; REBITSKI, et al., 2018). Os filmes de

zeína nas duas proporções (A e B) apresentaram bandas amida I em 1650 cm^{-1} , 1651 cm^{-1} e a banda amida II em 1541 cm^{-1} e 1536 cm^{-1} , respectivamente.

Figura 15: Espectro na região do infravermelho dos filmes de composição A (4,2% zeína e 1,8% HPC) e B (3,6% zeína e 2,4% HPC).

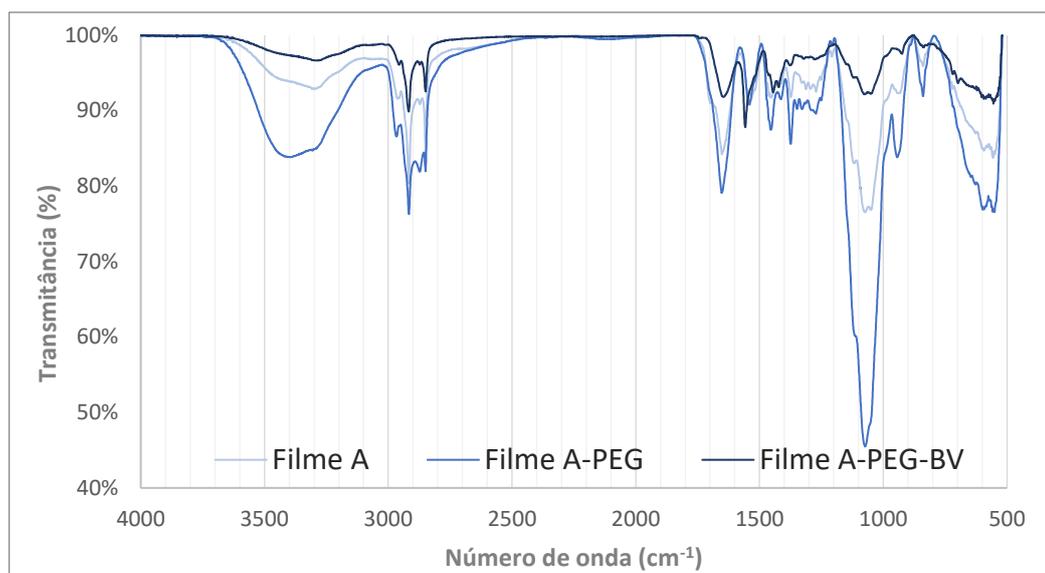


As bandas amida I estão associadas principalmente ao estiramento dos grupos $\text{C}=\text{O}$, enquanto as bandas amida II são resultantes da vibração de flexão dos grupos N-H e estiramento das ligações C-N , porém em menor intensidade. Bandas características semelhantes de amida I (1656 cm^{-1}) e amida II (1540 cm^{-1}) foram observados anteriormente em fibras de nanocompósitos de zeína (MOOMAND, LIM, 2015; GUNES, TAMBURACI, TIHMINLIOGLU, 2020) e biofilmes (TAVARES, et al. 2012.). Os autores atribuíram essa ocorrência à presença predominante de zeína como estrutura α -hélice e quanto maior o comprimento da hélice, menor o número de onda para a banda amida I, devido à ligação de hidrogênio ocorrendo no grupo $\text{C}=\text{O}$. Outros autores atribuíram a mudança nas bandas de amida I em números de onda mais baixos, como um indicativo do aumento de estruturas de folhas β ordenadas de zeínas (MAGOSHI, NAKAMURA, MURAKAMI, 1992; FORATO, BICUDO, COLNAGO, 2003).

O espectro do biofilme formado por biovidro (Fig. 10) apresentou deslocamento nas bandas amida I nos números de onda mais altos. Este resultado sugere que a adição de biovidro alterou

a estrutura secundária da proteína, tornando o comprimento da hélice menor na estrutura α -hélice e a estrutura da folha β menos ordenada em relação aos filmes com e sem PEG. As bandas em torno de 1130 - 1040 cm^{-1} estão associadas à sobreposição de ligações C-O-C nas estruturas do PEG e HPC, bem como ligações Si-O no biovidro.

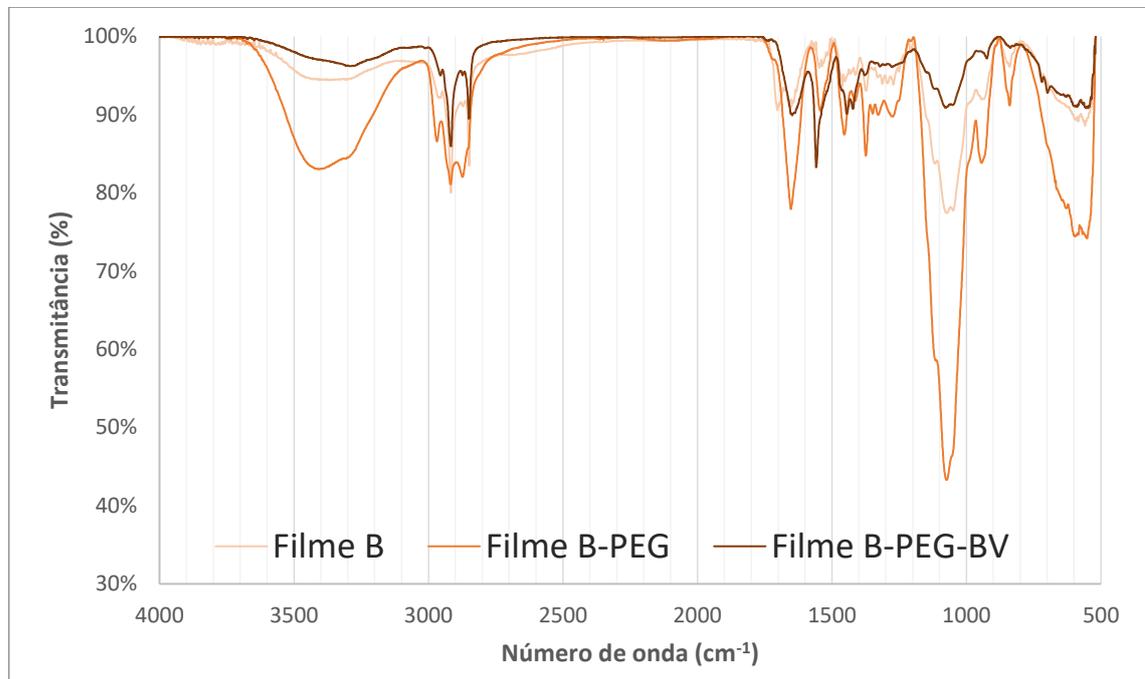
Figura 16: Espectro na região do infravermelho dos filmes de composição A (4,2% zeína e 1,8% HPC) com adição de plastificante PEG e Biovidro.



No espectro do filme de composição A e B, com incremento de biovidro, uma banda consistente com o modo de alongamento assimétrico Si-O-Si foi observada em 1091 cm^{-1} e outra banda relacionada à vibração de alongamento de Si-O-Si da sílica, foi observada em 800 cm^{-1} . Também foi possível observar um pico em 490 cm^{-1} , referente à flexão Si-O-Si. O sinal de baixa intensidade em 560 cm^{-1} detectado nos espectros gerados pelos filmes com biovidro, pode ser atribuído aos grupos fosfato (ZHOU et. al., 2013).

Diferentes proporções de zeína e HPC resultaram em diferentes intensidades de pico (Figura 17). Os picos em torno de 2900 cm^{-1} (característico do estiramento C-H) e 1040 cm^{-1} (atribuídos à sobreposição das ligações C-O-C e Si-O) foram mais intensos no biofilme com menor teor de zeína, pois o teor de HPC é maior neste material, aumentando proporcionalmente o número das ligações C-H e C-O-C. Por outro lado, os picos em torno de 1649 cm^{-1} foram mais intensos no biofilme com maior teor de zeína, uma vez que a amida I está presente na zeína. A ausência de deslocamento nas bandas de amida I sugere que o incremento das cadeias de HPC não afeta as estruturas secundárias nas cadeias de zeína (LI, et al. 2008).

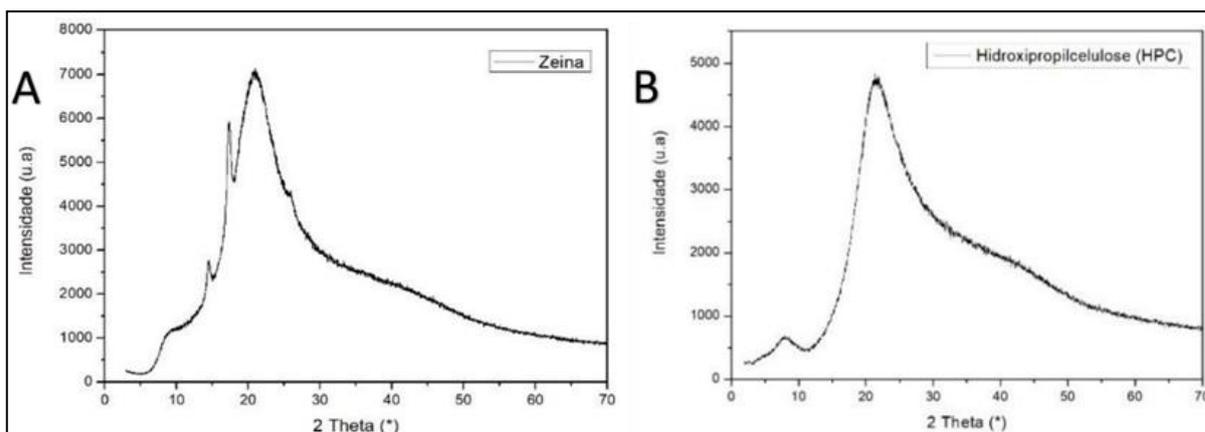
Figura 17: Espectro na região do infravermelho dos filmes de composição B (3,6% zeína e 2,4% HPC) com adição de plastificante PEG e Biovidro.



