



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

JOSÉ ROBERTO PIMENTEL CABRAL DE SEIXAS

**OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE
MEMBRANA À BASE DE GALACTOMANANA CONTENDO LACTOFERRINA
INCORPORADA**

RECIFE

2017

JOSÉ ROBERTO PIMENTEL CABRAL DE SEIXAS

**OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE
MEMBRANA À BASE DE GALACTOMANANA CONTENDO LACTOFERRINA
INCORPORADA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Bioquímica e Fisiologia. Área de concentração: Bioquímica e Fisiologia.

Orientadora: Prof^{fa} Dra. Maria das Graças Carneiro da Cunha

Coorientador: Prof. Dr. Paulo Antônio Galindo Soares

RECIFE

2017

Catálogo na Fonte:
Bibliotecária Natália Nascimento, CRB4/1743

Seixas, José Roberto Pimentel Cabral de.

Obtenção, caracterização e avaliação da citotoxicidade de membrana à base de galactomanana contendo lactoferrina incorporada. / José Roberto Pimentel Cabral de Seixas. – 2017.

110 f. : il., fig.; tab.

Orientadora: Maria das Graças Carneiro da Cunha.

Coorientador: Paulo Antônio Galindo Soares.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Bioquímica e fisiologia, 2017.

Inclui referências.

1. Análises físico-químicas. 2. Galactomanana. 3. Lactoferrina. 4. Citotoxicidade. I. Cunha, Maria das Graças Carneiro da. (orient.). II. Soares, Paulo Antônio Galindo. (Coorient.). III. Título.

587

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023-092

JOSÉ ROBERTO PIMENTEL CABRAL DE SEIXAS

**OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE
MEMBRANA À BASE DE GALACTOMANANA CONTENDO LACTOFERRINA
INCORPORADA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Bioquímica e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Biociências, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Fisiologia. Área de concentração: Bioquímica e Fisiologia.

Aprovada em: 21/02/2017

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Maria das Graças Carneiro da Cunha (Orientadora)

Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof.^a Dr.^a Maria Tereza dos Santos Correia (Membro Interno)

Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dr. Luis Cláudio Nascimento da Silva (Membro Externo)

Universidade Ceuma - UNICEUMA

Dedico este trabalho à toda minha família que me ensinou a não baixar a cabeça diante dos meus sonhos e me deu suporte para que eles fossem alcançados.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me dar forças, me orientar nas minhas decisões e sempre estar comigo em toda minha existência, agradeço eternamente.

À minha orientadora, professora Maria das Graças, pela confiança dada desde a iniciação científica, por todo conhecimento passado. Tenho profunda admiração pelo seu profissionalismo, obrigado por tudo.

À Priscilla e Paulo, pela amizade e companheirismo tanto no ambiente de trabalho como fora dele. Vocês foram essenciais para que este trabalho tenha saído do papel.

A todos os membros que passaram pelo laboratório de Biotecnologia e deixaram grande conhecimento e amizade: Marthyna, Isabel e Adelmo.

A todos os membros do laboratório de biotecnologia: George, pela amizade, não ganhei um amigo, mas um irmão. A Fernanda Pacífico, Fernanda Andrade, Jan e Rita por tornarem o ambiente de trabalho prazeroso, e sempre mostrando que podemos conciliar amizade e trabalho.

À Julyanne Maria pela amizade, e formatação do trabalho, foi fundamental.

À parceria entre os laboratórios do departamento de bioquímica, que sempre auxiliaram para o bem estar e uma melhor dinâmica na pesquisa.

Aos funcionários e professores do departamento de bioquímica.

A todos os amigos da turma de graduação 2010.2, sei que levarei por toda minha vida.

Ao colégio Vera Cruz pela formação singular. A todos os amigos do colégio que até hoje formam uma família .

Aos Meus pais, José Roberto e Thaís, pela educação, caráter e amor que me deram e continuam me dando, por nunca deixarem que nada faltasse para que meu sucesso fosse alcançado, por tudo. Aos meus irmãos Raphael e Arthur pelo companheirismo. À minha linda filha Sophie, que nasceu na minha vida para me dar forças todos os dias, brilho, alegria e um beijo quando chego da faculdade. À toda minha família: avós, avôs, tias, tios e primos. Ao CNPq pelo suporte financeiro. Agradeço por tudo e a todos que me ajudaram de alguma forma neste trabalho.

“O homem não teria alcançado o possível se,
repetidas vezes, não tivesse tentado o
impossível.” (Max Weber)

RESUMO

Membranas preparadas à base de polissacarídeos vêm se revelando promissoras como biomateriais, devido à possibilidade de controle da sua composição e por serem biocompatíveis e biodegradáveis, facilitando assim a adesão e proliferação celular. A lactoferrina é a segunda proteína predominante no leite humano, apresentando também grande relevância nos bovinos, com concentrações mais elevadas no colostro. A galactomanana foi extraída das sementes de *Cassia grandis*, utilizada para produção da membrana constituída de 0,6% (p/v) de galactomanana e de 0,2% (v/v) de glicerol acrescidas ou não de lactoferrina (Lf) (0,5 mg/mL). As mesmas foram caracterizadas através de análises físico-químicas [espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), cor (luminosidade-L*, verde ao vermelho-a*, amarelo ao azul-b* e opacidade-Y%), teor de umidade (TU), solubilidade, permeabilidade ao vapor de água (PVA), propriedades mecânicas, liberação proteica], assim como em relação a citotoxicidade *in vitro* sobre cultura de macrófagos da linhagem murina RAW 264.7. O FTIR obtido para a membrana de galactomanana sem lactoferrina (Lf) foi semelhante aos reportados na literatura enquanto que a presença de Lf foi confirmada pelo espectro das membranas que os comportava. Quanto à cor, ambas as membranas com e sem Lf apresentaram características brilhantes com uma forte tendência à brancura e aspecto ligeiramente amarelado; apresentando uma discreta opacidade (Y%). Os resultados referentes ao teor de umidade mostraram que as membranas à base de galactomanana contendo lactoferrina apresentaram uma redução significativa ($p < 0,05$) quando comparados com a membrana sem Lf, o que pode ser explicado pelo fato de que a Lf apresenta regiões hidrofóbicas e hidrofílicas na sua conformação. Os resultados de solubilidade das membranas com e sem Lf foram de $92,00 \pm 2,08 \%$ e $98,67 \pm 7,68 \%$, respectivamente, não apresentando diferença estatística ($p > 0,05$). Os resultados de PVA para as membranas de galactomanana com e sem lactoferrina foram de $6,97 \pm 1,14 \times 10^{-7} \text{ (gh}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ Pa}^{-1})$ e $5,84 \pm 0,77 \times 10^{-7} \text{ (gh}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ Pa}^{-1})$, respectivamente, apresentando a mesma ordem de magnitude reportada na literatura para diferentes membranas polissacarídicas. Os resultados das propriedades mecânicas revelaram que a rigidez das membranas com Lf ($0,37 \pm 0,01 \text{ Mpa}$) foi inferior às das membranas sem Lf ($0,98 \pm 0,09 \text{ Mpa}$), quanto a resistência a tração para as membranas com e sem Lf não foram detectadas diferenças significativas, apresentando valores de $2,64 \pm 0,52 \text{ Mpa}$ e $2,78 \pm 0,17 \text{ Mpa}$; os valores de alongamento à ruptura foram de $5,75 \pm 0,50 \%$ e $13,05 \pm 0,44 \%$ para as membranas sem e com Lf, respectivamente, confirmando que as membranas com Lf imobilizada foram mais flexíveis que

as membranas sem Lf. A cinética de liberação da Lf da membrana de galactomanana, confirmou sua liberação da matrix polissacarídica. As soluções de membranas da galactomanana sem e com lactoferrina incorporada nas concentrações de 3,125 a 25 µg/mL não apresentaram citotoxicidade frente a linhagem RAW 264.7. Os resultados obtidos demonstram que as membranas de galactomanana com e sem lactoferrina foram desenvolvidos com sucesso, sugerindo sua ampla aplicação na área alimentar e da saúde.

Palavras-chaves: análises físico-químicas; galactomanana; lactoferrina; citotoxicidade.

ABSTRACT

Polysaccharides membranes revealed to be promising biomaterials due its composition control, biocompatibility and biodegradability, which facilitate cell adhesion and proliferation. Lactoferrin is a second protein predominant in human milk, with a higher incidence in bovine, with a higher proportion in colostrum. Galactomannan was extracted from *C. grandis* seeds, assembling a galactomannan 0,6% (w/v) and glycerol 0,2% (v/v) membrane supplemented or not with 0,5 mg/mL lactoferrin (Lf). Membranes were characterized by physiochemical analysis [Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), color (L*-luminosity, green to red-a*, yellow to blue-b* and opacity-Y%), moisture content (MC), solubility, water vapor permeability (WVP), mechanical properties, protein release], as well as *in vitro* cytotoxicity relation on macrophage culture of RAW 264.7 murine lineage. FTIR obtained for the galactomannan membrane without lactoferrin (Lf) was similar to those reported in the literature whereas the presence of Lf was confirmed by the spectrum of the membranes that carried them. In regard to color, both membranes with and without lactof presented bright characteristics with a strong tendency to whiteness and appearance slightly yellowish; The results for the moisture content exhibited a significant reduction ($p < 0.05$) on galactomannan-based membranes containing Lf in comparison to the membrane without Lf, which can be explained by the fact that Lf has hydrophobic and hydrophilic regions on their conformation. The solubility results of membranes with and without Lf were $92.00 \pm 2.08\%$ and $98.67 \pm 7.68\%$, respectively, with no statistical difference ($p > 0.05$) between them. The results of WVP for galactomannan membranes with and without Lf were $6.97 \pm 1.14 \times 10^{-7} \text{ (gh}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ Pa}^{-1}\text{)}$ and $5.84 \pm 0.77 \times 10^{-7} \text{ (gh}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ Pa}^{-1}\text{)}$, respectively, with the same magnitude order reported in the literature for different polysaccharide membranes. The results of the mechanical properties revealed that the stiffness of the membranes with Lf ($0.37 \pm 0.01 \text{ MPa}$) was lower than the membranes without Lf ($0.98 \pm 0.09 \text{ MPa}$), and the tensile strength for the membranes with and without Lf did not detect significant differences, presenting values of $2.64 \pm 0.52 \text{ Mpa}$ and $2.78 \pm 0.17 \text{ Mpa}$; the elongation at break values were $5.75 \pm 0.50\%$ and $13.05 \pm 0.44\%$ for the membranes without and with Lf, respectively, confirming that membranes with immobilized Lf were more flexible than membranes without Lf. The release kinetics of Lf from the galactomannan membrane confirmed its release from the polysaccharide matrix. Membranes forming solutions of the galactomannan without and with Lf incorporated in the concentrations of 3,125 to 25 $\mu\text{g/mL}$ conferred no cytotoxicity against RAW 264.7 line. The results obtained indicate that the galactomannan membranes with and without lactoferrin were successfully produced, suggesting their wide application in the food and health area.

Keywords: physicochemical analysis; galactomannan; lactoferrin; cytotoxicity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

DISSERTAÇÃO

Figura 1- Evolução da funcionalidade e da capacidade regenerativa dos biomateriais ao longo de seu desenvolvimento	19
Figura 2- Segmento representativo de uma cadeia de galactomanana de origem vegetal ...	28
Figura 3- Corte longitudinal de semente da família Leguminosae contendo endosperma...	28
Figura 4- Distribuição das substituições de galactose ao longo da cadeia principal de manana	29
Figura 5- Árvore e flores de <i>Cassia grandis</i>	34
Figura 6- Vagens e Fruto com sementes de <i>Cassia grandis</i>	34
Figura 7- Estrutura da Lactoferrina	38
Figura 8- Diagrama CIELAB no espaço de cor $L^*a^*b^*$	49

ARTIGO

Figure 1- FTIR spectra of the Galactomannan membrane (A) and (LF) incorporated membrane (B) ..	62
Figure 2- Protein release % (Lf) as a function of time in hours.....	69
Figure 3- Cell viability of the constituents of membranes (A) and (B), (LF), (GAL), (GLY), (GAL + GLY) and (GAL + Lf)	70

LISTA DE TABELAS

DISSERTAÇÃO

Tabela 1- A análise química dos componentes da semente de <i>Cassia grandis</i>	36
Tabela 2- Frequências vibracionais de ligações químicas associadas à galactomanana.....	41

ARTIGO

Table 1- Colour parameters L* (luminosity), a* (-a* = greenness and + a* = redness), b* (-b* = blueness and + b* = yellowness) and Y (opacity) for the galactomannan membrane and galactomannan with lactoferrin	63
Table 2- Moisture content (MC), solubility (Sol), and water vapour permeability (WVP). Galactomannan membranes with and without incorporated lactoferrin	66
Table 3- Effect of concentration on Young's modulus (YM), tensile strength (TS) and elongation break (EB) of the membranes galactomannan (A) and (LF) 0,5 mg/ml (B).....	68

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	OBJETIVO GERAL	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3	REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1	BIOMATERIAIS	18
3.1.1	Biomateriais à Base de Polímeros.....	20
3.1.2	Polímeros Sintéticos.....	21
3.1.3	Polímeros Naturais	23
3.2	MEMBRANAS POLISSACARÍDICAS	25
3.3	GALATOMANANAS.....	28
3.3.1	Aplicações Biotecnológicas.....	30
3.3.2	Galactomananas de Plantas do Gênero Cassia	32
3.4	EXTRAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS	36
3.5	LACTOFERRINA	38
3.6	PROCESSOS DE CARACTERIZAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS.....	40
3.6.1	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	40
3.6.2	Espessura de Membranas Polissacarídicas	41
3.6.3	Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA).....	42
3.6.4	Solubilidade em Água.....	43
3.6.5	Propriedades Mecânicas.....	44
3.6.6	Propriedades de Tração (Tensile Strength).....	45
3.6.7	Porcentagem de Alongamento (Elongation).....	46
3.6.8	Módulo de Elasticidade ou de Young.....	46

3.6.9	Propriedades Mecânicas na Literatura	47
3.7	COLORIMETRIA	47
3.8	AVALIAÇÃO CITOTÓXICA	49
4	ARTIGO - OBTAINING, CHARACTERIZING AND EVALUATING MEMBRANE CYTOTOXICITY BASED ON GALACTOMANANA CONTAINING LACTOFERRIN INCORPORATED	51
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	81
	REFERÊNCIAS.....	82

1 INTRODUÇÃO

Um biomaterial, na terminologia médica, é qualquer material natural ou sintético (que inclui polímero ou metal) destinado à introdução em tecidos vivos como parte de um dispositivo médico ou implante. Os biomateriais podem ser definidos como materiais que possibilitam o contato com tecidos vivos sem provocar uma reação de rejeição imunológica (BHAT e KUMAR, 2013). Na engenharia de tecidos, por exemplo, os biomateriais devem ser capazes de se integrar com o tecido nativo, permitindo a infiltração, proliferação celular e degradação, auxiliando a formação de novos tecidos, sem causar uma resposta inflamatória (MALAFAYA, 2007; VON DER MARK, 2013).

Polímeros de ocorrência natural ou polímeros derivados de origens biológicas são materiais atrativos para a preparação de superfícies biocompatíveis. Os polímeros à base de proteínas ou peptídeos (SEO et al., 2013a; TAMURA et al., 2013), como por exemplo, colágeno (FLECK & SIMMAN, 2010; SEO & YUI, 2013; MAJUMDAR et al., 2015); e de

polissacarídeos como por exemplo quitina (FRANCESKO & TZANOV, 2011), quitosana (PANDIS et al., 2014; CARDOSO et al., 2014), ácido hialurônico (LOPES et al., 2014), alginato (ZHENG et al., 2014) e galactomanana (ROSSI et al., 2016; YANG et al., 2017), demonstraram grande potencial de aplicação na preparação de compostos biocompatíveis (SEO et al., 2013b), transportadores de distribuição de drogas (NOH et al., 2012), matrizes para engenharia de tecidos (SGARBIERI, 2004; ZHANG et al., 2013) tratamento de feridas tópicas e queimaduras (OKAMURA et al., 2013; VASILE et al., 2013; PLETTIG et al., 2014; XU et al., 2015), reparo de hérnias (BEALE, et al., 2012) e desenvolvimento de dispositivos hemostáticos (GRANVILLE-CHAPMAN et al., 2011; SMITH et al., 2013; GAHARWAR et al., 2014; OHTA et al., 2014), uma vez que se assemelham à matriz extracelular ou componentes dos fluidos biológicos.

Entre os polímeros naturais, os polissacarídeos do tipo galactomanana oferecem várias vantagens em termos de biocompatibilidade, hidrofiliabilidade e propriedades bioativas (ALBUQUERQUE et al., 2014; ALBUQUERQUE et al., 2016), pois são polímeros formados por uma cadeia linear com unidades β -1,4-D-manopiranosose substituídas por unidades ligantes α -1,6-D-galactopiranosose obtidos principalmente de plantas, onde desempenham função de reserva cuja principal fonte é o endosperma das sementes, com destaque para os membros da família Leguminosae (DEA & MORRINSON, 1975). A galactomanana extraída das sementes de *Cassia grandis*, uma árvore típica do nordeste brasileiro, foi bem caracterizada por

Albuquerque et al. (2014); eles demonstraram que este polissacarídeo se apresenta como uma fonte alternativa para galactomananas convencionais devido à sua capacidade de apresentar tanto comportamento líquido como gel, sugerindo que, devido às suas propriedades reológicas, podem ser úteis em várias aplicações biotecnológicas, como produção de filmes comestíveis com base em sua comestibilidade e biodegradabilidade.

A lactoferrina (Lf) é uma glicoproteína monomérica, globular e básica de ligação ao ferro de 80 kDa da família da transferrina. Esta proteína pode ser encontrada no leite especialmente no colostro e na maioria dos fluidos biológicos, onde detêm importantes atividades biológicas, incluindo anticancerígena, antiinflamatória, antiviral, antifúngico, inibidor da formação de radicais livres, modulador imunológico, além de propriedades antimicrobianas contra um grande número de microorganismos (GONZÁLEZ-CHÁVEZ et al., 2009; JENSSEN, e HANCOCK, 2009; GARCÍA-MONTOYA et al., 2012; HABIB et al., 2013; BOKKHIM et al., 2013; EMBLETON et al., 2013).

A incorporação de compostos bioativos com propriedades funcionais nas membranas à base de galactomanana podem trazer várias vantagens para indústrias farmacêuticas e alimentares. Portanto, considerando-se as potenciais atividades da Lf, sua incorporação em membranas polissacarídicas facilitaria o uso tópico destas biomoléculas para aplicações biotecnológicas como cicatrizantes. Contudo, em se tratando de um novo biomaterial, antes de ser aplicado *in vivo*, é necessário a realização dos ensaios de caracterização e testes *in vitro* para que suas características físico-químicas, propriedades mecânicas, e avaliação de citotoxicidade atendam aos critérios de qualidade exigidos pelas indústrias.

O presente trabalho teve como objetivo produzir e caracterizar a membrana de galactomanana obtida através das sementes de *Cassia grandis* contendo ou não Lf incorporada, assim como a citotoxicidade dos produtos formados foi avaliado frente à cultura de células RAW 264.7 (macrófagos murinos) (*in vitro*).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Produzir e caracterizar membranas à base de galactomanana, extraída das sementes da *Cassia grandis*, contendo ou não lactoferrina incorporada, e avaliar a sua citotoxicidade frente à cultura de células (*in vitro*).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair e purificar a galactomanana presente nas sementes da *Cassia grandis*;
- Desenvolver membranas à base de galactomanana;
- Incorporar lactoferrina à membrana e realizar ensaios de liberação;
- Caracterizar as membranas produzidas através dos parâmetros de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier, cor, teor de umidade, solubilidade, permeabilidade ao vapor de água (PVA) e propriedades mecânicas.
- Avaliar a citotoxicidade da membrana, com e sem lactoferrina incorporada, utilizando cultura de células de macrófagos da linhagem murina RAW 264.7 (ensaios *in vitro*).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 BIOMATERIAIS

Os biomateriais podem ser definidos simplesmente como materiais naturais ou sintéticos que compreendem toda ou parte de uma estrutura viva ou dispositivo biomédico, que podem entrar em contato com sistemas biológicos (incluindo fluidos biológicos), com aplicações diagnósticas, vacinais, cirúrgicas ou terapêuticas (PETRULYTE & PETRULIS, 2011; PIRES, 2015).

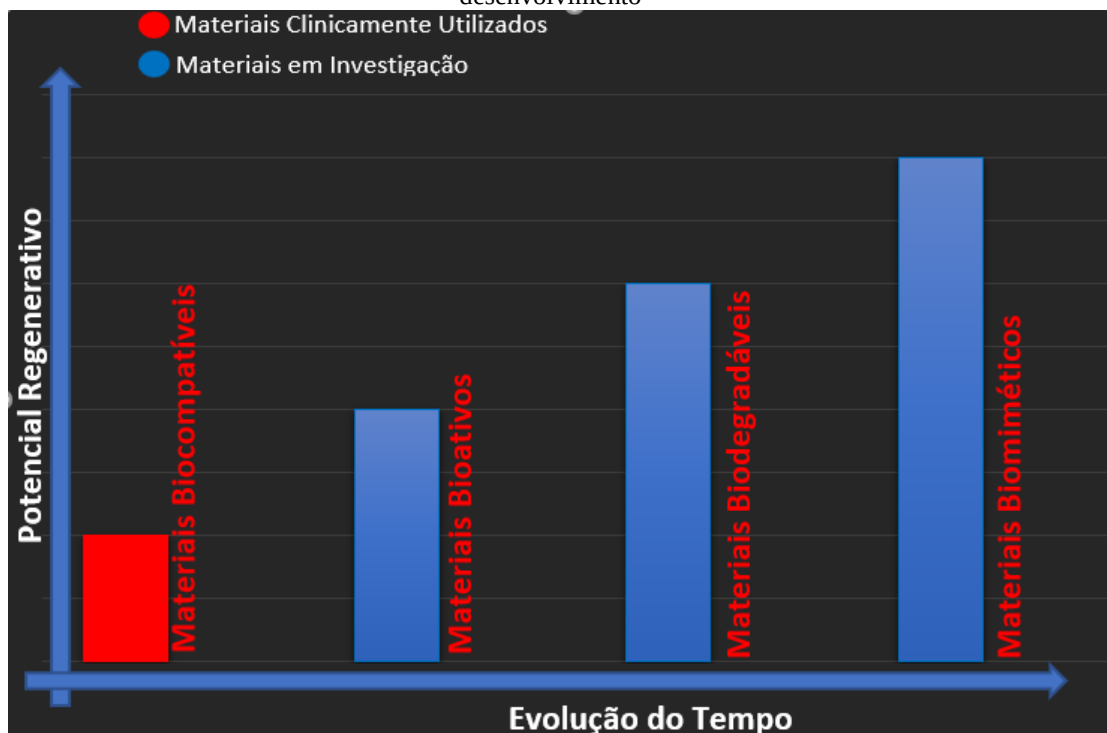
Um biomaterial pode ser definido como qualquer substância ou combinação de substâncias, naturais ou sintéticas, que não sejam drogas ou fármacos, utilizados em aplicações biomédicas e que interagem com sistemas biológicos, que tratam, aumentam ou substituem quaisquer tecidos, órgãos ou funções do corpo (OLIVEIRA et al., 2010).

A utilização de biomateriais não é recente; diversos registros ressaltam sua aplicação para resolução dos mais diversos problemas. Há registro, por exemplo, do uso de suturas de linho e ouro no Antigo Egito (2000 AC) e de intestino de gatos, na Europa, durante a Idade Média, assim como de dentes artificiais feitos de conchas pelos maias (600 AC), de ferropelos franceses (200 AC) e de ouro e madeira pelos romanos, chineses e astecas (PIRES, 2015). Atualmente, os biomateriais vêm ganhando grande força devido aos avanços na biologia molecular, química, ciência dos materiais e engenharia; o envelhecimento populacional e buscas por melhoria na qualidade de vida contribuíram significativamente para esta evolução. Nas décadas de 1940 e 1950, os biomateriais tiveram grande destaque no ramo científico e vem crescendo a cada década (RATNER et al., 2013).

No início do uso dos biomateriais de forma mais sistematizada, nas proximidades da década de 50, buscavam-se os materiais bioinertes (foco no material em si). Com o passar do tempo, a meta passou a ser a bioatividade dos biomateriais, e mais recentemente, o objetivo tem sido a regeneração de um tecido funcional de fato, com foco, então, no aspecto biológico (RATNER et al., 2013), ou seja, inicialmente tinha-se por objetivo a obtenção de materiais biocompatíveis que pudessem substituir um tecido danificado e prover suporte mecânico, com mínima resposta biológica do paciente. Com o passar do tempo, buscou-se aumentar a vida do implante por sua interação com a interface do tecido hospedeiro; em seguida, focou-se no desenvolvimento de materiais biodegradáveis, com capacidade de serem incorporados ou absorvidos (após dissolução) pelo tecido hospedeiro, e, mais recentemente, tem-se trabalhado com o conceito de biomimética, buscando-se materiais que participem de forma ativa no processo de recuperação, atuando no tecido de forma específica, com estimulação em nível celular. Tal conceito

evolutivo no desenvolvimento e utilização de biomateriais é ilustrado na Figura 1, que indica também que os materiais mais usados clinicamente na atualidade são biocompatíveis, bioativos e biodegradáveis, e os mais pesquisados, os bioativos, os biodegradáveis e os biomiméticos (HOLZAPFEL et al., 2013).

Figura 1- Evolução da funcionalidade e da capacidade regenerativa dos biomateriais ao longo de seu desenvolvimento



Fonte: SEIXAS et al. (2017).

Generalizar as características ideais para os biomateriais não é a maneira correta para produção dos mesmos, pois é na sua aplicação singular que possivelmente se encontra as características específicas para sua confecção, alguns tipos de propriedades são frequentemente avaliados para que o projeto do dispositivo possa ser realizado de forma efetiva e economicamente atraente. Destacando-se diversas propriedades no ramo biológico, como a biocompatibilidade, hemocompatibilidade, citotoxicidade, alergenicidade, estimulação de adesão e proliferação celular; as propriedades físicas, como morfologia da superfície, energia superficial, encaixe anatômico, rugosidade, porosidade, cor, transparência e permeabilidade, propriedades mecânicas como tensão de ruptura, alongamento e flexibilidade e propriedades químicas, como densidade, estabilidade, resistência à esterilização e forma de degradação quando em contato com o organismo. (LAWSON et al., 2007; LUTOLF et al., 2009; PIRES, 2015; RAFTERY et al., 2016; ALEXANDER, 2017).

3.1.1 Biomateriais à Base de Polímeros

Polímeros são macromoléculas de alta massa molar formadas pela ligação de unidades repetitivas menores (meros) ao longo da cadeia principal. As ligações entre os meros são covalentes, no entanto, ligações de hidrogênio entre diferentes cadeias, assim como interações de van der Waals e reticulação por meio de ligações covalentes podem também ocorrer. Os polímeros, sejam naturais ou sintéticos, são moléculas grandes cujas cadeias são capazes de produzir matrizes contínuas que irão influenciar a formação bem-sucedida de filmes, membranas e revestimentos. (PARK et al., 2007; WONG e BRONZINO; MOMOH et al., 2015).

Biomateriais poliméricos são amplamente utilizados no âmbito médico, principalmente nos campos que incluem: entrega de medicamentos, andaimes de engenharia de tecidos, fabricação de dispositivos médicos e diagnósticos. A facilidade de fabricação de formas variadas (partículas, filmes, membranas e fios), alta flexibilidade sintética, alta razão superfície-volume, alta porosidade com tamanho de poros menores, biodegradação, biocompatibilidade e propriedades mecânicas adequadas ganham destaque frente aos materiais cerâmicos ou metálicos (HILL, 2005; DUNCANSO et al., 2007; KULLKARNI, 2013; PERTICI, 2017; WANG et al., 2018).

3.1.2 Polímeros Sintéticos

Biopolímeros sintéticos atualmente vem se tornando alternativas atraentes para aplicações biomédicas pelas seguintes razões: (1) embora a maioria dos polímeros biodegradáveis possuam boa biocompatibilidade, alguns podem desencadear uma resposta imune no corpo humano, que poderia ser evitado pelo uso de um biopolímero sintético; (2) modificações químicas em polímeros biodegradáveis de origem biológica são difíceis; (3) modificações químicas em polímeros biodegradáveis de origem biológicas causam alterações das propriedades de volume. Uma variedade de propriedades pode ser obtida e modificações adicionais são possíveis com biopolímeros sintéticos projetados apropriadamente sem alterar as propriedades do volume (TIAN et al., 2012). Características como cinética de degradação conhecida e síntese controlada e reprodutível, também favorecem a utilização dos polímeros sintéticos, além de possuírem a vantagem de fácil adaptação como propriedades funcionais, sendo possível manipular, por exemplo, a forma e o tamanho dos dispositivos, assim como suas propriedades mecânicas (como a viscoelasticidade). Os principais tipos de polímeros constituintes de biomateriais são: poliamidas, polietileno, polipropileno, poliacrilatos, fluorocarbonos, poliésteres, poliéteres, poliuretanos, entre outros (ZHAOHUI et al., 2016).

Reações indesejáveis podem ser desencadeadas ao longo do tempo de utilização de polímeros sintéticos, como inflamações, devido a degradações, essas por sua vez não compatíveis com as células por apresentarem subprodutos tóxicos nos grupamentos químicos; ligações químicas hidroliticamente instáveis na cadeia principal do polímero representam a relação da alta degradabilidade apresentando grupos funcionais instáveis como: os ésteres, carbonatos, amidas, uretanos, ureias e anidridos (NAIR et al., 2007; PIRES, 2015).

Um exemplo deste caso é o poli (tereftalato de etileno) (PET), um poliéster linear termoplástico, é um dos polímeros mais versáteis atualmente em uso (MERCHANT RESEARCH e CONSULTING, 2015). Originalmente desenvolvido para aplicações têxteis e alimentícias, apresenta boa estabilidade térmica e propriedades dielétricas, alta inércia química, elevada resistência à água e impermeabilidade; Os PETs também apresentam boa compatibilidade com a maioria dos alimentos e medicamentos, sendo, portanto, fundamentais para a fabricação de itens de embalagem de alimentos e medicamentos (AWAJA e PAVEL,

2005) mas é também utilizado para a confecção de suturas e enxertos vasculares (HEATH e COOPER 2013). O PET necessita de tratamentos específicos como: limpezas e lavagens, devido a sua toxicidade durante a degradação, minimizando assim os possíveis efeitos deletérios durante sua utilização (SINGH et al., 2007; REZAEI et al., 2016; BUNEKAR et al., 2016).

Poli (metacrilato de metila) (PMMA) é outro exemplo de polímero sintético comercialmente disponível com muitas qualidades industriais atraentes, incluindo excelente transparência, baixo índice de refração, baixa expansão térmica, alta resistência a intempéries e baixa birrefringência (HU et al., 2016; MOHAMMADI et al., 2017) mas em contrapartida pode causar efeitos tóxicos durante sua degradação (PIRES, 2015). O PMMA é uma resina acrílica resultante da polimerização do metacrilato de metila (MMA) e tem sido utilizado em vários ramos da ciência moderna, como exemplo a utilização em tecido ósseo em cirurgias ortopédicas; a auto-polimerização do PMMA/MMA explica o processo de solidificação e adaptação para onde foi aplicado, entretanto, a adesão deste polímero aos ossos é limitada se a área de contato não é suficientemente grande, além disso, o mesmo pode gerar toxicidade e não induzir a remodelação (KIM et al., 2004; GOTO et al., 2005; HOMLAR et al., 2013; NATASA et al., 2017). Outras utilizações do metacrilato de metila são vistas em: produção de nanocompósitos, filmes, hidrogéis, entre outros (MORENO et al., 2017; SIDDIQUI et al., 2018; MUSAZZI et al., 2018).

O polietileno (PE), polímero sintético apresenta estrutura bastante simples, podendo ser classificado como a estrutura básica mais simples de qualquer polímero, sendo então bastante estudado devido as suas vastas características peculiares como: baixo preço, excelente isolamento elétrico em uma ampla gama de frequências, alta resistência química, fácil processabilidade, grande resistência, alta densidade e alta massa molar, bastante flexível, relativa transparência, altamente estável, sendo caracterizado por ser não antigênico, não alergênico, não absorvível e por apresentar baixa taxa de desgaste (APARECIDA et al., 2008; MAIA et al., 2010; ESPINOSA-RUIZ et al., 2015; RONCA, 2017). Formada através da polimerização do composto orgânico etileno (C_2H_4), onde a dupla ligação de cada molécula desse composto é quebrada, e os dois elétrons remanescentes fazem ligações simples com outros dois átomos de carbono pertencentes a outras moléculas de etileno, por essa razão este

material é classificado como inerte quando em contato com a maioria dos tecidos (PIRES, 2015). O PE possui cadeia com estrutura linear e é o polímero base para outros materiais, tais como polipropileno e o politetrafluoretileno. O polietileno tem sido utilizado em ambientes clínicos há meio século, como destaque encontrasse a sua utilização como substituto articular, no entanto, é o desgaste do polietileno que causa muitos problemas a longo prazo com a articulação, na última década, os biomateriais de polietileno que foram reticulados reduziram esse problema, embora ainda não esteja comprovado se eles melhoram a vida útil da substituição da articulação, tais limitação pode ser reduzidas pelas mudanças morfológicas da peça de polietileno, a adição de poros auxilia o crescimento de matriz celular no polímero (AFFATATO, 2014; PIRES, 2015).