5.3 Difração de Raios-X (DRX)

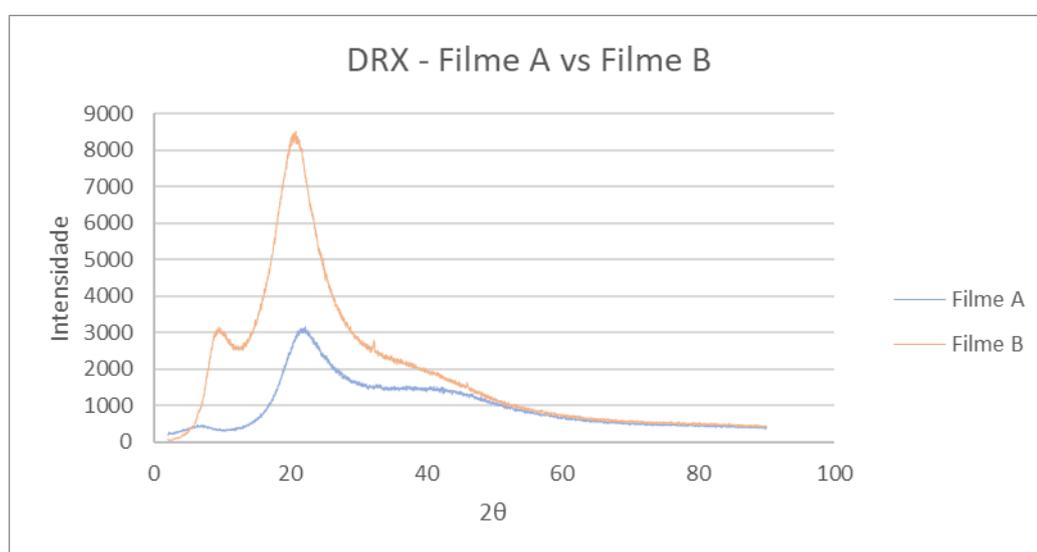
A partir dos difratogramas da zeína e HPC puros (Figura 18), que são os componentes formadores dos filmes, é possível analisar o perfil semicristalino ou amorfo dos polímeros. A zeína apresentou em seu difratograma dois picos, sendo um em $2\theta = 9,4^\circ$, que corresponde à distância de $9,4 \text{ \AA}$ devido ao espaçamento do empacotamento da inter- α -hélice da zeína e outro pico em torno de $19,7^\circ$, correspondente à distância de $4,5 \text{ \AA}$ em relação ao espaçamentos-d, da distância média da espinha dorsal do biopolímero. Esses valores estão bem próximos aos encontrados por Nedi e seus colaboradores (2012), além de Park et al. (2012), confirmando a característica semicristalina dessa proteína. O difratograma de HPC puro apresentou picos em torno de $8,5^\circ$ e $19,9^\circ$ com distâncias de $10,4 \text{ \AA}$ e $4,46 \text{ \AA}$, respectivamente, valores similares aos relatados por Shen et al. (2013) confirmando que se trata de uma substância amorfa com dois halos amorfos em $8,5^\circ$ e $19,9^\circ$ (2θ).

Figura 18: Difratoograma dos precursores dos filmes, (A) zeína e (B) hidroxipropilcelulose (HPC).



Para avaliar interação da matriz polimérica e o efeito da adição de plastificante, foi avaliada a mudança no padrão de difratograma dos precursores em relação aos filmes obtidos. O filme de composição A (4,2% de zeína e 1,8% de HPC) apresentou, como mostra a Figura 19, pico característico em torno de $22,2^\circ$ devido aos picos sobrepostos de zeína e cadeias de HPC.

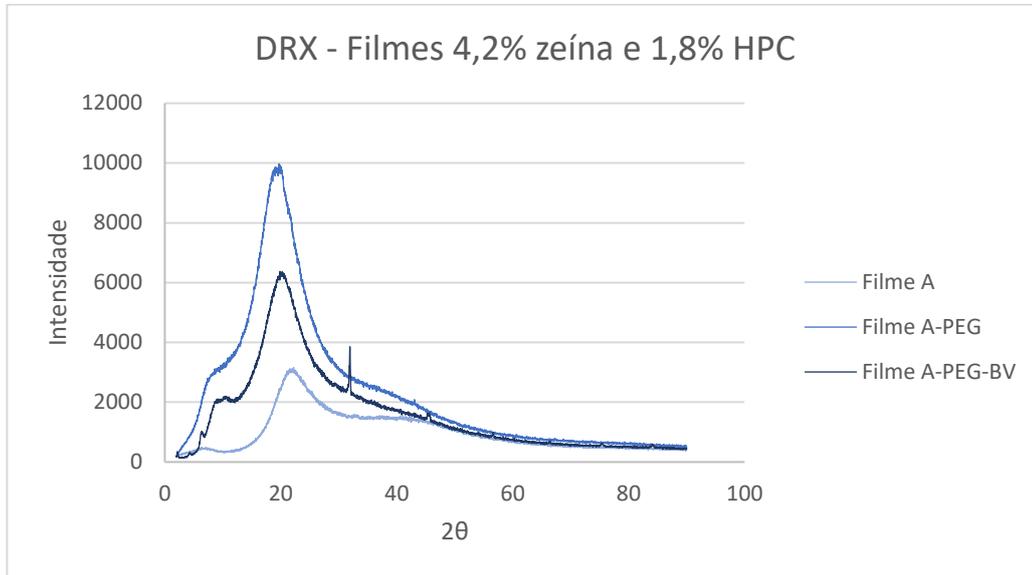
Figura 19: Difratoograma dos filmes de composição A (4,2% zeína e 1,8% HPC) e B (3,6% zeína e 2,4% HPC).



Pode ser observado na Figura 19 acima que os padrões de DRX dos filmes de composição B, formados pela blenda com menor quantidade de zeína, apresentaram picos em torno de $20,8^\circ$, $9,5^\circ$, semelhante aos filmes de composição A. No entanto, os picos no filme de composição B foram muito mais intensos, indicando que foi obtida com essa composição uma amostra menos amorfa.

O difratograma dos filmes de composição A estão representados na Figura 20.

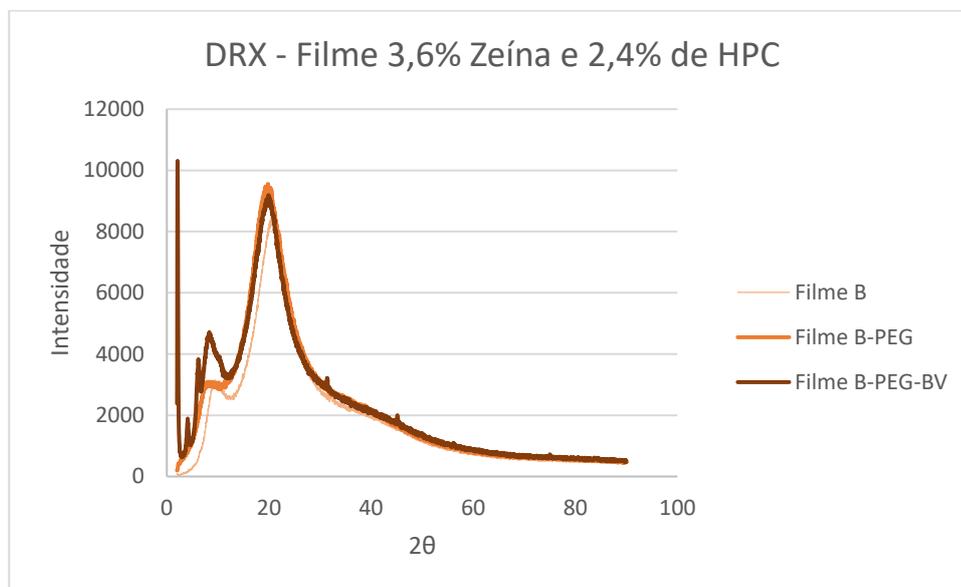
Figura 20: Difratograma dos filmes de composição A (4,2% zeína e 1,8% HPC).



Os filmes formados por plastificante PEG de composição 4,2% de zeína, 1,8% de HPC e 1,8% de PEG, sem biovidro, apresentaram picos semelhantes ao filme sem plastificante, porém com picos bem mais acentuados, que indicam maior cristalinidade.

O difratograma dos filmes de composição B estão representados na Figura 21. Em comparação com os filmes de composição A (4,2% de zeína, 1,8% de HPC e 1,8% de PEG), os filmes formados 3,6% de zeína, 2,4% de HPC e 1,8% de PEG, apresentaram picos bem mais definidos, e todos com intensidades muito similares, diferentemente da composição A. Outra diferença notada é no aparecimento de picos na região de $2,08^\circ$ que indicam ser referentes ao biovidro, pois não estão presentes nas demais composições.