3.1.3 Polímeros Naturais

Polímeros de origem natural e sintética têm sido bastante utilizados em várias especialidades biomédicas. Os polissacarídeos, proteínas e poliésteres derivados dos reinos vegetais e animais constituem a família dos polímeros naturais. Vários destes polímeros fazem parte da nossa dieta e têm sido utilizados em diversas aplicações humanas, em excipientes farmacêuticos, próteses, administração de medicamentos e aplicações de imagiologia. Estes polímeros são conhecidos por serem reconhecidos pelo ambiente biológico e canalizados para a degradação metabólica. Devido à similaridade que os polímeros naturais compartilham com os componentes da matriz extracelular (MEC), esses materiais também podem evitar a estimulação de reações imunológicas crônicas e a toxicidade, frequentemente detectada com polímeros sintéticos (ARAVAMUDHAN et al., 2014). Biopolímeros de origem natural têm sido investigados para uma variedade de aplicações de preparações, devido à sua biocompatibilidade, características adesivas celulares e biodegradabilidade. No entanto, biomateriais de biopolímeros frequentemente requerem propriedades mecânicas aprimoradas, como: controle de porosidade e processamento otimizado para uso prático em engenharia de tecidos e medicina regenerativa. Muitos estudos sobre a preparação e aplicação de andaimes baseados em biopolímeros foram conduzidos, alcançando propriedades que são semelhantes ou melhores em relação a polímeros sintéticos (KUMATA e KAPLAN, 2011). Devido a características que otimizam a utilização dos polímeros naturais frente aos sintéticos, os

naturais ganham espaço no ramo da tecnologia farmacêutica, devido as suas diferentes funções: libertação controlada de princípios ativos tanto hidrofílicos como lipofílicos, penetração tecidual, distribuição intercelular e reconhecimento molecular. As características peculiares no ramo farmacêutico tornam possível a administração de fármacos, tendo como alvo: tumores, infecções bacterianas ou virais, inflamações, distúrbios neurais e doenças genéticas. Dentre as utilizações poliméricas destacam-se: lipossomas, niosomas, nanopartículas, membranas, filmes, micelas, dendrímeros, nanogéis, capsossomas e células artificiais poliméricas (LIECHTY et al., 2010; SHAIK et al., 2012; VILAR et al., 2012; VENKATESAN et al., 2015; KUMAR et al., 2016).

As utilizações dos biopolímeros na regeneração de feridas e a libertação controlada de fármacos, se deve em parte às características de biodegradabilidade, biocompatibilidade, semelhança com a matriz extracelular e pela indução de estímulos cicatriciais (BELLINI et al., 2012; MOGOSANU et al., 2014; LI et al., 2018). A degradação de polímeros naturais, na maioria das vezes ocorre devido a processos enzimáticos, aumentando a possibilidade destes materiais serem metabolizados pelo organismo. Também corroborando para uma obtenção ampla de produtos com características adaptáveis, destacam-se os grupos funcionais (como grupamentos amino, grupos carboxílicos e hidroxilas) disponíveis para modificações químicas (hidrólise, oxidação, redução, esterificação e ligações cruzadas) e enzimáticas, para interagir com outras moléculas (CHEUNG et al., 2007; GOMES et al., 2013; SELVI et al., 2018).

Os polímeros naturais sensíveis a estímulos, também designados como "sensíveis ao ambiente" ou "inteligentes", são usados especialmente para administração de fármacos antitumorais: Mudanças estruturais são desencadeadas por pequenas variações físico-químicas no ambiente interno e/ou externo (temperatura, pH, enzimas específicas, antígenos, campo elétrico ou magnético, luz, exposição a ultra-sons (BAWA et al., 2009); Polímeros responsivos redox, para administração de fármacos, que são sensíveis a redução ou processos de oxidação (HUO et al., 2014); droga sensível a estímulos como uma nova abordagem para o tratamento de câncer (BHATNAGAR e VENUGANTI, 2015; TAGHIZADEH et al., 2015).

Uma das classes de polímeros mais importantes são os polissacarídeos, classificados como um tipo de polímero natural, que é amplamente encontrado em animais, plantas e microorganismos, apresentam uma variedade de atividades biológicas, tais como: anti-tumoral, anti-viral, anti-oxidante, neuroprotetor e regulador imunológico, não apresentando efeitos colaterais e tóxicos nas células normais (CHEN e HUANG, 2018; GAO et al., 2018). Propriedades como: renovabilidade, biodegradabilidade e por mimetizar os componentes da matriz extracelular, tornam essa classe de polímero elementos cruciais em processos biológicos.

Devido a sua solubilidade e propriedades tecnológicas, como: gelificação, emulsificação e hidratação estes biopolímeros ganham destaque nas novas formulações poliméricas (RINALDO, 2008; COOK et al., 2018; WANG et al., 2018). Obtidos de fontes tais como: animais, microbianas, vegetais ou algas, os polissacarídeos podem ser processados como: géis, filmes, partículas e pós membranas biodegradáveis e não tóxicas que podem ser utilizadas em diferentes aplicações (ANGELOVA e HUNKELER, 1999; HILJIMA et al., 2017; KARABELAS et al., 2017).

No campo farmacêutico foram utilizados filmes a base de alginato com o objetivo de desenvolver e caracterizar filmes estáveis com propriedades curativas de feridas (MOMOH et al., 2015), quitosana para o transporte de drogas (KATO et al., 2003) e policaju para aplicações de curativos cutâneos (MONTEIRO et al., 2007) devido à sua capacidade de adesão e libertação controlada de biomoléculas; enquanto as películas à base de galactomanana têm sido aplicadas como suporte para a imobilização de concanavalina A em experimentos imunológicos, visando à avaliação de interações entre polissacarídeos, proteínase vírus da dengue (VALENGA., 2012).

3.2 MEMBRANAS POLISSACARÍDICAS

Membrana é uma barreira que separa duas fases e que restringe total ou parcialmente o transporte de uma ou várias espécies químicas nas fases. Quanto aos materiais de fabricação, as membranas podem ser divididas em dois grandes grupos: poliméricas e inorgânicas (HABERT et al., 2006).

No grupo das poliméricas destacam-se as polissacarídicas, elas podem ser produzidas pela técnica de “solvent casting”, também denominada de método de evaporação de solvente, este método é o processo mais utilizado para a produção destes tipos de membranas descrito na literatura devido a simplicidade do processo e ao baixo custo (TANG et al., 2010; SIEVENS-FIGUEROA et al., 2012). Esta técnica não requer grandes quantidades de matéria prima e não promove a extensa degradação do polímero verificada em outros tipos de processamento que exigem altas temperaturas e condições severas de cisalhamento (ARAÚJO e PIRES, 2013; GALDEANO et al., 2014). Neste método os polissacarídeos são inicialmente solubilizados em um solvente adequado, e em seguida a solução é transferida ou espalhada em um molde, superfície não adesiva, para a secagem em uma estufa para que o solvente evapore, depois que todo o solvente foi evaporado, a membrana seca pode ser retirada do suporte (JONES e MEDLICOTT, 1995; MORALES e MCCONVILLE, 2011).

Para uma maior uniformidade da matriz é recomendado a eliminação das bolhas de ar da solução que podem ser formadas durante a homogeneização dos materiais (DIXIT e PUTHLI, 2009). Um dos problemas encontrados no processo de evaporação do solvente é que quando sistemas heterogêneos são empregados, como, por exemplo, quando o fármaco ou o polissacarídeo não forem solúveis no solvente, ocorre segregação durante a secagem da membrana, resultando em membranas com duas ou mais camadas diferentes, inviabilizando futuras aplicações (KFURI, 2003).

O método de “spraying” também é utilizado na preparação de membranas, o método consiste em fazer incidir um “spray” (grande número de gotas, extremamente pequenas, impulsionadas por um gás de arraste) contendo uma solução iônica de um sal de interesse contra um substrato previamente aquecido, formando camadas homogêneas de membranas (OHRING, 1992; KFURI, 2003; PEREDNIS et al., 2005). A energia térmica necessária para que ocorra a reação química, provém do contato com o substrato previamente aquecido, pelas gotículas arremessadas por uma força dirigida (SETOGUCHI et al., 1990; WILL et al., 2000; GOMES, 2002). Devido às condições de processo, esse método possui a desvantagem da degradação de componentes termosensíveis, por isso a produção por evaporação de solvente é mais utilizada (MORALES e MCCONVILLE, 2011). A formulação bem sucedida de membranas bioativas depende da seleção cuidadosa dos excipientes e compostos bioativos, onde deve ser levada em consideração a afinidade dos compostos de interesse e as propriedades mecânicas das membranas, pois a membrana deve ser suficientemente resistente para ser manejada e transportada sem ser danificada, além de manter o composto ativo estável até que ele seja liberado (DIXIT e PUTHLI, 2009; NAGAR et al., 2011). Atualmente vem crescendo a utilização de ingredientes naturais em alimentos, drogas e cosméticos (SULTZBAUGH e SPEAKER, 1996; QUONG e NEUFELD, 1999; BHARDWAJ et al., 2000; MIYAZAKI et al., 2000; TONNESEN e KARLSEN, 2002; LIN et al., 2015; KUMAR et al., 2017). Tradicionalmente, os excipientes são constituídos com formulações de fármaco, com características inertes que proporcionam: peso, consistência e volume necessários para a administração correta do ingrediente ativo, mas nas formulações farmacêuticas modernas eles frequentemente cumprem funções multi-funcionais tais como: melhoria da estabilidade, liberação de fármacos, biodisponibilidade, aceitabilidade do paciente e desempenho de funções tecnológicas que garantem facilidade de fabricação (HAMMAN e TARIRAI, 2006; BENEKE et al., 2009). Dentre os polímeros utilizados para produção de filmes pode-se destacar o uso da quitosana (BOURBON et al., 2011; ABRUZZO et al., 2012; PINHEIRO et al., 2013; RAMOS AVILEZ et al., 2017; LANG DING et al., 2017), celulose (NISHIMURA et al., 2009; PENG

et al., 2017; BASU et al., 2017), galactomanana (CERQUEIRA et al., 2010; VALENGA et al., 2012; CAMPIA et al., 2017; OGUNJIMI et al., 2017; ALBUQUERQUE et al., 2017) e xiloglucana (FURTADO et al., 2012; AVACHAT et al., 2013; LUCYSZYN et al., 2016; CULBERTSON et al., 2016).

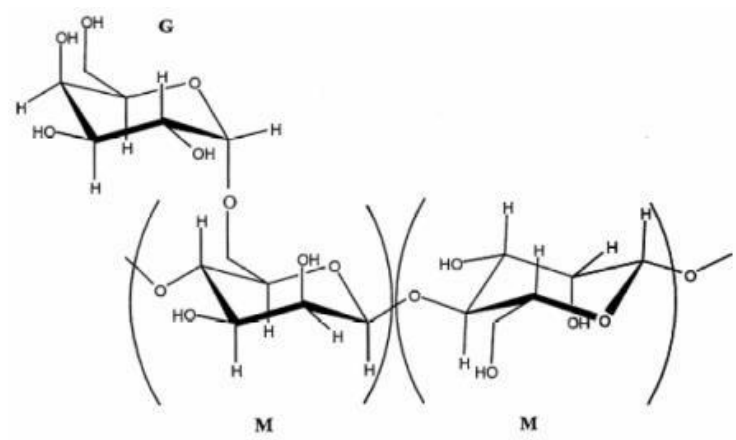
Apesar das membranas de polissacarídeos apresentarem inúmeras vantagens em comparação com as produzidas sinteticamente, as membranas naturais podem ter características adversas dependendo de sua utilidade, como exemplo, apresentando uma maior sensibilidade à água e maiores valores de permeabilidade ao vapor de água (AUDIC e CHAUFER, 2005; GARNI et al., 2016). Estudos envolvendo a otimização das características mecânicas e físico-químicas de membranas polissacarídicas pela adição de diferentes plastificantes foram realizados e sugerem que a adição dessas substâncias podem modificar consideravelmente tais características, otimizando assim suas aplicações (AUDIC e CHAUFER, 2005; VANIN et al., 2005; GODBILLOT et al., 2006; CERQUEIRA et al., 2012).

A União Internacional de Química Pura e Aplicada (em inglês IUPAC) define um plastificante como uma substância ou material incorporado num material (geralmente um plástico ou elastômero) para aumentar a sua flexibilidade, trabalhabilidade e distensibilidade. Um plastificante pode reduzir a viscosidade de fusão, baixar temperaturas de uma transição de segunda ordem ou até mesmo o módulo de elasticidade do produto, além disso são substâncias orgânicas inertes e com uma pressão de vapor baixa, usadas sobretudo para aumentar a flexibilidade estrutural. (KRAUSKOPF, 2003; RAHMAN et al., 2004; ZAWADZKI et al., 2009; BIERMANN et al., 2012). Geralmente, os plastificantes são compostos orgânicos que são adicionados a uma formulação de polímero com o objetivo de melhorar a suas propriedades; muitas formulações de polímeros necessitam de um plastificante, tanto para assegurar a processabilidade dos materiais dos compostos finais quanto aumentar os seus domínios de propriedade físicas (BAGHERSAD et al., 2017). Por essa razão os plastificantes são utilizados na produção de membranas com a função de melhorar a fragilidade das mesmas, que ficam quebradiças devido às extensivas forças intermoleculares, à flexibilidade e manuseabilidade. Os plastificantes reduzem essas forças, suavizam a rigidez da estrutura da membrana e aumentam a mobilidade entre as cadeias biopoliméricas (SHARMA e PURKAIT, 2017). Para a escolha do plastificante deve-se levar em consideração a afinidade com polissacarídeo e com o componente ativo a ela adicionado, de forma que o plastificante não cristalize na membrana após a secagem (DIXIT e PUTHLI, 2009; CERQUEIRA et al., 2012; JUANSANG et al., 2017).

3.3 GALATOMANANAS

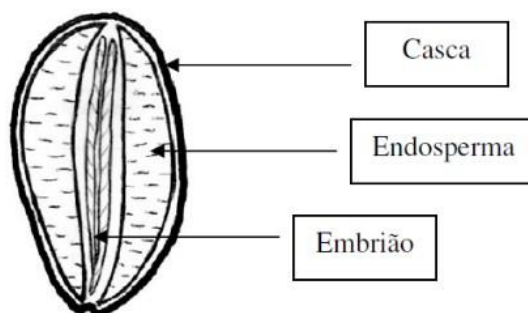
Os polissacarídeos do tipo sum apresentam alto peso molecular (Figura 2), são polímeros formados por uma cadeia linear com unidades β -1,4-D-manopirranose substituídas por unidades ligantes α -1,6-D-galactopirranose, obtidos a partir de fontes microbianas, e principalmente de plantas, onde desempenham função de reserva de carbono e energia na germinação e cuja principal fonte é o endosperma das sementes (Figura 3), com destaque para os membros da família Leguminosae (pertencentes à família Fabaceae). Este polissacarídeo possui espécies espalhadas por todo o mundo, especialmente nas regiões tropicais e subtropicais, contribuindo para muitas aplicações tais como espessamento, emulsificante, gelificante, floculante e capacidade de formação de filme (DEA e MORRISON, 1975; MCCLEARY et al., 1985; DANIEL et al., 1994; DAAS et al., 2000; DAAS et al., 2002; SINGH et al., 2000; CRESCENZI et al., 2004; LEWIS et al., 2005; SITTIKIYOTHIN et al., 2005; MIKKONEN e TENKANEN, 2012; PRAJAPATI et al., 2013; LIYANAGE et al., 2015; MERLINI et al., 2015; WEI et al., 2015).

Figura 2 – Segmento representativo de uma cadeia de galactomanana de origem vegetal.



Fonte: SIERAKOWSKI et al. (2000).

Figura 3 – Corte longitudinal de semente da família Leguminosae contendo endosperma



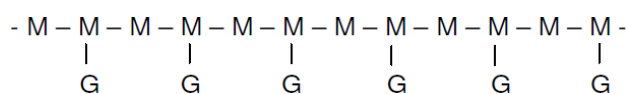
Fonte: DAKIA et al. (2008)

A proporção média de galactose para manose (Man:Gal) é variável, dependendo da espécie da planta: *Adenantha pavonina* 1,35 M:G; *Caesalpinia pulcherrima* 2,88 M:G; *Cassia fastuosa* 4,0 M:G; *Cassia grandis* 2,44 M:G; *Dimorphandra gardineriana* 1,84 M:G (MERCÊ et al., 1998; CERQUEIRA et al., 2009; CUNHA et al., 2009; ALBUQUERQUE et al., 2014). Em geral, quanto maior o teor em D-galactose, maior a sua solubilidade em água. Apresença de unidades de galactose produz cadeias ramificadas e realiza o impedimento estérico entre as ligações de hidrogênio intermoleculares, minimizando a formação de agregados (SRIVASTAVA e KAPOOR, 2005). A razão M:G exerce influência sobre a solubilidade relativa das galactomananas. A razão M:G não é o único fator que pode influenciar as propriedades funcionais das galactomananas e contribuir para a sua utilização industrial, a massa molar e a distribuição sequencial dos resíduos galactopiranosila, ao longo da cadeia principal, são também importantes. A razão M:G pode variar, numa mesma goma, de acordo com o tipo de extração e análise do polímero (BENTO et al., 2013).