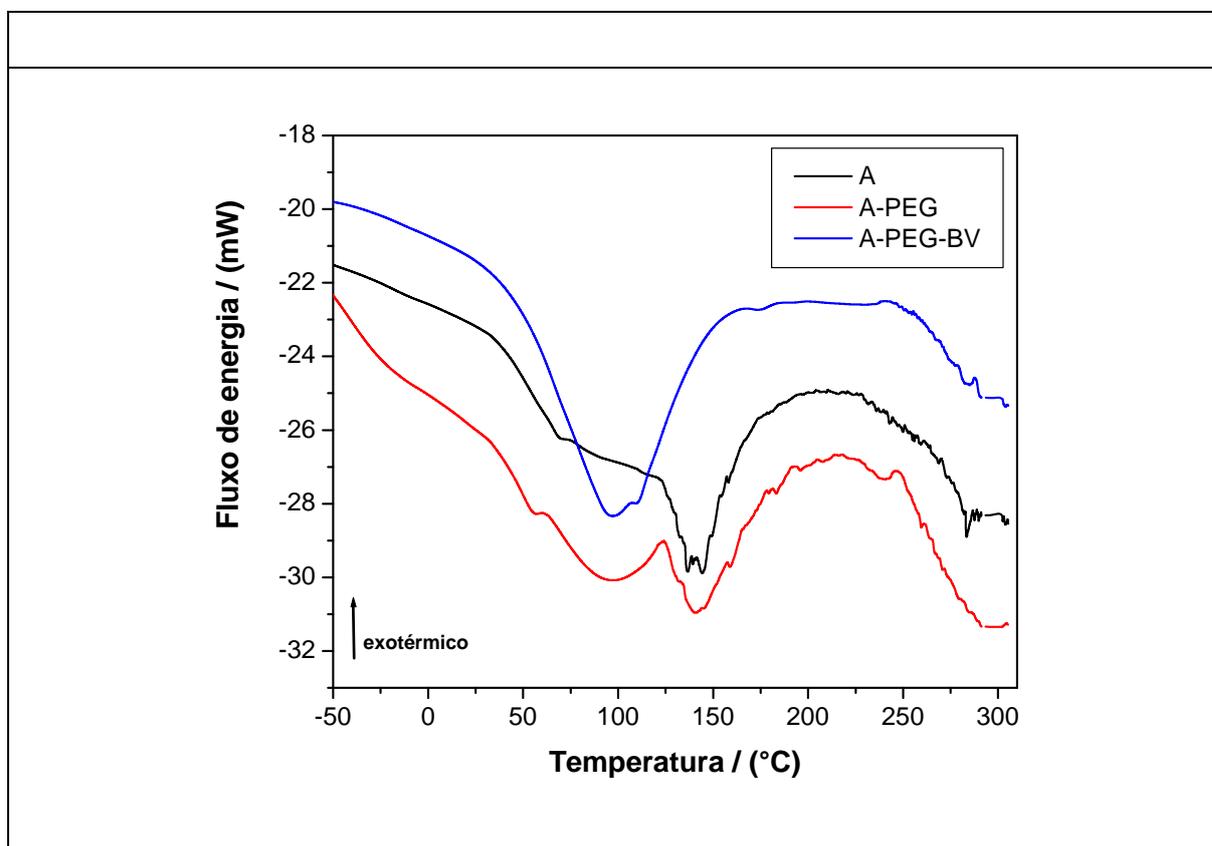
Figura 21: Difratoograma dos filmes de composição B (3,6% zeína e 2,4% HPC).

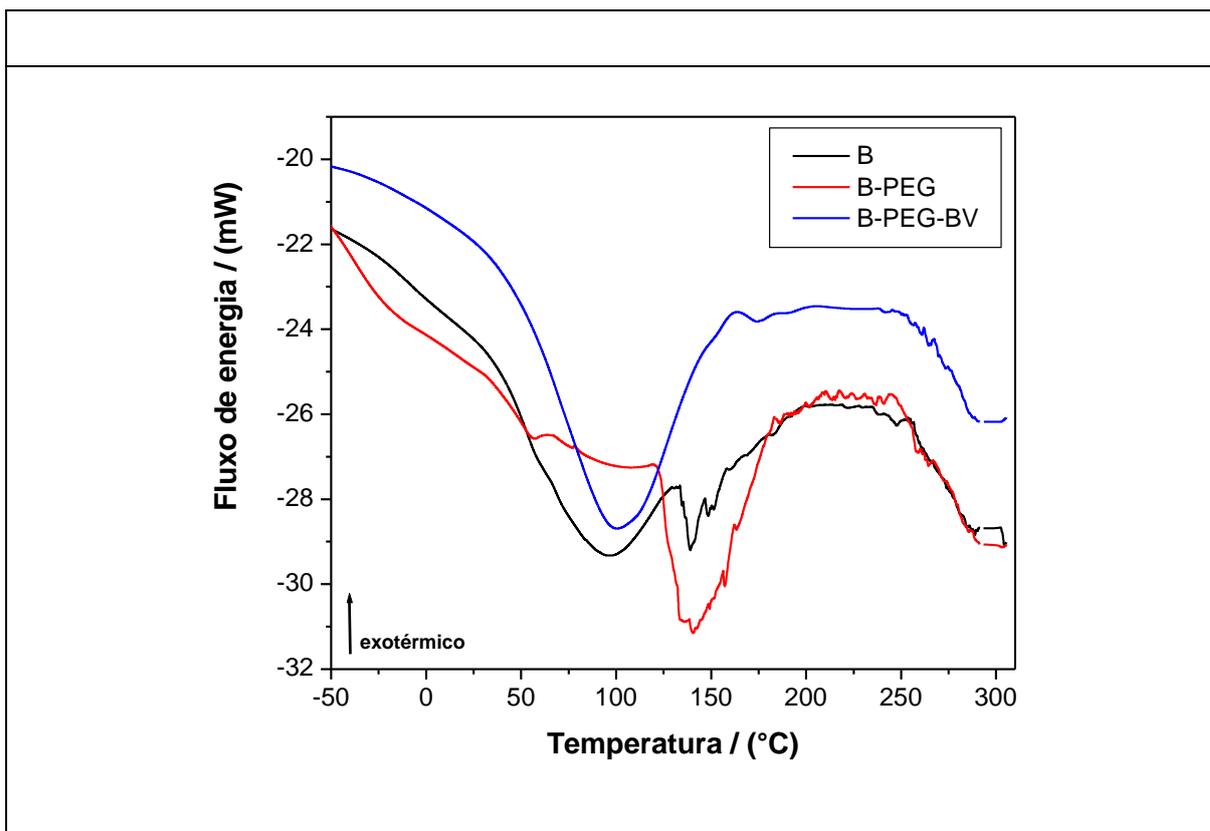


5.4 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)

As curvas de DSC dos filmes A e B obtidos estão na Figura 22.

Figura 22: Curvas de DSC dos filmes A e B com e sem a adição de PEG e biovidro.





O filme A sem adição de plastificante apresenta picos endotérmicos em 136,6°C e 139,1°C devido à fusão das cadeias de zeína, e em 140,3°C e 144,3°C relativos à fusão das cadeias de HPC (FERREIRA, 2022). O filme com a adição do plastificante apresenta uma banda larga endotérmica em aproximadamente 98°C devido a evaporação de água e compostos voláteis na amostra (HE, M. et al., 2017) e uma banda larga em 142°C relativo à fusão do material, sem diferenciação entre os cristais de cada polímero, indicando que o PEG é um bom plastificante (TILLEKERATNE; EASTEAL, 2000; MEEWAN et al., 2022). A adição das partículas de biovidro à matriz polimérica mostram uma única banda endotérmica em aproximadamente 98°C relativos à evaporação de água e voláteis, indicando que a partícula interfere no arranjo e interações intermoleculares entre ambos os polímeros e o plastificante, como observado em outros trabalhos (JAYALEKSHMI; VICTOR; SHARMA, 2013; DZIADEK, M. et al., 2015; LARRAÑAGA; SARASUA, 2013). O comportamento térmico dos filmes de composição B é semelhante ao observado para os filmes de composição A, com pequenas variações nos valores das temperaturas de fusão. O pequeno pico que aparece em 176°C para ambos os filmes compósitos A e B contendo a partícula de biovidro está relacionado com a temperatura de transição vítrea do material (CORRADINI et al., 2014).

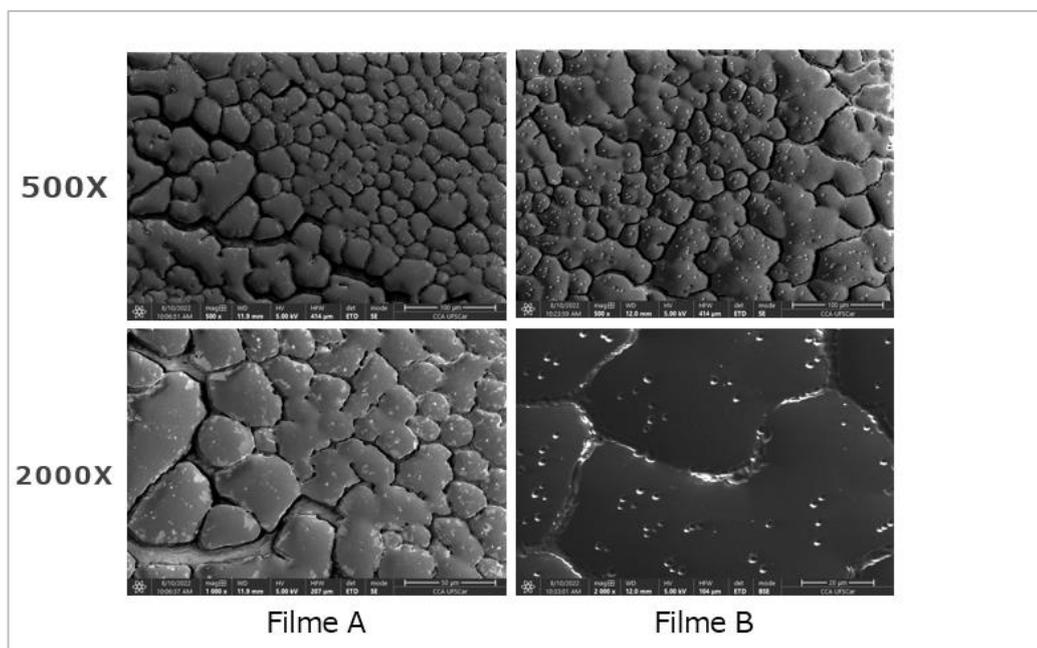
5.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura é uma técnica comum para análise da microestrutura de filmes biodegradáveis. Essa técnica tem sido utilizada por décadas para estudar a estrutura global de proteínas, especialmente as conformações (FORATO, L. A. 2000). Para essa análise, foram fixadas amostras de 1 cm de largura e 1 cm de altura sobre fita condutora de cobre e então recobertas com uma camada de ouro. As micrografias foram obtidas a fim de apresentar um indicativo da homogeneidade e interação entre os componentes do biofilme, além da mudança morfológica com o acréscimo de plastificante ao filme. A Figura 23 apresenta as micrografias obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), para as amostras com 4,2% de zeína e 1,8% de HPC (esquerda) e 3,6% de zeína e 2,4% de HPC (direita).

Na obtenção de filmes pela técnica de *casting*, os filmes produzidos apresentam formato e aparência distintos, decorrente do próprio processo de evaporação do solvente, promovendo diferenças morfológicas entre o lado que fica em contato com o substrato (placa de polietileno) e o lado que fica em contato com o ar. Após o processo de evaporação do solvente, o lado do filme que está em contato com a superfície da placa adquire aparência mais lisa, brilhosa e uniforme. Em contrapartida, o lado do filme que fica em contato com o ar, adquire aparência mais irregular, opaca e sua microestrutura apresenta depósitos globulares (PADUA e WANG, 2002).

Um indicativo da heterogeneidade dos filmes é a ausência de uma camada contínua na matriz, como pode ser observado na Figura 23 para o filme de composição A e B. A presença de aglomerados mais escuros também foi relatada por (ALMEIDA et al. 2010) na análise de filmes compostos por zeína e goma xantana. Sugere-se que esses pontos destacados na Figura 23 indícios da separação de fases entre zeína e HPC devido à baixa interação entre estes dois compostos.

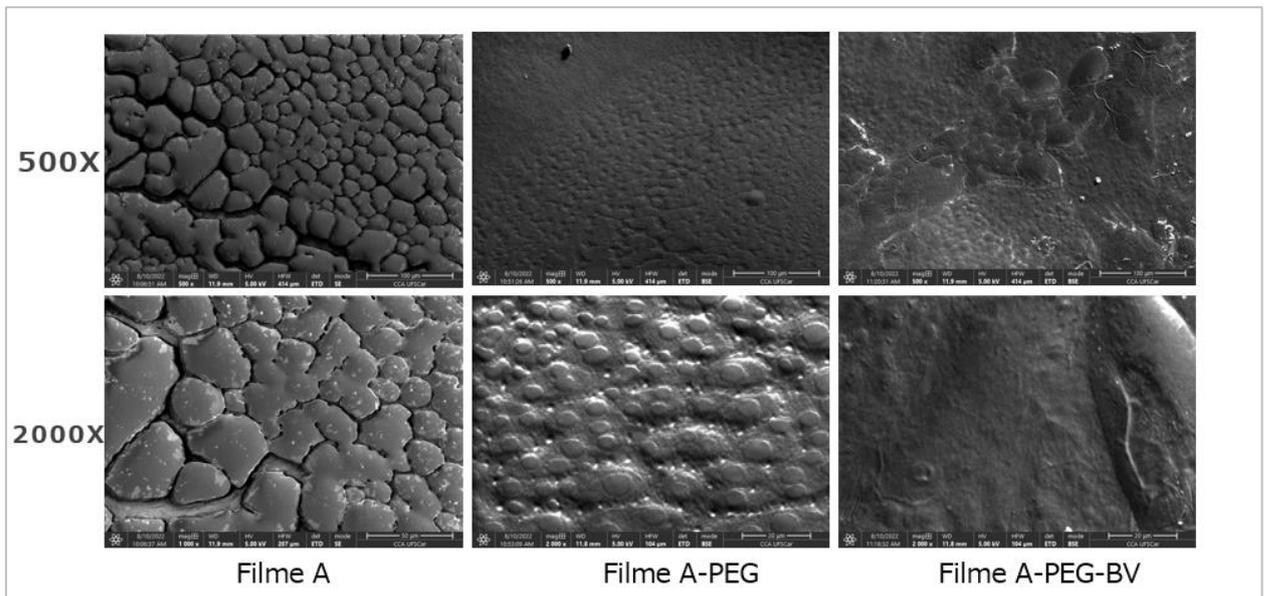
Figura 23: Micrografias dos filmes de composição A (4,2% zeína e 1,8% HPC) e composição B (3,6% zeína e 2,4% HPC) nos aumentos de 500x e 2000x.



O biofilme de composição B se mostrou mais homogêneo que o biofilme A, que apresentou componentes arredondados semelhantes a poros em sua superfície. No aumento de 500x é possível perceber estruturas semelhantes a poros em ambas as estruturas, porém no aumento de 2.000x percebe-se que no filme B essas estruturas não se repetem com a mesma frequência que a observada no filme A.

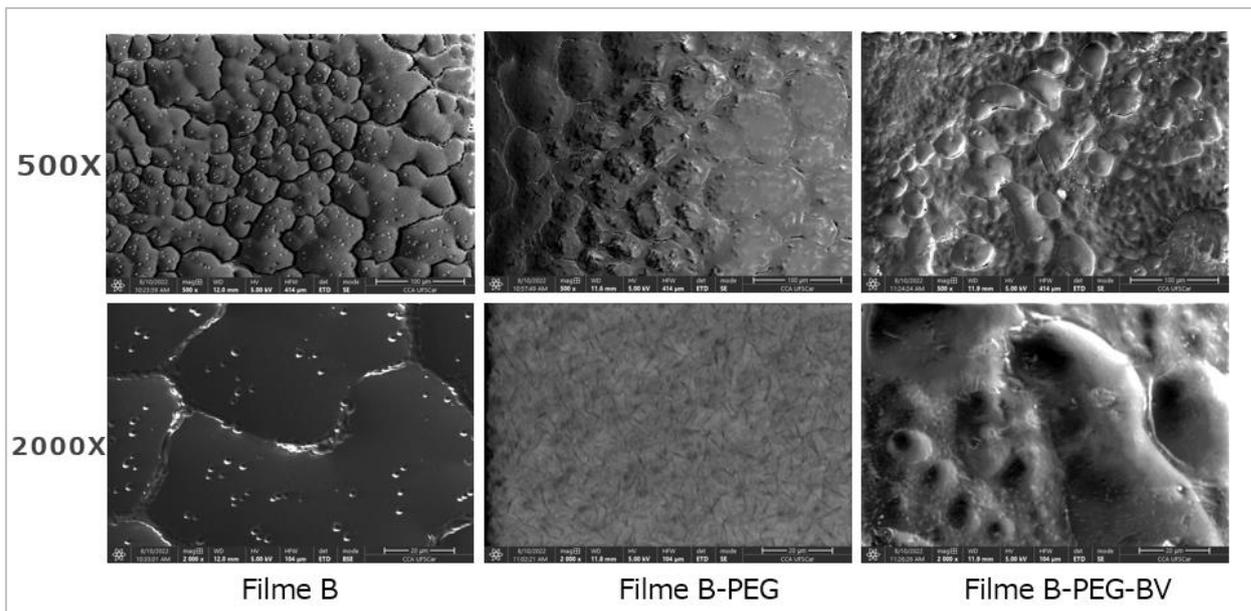
Com a adição do plastificante na formulação dos filmes (Figura 24), notou-se que houve uma melhora no aspecto da morfologia granular observada no filme somente com biopolímeros. Após a incorporação do biofilme no filme, observou-se poucas estruturas granuladas, indicando melhor homogeneidade entre os componentes do filme com a adição da partícula. Esse resultado microscópico corrobora com os aspectos macroscópicos observados nos filmes obtidos. Uma explicação para esse fenômeno é que a adição de plastificante e as partículas de biovidro cria espaços entre as cadeias de proteína, diminuindo as forças intermoleculares e permitindo uma melhor mobilidade das mesmas (TIHMINLIOGLU; ATIK; ÖZEN, 2010).

Figura 24: Micrografias dos filmes de composição A (4,2% zeína e 1,8% HPC) com acréscimo de PEG e biovidro.



O filme de composição B (3,6% zeína e 2,4% HPC) (Figura 25) apresentou melhor homogeneidade que o filme A, mesmo sem incorporação do plastificante. Entretanto, após adição de 1,8% de PEG na composição do biofilme, observou-se melhora no aspecto do filme e diminuição das estruturas granulares que podiam ser observadas somente com zeína e HPC juntos. Com adição do biovidro, houve um leve aumento dos poros e rugosidades no filme, mas sem a ocorrência de separação de fases entre os polímeros e a partícula, confirmando que o filme B também é uma boa formulação para o carregamento do biovidro.

Figura 25: Micrografias dos filmes de composição B (3,6% zeína e 2,4% HPC) com acréscimo de PEG e biovidro.