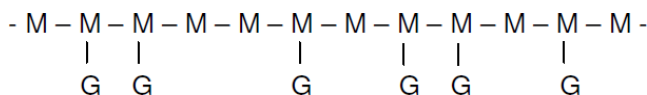
Dea e Morrison (1975) propuseram três possibilidades para a distribuição das substituições de galactose ao longo da cadeia principal de manana (Figura 4), ou seja, para a estrutura fina da molécula:

Figura 4 – Distribuição das substituições de galactose ao longo da cadeia principal de manana

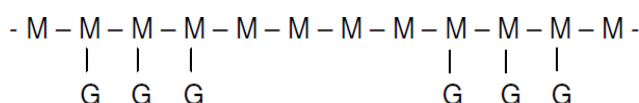
1) Arranjo regular



2) Arranjo irregular



3) Arranjo em blocos



Fonte: DEA e MORRISON (1975).

3.3.1 Aplicações Biotecnológicas

A galactomanana é um polissacarídeo conhecido mundialmente e muito utilizado como agente espessante, flocculante, gelificante, estabilizante, emulsificante e formador de película nas indústrias de alimentos, de cosméticos, têxtil, farmacêutica e biomédica (CERQUEIRA et al., 2011; BENTO et al., 2013).

As três principais galactomananas utilizadas são goma guar (*Cyamopsis tetragonobus*, razão manose:galactose 1,6), goma tara (*Caesalpineia spinosa*, razão manose:galactose 3,3) e goma de feijão alfarroba (*Ceratonia siliqua*, razão manose:galactose 3,75) (DEA; MORRISON, 1975; GIDLEY e REID, 2006; DAKIA et al., 2008; MUDGIL et al., 2012a; MUDGIL et al., 2012b; SÉBASTIEN et al., 2014). Outras galactomananas comercialmente conhecidas são a goma extraída de *Cassia tora*, com relação manose:galactose de aproximadamente 3,0 (SRIVASTAVA e KAPOOR, 2005; CHETHANA et al., 2017; SHUKLA et al., 2018) e a galactomanana de feno-grego *Trigonella foenum-graecum* (razão manose:galactose 1,1), comercializadas em menor escala, assim como aquela extraída das sementes de *Prosopis juliflora* (razão manose:galactose 4,2) (FIGUEIREDO, 1983; CERQUEIRA et al., 2011; BATISTA et al., 2018).

Em muitas pesquisas, as galactomananas têm sido usadas em misturas binárias com outros polissacarídeos, com a finalidade de avaliar as novas características e propriedades dos géis formados (FERNANDES et al., 1991; BRESOLIN et al., 1999). Mysore e Rudrapatnam (2015) realizaram análises reológicas de galactomanana e κ -carragenana, demonstrando que essa interação aumentou duas vezes a elasticidade comparada com a galactomanana isolada; Soares et al. (2015) apresentaram uma preparação de hidrogel de galactomanana e κ -carragenana com excelente organização dos polissacarídeos na matriz do hidrogel demonstrando que este hidrogel é estável com possíveis aplicações em campos médicos e cosméticos; Antoniou et al. (2015) preparou filmes de goma tara com inclusão de nanopartículas de quitosana, melhorando as propriedades mecânicas, físico-químicas e de barreira; Lucyszyn et al. (2006), por sua vez, aplicaram géis de misturas de galactomanana e ágar para cultivo de células vegetais. Pawar et al. (2015) avaliou a formulação de esferas de alginato carregadas com Captopril combinadas com gomas naturais contendo galactomananas (goma de sementes de *Senna tora*, goma de guar e goma de alfarroba), verificando que galactomananas em combinação com alginato de sódio apresentam propriedades de libertação sustentada. A galactomanana possui várias outras aplicações, incluindo o uso na indústria cosmética como espessantes e estabilizantes em cremes

e loções (GIBBONS, 1993; WANDE et al., 1994).

Campia et al. (2017) analisaram a liberação de peptídeos e enzimas antimicrobianos a partir da galactomanana; Almeida et al. (2015), exploraram o potencial de galactomananas de *Dimorphandra gardneriana* como sistemas de administração de fármacos; Albuquerque et al. (2017) imobilizaram compostos bioativos: lactoferrina, peptídeos e fitoesteróis em filmes à base de galactomanana de *Cassia grandis*, analisando sua Influência sobre as propriedades físico-químicas; Coviello et al. (2007) estudaram duas galactomananas: goma de Guar e goma de alfarroba, onde foram utilizadas como matrizes para administração de fármacos: teofilina, vitamina B12 e mioglobina. Ughini et al. (2004) avaliaram a liberação sustentada de compostos ativos através de galactomanana e xantana. Galactomananas, em combinação com pectinas, têm sido usadas como revestimento de cápsulas e comprimidos com a finalidade de liberação controlada de drogas no intestino grosso, isoladamente, esses polissacarídeos não podem ser utilizados como carreadores de drogas ao cólon devido a sua solubilidade em água, entretanto, quando o revestimento produzido pela combinação de galactomanana e pectina possui pH 7,00 ele torna-se elástico e insolúvel em fluidos gástricos e intestinais, e consegue atravessar o trato gastrointestinal superior, não ocorrendo liberação da droga no estômago e intestino delgado, havendo a liberação somente no intestino grosso (YANG et al., 2002; WU et al., 2008).

As galactomananas também são adsorvidas pelas fibras de celulose e por isso são utilizadas na indústria de papel, pois melhoram as propriedades mecânicas através da regulação do estado de floculação na suspensão de fibras celulósicas (NEWMAN e HEMMINGSON, 1998; LIMA et al., 2003; DI et al., 2018).

A galactomanana é bastante utilizada na indústria de alimentos, na produção de sorvetes, de queijos, de sopas e de molhos de salada, usado como espessante em bebidas dietéticas não alcoólicas, melhorando as propriedades dos produtos, principalmente pelo efeito espessante, estabilizante e gelificante, além de otimizar textura e aparência dos alimentos aumentando a sua resistência a variações de temperatura, dentre os produtos que utilizam a galactomanana destacam-se os produtos lácteos (em sobremesas como sorvetes e substitutos de gordura de baixa energia), géis de água à base de frutas, produtos em pó (sobremesas e pudins de leite quente), produtos de padaria (pastas e misturas de bolos) (SANFORD e BAIRD, 1983; REID e EDWARDS, 1995).

As galactomananas também podem ser utilizadas para o desenvolvimento de filmes comestíveis que atuam como barreira contra transmissão de gases, vapores, solutos e ainda fornece proteção mecânica, características essas realizadas pela galactomanana e outros polissacarídeos (MIKKONEN et al., 2007; CASARIEGO et al., 2008; CERQUEIRA et al.,

2009a, 2009b; CERQUEIRA et al., 2011a). A goma guar e a alfarroba são as espécies mais utilizadas (DOYLE et al., 2006), enquanto a galactomanana de tara tem sido aceita como uma alternativa àquelas já utilizadas (AZERO e ANDRADE, 2002).

O Brasil apresenta fontes diversificadas para extração de galactomanana, mas suas utilizações continuam muito restritas, estudos complementares e pesquisas focadas no aprimoramento da utilização deste polissacarídeo são importantes não só para economia nacional, mas para o meio ambiente na substituição de materiais sintéticos (AZERO e ANDRADE, 2002; CUNHA et al., 2009).

3.3.2 Galactomananas de plantas do Gênero *Cassia*

O gênero *Cassia* apresenta o maior número de representantes na subfamília Caesalpinioideae, a qual corresponde à cerca de 200 gêneros e mais de 2250 espécies (LEWIS et al., 2005). As espécies desta subfamília são plantas leguminosas arbustivas, arbóreas ou trepadeiras das matas, raramente são ervas. Apresentam folhas compostas e frutos leguminosos e estão muito bem representadas no Brasil (JOLY, 1998).

Várias pesquisas tendo como foco espécies do gênero *Cassia* confirmaram atividades antidiabética (YAN et al., 2015; FAUZI et al., 2016; VEERAPUR et al., 2017), antimicrobiana (SARAVANAKUMAR et al., 2015; ZHU et al., 2016; CUNHA et al., 2017), antiinflamatória (YI et al., 2016; SUN et al., 2016), antioxidante (NTCHAPDA et al., 2015; SREELAKSHMI e ABRAHAM, 2016; SHARMILA et al., 2016; KAUR ET AL., 2016), imunomoduladora (FENG et al., 2016), antiplasmodial (KIPLAGAT ET AL 2016), formulações de biodiesel (PATEL et al., 2015), antifúngico (PEKMEZOVIC et al., 2015), antifertilizante (CHAUHAN e AGARWAL, 2010), anticâncer (DURAIPANDIYAN et al., 2012), resultados esses obtidos com utilização de segmentos diferentes como flores, folhas, sementes, cascas e vagens.

As galactomananas do gênero *cassia* merecem destaque devido ao seu alto poder de utilização nas mais variadas áreas, podendo ser aplicadas individualmente ou associadas com outros compostos, inclusive com outras galactomananas. Algumas possíveis fontes de galactomananas foram identificadas em *Cassia alata*, *C. angustifolia*, *C. didymobotrya*, *C. grandis*, *C. nodosa*, *C. occidentalis*, *C. saemaea*, *C. hirsuta* e *C. spectabilis*, cujas sementes, geralmente de tamanho médio e contendo mais de 40% de endosperma, são consideradas, portanto, preferíveis para a exploração comercial (SRIVASTAVA e KAPOOR, 2005).

Diante de tantas pesquisas observadas acima, pode-se notar que estudos relacionados ao gênero *Cassia*, a espécie *C. grandis* ainda é pouco explorada.

3.3.3 *Cassia grandis*

Cassia grandis é a maior espécie brasileira do gênero *Cassia*. O nome do gênero *Cassia* é hebraico ou grego e *grandis* significa grande, visto que sua vagem pode atingir 60cm de comprimento. Pertence à Divisão Magnoliophyta (Angiospermae), à Classe Magnoliopsida (Dicotyledonae), à Ordem Fabales e à Família Caesalpiniaceae (Leguminosae: Caesalpinioideae). Trata-se de uma árvore caducifólia com 10 a 15 m de altura e podendo atingir dimensões próximas a 30m de altura na idade adulta (Figura 5). Apresenta fruto (legume) lenhoso indeiscente, cilíndrico, irregular, geralmente com 11 a 60 cm de comprimento e 36 a 50 mm de diâmetro, de duas suturas longitudinais e nervuras salientes e grossas, que ligam as suturas (Figura 6). Quebrando o pericarpo de seus frutos, aparecem os septos circulares que separam as sementes, e uma massa preta, pegajosa e adocicada. O fruto maduro é marrom-escuro externamente e contém muitas sementes com aspecto oval e bastante duras, aplainada de um lado e carinada do outro, brilhante, castanho-amarelo-claro, com excisão no hilo de até 1 cm de comprimento (CARVALHO, 2003).

Oriunda de florestas tropicais e da América Central, bem como das Antilhas, sendo posteriormente levada para a Índia, foi a leguminosa de escolha para extração da galactomanana. É muito valorizada pelo seu uso ornamental e também pela sombra de sua copa (JOSHI e KAPOOR, 2003; ALBUQUERQUE et al., 2014), outros países além do Brasil apresentam a *C. grandis* em sua flora, aparecendo em países localizados próximos a linha do equador como no sul do México, Costa Rica, Honduras, Panamá, Porto Rico, Colômbia, Guiana, Guiana Francesa, Peru, Suriname e na Venezuela (CARVALHO, 2003). Alguns países como Trinidad e Tobago, Havaí, Jamaica e Cuba também ganham destaque (CORREA e BERNAL, 1990), assim como na Índia, onde foi introduzida como uma árvore ornamental em jardins e avenidas, devido a sua sombra (JOSHI; KAPOOR, 2003). Segundo Carvalho (2003), *C. grandis* ocorre nas cinco regiões brasileiras, norte, nordeste, sul, sudeste e centro-oeste. *Cassia grandis* pode ser empregada na alimentação humana e animal, bem como para fins medicinais, ornamentais, veterinários, entre outros. Os frutos da *C. grandis*, por exemplo, geralmente são deixados no pasto (CARVALHO, 2003) e usados na forragem. Em relação ao consumo humano, o fruto não é totalmente aceito devido à polpa amarga e adstringente com cheiro forte de sarro (VIEIRA, 1992), porém, ainda assim, apresenta ampla distribuição na forma silvestre e em áreas campestres, além da possibilidade de comércio da espécie (CORREA e BERNAL, 1990; MUTCHNICK e MCCARTHY, 1997).

Figura 5 – Árvore e flores de *Cassia grandis*



FONTE: [http://wwwhttp://ntbg.org/plants/plant_details.php?plantid=2433](http://www.ntbg.org/plants/plant_details.php?plantid=2433). Acessado em 10 de janeiro. 2016.

Figura 6 – Vagens e Fruto com sementes de *Cassia grandis*



FONTE: http://wwwhttp://ntbg.org/plants/plant_details.php?plantid=2433. Acessado em 10 de janeiro. 2016.

A aplicação medicinal de *C. grandis* é sugerida contra vermes e parasitas intestinais (LENTZ et al., 1998), doenças gástricas (BHAMARAPRAVATI et al., 2003), sanguíneas (PARRA e SADIÑAS, 2000), respiratórias (FREI et al., 1998; HEINRICH, 1998), de pele (CÁCERES et al., 1991; SALINAS e GRIJALVA, 1994), dentre outras.

A planta é uma dicotiledônea e suas sementes ovais e duras, com tom castanho- amarelado-claro, são separadas por septos circulares, envoltos por um material enegrecido, viscoso e adocicado (CARVALHO, 2003). As sementes são compostas por endosperma (50- 55 %), proteínas (9-12 %), pentosano (8-10 %) e uma goma solúvel em água (32-34 %) (Tabela 1). O gérmen tem um grande potencial econômico devido a sua grande quantidade de endosperma que é superior ao dos demais representantes da mesma espécie (JOSHI & KAPOOR, 2003). A galactomanana encontrada nas sementes de *C. grandis*, quando solubilizada em água, tem a

capacidade gelificante, que consiste no cruzamento entre as cadeias poliméricas, o que possibilita a formação de géis e hidrogéis (ALBURQUERQUE et al., 2014).

Tabela 1- A análise química dos componentes da semente de *Cassia grandis*

Partes das sementes	Proteína (%)	Umidade (%)	Extrato etéreo (%)	Cinzas (%)	Fibra bruta (%)	Carboidrato hidrossolúvel
Tegumento das sementes (25-30%)	16,1	5,2	2,2	3,8	35,5	Pentose
Endosperma (50-55%)	4,7	7,9	1,1	0,7	1,7	Galactomanana
Germe (19-23%)	36,9	4,6	8,6	4,9	27,8	Pentose, glicose

Fonte: JOSHI E KAPOOR, (2003).

3.4 EXTRAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS

A extração de polissacarídeos vem sendo bastante estudada, para um melhor aprimoramento de técnicas que possam otimizar o tempo de extração e o rendimento do produto final. Metodologias distintas têm sido propostas para extração de galactomananas de sementes, seguida da purificação ou fracionamento, que diminuem uma possível contaminação tais como proteínas e monossacarídeos. Variações no material extraído, ao solvente utilizado e ao tempo, são fatores primordiais para o rendimento final da extração, os métodos de extração tradicionais incluem tratamentos de água quente ou fria em que avariação de temperatura e tempo de extração são otimizados para aumentar os rendimentos de extração. Recentemente, a extração por microondas e por ultra-sons tem sido utilizada para recuperar os polissacarídeos de diferentes materiais vegetais, principalmente devido à sua capacidade de aumentar a ruptura das células, a transferência de massa e a penetração de solventes (CHEN et al., 2012; YOU et al., 2014; COELHO et al., 2014; SHI et al., 2014).

O processo de obtenção da galactomanana se baseia na extração e purificação, onde na maioria dos estudos não são relatados em detalhes ou mesmo citados. Resumidamente, o tegumento das sementes é removido e o germe é separado do endosperma através de

procedimentos de separação, tais como: filtração, peneiração e, em alguns casos (em escala laboratorial, por exemplo), separação manual. O endosperma é dissolvido em água a uma faixa de temperatura que pode variar entre 20 e 120°C e, em seguida, precipitado com álcool numa proporção de água:álcool que pode variar entre 1:1 e 1:3. Não foram relatados efeitos do álcool sobre a estrutura das galactomananas (DAKIA et al., 2007; DAKIA et al., 2008; POLLARD et al., 2008; CERQUEIRA et al., 2009c; CERQUEIRA et al., 2011a).