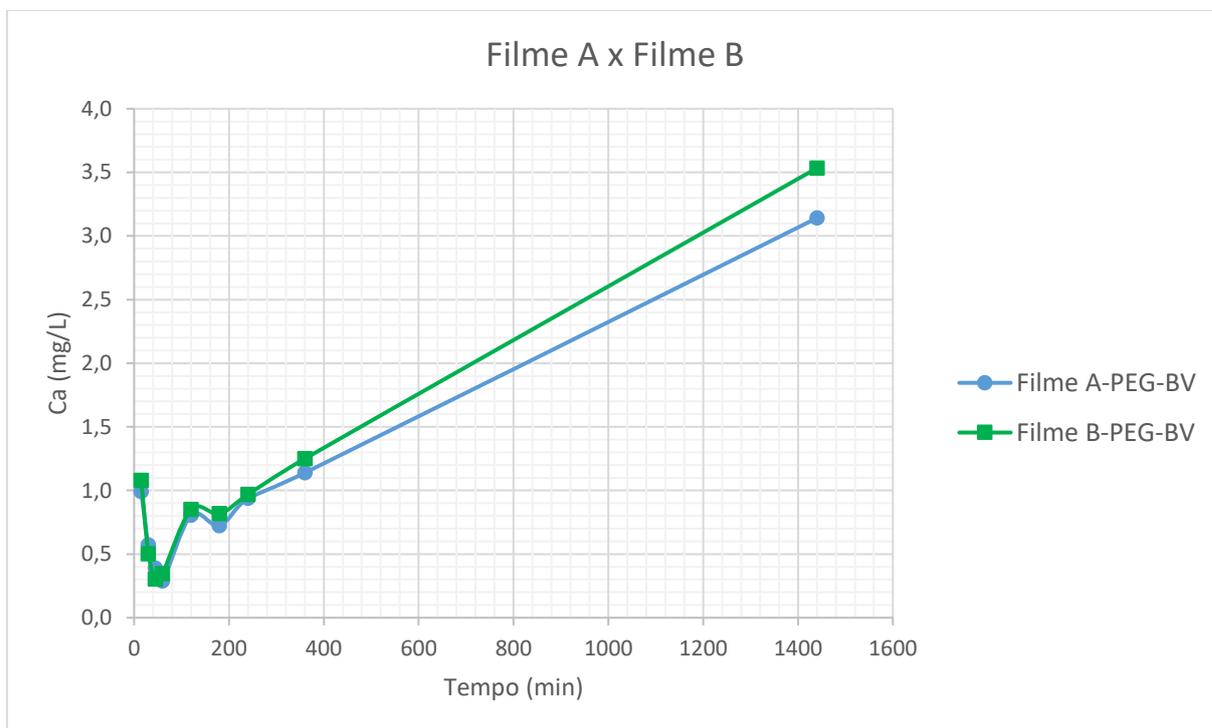
5.6 Ensaio de liberação e quantificação de cálcio

A fim de se avaliar o perfil de liberação do biovidro em solução corporal simulada, bem como a facilidade com qual cada proporção dos componentes da matriz biopolimérica permite a liberação do ativo, foi realizado o ensaio de liberação na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, em Ribeirão Preto.

As amostras foram mantidas em suspensão no fluido corporal simulado a 37°C e foram coletadas alíquotas após 0h até 24h, para posterior avaliação da quantidade de cálcio liberada na solução. Como mencionado anteriormente, quando o biovidro entra em contato com fluido corporal, ocorre um processo de troca iônica e os íons de cálcio presentes na superfície do biovidro são trocados por outros íons presentes no fluido do meio em que o material foi exposto, como íons de sódio e fosfato adicionados em forma de sal (PEITL et al., 2001).

Como as duas formulações de filmes, apresentaram boa interação entre os componentes da matriz, bem como o ativo. Portanto, foram avaliados os filmes A-PEG-BV e o filme B-PEG-BV com a finalidade de identificar se alguma proporção favorece a liberação do ativo, uma vez que os precursores apresentam diferentes características de interação com água.

Figura 26: Gráfico com os resultados de concentração de Ca^{2+} em solução, ao longo de 24h para os filmes A-PEG-BV e B-PEG-BV.



Nos minutos iniciais, foi possível perceber (Figura 26) uma alta liberação de íons Ca para ambos os filmes, conforme relatado também por Bingel et al. (2015) no ensaio de liberação de biovidro em pH 5 e pH 7,3 que são similares ao pH da solução de SBF utilizada. No estudo, Bingel et al. (2015) identificaram que 90% dos íons de Ca migraram para a solução em 15 minutos. Os resultados do estudo citado, mostram que a liberação de íons Ca, ocorre significativamente mais rápida em pH mais baixo, resultando em formação de apatita significativamente mais rápida.

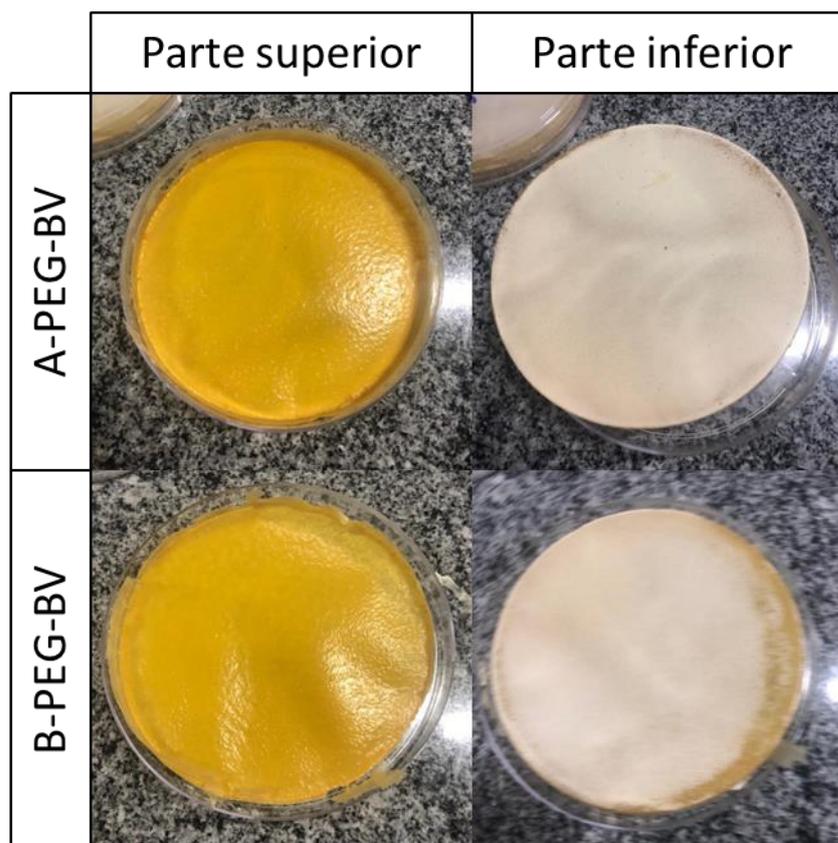
Para ambos os filmes, nos minutos iniciais houve liberação bem acentuada de íons Ca, que posteriormente reduziram a mais da metade da concentração inicial. Esse evento pode ser explicado pelos resultados obtidos no estudo de Crovace (2016), que observou por FTIR a formação de uma fase amorfa de Ca-P em menos de 1h após o início do contato entre o biovidro e a SBF, que corresponde ao quarto estágio da formação de hidroxiapatita Bellon (2012). Devido à migração dos íons de Ca disponíveis na solução, para a superfície do biovidro, para formação de hidroxiapatita, o íon ficou menos disponível em solução e, possivelmente, mais concentrado na superfície do material, gerando Ca-P amorfo, hidroxiapatita cálcica.

De acordo com o mecanismo proposto originalmente para degradação do biovidro e formação de apatita (HENCH; ANDERSSON, 1993), a troca de cátions alcalinos do vidro por prótons do meio circundante é o primeiro passo na dissolução do biovidro. Durante os estudos

de dissolução aqui realizados (Figura 26), as concentrações de íons de cálcio na solução também apareceram com altos valores em pontos muito precoces, sugerindo que os íons de cálcio também foram liberados rapidamente, como na referência citada. No entanto, como o cálcio, assim como os íons fosfato, são consumidos durante a possível precipitação de apatita, é possível que a queda acentuada na concentração esteja relacionada a esse efeito e conseqüentemente, não é possível afirmar nada sobre os valores após o consumo de cálcio, a exceto que é provável que seja maior do que indicado pelas concentrações detectadas na solução a partir de 1h.

Ao comparar as duas composições de filmes, é possível observar que no início do ensaio, até cerca de 6 horas após o contato dos filmes com a solução de fluido corporal simulado, os filmes A-PEG-BV e B-PEG-BV apresentaram resultados semelhantes. Isso pode ser explicado pelo fato de que uma quantidade significativa de material estava disponível em uma das faces dos filmes, conforme ilustrado na Figura 27. Além disso, é importante ressaltar que a liberação de íons cálcio pode ser influenciada por vários fatores, incluindo a porosidade, o tamanho e a distribuição das partículas de biovidro na matriz polimérica, porém como ambos os filmes foram obtidos a partir do mesmo processamento, entende-se que aqui nessa comparação esse efeito é minimizado. Porém, esses parâmetros também devem ser considerados na seleção e otimização de materiais para aplicações em engenharia de tecidos ósseos.

Figura 27: fotografias da parte superior e inferior dos filmes de composição A-PEG-BV e B-PEG-BV.