Na escala industrial, como na extração de galactomanana das sementes de alfarroba e goma guar, a remoção do tegumento ocorre por moagem das sementes (DEA e MORRISON, 1975). Os polissacarídeos podem ser obtidos puros mediante extração aquosa, pela fervuradas sementes sob agitação, em água ou álcool (BUCKERIDGE et al., 2000).

Segundo Albuquerque et al. (2014), a extração de galactomanana pode ter um melhor rendimento quando se faz algumas modificações em extrações tradicionais, por exemplo através da imersão do tegumento em água para facilitar remoção do mesmo, aquecimento das sementes para inativação enzimática e filtragem da sementes moídas em 0,1 M NaCl, seguida por precipitação em etanol 46% e lavagens em etanol a 100% e acetona (P.A.).

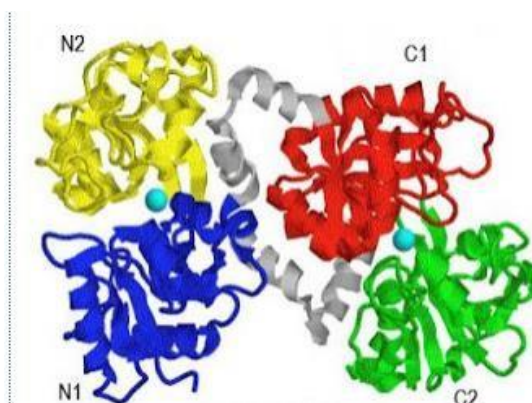
Smirnova et al. (2004) extraíram galactomanana de sementes de *Styphnolobium japonicum* (Sófora-do-Japão) a 25°C, purificada com complexo de Cu^{2+} , a 70°C, e verificaram diferentes relações manose/galactose e distintos valores de massa molecular entre as extrações a quente e a frio.

As principais preocupações dos processos de extração e purificação são os equipamentos utilizados, que precisam ser aprovados para o uso na indústria de alimentos. Durante o processo de extração, os solventes não incluídos na lista de solventes aprovados não devem ser utilizados (UNION E. DIRECTIVE, 2009). Além disso, embora o uso potencial de técnicas alternativas como ultra-som ou microondas é amplamente discutido, estes não são totalmente aceitos devido a seus efeitos desconhecidos para a saúde, bem como seus custos operacionais. Portanto, os métodos tradicionais prevalecem até que as autoridades legais garantam que todos os requisitos de segurança dessas novas metodologias sejam cumpridos e até que essas metodologias se tornem soluções economicamente viáveis para a indústria (NOBRE et al., 2015).

3.5 LACTOFERRINA

A lactoferrina (Lf) é a segunda proteína predominante no leite humano, com concentrações mais elevadas no colostro. Cada Lf é composta por um único polipeptídeo com dois lóbulos globulares localizados nas regiões terminais, denominados de lóbulo C (acetil) e N (amino), que são conectados por α -hélice, contendo cada lóbulo um sítio de ligação. Cada um deles consiste de dois sublóbulos denominados N1, N2, C1 e C2 (Figura 7), é uma glicoproteína de 80 KDa de ligação ao ferro da família da transferrina (CHIERICI e VIGI, 1994; STEIJNS e HOOIJDONK, 2000; OCHOA e CLEARY, 2009; GARCIA-MONTOYA et al., 2012). Cada lóbulo pode se ligar a um metal em sinergia com o íon de bicarbonato, essencial para a ligação do ferro com a Lf. Os metais que comumente podem se relacionar são os íons de Fe^{+2} ou Fe^{+3} , embora outros (Cu^{+2} , Zn^{+2} , Mn^{+2}) também possam se ligar aos lóbulos da Lf (VAN DER STRATE et al., 2001).

Figura 7 - Estrutura da Lactoferrina



Fonte: <http://ddcnovasperspectivas.blogspot.com.br/2012/12/lactoferrina-alactoferrina-e-uma.html>. Acessado em 19 de janeiro. 2017.

Esta proteína pode ser encontrada além do leite em secreções mucosas incluindo lágrimas, salivas, fluidos vaginais, sêmen, secreções nasais e brônquicas, bile, fluidos gastrointestinais e urina (ÖZTAŞYEŞİM e OZGUNES, 2005). A Lf tem inúmeras funções biológicas como anti cancerígeno, anti inflamatório, anti bacteriano, anti viral, antifúngico, efeito imunomodulador e inibidor da formação de radicais livres (HABIB et al., 2013; BOKKHIM et al., 2013; EMBLETON et al., 2013).

Xu et al. (2017) desenvolveram uma nano formulação de polissacarídeos (quitosana)

contendo curcumina, ácido hialurônico e lactoferrina; com propriedades de penetração na barreira hemato-encefálica, com o objetivo de desenvolver um novo sistema de administração em tumores malignos, as formulações foram investigadas quanto às características: físico-químicas, citotoxicidade, captação e penetração da barreira hemato encefálica; os resultados mostraram que as nano formulação (concentração de Lf de 0,5 mg/mL) foram preferencialmente absorvidos por células endoteliais capilares do cérebro, podendo efetivamente concentrar-se e acumular-se dentro dos gliomas após a permeação aumentada através da barreira hemato-encefálica.

Zhao et al. (2015) verificou a influência de polissacarídeos solúveis de soja (SSPS) e pectina de beterraba (BP) nas propriedades físico-químicas da emulsão de óleo de laranja revestida com Lf, os resultados mostraram que as características de gotículas de emulsões secundárias dependiam grandemente da concentração e do tipo de polissacarídeo, a menor degradação de compostos voláteis ocorreu em emulsão revestida com Lactoferrina-BP, estes resultados revelaram que a estabilidade físico-química de emulsões de óleo de laranja revestidas com Lf foi melhorada pela adsorção de polissacarídeos aniônicos.

Expósito et al. (2018) relatou em sua revisão as principais características conferida pela lactoferrina, como: agente imunomodulador que atua tanto na resposta imune inata quanto na adaptativa, atividade antimicrobiana contra parasitas, fungos e vírus; propriedades regenerativas ao nível dos tecidos e atividade anticancerígena, todas essas propriedades conferem à lactoferrina grande potencial terapêutico, do qual pouca vantagem foi obtida até o momento.

3.6 PROCESSOS DE CARACTERIZAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS

Neste tópico serão abordadas técnicas de caracterização físico-químicas utilizadas para realização das caracterizações das membranas estudadas.

3.6.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Uma das técnicas mais úteis para a identificação de estruturas polissacarídicas é a espectroscopia de infravermelho, que se baseia na análise de picos de absorção de determinados comprimentos de onda, expressos em cm^{-1} (GÓMEZ-ORDÓÑEZ e RUPÉREZ, 2011). Apresenta duas vantagens principais: requer pequenas quantidades de amostra (miligramas) e é um método não-agressivo com exatidão confiável (PEREIRA et al., 2003), no entanto, a técnica convencional necessita de procedimentos técnicos laboriosos para obter espectros com uma boa relação sinal/ruído (CHOPIN e WHALEN, 1993). Esta limitação foi superada com o desenvolvimento de técnicas de infravermelho interferométricas, associadas ao algoritmo transformado de Fourier, dando origem à espectroscopia de infravermelho transformada de Fourier (PEREIRA et al., 2009).

Na análise estrutural de polissacarídeos (MATHLOUTHI e KOENIG, 1987), as regiões no espectro que podem ser descritas e foram reportadas por outros autores estão exemplificadas na (Tabela 2).

Dessa forma, informações sobre composição e estrutura podem ser obtidos a partir do FTIR, para caracterização de polissacarídeos. As bandas de absorção da espectroscopia de infravermelho a aproximadamente 3400, 2900, 1250, 1200, 1190, 1150, 1130, 1100, 980, 870, 850, 840, 815 e 800 cm^{-1} são utilizadas para obter informações sobre a estrutura de polissacarídeos do tipo galactomanana (FIGUEIRÓ et al, 2004; PRASHANTH et al, 2006; YUEN et al., 2009; SMITH et al., 2010; CERQUEIRA et al., 2011b; PENG et al., 2012).

Tabela 2 - Frequências vibracionais de ligações químicas associadas à galactomanana

Frequência (cm ⁻¹)	Ligação Química	Referência
815 e 872 813 e 870 835-855 e 870-890	Confôrmeros α e β de carboidratos	Cerqueira et al. (2011) López-Franco et al. (2013) Sócrates (2004)
1.016 1.000-1.160 950-1.150	Estiramento C-O	Nkafamiya et al. (2011) Sócrates (2004) López-Franco et al. (2013)
1.200-1.460	Deformações e vibrações de C-H e O-H	Sócrates (2004)
1.358	Deformação C-H no plano	Nkafamiya et al. (2011)
2.800-3.000 2.900	Estiramento C-H	Cerqueira et al. (2011) Sócrates (2004); López-Franco et al. (2013)
3.400 3.350 3.100-3.500 3.453	Estiramento O-H	López-Franco et al. (2013) Sócrates (2004) Cerqueira et al. (2011) Nkafamiya et al. (2011)

Fonte: FILHO et al. (2013)

3.6.2 Espessura de Membranas Polissacarídicas

A espessura dos filmes formados é um parâmetro que influencia suas propriedades (CUQ et al., 1996). O controle da espessura dos filmes é importante para se avaliar a uniformidade desses materiais, a repetibilidade da medida de suas propriedades e a validade das comparações entre filmes. O controle da espessura dos filmes é difícil, sobretudo nos processos de produção do tipo casting (SOBRAL, 1999).

A espessura dos filmes é definida como a distância perpendicular entre duas superfícies principais do material. Conhecer a espessura é essencial para obter informações sobre a resistência mecânica e as propriedades de barreira aos gases e ao vapor d'água do material (OLIVEIRA et al., 1996). Ao estudar filme de proteínas do leite, Chen (1995) verificou relação entre a permeabilidade ao vapor d'água e a espessura. Park e Chinnam (1995) observaram comportamento linear entre permeabilidade e espessura dos biofilmes à base de zeína, glúten e derivados de celulose. Medeiros et al. (2011) verificou a espessura de um revestimento de

pectina e quitosana pela técnica de microscopia eletrônica de varredura. Farias et al. (2012) analisou a espessura de filmes comestíveis de amido adicionado de acerolacom um micrômetro, e constatou que a adição de polpa de acerola e de glicerol provocou um aumento na espessura dos filmes.

3.6.3 Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)

Em filmes hidrofílicos, a atividade de água (Aa) e a temperatura a que são submetidos influenciam grandemente as propriedades de barreira. Ao se aumentar a Aa, produz-se um inchamento excessivo da matriz polimérica, que leva a um incremento na difusão das moléculas de água e, conseqüentemente, diminui as propriedades de barreira destes materiais (KAMPER e FENNEMA, 1984; BIQUET e LABUZA, 1988). Com o aumento da temperatura, a permeabilidade ao vapor de água também aumenta, e estas variações são dependentes do teor de umidade do material (DONHOWE e FENNEMA, 1994).

Esta análise é fundamental para um entendimento do comportamento dos filmes poliméricos, visto que a água está presente tanto nos filmes quanto nos possíveis alimentos ou compostos que podem ser armazenados por eles. Quando um determinado material é exposto a uma umidade, ele perde ou ganha água para ajustar sua própria umidade a uma condição de equilíbrio com o ambiente. Isto ocorre quando a pressão de vapor de água na superfície do material se iguala à pressão de vapor de água do ar que o envolve (BONA, 2007).

A presença de umidade em filmes hidrofílicos pode mudar sua permeabilidade a gases e vapores. Com o aumento da umidade observa-se aumento da PVA, isso acontece devido ao fato de a água absorvida pelo polímero age como plastificante diminuindo a energia de ativação para difusão favorecendo a penetração de moléculas de água, e conseqüentemente, aumento da PVA (MOREIRA, 2007).

A umidade é considerada como fator importante na conservação de alimentos e tratamento com curativos que controlam a umidade, principalmente naqueles em que a deterioração ocorre por perda ou ganho de água (SOUZA, 2010; DUTRA et al., 2017). Longares et al. (2005), afirmam que os polissacarídeos, como por exemplo, gomas vegetais ou

microbianas, amidos, celuloses, entre outros, apresentam boas propriedades para formação de filmes. Filmes formados com esses componentes hidrofílicos proporcionam eficientes barreiras contra óleos e lipídios, mas suas propriedades como barreira para a umidade são pobres (OLIVEIRA e CEREDA, 2003). Veiga et al. (2005) verificou que os filmes de amido possuem baixa barreira à umidade.

Rigo (2006) observou que quando a concentração de polissacarídeo aumenta, a umidade tende a diminuir, entretanto, quando a concentração de glicerol aumenta a umidade tende a aumentar, essa característica é facilmente explicada pelo caráter higroscópico do glicerol (FARMACOPÉIA, 1997). Machado, (2013) avaliou filmes biodegradáveis a base de amido de mandioca e bagaço de cevada, observando que o teor de umidade diminuiu com o aumento do bagaço de cevada, indicando que os filmes se tornam menos higroscópicos com aumento de bagaço na matriz polimérica, este comportamento foi observado por Müller et al. (2009) em filmes de amido incorporados com fibras, atribuindo a menor higroscopicidade dos filmes às fibras em relação ao amido.

Estudos recentes relatam que curativos modernos além de proporcionarem proteção mecânica, barreira contra infecções bacterianas e perda de fluidos e proteínas, os curativos devem também proporcionar um ambiente de regeneração celular adequado (transporte de gases e líquidos, manutenção de umidade e temperatura, por essa razão o estudo do teor de umidade é indispensável (CLASEN et al., 2006; OKAMOTO, 2013).

3.6.4 Solubilidade em Água

A análise de solubilidade avalia a quantidade máxima que uma substância pode dissolver-se em água, definindo a tolerância do material a água, e é determinada pela sua estrutura química. Os testes de solubilidade em água de um material visam fornecer informações sobre a integridade da amostra após sua imersão em água, à temperatura e tempo específicos (LEE et al., 2004).

As propriedades de solubilidade em curativos para feridas é um parâmetro bastante útil, devido a interação do curativo e a região em contato lesionada. Li et al. (2016) observaram propriedades de solubilidades favoráveis como absorção do exsudado da ferida e otimização no ambiente úmido do hidrogel.

O parâmetro de solubilidade também é muito importante no ramo alimentício definindo as possíveis aplicações do material, visto que, uma alta solubilidade não inviabiliza o filme, pois esta pode ser necessária, como é o caso de filmes que precisam ser submetidos ao contato com a água durante o processamento do alimento desidratado embalado. Nesse caso, embalagens comestíveis têm sido utilizadas para acondicionamento de alimentos em que a embalagem pode ser consumida juntamente com o produto embalado, onde é desejável uma alta solubilidade. Um filme com alta solubilidade possui uma baixa resistência à água e vice-versa (FARIAS et al., 2012). Bertuzzi et al. (2007) afirma que a afinidade pela água é uma importante propriedade dos filmes de amido. Dependendo da aplicação do produto a insolubilidade pode ser desejada, para proteger a integridade do produto, ou solubilidade no caso de encapsulação de alimento ou de aditivo.

De acordo com Müller et al. (2008), a solubilidade é influenciada pelo tipo e pela concentração do plastificante. Esses autores constataram que o glicerol e os grupamentos (-OH) do sorbitol aumentaram os valores de solubilidade do filme. Para o armazenamento é requerida uma baixa solubilidade do filme, porém para alimentos que sofrerão cocção com os filmes, uma solubilidade alta é desejada.

3.6.5 Propriedades Mecânicas

As propriedades mecânicas dos materiais determinam a resposta destes às influências mecânicas externas, estando associadas à capacidade de desenvolver deformações reversíveis e irreversíveis e de apresentar resistência à fratura. O teste mais utilizado para medir força mecânica é o teste de tração, onde podem ser derivadas as propriedades de resistência à tração, alongação, força resultante e módulo de elasticidade. As propriedades mecânicas são medidas por deformação de uma amostra e monitoração da força e deformação até que esta se rompa (OKAMOTO, 1978). As propriedades mecânicas de filmes flexíveis são importantes durante o processamento, pois estão associadas com o desempenho mecânico desses materiais nos equipamentos de conversão, nas máquinas de acondicionamento e frente às inúmeras solicitações dos ambientes de estocagem e distribuição. Em filmes flexíveis monocamadas, as propriedades mecânicas dependem da espessura, das características inerentes dos materiais e do processo de fabricação (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

3.6.6 Propriedades de Tração (Tensile Strength)

As propriedades de tração são úteis para identificação e caracterização de filmes flexíveis e expressam a resistência do material ao alongamento e mesmo ao rompimento, quando submetidos à tração (OLIVEIRA, et al. 1996).

A resistência à tração é medida pela força máxima de tração que o filme pode sustentar. A elongação é geralmente tirada do ponto de quebra e é expressa como porcentagem de aumento do comprimento original da amostra. Força resultante é a força de tração na qual ocorre o primeiro sinal de deformação não elástica. O módulo de elasticidade ou módulo de Young mede também a resistência do filme (BARRETO, 2003).

O termo resistência à tração refere-se à quantidade de esforço de tensão (alongamento) que um material pode suportar antes de romper ou falhar. A resistência à tração final de um material é calculada dividindo a área do material testado (a secção transversal) pela tensão colocada no material, geralmente expressa em termos de libras ou toneladas por polegada quadrada de material. A resistência à tração é uma medida importante da capacidade de um material, é amplamente utilizada quando se descrevem as propriedades de metais e ligas (IPC-TM-650 TEST METHODS MANUAL). A fórmula para medida de resistência à tração está representada abaixo:

$$\text{Resistência à tração} = \frac{(\text{Carga da ruptura})}{(\text{Largura original})(\text{Espessura original})} \quad (1)$$

O ensaio de determinação das propriedades de tração de uma estrutura flexível envolve a separação, a uma velocidade constante, de duas garras que prendem as extremidades de um corpo-de-prova, registrando-se ao longo do ensaio a força ou a resistência que o material oferece à deformação (alongamento). Inicialmente, o material oferece resistência crescente à solicitação de tração, a qual provoca seu alongamento. A partir de certo ponto, o aumento de resistência passa a ser menor para um mesmo aumento de deformação até o ponto de escoamento, a partir do qual é possível alongar o filme sem que este responda com um aumento de resistência. Continuando o alongamento, o material resiste até que ocorre sua ruptura (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Materiais diferentes exibem padrões de tração diferentes. Por exemplo, um polissacarídeo possui alta resistência à tração e pouca elongação, enquanto que materiais proteicos apresentam moderada resistência à tração e grande elongação. Essas diferenças podem ser derivadas da diferença na estrutura molecular. A estrutura da cadeia polimérica de

um polissacarídeo é linear, enquanto que as proteínas apresentam uma estrutura complexa devido às interações inter e intramoleculares dos grupos radicais (CHEN, 1995). As medidas de resistência à tração e alongação são geralmente conduzidas de acordo com o método padrão de propriedades de tração de filme plástico fino (ASTM, 1993) e utiliza-se um instrumento universal de teste mecânico, como o Instron ou o texturômetro TAXT2.

3.6.7 Porcentagem de Alongamento (Elongation)

É a relação entre o alongamento do corpo-de-prova e o seu comprimento inicial, podendo ser determinada para a situação de ruptura ou no ponto de escoamento (OLIVEIRA et al., 1996). Fórmula representada abaixo:

$$\text{Percentil de alongação} = \frac{(\text{Elongação na ruptura}) \times 100}{(\text{Comprimento de referência inicial})} \quad (2)$$

3.6.8 Módulo de Elasticidade ou de Young

É a relação entre a resistência à tração e a porcentagem de alongamento na região linear da curva resistência à tração versus deformação, ou seja na região em que a resposta do corpo-de-prova ao alongamento é crescente e proporcional à deformação imposta (conhecida como região elástica). Em termos práticos o módulo de elasticidade é um indicador da rigidez do filme sendo que, quanto maior o módulo, mais rígido é o material. Quando vários materiais são comparados quanto à rigidez por meio do módulo de elasticidade devem ser ensaiados corpos-de-prova com dimensões idênticas, inclusive na mesma espessura (OLIVEIRA, et al. 1996). Fórmula representada abaixo:

$$\text{Módulo jovem} = \frac{\frac{(\text{Carga no ponto da tangente})}{(\text{Largura original})(\text{Espessura original})}}{\frac{(\text{Elongação no ponto da tangente})}{\text{Comprimento de referência inicial}}} \quad (3)$$

3.6.9 Propriedades Mecânicas na Literatura

Rodríguez et al. (2006) verificou que o glicerol causou diferenças significativas na resistência à tração, as moléculas plastificantes interferiram com o filme, diminuindo a tração e mobilidade crescente do polímero, promovendo um aumento no alongamento e uma diminuição na resistência à tração, o efeito do surfactante na elongação de filmes com glicerol depende da concentração de surfactante, assim, a adição de uma quantidade mais baixa de tensoativo reduz o alongamento dos filmes. Contudo, quando se eleva o teor de tensoativos um aumento significativo no alongamento é encontrado, independentemente do surfactante utilizado, resultados semelhantes foram previamente relatados para hidroxipropil-amido (Arvanitoyannis et al., 1998), filmes de amido de batata e cevada (Koskinen et al., 1996) e posteriormente para filmes de quitosana (Ziani et al., 2008).

Carneiro-da-Cunha et al., (2009) relatou que houve uma redução na resistência à tração e elongação de filmes à base de quitosana quando a concentração do polissacarídeo era aumentada.

Sun et al. (2017) constatou que filmes de quitosana com adição crescente na concentração de polifenóis de maçã, acarreta em uma diminuição tanto da resistência à tração quanto alongamento na ruptura.

Martelli-Tosi et al. (2017) realizou tratamento de filmes com base na proteína isolada de soja, com adição de palha de soja os filmes não apresentaram melhora nas propriedades mecânicas, no entanto, a incorporação de fibras quimicamente tratadas, promoveram maior resistência à tração e módulo de Young, e uma diminuição no alongamento de ruptura, em comparação com a película de controle.

3.7 COLORIMETRIA

Colorimetria refere-se à ciência e a tecnologia usada para quantificar e descrever (pela ajuda de modelos matemáticos), as percepções humanas da cor. A percepção das cores pelos olhos não é um processo meramente visual, mas sim psicovisual. A cor é algo que se vê com os olhos e se interpreta com o cérebro é o resultado da interação da luz com os materiais. Para a física ótica, a cor é definida como um feixe de radiações luminosas com uma determinada distribuição espectral. Os materiais transferem a luz que chega a eles de forma que a luz transmitida tem diferente distribuição espectral. A composição química e a estrutura do material vão definir a capacidade deste de alterar a distribuição espectral da luz (CALVO & DURÁN, 1997).

A CIE (Commision Internationale de L'Eclairage) definiu os valores triestímulos em função da integração da distribuição espectral relativa de potência do iluminante (S_λ), as funções do

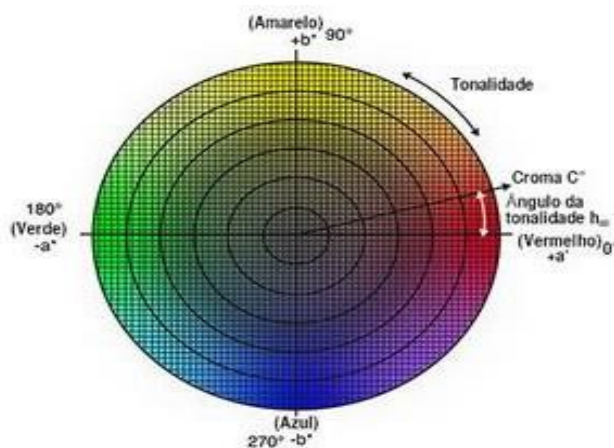
observador ($X_\lambda, Y_\lambda, Z_\lambda$) e a função espectral de radiância do objeto (R_λ). Esses valores são obtidos aproximadamente, pelo somatório do produto da DEP (Distribuição Espectral da Potência), dos valores do observador e dos fatores de refletância com intervalo de medição de 5 nm e faixa de comprimento de onda de 380nm a 780nm para objetos. Para fontes de luz os fatores de refletância não são incluídos. Os diagramas de cromaticidade mostram apenas proporções de valores triestímulos (X, Y e Z) e não suas reais magnitudes, eles são aplicados estritamente a cores que tem a mesma luminância. Em geral as cores diferem entre si tanto em cromaticidade quanto em luminância, e algum método que combine estas variáveis se torna necessário. Como os valores X, Y e Z definem um espaço psicofísico que não é real, a CIE recomendou o uso de um dos dois espaços de cor alternativos, CIELAB ou CIELUV, que incluem em fator de luminância em um plano de cromaticidade (Berns, 2000).

No espaço psicométrico CIELAB as cores são descritas ou por luminosidade (L^*), coordenada a^* (conteúdo do vermelho ao verde) e coordenada b^* (conteúdo do amarelo ao azul) ou pelo uso de coordenadas cilíndricas de luminosidade (L^*), tonalidade (h°) e o croma (C^*) (Figura 8), relacionadas diretamente com as coordenadas de Munsell (TIANO, 2009). Fórmulas do croma (C^*) e tonalidade (h°), representado, respectivamente nas fórmulas (4) e (5) abaixo:

$$C = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (4)$$

$$H = \text{tg}^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (5)$$

Figura 8 - Diagrama CIELAB no espaço de cor $L^*a^*b^*$



Fonte: <http://sensing.konicaminolta.com.br/2015/08/compreendendo-o-espaco-de-cor-cie-lch/>.

Acessado em 20 de janeiro. 2017.

3.8 AVALIAÇÃO CITOTÓXICA

A utilização de testes *in vitro*, por meio de ensaios de viabilidade celular, constitui o primeiro passo para a avaliação da compatibilidade biológica de uma substância e pode fornecer elementos importantes para a análise da biocompatibilidade dos diferentes materiais. De acordo com o Órgão Internacional de Padronização (International Standard Organization), ISO 10993, o ensaio de citotoxicidade *in vitro* é o primeiro teste para avaliar a biocompatibilidade de qualquer material para uso em dispositivos biomédicos, e depois de comprovada a sua não toxicidade é que o estudo da biocompatibilidade do produto pode ter continuidade realizando-se os ensaios necessários em animais de laboratório. Pela exposição de uma cultura celular a determinado biomaterial de interesse, é possível caracterizar reações adversas de citotoxicidade resultantes de substâncias presentes no ambiente que sejam potencialmente danosas ao organismo humano caso sejam assimiladas, ou substâncias sintéticas farmacológicas antes de chegarem ao comércio, necessitando de investigação quanto ao nível de risco que possam apresentar. A citotoxicidade é basicamente medida pela taxa de crescimento celular (ROGERO et al., 2003; FIGUEREDO, 2014).

Para ser aprovado no teste de citotoxicidade *in vitro*, um produto não deve ocasionar a morte das células nem afetar suas funções celulares. Assim sendo, com o uso de técnicas de cultura de células, os testes podem detectar a ocorrência de lise das células, de inibição do crescimento celular e de outros efeitos que possam ser desencadeados nas mesmas (DAGUANO

et al., 2007).

A análise mais aceita e realizada para verificar citotoxicidade de compostos frente a cultura de células é o ensaio de (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-di-fenil brometo de tetrazolina) (MTT), baseado em um método colorimétrico que avalia a capacidade de enzimas desidrogenases mitocondrial, presentes em células viáveis em converter o sal de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol, solúvel em água, em cristais de formazan, produto insolúvel em água. Os cristais de formazan são solubilizados e a densidade ótica pode ser determinada pelo espectrofotômetro UV-visa 595 nm. O número de células viáveis é diretamente proporcional à quantidade de cristais de formazan produzidos (SANTOS, 2014; GALDINO, 2014). Desde a descrição original do teste do MTT por Mosmann (NANKIVELL et L., 2003), o mesmo tem sido utilizado em experimentos com cultura de células (SOLEZ et al., 2007).

Os métodos *in vitro* apresentam vantagens em relação aos *in vivo* tais como poder limitar o número de variáveis experimentais, obter dados significativos mais facilmente além do período de teste ser, em muitos casos, mais curto. O problema da extrapolação dos dados obtidos *in vitro* para a aplicação clínica dos biomateriais pode ser superado pelo uso de materiais de referência apropriados, atualmente em uso em clínicas. Estudos com estes métodos demonstraram que os testes com culturas celulares podem ser utilizados com sucesso, pois são reprodutíveis, rápidos, sensíveis e financeiramente acessíveis para a execução do estudo de biocompatibilidade *in vitro* (ROGERO et al., 2003).

4 ARTIGO - OBTAINING, CHARACTERIZING AND EVALUATING MEMBRANE CYTOTOXICITY BASED ON GALACTOMANANA CONTAINING LACTOFERRIN INCORPORATED

José R.P. C de Seixas^a, Paulo A.G. Soares^{a,b}, Priscilla B.S. Albuquerque^{a,b}, Jaciana S.

Aguar^c, Carneiro-da-Cunha, M.G.^{a,b,*}

^aDepartamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. Prof.

Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, CEP: 50670-420 Recife, PE, Brazil

^bLaboratório de Imunopatologia Keizo Asami, Universidade Federal de Pernambuco, Campus Universitário, s/n, Cidade Universitária, CEP: 50670-901 Recife, PE, Brazil

^cDepartamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil

* Corresponding author. Fax: +55-81-2126.8576; Tel.: +55-81-

2126.8540 E-mail address: mgcc@ufpe.br (M. G. Carneiro-da-

Cunha)

Abstract

Galactomannan membranes extracted from *Cassia grandis* seeds, containing or not lactoferrin (Lf), were characterized by FTIR, color, moisture content (MC), solubility, water vapor permeability (WVP), mechanical properties, protein release and *in vitro* cytotoxicity rate on macrophage culture of RAW 264.7 murine lineage. The galactomannan membrane FTIR without Lf was similar to that reported in the literature, whereas the spectrum of galactomannan membrane containing Lf confirmed the incorporation of the protein, both membranes with and without Lf showed a strong tendency to whiteness, slightly yellowish appearance and opacity. The MC values for Lf-galactomannan membranes were significantly lower than those of the Lf-free membrane. The solubility results of both membranes, with and without Lf, displayed no statistical differences between them. The WVP for the galactomannan membranes, with and without Lf, presented the same magnitude order reported in the literature for different polysaccharide membranes. Mechanical properties confirmed that membranes with immobilized Lf were more malleable than membranes without Lf. The Lf release kinetics confirmed its membrane dispensation. Both membranes in concentrations from 3.125 to 25 mg/mL showed no cytotoxicity against RAW 264.7 lineage. The results obtained suggest that the galactomannan membranes with and without Lf were successfully accomplished, suggesting their wide application in the food and health area.

Keywords: Physicochemical Analysis; Galactomannan; Lactoferrin; Cytotoxicity.

1. Introduction

Polymeric biomaterials are among the most used on the medical field. The main advantages of polymeric biomaterials include the ease of manufacturing to produce diverse forms (particles, films, membranes, wires, among others), secondary processing, reasonable cost and opportunity in finding materials with desired mechanical and physical properties for specific applications (Pertici et al., 2017).

Polymers are high molar mass macromolecules formed by the binding of smaller repeating units along the main chain. The polymers, whether natural or synthetic, are large molecules whose chains are capable of producing continuous matrices, which will influence the successful formation of films, membranes and coatings (Momoh et al., 2015).

Biological origin polymers are abundant and their degradation products are biocompatible and non-toxic, which makes them safe for use in biomaterials structure. Moreover, they are affordable and obtained from renewable sources, widely used in pharmaceutical technology, taking into consideration their different functions: controlled release of active principles, both hydrophilic and lipophilic, tissue penetration, intercellular distribution and molecular recognition. In behalf of so many peculiar characteristics, different modern systems based on natural polymers and encapsulation of active principles are implemented for drugs administration, which can target: tumors, bacterial or viral infections, inflammations, neural disorders and genetic diseases. Among polymer uses are: liposomes, niosomes, polymer nanoparticles, membranes, films, micelles, dendrimers, nanogels, capsosomes and artificial polymeric cells (Liechty et al., 2010; Shaik et al., 2012; Vilar et al., 2012; Mogosanu et al., 2014; Kumar et al., 2016).

Among natural polymers, polysaccharides have been used as an alternative material for

the development of non-toxic films and membranes that can be used in different applications, such as wound dressings in alginate based films (Momoh et al., 2015), chitosan (Kato et al., 2003) and polycaprolactone (Monteiro et al., 2007), as a result of their adhesion capacity and controlled release of biomolecules.