Após a liberação do cálcio das partículas de biovidro mais superficiais, pela diferença de concentração de cálcio, houve uma diferenciação significativa de liberação entre os filmes após 24 horas, sugerindo que o material B-PEG-BV apresenta uma maior facilidade de liberação de íons Ca. Isso pode estar relacionado à maior quantidade de HPC presente na composição desse filme, que promove uma maior solubilização do filme, permitindo a exposição das partículas de biovidro e consequente liberação dos íons cálcio.

É importante destacar que a liberação de íons cálcio é crucial para a bioatividade do material, pois permite a formação de uma camada de hidroxiapatita (HA) na superfície do material, que é essencial para a sua integração com o tecido ósseo. Além disso, a liberação controlada de íons cálcio pode contribuir para a regeneração óssea, uma vez que o cálcio é um mineral importante para a mineralização do tecido ósseo.

Portanto, a maior facilidade de liberação de íons cálcio observada no material B-PEG-BV pode ser considerada uma vantagem em relação a outros materiais para aplicações em engenharia de tecidos ósseos. No entanto, se for desejada uma prolongação do perfil de liberação do íon, dependendo da cinética de formação da hidroxiapatita, o filme A-PEG-BV poderia ser mais interessante no uso de materiais para tratamento de periodontite. Porém, mais

estudos são necessários para avaliar as propriedades mecânicas e a biocompatibilidade desses materiais, além de muco adesão.

6. CONCLUSÃO

Conforme o objetivo desse estudo, foi possível obter filmes compósitos homogêneos contendo zeína, hidroxipropilcelulose, PEG 400 e biovidro que apresentassem aparente flexibilidade e possibilidade de manuseio, indicando boas propriedades mecânicas em relação aos filmes de zeína pura obtidos por evaporação de solvente.

Em conclusão, o estudo investigou a liberação de íons cálcio em filmes compostos por biovidro e biopolímeros, com potencial aplicação em tratamento de periodontite. Os resultados indicaram que a composição do filme e a distribuição das partículas de biovidro na matriz polimérica facilitaram significativamente a liberação de íons cálcio ao longo do tempo. Além disso, foi observado que a presença de HPC na composição do filme contribuiu para uma maior facilidade de solubilização do filme e consequente liberação de íons cálcio.

Também foi possível perceber que o material ficou mais disperso e com morfologia mais homogênea e sem presença de fases semelhantes a poros, quando foi incorporado o biovidro ao material.

Esses resultados sugerem que a seleção cuidadosa dos materiais e a otimização das suas propriedades são fundamentais para o desenvolvimento de materiais bioativos para aplicações em engenharia de tecidos ósseos ou tratamento de doenças periodontais. A liberação controlada de íons cálcio é crucial para a formação de uma camada de hidroxiapatita na superfície do material, que é essencial para a sua integração com o tecido ósseo.

Portanto, os filmes compostos por biovidro e polímeros apresentam um potencial promissor para tratamento de periodontite, e mais estudos são necessários para avaliar a sua biocompatibilidade, propriedades mecânicas, muco adesão e capacidade de regeneração óssea além do efeito antimicrobiano.

7. REFERÊNCIAS

- AHMED, Y. et al. Fabrication and characterization of zein/bioactive glass deposited on pretreated magnesium via electrophoretic deposition. **International Journal of Ceramic Engineering & Science**, v. 2, n. 5, p. 254–263, set. 2020.
- ALLAN, I.; NEWMAN, H.; WILSON, M. Antibacterial activity of particulate Bioglass® against supra- and subgingival bacteria. **Biomaterials**, v. 22, n. 12, p. 1683–1687, 15 jun. 2001.
- ALMEIDA, C. B. et al. Characteristics of Zein Biofilms with Xanthan. **Food Technology and Biotechnology**, v. 48, n. 1, p. 19–27, 2010.
- ALMULHIM, K. S. et al. Bioactive Inorganic Materials for Dental Applications: A Narrative Review. **Materials**, v. 15, n. 19, p. 6864, 2 out. 2022.
- ARGOS, P. et al. A structural model for maize zein proteins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 257, n. 17, p. 9984–9990, set. 1982.
- BAYER, I. S. Zein in Food Packaging. Em: ATHANASSIOU, A. (Ed.). **Sustainable Food Packaging Technology**. 1. ed. [s.l.] Wiley, p. 199–224, 2021.
- BEGUM, S. et al. The influence of pH and fluid dynamics on the antibacterial efficacy of 45S5 Bioglass. **Biomedical Materials**, v. 11, n. 1, p. 015006, 2 fev. 2016.
- BELLIA, L.; RUGGIERO, R.; NICOLÒ, M. The treatment of chronic periodontitis by non-surgical periodontal therapy in association with diode laser compared to conventional non-surgical therapy. **Journal of Advanced Health Care**, v. Volume 2, n. Online, 17 mar. 2020.
- BELLON, P. A. Síntese do biovidro e sua caracterização. Monografia. 2012.59 f. **Monografia (Graduação em Engenharia Química)** - Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena.
- BRASIL, Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações. Gabinete do Ministro. **Portaria MCTI nº 5.109, de 16 de agosto de 2021**. Brasília, 2021.
- BRASIL, H. F. F. et al. **SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE MATERIAL HÍBRIDO TIPO HIDROTALCITA-HIDROXIAPATITA**. Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. **Anais...** Florianópolis, Brasil: Editora Edgard Blücher, fev. 2015. Disponível em: <<http://www.proceedings.blucher.com.br/article-details/18326>>. Acesso em: 1 jul. 2023.
- BENEKE, C.; VILJOEN, A.; HAMMAN, J. Polymeric Plant-derived Excipients in Drug Delivery. **Molecules**, v. 14, n. 7, p. 2602–2620, 16 jul. 2009.
- BERARDI, A. et al. Zein as a Pharmaceutical Excipient in Oral Solid Dosage Forms: State of the Art and Future Perspectives. **AAPS PharmSciTech**, Vol. 19, N. 5, p. 2009–2022, 2018.
- BINGEL, L. et al. Influence of dissolution medium pH on ion release and apatite formation of Bioglass® 45S5. **Materials Letters**, v. 143, p. 279–282, mar. 2015.

CANNIO, M. et al. Bioactive Glass Applications: A Literature Review of Human Clinical Trials. **Materials**, v. 14, n. 18, p. 5440, 20 set. 2021.

CARUSO, U. et al. Use of diode laser 980 nm as adjunctive therapy in the treatment of chronic periodontitis. A randomized controlled clinical trial. **The New Microbiologica**, v. 31, n. 4, p. 513–518, out. 2008.

CHIELLINI, E.; CHIELLINI, F.; CINELLI, P. Polymers from Renewable Resources. Em: SCOTT, G. (Ed.). **Degradable Polymers**. Dordrecht: Springer Netherlands, p. 163–233, 2002.

COLETTA, V. C.; REZENDE, C. A.; CONCEIÇÃO, F. R. da; POLIKARPOV, I; GUIMARÃES, F. E. G. Mapping the lignin distribution in pretreated sugarcane bagasse by confocal and fluorescence lifetime imaging microscopy. **Biotechnology for Biofuels**, 6, 43. 2013.

CORRADINI, Elisângela. et al. Recent advances in food-packing, pharmaceutical and biomedical applications of zein and zein-based materials. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 12, p. 22438–22470, 2014.

CUGINI, M. A. et al. The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12-month results. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 27, n. 1, p. 30–36, jan. 2000.

DAHIYA, Meenu; SAHA, Sumit; SHAHIWALA, Aliasgar F. A review on mouth dissolving films. **Current drug delivery**, v. 6, n. 5, p. 469-476, 2009.

DÍEZ-PASCUAL, A. M. Biopolymer Composites: Synthesis, Properties, and Applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 4, p. 2257, 18 fev. 2022.

DZIADEK, M. et al. Effect of the preparation methods on architecture, crystallinity, hydrolytic degradation, bioactivity, and biocompatibility of PCL/bioglass composite scaffolds: Effect of the preparation methods of PCL/bioglass composite scaffolds. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 103, n. 8, p. 1580–1593, 2015.

EGUCHI, N.; KAWABATA, K.; GOTO, H. Electrochemical Polymerization of 4,4-Dimethyl-2,2'-Bithiophene in Concentrated Polymer Liquid Crystal Solution. **Journal of Materials Science and Chemical Engineering**, v. 05, n. 02, p. 64–70, 2017.

EMMAMBUX, M. N; STADING, M. In situ tensile deformation of zein films with plasticizers and filler materials. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 8, p. 1245-1255, 2007.

ESEN, A. Separation of Alcohol-Soluble Proteins (Zeins) from Maize into Three Fractions by Differential Solubility. **Plant Physiology**, v. 80, n. 3, p. 623–627, 1 mar. 1986.

FERRANDO, A.; PART, J.; BAEZA, J. Treatment of Cavitory Bone Defects in Chronic Osteomyelitis: Bioactive glass S53P4 vs. Calcium Sulphate Antibiotic Beads. **Journal of Bone and Joint Infection**, v. 2, n. 4, p. 194–201, 9 out. 2017.

FERREIRA, J. O. Síntese de microfibras biopoliméricas de zeína/hidroxiopropilmetilcelulose e nanofibrila para liberação controlada de fármacos. **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Federal de São Carlos, campus Sorocaba, Sorocaba. 9 set. 2022.

FERNANDES, H. R. et al. Bioactive Glasses and Glass-Ceramics for Healthcare Applications in Bone Regeneration and Tissue Engineering. **Materials**, v. 11, n. 12, p. 2530, 12 Dez. 2018.

FORATO, L. Ap.; BERNARDES, R.; COLNAGO, L.A. Protein structure in KBr pellets by infrared spectroscopy. **Anal. Biochem.**, v. 259, n. 1, p. 136-141, 1998.

FORATO, L. A. Estudos das estruturas das zeínas por RMN, FTIR e MFA. 2000. 125 f. **Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Físico-Química**, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000.

FORATO, L. et al. “Prolaminas do Milho: análise por espectroscopia na região do infravermelho e sua utilização para obtenção de filmes contendo óleos vegetais” – São Carlos, SP: **Embrapa Instrumentação**, 2016.

GABBAI-ARMELIN, P. R. et al. Effect of a new bioactive fibrous glassy scaffold on bone repair. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 26, n. 5, p. 177, 2015.

GEORGET, D. M. R.; BARKER, S. A.; BELTON, P. S. A study on maize proteins as a potential new tablet excipient. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, n. 2, p. 718–726, jun. 2008.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. L.; GOODING, C. H. Measurements in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. **Journal of Food Engineering**, v. 21, n. 4, p. 395–409, Jan. 1994.

GOMES FILHO, V. V. et al. Factors associated with the need for a complete denture in one arch or both arches among the elderly population. **Brazilian Oral Research**, v. 34, p. e040, 2020.

GOWTHAMAN, N. S. K. et al. Advantages of biopolymers over synthetic polymers. Em: **Biopolymers and their Industrial Applications**. [s.l.] Elsevier, 2021. p. 351–372.

GUAZZELLI, E.; GALLI, G.; MARTINELLI, E. The Effect of Poly(ethylene glycol) (PEG) Length on the Wettability and Surface Chemistry of PEG-Fluoroalkyl-Modified Polystyrene Diblock Copolymers and Their Two-Layer Films with Elastomer Matrix. **Polymers**, v. 12, n. 6, p. 1236, 29 Maio 2020.

GUNES, S.; TAMBURACI, S.; TIHMINLIOGLU, F. A novel bilayer zein/MMT nanocomposite incorporated with H. perforatum oil for wound healing. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 31, n. 1, p. 7, Jan. 2020.

HE, M. et al. Fabrication of metronidazole loaded poly (ϵ -caprolactone)/zein core/shell nanofiber membranes via coaxial electrospinning for guided tissue regeneration. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 490, p. 270–278, mar. 2017.

HELLER, J. Controlled release of biologically active compounds from bioerodible polymers. **Biomaterials**, v. 1, n. 1, p. 51–57, jan. 1980.

HENCH, L. L. Bioceramics: From Concept to Clinic. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 74, n. 7, p. 1487–1510, Jul. 1991.

HENCH, L. L.; ANDERSSON, Ö. BIOACTIVE GLASSES. Em: HENCH, L. L.; WILSON, J. (Eds.). **An Introduction to Bioceramics**. [s.l.] WORLD SCIENTIFIC, 1993. p. 41–62.

HENCH, L. L. The story of Bioglass®. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 17, n. 11, p. 967–978, Nov. 2006.

HENCH, L. L. Genetic design of bioactive glass. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 29, n. 7, p. 1257–1265, abr. 2009.

HENCH, L. L.; JONES, J. R. Bioactive Glasses: Frontiers and Challenges. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 3, 30 Nov. 2015.

HU, S. et al. Study on antibacterial effect of 45S5 Bioglass®. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 20, n. 1, p. 281–286, jan. 2009.

HUANG, J. Design and Development of Ceramics and Glasses. Em: **Biology and Engineering of Stem Cell Niches**. [s.l.] Elsevier, p. 315–329, 2017.

IBRAHIM, S. et al. Biopolymers From Crop Plants. Em: **Reference Module in Materials Science and Materials Engineering**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. B9780128035818115000.

JAYALEKSHMI, A. C.; VICTOR, S. P.; SHARMA, C. P. Magnetic and degradable polymer/bioactive glass composite nanoparticles for biomedical applications. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 101, p. 196–204, jan. 2013.

JOAO HENRIQUE, L. et al. Chitosan/Bioglass composite films by dip-coating method. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 4, 2016.

JONES, J. R. Review of bioactive glass: From Hench to hybrids. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 1, p. 4457–4486, jan. 2013.

KALOGERAS, I. M.; LOBLAND, H. E. H. The Nature Of The Glassy State: Structure And Glass Transitions. **Journal of Materials Education**, v. 34, n. 3–4, p. 69–94, 2012.

KAUR, G. et al. A review of bioactive glasses: Their structure, properties, fabrication and apatite formation. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 102, n. 1, p. 254–274, jan. 2014.

KIM, H.-W.; KIM, H.-E.; KNOWLES, J. C. Production and Potential of Bioactive Glass Nanofibers as a Next-Generation Biomaterial. **Advanced Functional Materials**, v. 16, n. 12, p. 1529–1535, 4 ago. 2006.

KIM, J. M. et al. Preparation of corn gluten hydrolysate with angiotensin I converting enzyme inhibitory activity and its solubility and moisture sorption. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 8, p. 989–994, abr. 2004.

KOKUBO, T. Apatite formation on surfaces of ceramics, metals and polymers in body environment. **Acta Materialia**, v. 46, n. 7, p. 2519–2527, abr. 1998.

KUČUK, N. et al. Sustainable Biodegradable Biopolymer-Based Nanoparticles for Healthcare Applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 4, p. 3188, 6 fev. 2023.

- LARRAÑAGA, A.; SARASUA, J.-R. Effect of bioactive glass particles on the thermal degradation behaviour of medical polyesters. **Polymer Degradation and Stability**, v. 98, n. 3, p. 751–758, mar. 2013.
- LAWTON, J. W. Zein: A History of Processing and Use. **Cereal Chemistry Journal**, v. 79, n. 1, p. 1–18, jan. 2002.
- LI, H. et al. Compatibility studies with blends based on hydroxypropylcellulose and polyacrylonitrile. **Carbohydrate Polymers**, v. 73, n. 2, p. 191–200, Jul. 2008.
- LIU, Yaowen et al. Electrospun antibacterial and antiviral poly (ϵ -caprolactone)/zein/Ag bead-on-string membranes and its application in air filtration. **Materials Today Advances**, v. 12, p. 100173, 2021.
- LINDHE, J.; LANG, N. P.; KARRING, T. Tratado de periodontia clínica e implantologia oral. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral**, p. 1304–1304, 2010.
- LUECHA, J.; SOZER, N.; KOKINI, J.F. Synthesis and properties of corn zein/montmorillonite nanocomposite films. **Journal Material Science**, v. 45, n. 3, p.3529- 3537, 2010.
- LUTZU, G. A. et al. Latest developments in wastewater treatment and biopolymer production by microalgae. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 1, p. 104926, fev. 2021.
- MEEWAN, J. et al. Preparation of Zein-Based Nanoparticles: Nanoprecipitation versus Microfluidic-Assisted Manufacture, Effects of PEGylation on Nanoparticle Characteristics and Cellular Uptake by Melanoma Cells. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 17, p. 2809–2822, jun. 2022.
- MEHROTRA, N.; SINGH, S. Periodontitis. Em: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023.
- MELLAN, I. **The Behavior of Plasticizers**. Pergamon Press, Nova Iorque, 1961.
- MISRA, S. K. et al. Fabrication and Characterization of Biodegradable Poly(3-hydroxybutyrate) Composite Containing Bioglass. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 7, p. 2112–2119, 1 jul. 2007.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Projeto SB Brasil 2010: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal – Resultados Principais**. Brasília: Ministério da Saúde, 2012.
- MOOMAND, K.; LIM, L.-T. Properties of Encapsulated Fish Oil in Electrospun Zein Fibres Under Simulated In Vitro Conditions. **Food and Bioprocess Technology**, v. 8, n. 2, p. 431–444, fev. 2015.
- NASERI, S. et al. Fabrication and characterization of zein–bioactive glass scaffolds. **Bioinspired, Biomimetic and Nanobiomaterials**, v. 4, n. 1, p. 73–78, mar. 2015.
- NEZAFATI, N. et al. Effect of Silver Concentration on Bioactivity and Antibacterial Properties of SiO₂-CaO-P₂O₅ Sol-Gel Derived Bioactive Glass. **Key Engineering Materials**, v. 493–494, p. 74–79, out. 2011.

NIAOUNAKIS, M. Introduction. Em: **Biopolymers: Processing and Products**. [s.l.] Elsevier, 2015. p. 1–77.

NICHOLSON, J. W. Periodontal Therapy Using Bioactive Glasses: A Review. **Prosthesis**, v. 4, n. 4, p. 648–663, Dez. 2022.

O'LEARY, T. J. The Impact of Research on Scaling and Root Planing. **Journal of Periodontology**, v. 57, n. 2, p. 69–75, fev. 1986.

PAITAL, S. R.; DAHOTRE, N. B. Calcium phosphate coatings for bio-implant applications: Materials, performance factors, and methodologies. **Materials Science and Engineering: R: Reports**, v. 66, n. 1–3, p. 1–70, ago. 2009.

PADUA, G.W.; WANG, Q. Formation and properties of corn zein films and coatings. In: Gennadios, A. Protein-based films and coatings. **Boca Raton: CRC Press**, 2002, p. 43-67

PADUA, G.W.; WANG, Q. Formation of Zein Microphases in Ethanol–Water. **Langmuir**, v. 26, n. 15, p. 12897–12901, 3 ago. 2010.

PAPALIA, I. da S.; LONDERO, P. M. G; Extração de zeína e sua aplicação na conservação dos alimentos. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, p. 552-559, fevereiro 2015.

PARSHAD, B. et al. Non-ionic small amphiphile based nanostructures for biomedical applications. **RSC Advances**, v. 10, n. 69, p. 42098–42115, 2020.