The galactomannan polysaccharides type are polymers formed by a linear chain of β -1,4-D-mannopyranose units replaced by α -1,6-D-galactopyranose binder units, obtained from microbial sources, especially from plants, which play reserve function and whose main source is the seeds endosperm, notably the *Leguminosae* family members (Antonίου et al, 2015; Merlini et al., 2015). Galactomannan is a globally known polysaccharide widely used as a thickening, flocculating, gelling, stabilizing, emulsifying and film forming agent in the food, cosmetics, textile, pharmaceutical and biomedical industries (Cerqueira et al., 2011; Bento et al., 2013). Galactomannan based films were applied as support for Concanavalin A immobilization, in immunological experiments, evaluating interactions between polysaccharides, proteins and dengue virus (Valenga et al., 2011); and release of polymyxin B, antibiotic, based on galactomannan aerogels (Campia et al., 2017). The galactomannan extracted from *Cassia grandis* seeds of, a typical Brazilian tree, was previously characterized by Albuquerque et al. (2014), indicating galactomannan as an alternative source for conventional galactomannans, due to its ability to exhibit liquid and gel behavior, suggesting that it may be useful in various biotechnological applications. Immobilization of bioactive compounds in films based on *Cassia grandis* galactomannan, analyzing their influence on its physicochemical properties (Albuquerque et al, 2017.); Lactoferrin is the second most prevalent protein in human milk, with higher concentrations in colostrum. 80 kDa iron-binding glycoprotein of the transferrin family is composed of a single polypeptide with two globular lobes located in the terminal regions, called the C (acetyl) and N (amino) lobes, which are connected by an α -helix, each lobe containing a binding site. Each of them consists of two sub

lobes called N1, N2, C1 and C2 (Chierici and Vigi, 1994; Steijns and Hooijdonk, 2000; Ochoa and Cleary, 2009; Garcia-Montoya et al., 2012). Lactoferrin has numerous biological functions as anti-carcinogenic, anti-inflammatory, anti-bacterial, antiviral, antifungal, immunomodulating effect and inhibitor of free radical formation (Habib et al., 2013; Bokkhim et al., 2013; Embleton et al., 2013).

Several studies have reported the immobilization of Lf (Zhao et al, 2015;. Bokkhim et al, 2016;.. Xu et al, 2017), nevertheless immobilization of these bioactive compounds in galactomannan based films is emerging as an effective means for biotechnological application in food and pharmaceutical industries, since it can be an alternative, for example, to individuals with cutaneous wounds.

The aim of this work was to produce and characterize galactomannan-based membranes, extracted from *Cassia grandis* seeds, with or without lactoferrin incorporated, through the parameters of by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), color, moisture content, solubility, water vapor permeability (WVP) and mechanical properties, as well as *in vitro* cytotoxicity on RAF 264.7 murine macrophages culture.

2. Material and methods

2.1 Material

C. grandis pods were collected at the rural zone of Pernambuco state, in the city of Angelim (Brazil), in July 2015. Ethanol (99.8%), acetone (PA) and sodium chloride were obtained from Vetec Fine Chemicals Ltda. (Brazil). LF was obtained from DMV International (USA). All other reagents were of analytical grade.

2.2. Membrane preparation

The galactomannan contained in *C. grandis* seeds was obtained according to Albuquerque et al. (2014), with an extraction yield of $36 \pm 8\%$ and a composition of 71.0% mannose and 29.0% galactose. Briefly, the purification process was performed by immersion of the pods of *C. grandis* in distilled water at 25 °C for 18 h; the pods were then separated in a half part, revealing the seeds, which were removed and dried until reaching a constant weight. The dry seeds were boiled in distilled water 1:5 (w/v) at 100 °C for 1 h for enzyme inactivation and maintained in water by 18 h at 25 °C to facilitate the hull removal. After that, the hull was removed and the residual was triturated in a blender with 0.1 M NaCl 5% (w/v) at 25 °C, filtered through a veil tissue and after using a screen-printing cloth, and precipitated with 46% ethanol 1:3 (v/v) for 18 h. The white precipitate obtained was washed with 100% ethanol 1:3 (w/v) for 30 min and two times with acetone 1:3 (w/v) for 30 min, filtered on screen printing cloth between each washing. The precipitate was dried until constant weight, milled and finally called galactomannan.

The membrane forming solutions were prepared in distilled water with 0.6% (w/v) of galactomannan and 0.2% (v/v) of glycerol, maintained under magnetic stirring (500 rpm) for 18h, at room temperature (20 ± 2 °C), and finally called membrane A. Galactomannan and glycerol concentrations were chosen based on preliminary analyses (results not shown). Lf (0,5 mg/mL for membrane B) were added to the membrane forming solutions (w/v), and left under magnetic stirring (500 rpm) for 2h, at room temperature (20 ± 2 °C). A constant amount (15 mL) of each obtained membrane forming solutions was cast onto a 90 mm diameter polystyrene Petri dish. The films were then dried in an oven at $33 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ for 9h and maintained at 20 °C and 54% relative humidity (RH) until further characterization.

2.3. Film thickness

Film thickness was measured with a digital micrometer (No. 293–561, Mitutoyo, Japan).

Five different randomly chosen points were performed on each film and the mean values were used in the calculations of water vapor permeability (WVP) and mechanical properties.

2.4. Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy

The films were characterized by Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy on a Bruker FT-IR VERTEX 80/80v (Boston, USA) in Attenuated Total Reflectance mode (ATR) with a platinum crystal accessory between 400 and 4000 cm^{-1} , using 16 scans at a resolution of 4 cm^{-1} . Data analysis was performed with GraphPad Prism 5.00.288 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA).

2.5. Colour and opacity

The colour and opacity were determined using a digital colorimeter (Konica Minolta, model Chroma Meter CR-400, Osaka, Japan) calibrated at illuminant C with a white standard. The parameters determined were L^* ($L^* = 0$ [black] and $L^* = 100$ [white]), a^* ($-a^*$ = greenness and $+a^*$ = redness) and b^* ($-b^*$ = blueness and $+b^*$ = yellowness). These parameters are the ones recommended by the International Commission on Illumination (Bible and Shinga, 1993). The films were whitish and not completely opaque, and their opacity was calculated as the ratio between the opacity of each sample on the black standard (Y_b) and the opacity of each sample on the white standard (Y_w). Five measurements were determined at random Y_b and Y_w and an average of them were used for calculations. The experiment was done in triplicate and the results were expressed as percentage: $Y (\%) = (Y_b/Y_w) \cdot 100$.

2.6. Moisture content

The moisture content (MC) was expressed as the percentage of water removed from the initial mass sample. MC was determined gravimetrically by drying the films at 105 °C in an oven with forced air circulation for 24h. The experiments were performed in triplicate and the results were expressed as media +/- standard deviation.

2.7. Solubility

The measurement of solubility was determined according to Gontard, Duchez, Cuq, & Guilberts (1994). Triplicates of each film were cut with a circular mould of 2 cm diameter, weighted and dried at 105 °C in an oven for 24h. After reweighting, the films were placed in cups with 50 mL of distilled water, sealed over with parafilm and homogenized at 60 rpm for 24h. The non-soluble part of each film was dried at 105 °C for 24h and weighted again.

2.8. Water vapour permeability

The measurement of water vapor permeability (WVP) was determined gravimetrically based on ASTM E96-92 method (McHugh et al., 1993; Guillard et al., 2003). The film was sealed on the top of a permeation cell containing distilled water (100% RH; 2337 Pa vapor pressure at 20 °C), placed in a desiccator at 20 °C and 0% RH (0 Pa water vapor pressure) containing silica. The cells were weighted at intervals of 2h for 10h. Steady-state and uniform water pressure conditions were assumed by maintaining the air circulation constant outside the test cell by using a miniature fan inside the desiccator (McHugh et al., 1993). The slope of weight loss versus time was obtained by linear regression. Three replicates were made for each sample. The results were expressed as media +/- standard deviation.

2.9. Mechanical properties: Young's modulus, tensile strength and elongation break

Young's modulus (YM), tensile strength (TS) and elongation break (EB) were measured using a TA.HD plus Texture Analyzer (Serial RS232, Stable Micro Systems, Surrey, UK)

following the guidelines of ASTM D 882-02 (2010). According to the ASTM standard, film strips with a 100 mm length and a width of 20 mm were used and the average film thickness was measured as previously described in section 2.3. The initial grip separation was set at 100 mm and the crosshead speed was set at 5 mm min⁻¹. YM was related as the slope of the elastic region in a plot of stress x strain. TS was expressed in MPa and was calculated by dividing the maximum load (N) by the initial cross-sectional area (m²) of the specimen. EB was calculated as the ratio of the final length at the point of sample rupture to the initial length of a specimen (100 mm) and expressed as a percentage. At least six replicates were performed for each sample. The results were expressed as media +/- standard deviation.

2.10. Release Assay

For release assays, membranes (A) and (B) in solution before drying with 28 ml were kept in contact with phosphate buffer solution (pH 7.4) 28 ml, and every 1 h during 15 h, 1 mL aliquots were separated for protein quantification (Smith et al., 1985). For each volume removed through the test, the same amount was restored. Protein determinations were performed in triplicate (expressed as mean $\pm$ standard deviation) readings were performed in a spectrophotometer used for construction of the release curve as a function of time.

2.11. Cytotoxic activity

Cytotoxic activity was performed using the MTT method of 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide (Alley et al., 1988; Mosmann, 1983). The normal cell lineage used was RAW 264.7 (murine macrophages) maintained in DMEM culture medium. The media were supplemented with 10% fetal bovine serum and 1% antibiotic solution (penicillin and streptomycin). Cells were kept in an oven at 37 ° C in a humidified atmosphere enriched with 5% CO₂.

RAW 264.7 cells (105 cells / ml) were plated in 96-well plates and incubated for 24 h. Subsequently, 5 different samples were tested: samples of pure galactomannan (GAL), incorporated galactomannan and lactoferrin (GAL + LAC), galactomannan with the addition of glycerol (GAL + GLI), pure glycerol (GLI) and pure lactoferrin (LF), dissolved in DMSO and added to the wells with final concentration adjustments of 3.125 to 25 $\mu\text{g/mL}$. After 72 h of reincubation, 25 μl of MTT (5 mg / ml) was added and after 3 h of incubation, the MTT culture medium was aspirated and 100 μl of DMSO was added to each well. The absorbance was measured on a microplate reader at 560 nm wavelength.

2.12. Statistical analyses

Statistical analyses were performed using Analysis of Variance (ANOVA) and linear regression analysis. The Tukey test ($p < 0.05$) was used to determine any significance of differences between specific means (GraphPad Prism 5.00.288, GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA).

3. Results and Discussion

3.1. FTIR

FTIR was used to evaluate possible chemical interactions between Lf and the membrane matrix and possible changes on their structure (Figure 1). The galactomannan membrane had a FTIR spectrum similar to that obtained by Albuquerque et al. (2014), confirming that the membrane (A) has exclusively polysaccharide purified from *C. grandis* seeds; however, particular differences were observed for membranes containing immobilized Lf. In general, all membranes showed a broad band between the regions 3100-3500 cm^{-1} , which represents the O-

H stretch vibration formed by hydroxyl groups of galactomannan and water involved in hydrogen bonding. Additionally, a wide band around $2800 - 3000 \text{ cm}^{-1}$, attributed to C-H stretching vibration, is also presented in all samples (Yuen et al., 2009). The membrane with of lactoferrin was recognized to have an intensity of O-H stretch vibration similar to the galactomannan membrane (A) used as control. The peak near 1000 cm^{-1} corresponds to the C-O stretching vibration at C-O-C bonds and appears in all films previously studied (Pelissari et al., 2009), while the anomeric region ($950-700 \text{ cm}^{-1}$) and peaks close to 870 and 810 cm^{-1} are representative of α -D-galactopyranose and β -D-mannopyranose units, respectively (Yuen et al., 2009). According to the literature (Figueiró et al., 2004) the signals at 1650 and 1550 cm^{-1} are assigned to the axial deformation of CO bond (amide I) and the angular deformation of the connecting NH (amide II) proposed for protein identification. These peaks can be clearly seen in membranes having incorporated Lf.

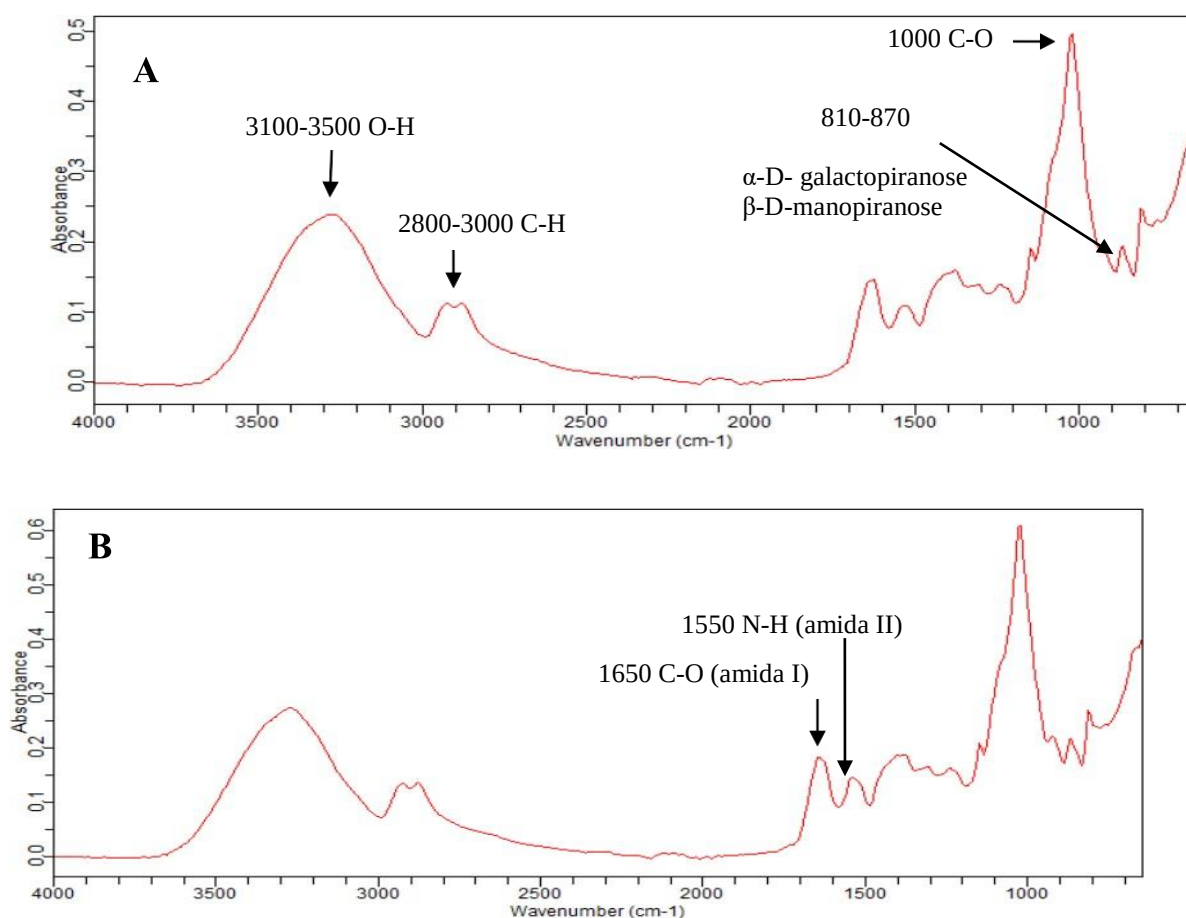


FIG. 1. FTIR spectrum of the Galactomannan (A) and Galactomannan with incorporated lactoferrin (B)

3.2. Colour and opacity

Pharmaceutical or food industry products require color and opacity analyzes for consumer acceptance of products. Table 1 shows the color and opacity parameters of the films. All the studied films were bright with a strong tendency towards whiteness, as presented by the values of coordinates L^* , and a yellowish aspect represented by the coordinate b^* ; both membranes were slightly opaque (Y%). Lactoferrin did not significantly

alter the membranes color and opacity parameters ($p > 0.05$), confirming that, due to the use of small concentrations, they did not alter their colorimetry. These results are in agreement with preparations of galactomannans previously reported in the literature (Cerqueira et al., 2010, Cerqueira et al., 2010, Martins et al., 2010, Albuquerque et al., 2017).

Table 1

Colour parameters L^* (luminosity), a^* ($-a^*$ = greenness and $+a^*$ = redness), b^* ($-b^*$ = blueness and $+b^*$ = yellowness) and Y (opacity) for the galactomannan membrane and galactomannan with lactoferrin.

Membranes	L^*	a^*	b^*	Y (%)
Galactomanana	96.00 ± 0.35^a	0.46 ± 0.02^a	5.107 ± 0.32^a	11.77 ± 0.21^a
Galactomanana + lactoferrina	96.32 ± 0.30^a	0.54 ± 0.01^a	4.860 ± 0.15^a	12.05 ± 0.33^a

Equal superscripts letters in the same column indicate no statistically significant difference ($p > 0.05$).

3.3. Moisture content (MC), solubility (Sol), water vapor and permeability (WVP)

Membrane moisture-binding potential can affect physical and barrier properties, so knowledge of the membrane matrix content and affinity to water is a key parameter when choosing a membrane for specific applications (Kowalczyk et al., 2015). This analysis is crucial for an understanding of polymeric membranes behavior, since water is present in both the membrane and possible support structures. When a certain material is exposed to humidity, it loses or gains water to adjust its own moisture to a condition of equilibrium with the environment (Bona, 2007; Moreira, 2007).