PEITL, O.; ZANOTTO, E.D. e HENCH, L.L. **Highly bioactive P₂O₅-Na₂O-CaO-SiO₂ glass-ceramics**. *J. Non-Cryst Solids*, v. 292, p. 115-126, 2001.

PEREIRA, R. V. et al. Biovidro Osteocondutor Sintetizado Pelo Processo Sol-Gel. 2012.

PerioGlas - NovaBone India. Disponível em: <<https://www.novabone.in/perioglas>>. Acesso em: 26 nov. 2022.

QAZI, T. H. et al. Comparison of the effects of 45S5 and 1393 bioactive glass microparticles on hMSC behavior: Effects of Bioactive Glass Microparticles on hMSCs. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 105, n. 10, p. 2772–2782, out. 2017.

RAJESWARI, A.; STOBEL CHRISTY, E. J.; PIUS, A. Biopolymer blends and composites. Em: **Biopolymers and their Industrial Applications**. [s.l.] Elsevier, p. 105–147, 2021.

REINERS, R. A. et al. Industrial Uses of Cereals. St. Paul, MN: **American Association of Cereal Chemistry**. Salerno, A., Oliviero, M., Di Maio, F., & Iannace, S. (2007). Thermoplastic foams from zein and gelatin. *International Polymer Processing*, v. 22, 1973.

RIBEIRO, W. X. Caracterização de biofilmes de zeína e ácido oleico adicionado de nanocarbonato. **Dissertação de Mestrado**. São Jose do Rio Preto, 2014.

REBITSKI, E. P. et al. Functional Carboxymethylcellulose/Zein Bionanocomposite Films Based on Neomycin Supported on Sepiolite or Montmorillonite Clays. **ACS Omega**, v. 3, n. 10, p. 13538–13550, 31 out. 2018.

REHMAN, N. Bionanocompósitos de hidroxipropilcelulose com nanocristais de celulose de palha de milho: interações com surfactantes iônicos. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul-Instituto de Química. Porto Alegre, 2014.

RIZWAN, M.; HAMDY, M.; BASIRUN, W. J. Bioglass® 45S5-based composites for bone tissue engineering and functional applications. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 105, n. 11, p. 3197–3223, nov. 2017.

ROWE, R.; SHESKEY, P.; OWEN, S. Handbook of Pharmaceutical Excipients. **Pharmaceutical Press**, Londres, p. 317-322, 2009.

SACHDEVA, A.; SINGH, P.; RHEE, H. W. (EDS.). **Composite materials: properties, characterisation, and applications**. First edition ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2021.

SANTOS, T. M. Melhoria de propriedades físicas de filmes e revestimentos comestíveis de zeína. 2016. 121 f. **Tese (Doutorado em Engenharia Química)** - Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

SEPAHVANDI, A. et al. Photoluminescence in the characterization and early detection of biomimetic bone-like apatite formation on the surface of alkaline-treated titanium implant: State of the art. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 86, n. 2, p. 390–396, set. 2011.

SHEIKH, Z. et al. Biodegradable Materials for Bone Repair and Tissue Engineering Applications. **Materials**, v. 8, n. 9, p. 5744–5794, 31 ago. 2015.

SHUKLA, R.; CHERYAN, M. Zein: the industrial protein from corn. **Industrial Crops and Products**, v. 13, n. 3, p. 171–192, maio 2001.

SILVEIRA, E. da. Implante com biovidro. **Revista FAPESP**. Ed. 241. 2016. Disponível em: <<https://revistapesquisa.fapesp.br/implante-com-biovidro/>>. Acesso em: 26 Nov. 2022.

SINGH et al., Narpinder. Chapter 10 – Zein: structure, Production, Film Properties and Application. In: JOHN, Maya; THOMAS, Sabu. **Natural Polymers**. Vol.1: Composites, 2012.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. Spectrometric identification of organic compounds. **John Wiley & Sons**, Nova York, p. 424, 1974.

STANISZ, M.; KLAPISZEWSKI, Ł.; JESIONOWSKI, T. Recent advances in the fabrication and application of biopolymer-based micro- and nanostructures: A comprehensive review. **Chemical Engineering Journal**, v. 397, p. 125409, out. 2020.

STEFFENS, J. P.; MARCANTONIO, R. A. C. Classificação das Doenças e Condições Periodontais e Peri-implantares 2018: guia Prático e Pontos-Chave. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 47, p. 189–197, ago. 2018.

SOHRABI, K. et al. An Evaluation of Bioactive Glass in the Treatment of Periodontal Defects: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Clinical Trials. **Journal of Periodontology**, v. 83, n. 4, p. 453–464, abr. 2012.

SORDI, M. B. et al. Enhanced bone tissue regeneration with hydrogel-based scaffolds by embedding parathyroid hormone in mesoporous bioactive glass. **Clinical Oral Investigations**, v. 27, n. 1, p. 125–137, 26 ago. 2022.

SOUBHAGYA, A. S. et al. Preparation and characterization of chitosan/carboxymethyl pullulan/bioglass composite films for wound healing. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 36, n. 7, p. 1151–1163, fev. 2022.

SUKUMARAN, N. P.; GOPI, S. Overview of biopolymers. **Biopolymers and their Industrial Applications**. [s.l.] Elsevier, 2021. p. 1–19.

TABASUM, S. et al. A review on versatile applications of blends and composites of pullulan with natural and synthetic polymers. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 603–632, dez. 2018

TAVARES, L. L. Efeito da adição de argilas modificadas na estrutura e propriedades funcionais de biofilmes produzidos a base de zeína, **Dissertação de Mestrado**. São José do Rio Preto: [s.n.], 2010.

TAVARES, L. L. et al. Effect of modified clays on the structure and functional properties of biofilms produced with zein. **Food Science and Technology**, v. 32, n. 2, p. 314–322, 29 maio 2012.

TIHMINLIOGLU, F.; ATIK, I.D.; ÖZEN, B. Water vapor and oxygen-barrier performance of corn-zein coated polypropylene films. **Journal of Food Engineering**, v. 96, p. 342–347, 2010.

TILLEKERATNE, M.; EASTEAL, A. J. Modification of zein films by incorporation of poly(ethylene glycol)s. **Polymer International**, v. 49, n. 1, p. 127–134, jan. 2000.

TIRAPELLI, C. et al. The effect of a novel crystallised bioactive glass-ceramic powder on dentine hypersensitivity: a long-term clinical study: NOVEL BIOACTIVE GLASS-CERAMIC ON DENTINE HYPERSENSITIVITY. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 38, n. 4, p. 253–262, abr. 2011.

VARMA, K.; GOPI, S. Biopolymers and their role in medicinal and pharmaceutical applications. Em: **Biopolymers and their Industrial Applications**. [s.l.] Elsevier, 2021. p. 175–191

VILLAÇA, J. H. et al. Bioactive Glass Efficacy in the Periodontal Healing of Intrabony Defects in Monkeys. **Brazilian Dental Journal**, v. 16, n. 1, p. 67–74, abr. 2005.

VROMAN, I.; TIGHZERT, L. Biodegradable Polymers. **Materials**, v. 2, n. 2, p. 307–344, 1 abr. 2009.

WALTIMO, T. et al. Antimicrobial Effect of Nanometric Bioactive Glass 45S5. **Journal of Dental Research**, v. 86, n. 8, p. 754–757, ago. 2007.

WEI, Y. et al. Fabrication and characterization of resveratrol loaded zein-propylene glycol alginate-rhamnolipid composite nanoparticles: Physicochemical stability, formation mechanism and in vitro digestion. **Food Hydrocolloids**, v. 95, p. 336–348, out. 2019.

WILLIAMS, D. F. Biocompatibility pathways and mechanisms for bioactive materials: The bioactivity zone. **Bioactive Materials**, v. 10, p. 306–322, 1 abr. 2022.

WILSON, C. M. Multiple Zeins from Maize Endosperms Characterized by Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography. **Plant Physiology**, v. 95, n. 3, p. 777–786, 1 mar. 1991.

YAZDANPANA, A. et al. Enhancement of fracture toughness in bioactive glass-based nanocomposites with nanocrystalline forsterite as advanced biomaterials for bone tissue engineering applications. **Ceramics International**, v. 38, n. 6, p. 5007–5014, ago. 2012.

YOUNG, R. **BioGlass Is Back – In an Incredible New Form**. Disponível em: <<https://ryortho.com/2014/10/bioglass-is-back-in-an-incredible-new-form/>>. Acesso em: 1 jul. 2023.

YU, L.; DEAN, K.; LI, L.; Polymer blends and composites from renewable resources. **Progress in Polymer Science**. v. 31, n. 6, p.576-602, 2006.

ZHANG, M. et al. Properties and biocompatibility of chitosan films modified by blending with PEG. **Biomaterials**, v. 23, n. 13, p. 2641–2648, 1 jul. 2002.

ZHANG, Y., et al., Zein-based films and their usage for controlled delivery: Origin, classes and current landscape. **Journal of Controlled Release**, v. 206, p. 206-219, 2015.

ZHANG, Y. et al. Modified adsorbent hydroxypropyl cellulose xanthate for removal of Cu 2+ and Ni 2+ from aqueous solution. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, n. 56, p. 27419–27431, 1 dez. 2016.

ZHOU, P., XIA, Y., WANG, J., LIANG, C., YU, L., TANG, W., XU, S. (2013). Antibacterial properties and bioactivity of HACC- and HACC–Zein-modified mesoporous bioactive glass scaffolds. **J. Mater. Chem. B**, 1(5), 685–692.