Table 2 shows the values of moisture content (MC), solubility and water vapor permeability (WVP). The results displayed that the MC of the lactoferrin membrane

incorporated presented a significant reduction ($p < 0.05$) compared to the membrane without galactomannan lactoferrin. Bourbon et al. (2011) reported that the incorporation of bioactive compounds into chitosan films led to an increase in MC, however this increase was not significant for Lf films. Our results showed that Lf incorporation decreased the MC, which may be explained by the fact that Lf has hydrophobic and hydrophilic regions on its conformation, which is consistent with preliminary results (Albuquerque et al., 2017). Lf has a net positive charge when in neutral pH (Teo et al., 2015) with a hydrophobic domain (Sinha et al., 2013), as well Lf in the galactomannan membrane can have reduced the availability of hydroxyl groups, lowering the interaction with water, resulting in a decline of MC values. Another explanation for hydroxyl groups availability of and minor interaction with water on galactomannan membranes was analyzed by Antoniou et al. (2015), who worked with gum-tare films, reporting the compounds addition influence on MC.

The solubility results showed that Lf addition of to the galactomannan membrane did not alter its solubility significantly ($p < 0.05$), table 2. This parameter defines possible applications for the material, since a high solubility does not make the membrane unviable, as it may be necessary, in case of membranes that need to be submitted to water contact during processing or final use. Müller et al. (2008), demonstrated that solubility is influenced by the type and concentration, these authors found that glycerol and sorbitol (-OH) groups increased

the film solubility values, a fact that can be explained by galactomannan membranes high solubility, with and without incorporated Lf, but also the proportion and distribution of galactose units along the mannan chain may play an essential role in galactomannans water content. The solubility in water tends to increase with increasing galactose content for galactomannan M/G (Jouki et al., 2013, Dos Santos et al., 2015). The membranes solubility values gathered were higher than those reported by Antoniou et al. (2014), for gum-tare with glycerol influence. Cerqueira et al. (2012) reported the influence of different concentrations of glycerol on solubility, endorsing that the membranes prepared on the present work, due to its similar glycerol concentrations, did not present significant alterations. The galactomannan extracted from seeds of *C. grandis* used in this work has a mannose / galactose ratio (2.44: 1). This molar ratio, and the presence of glycerol, may have influenced galactomannan membrane structure, explaining the differences acquired for MC and high solubility when compared to other galactomannan membranes and films.

WVP perform an important role in medical and food products, and are used in a wide variety of products, are one of the most important properties for membranes and films. The test provides information on water vapor transmission and membranes barrier capacity. The polymeric film barrier capability information is essential for polymers selection for producing controlled drug because the coating should protect the formulation from moisture in the environment during storage (Ribeiro et al., 2016). The WVP membranes values showed positive results as it relates to membranes produced with polysaccharides (Table 2). Albuquerque et al. (2017) reported similar results on galactomannan films immobilized with bioactive compounds. According to Antoniou et al. (2014), the hydrophilicity high degree

attracts water to the membrane matrix contributing to create regions of greater water mobility, with larger inter-chain distances on galactomannan, reason this can be attributed to present results galactomannan membranes containing or not incorporated lactoferrin.

Table 2

Moisture content (MC), solubility, and water vapour permeability (WVP). Galactomannan membranes with and without incorporated lactoferrin.

Membranes	MC (%)	Solubility (%)	WVP x 10 ⁻⁷ (gh ⁻¹ m ⁻¹ Pa ⁻¹)
Galactomannan	21,33 ± 0,66 ^a	92,00 ± 2,18 ^a	5,84 ± 0,77 ^a
Galactomannan +lactoferrin	14,67 ± 2,02 ^b	98,67 ± 7,78 ^a	6,97 ± 1,14 ^a

Equal superscripts letters in the same column indicate no statistically significant difference (p> 0.05).

3.4. Mechanical properties

The mechanical properties, including Young's modulus (YM), tensile strength (TS) and elongation to break (EB), (depend on the composition and nature of membranes and films (Vieira et al, 2011). The materials mechanical properties determine their response to external mechanical influences, being associated with the capacity to develop reversible and irreversible deformations, as well to present resistance to fracture (Fakhreddin Hosseini et al., 2013). The measurement of these properties allow to predict how the material will behave under different processing conditions Table 3 shows the mechanical of membrane (A) and (B). YM is a measure of a sample stiffness and a decrease in this value means a reduction of membrane stiffness, i.e., YM reduction increases film deformability (Saurabh et al., 2013). Membranes with incorporated (Lf) presented a statistically significant difference (p <0.05) for YM when compared to membrane without (Lf), the membrane with bioactive compound incorporated

presented a lower tenacity when compared to membrane without (Lf). Albuquerque et al. (2017) obtained opposite results demonstrating that lactoferrin addition increases YM, this data may be related to higher concentration of galactomannan and (Lf) in the samples.

TS indicates the maximum tensile stress the membrane can sustain. It is a parameter related to the chemical structure of the membrane and strongly depends on its composition, being influenced by: water, plasticizers, surfactants and bioactive compounds immobilized in the membrane matrix (Bourbon et al., 2011). Membranes (A) and (B) showed no statistical differences ($p > 0.05$) on TS values, the result can be attributed to similar concentrations of glycerol in both membranes production. Similar results were reported by Cerqueira et al. (2009), with TS values ranging from 2.56 to 3.96 MPa.

EB is related to the membrane flexibility, is the increase in length, expressed as a percentage, which occurs before the break under tension. The results show that the Lf membrane obtained significant results ($p < 0.05$), they were more flexible than the membrane (A). Muscat et al. (2012) analyzed that starch-based films with high plasticizer content reduced the intramolecular attraction forces between the starch chains, promoting the formation of hydrogen bonds between the plasticizer and starch molecules, resulting in greater flexibility and subsequently decreasing tensile strength, a fact that can be compared to Lf addition in the membrane matrix also increasing its flexibility. Abugoch et al. (2011) found

that by adding quinoa protein to chitosan formulation, increased EB values similarly to membrane (B) of the present study. Chitosan films displayed significantly higher EB values compared to films produced with other biopolymers such as wheat gluten, maize zein protein and soy protein isolate, suggesting that the type of polysaccharide and component used in its matrix may modify this parameter (Cunningham et al., 2000).

Table 3

Effect of concentration on Young's modulus (YM), tensile strength (TS) and elongation break (EB) of the membranes galactomannan (A) and Lf 0,5 mg/ml (B).

Membranes	Young's Modulus (Mpa)	Tensile Strenght (Mpa)	Elongation Break (%)
Galactomannan	0.98 ± 0.09 ^a	2.64 ± 0.52 ^a	5.75 ± 0.50 ^a
Galactomannan + lactoferrin	0.37 ± 0.01 ^b	2.78 ± 0.17 ^a	13.05 ± 0.44 ^b

Equal superscripts letters in the same column indicate no statistically significant difference ($p > 0.05$).

3.4 Protein release

The results of the release assays confirmed that the protein Lf has the ability to release from the polysaccharide matrix of the membrane, thus being able to perform its various functions. Over a period of 15 hours more than 85% of protein release was confirmed (Figure 2), showing that the membrane is a highly effective vehicle, trapping Lf as release over time. Based on the methodological concepts and protocols used for low molecularweight drug release studies in coatings (Müller and Keßler, 2012; Torger et al., 2013; Müller et al., 2015), the release of protein (Lf) , Of the galactomannan membrane.

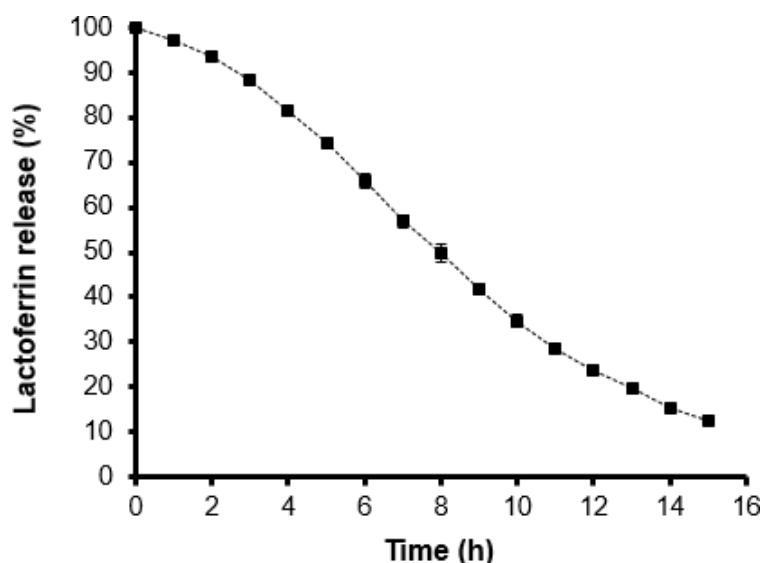


FIG. 2. Protein release % (Lf) as a function of time in hours.

3.6 In vitro cytotoxicity

The use of in vitro tests, by cell viability assays, is the first step to evaluate the substance biocompatibility and can provide important elements for the biocompatibility analysis of various materials. The cytotoxicity assessment is very important for membranes with possible applications on dressing wounds, analyzes with polysaccharides from different sources is extremely important, especially when they need to be in contact to the internal body environment in order to exercise their functions. The MTT assay is frequently used to assess in vitro cytotoxicity of polymeric components. It is a fast and effective method for testing the mitochondrial impairment correlating very well with cell proliferation. It is based on tetrazoline (3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-di-phenylbromide) (MTT), colorimetric method which assesses the ability of mitochondrial dehydrogenases enzymes present in viable cells to convert the water-soluble 3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazole bromide salt into formazan crystals, a water insoluble product.

The cell viability of the constituents (LF), (GAL), (GLY), (GAL + GLY) and (GAL+ LF) used for membranes (A) and (B) production were tested in proportions of 3.125 $\mu\text{g} / \text{mL}$ at 25 $\mu\text{g} / \text{mL}$, in RAW 264.7 cells (Fig. 3). According to GB/T 16886.5-2003 (ISO 10993-5: 1999), samples with cell viability greater than 75% can be considered non-cytotoxic. The results for all samples tested reported greater cell viability than 100%, this indicates that there is no cytotoxicity to the membranes compounds.

Membranes (A) and (B) showed no reduction in cell viability independent of concentration. Gaoxing et al. (2016) assessed the cytotoxicity of polysaccharide extracted from *Pleurotus eryngii*, confirming a reduction in cell viability. Liang et al. (2014) reported the effects of red seaweed polysaccharide and derivatives in cell viability by noting that the concentration clearly influenced cell viability; Ogunjimi et al. (2017) analyzing Delonix- based nanoparticles with perspective of ocular use, a galactomannan polysaccharide extracted from the endosperm of the *Delonix regia* plant, verified that the nanoparticles were not cytotoxic.

Data from the MTT assays revealed that no significant differences were observed between the tested and control groups for RAW 264.7 cells. Cells grew very well after exposure of the samples. Therefore, the constituents of membranes may be considered biocompatible.

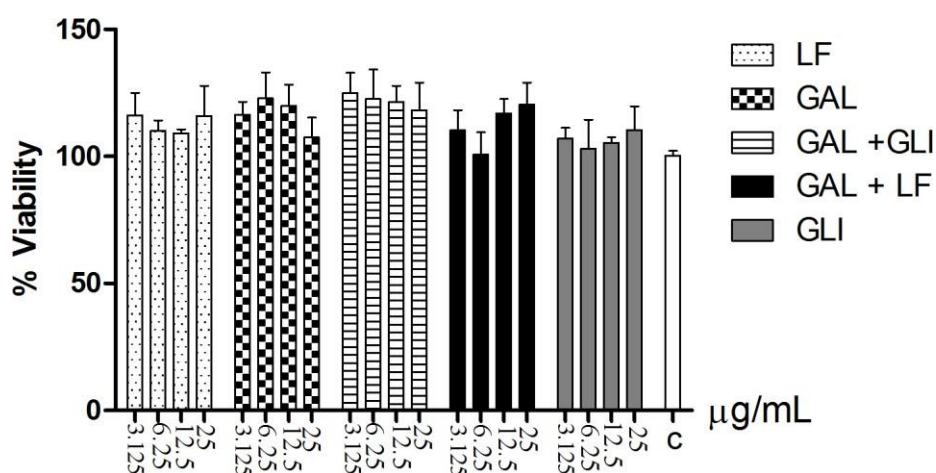


Figure. 3. Cell viability of the constituents of membranes (A) and (B), (LF), (GAL), (GLY), (GAL + GLY) and (GAL + LF).

4 Conclusions

Lactoferrin can be added to galactomannan-based membranes maintaining its main structure without significantly altering the results of: WVP, solubility and color of membranes. The incorporation of lactoferrin decreased the membranes stiffness and increased its elasticity leading to a mobility improvement.

Lf immobilization on galactomannan membranes may be valuable for a large number of applications. For example, in the pharmaceutical field, galactomannan with immobilized Lf can be tested as a candidate for wound dressing by combining the polysaccharide physicochemical properties and the protein excellent biological activities.

Acknowledgements

This study was supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). José R.P.C. de Seixas is recipient of a scholarship from CNPq. Maria G. Carneiro-da-Cunha express her gratitude to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for research grants and fellowship.

References

Abayomi T. Ogunjimi, Shaiani M.G. Melo, Carem G. Vargas-Rechia, Flávio S. Emery, Renata F.V. Lopez. Hydrophilic polymeric nanoparticles prepared from Delonix galactomannan with low cytotoxicity for ocular drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, Volume 157, 10 February 2017, Pages 1065-1075

Abugoch, L. E., Tapia, C., Villamán, M. C., Yazdani-Pedram, M., & Díaz-Dosque, M. (2011). Characterization of quinoa protein–chitosan blend edible films. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 879-886. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.08.008>

Albuquerque, P.B.S.; Barros JR. W.; Santos, G.R.C.; Correia, M.T.S.; Mourao, P.A.S.; Teixeira, J.A., & Carneiro-da-Cunha, M.G. Characterization and rheological study of the galactomannan extracted from seeds of *Cassia grandis*, *Carbohydrate Polymers*.(2014)

Albuquerque, Priscilla B.S., Miguel A. Cerqueira, Antonio A. Vicente, José A. Teixeira, Maria G. Carneiro-da-Cunha. Immobilization of bioactive compounds in *Cassia grandis* galactomannan-based films: Influence on physicochemical properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 96, March 2017, Pages 727-735

Albuquerque, Priscilla B.S., Miguel A. Cerqueira, António A. Vicente, José A. Teixeira, Maria G. Carneiro-da-Cunha. Immobilization of bioactive compounds in *Cassia grandis* galactomannan-based films: Influence on physicochemical properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 96, March 2017, Pages 727-735

Alley, M. C. et al. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Research*, v. 48, p. 589- 601, 1988.

Antoniou, J., F. Liu, H. Majeed, F. Zhong, Characterization of tara gum edible films incorporated with bulk chitosan and chitosan nanoparticles: a comparative study, *Food Hydrocoll.* 44 (2015) 309–319, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.09.023>.

Antoniou, J., F. Liu, H. Majeed, H.J. Qazi, F. Zhong, Physicochemical and thermomechanical characterization of tara gum edible films: effect of polyols as plasticizers, *Carbohydr. Polym.* 111 (2014) 359–365, <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.04.005>.

Bento João Francisco, Irineu Mazzaro, Lia Magalhães de Almeida Silva, Renato de Azevedo Moreira, Marília Locatelli Correa Ferreira, Fany Reicher, Carmen Lúcia de Oliveira Petkowicz. Diverse patterns of cell wall mannan/galactomannan occurrence in seeds of the Leguminosae. *Carbohydrate Polymers*, Volume 92, Issue 1, 30 January 2013, Pages 192-199

Bokkhim H., N. Bansal, L. Grondahl, B. Bhandari, Characterization of alginate-lactoferrin beads prepared by extrusion gelation method, *Food Hydrocoll.* 53 (2016) 270–276, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.12.002>.

Bokkhim, H., Bansal, N., Grøndahl, L., Bhandari, B., (2013). Physico- 711 chemical properties of different forms of bovine lactoferrin. *Food Chemistry* 712 141(3), 3007-3013.

Bona, J. C. Preparação e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de blendas de amido com polietileno. 2007, 115f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

Bourbon, A. I. Physico-chemical characterization of chitosan-based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. *Journal of Food Engineering*, v. 106, p. 111–118, 2011.

Campia Paola, Erika Ponzini, Bianca Rossi, Stefano Farris, Tiziana Silvetti, Luca Merlini, Milena Brasca, Rita Grandori, Yves M. (2017). Galante. Aerogels on enzymatically oxidized galactomannans from leguminous plants: Versatile delivery systems of antimicrobial peptides and enzymes. *Carbohydrate Polymers*, Volume 158, 20 February 2017, Pages 102-111.

Cerqueira Miguel A., Bartolomeu W.S. Souza, José A. Teixeira, António A. Vicente. Effect of glycerol and corn oil on physicochemical properties of polysaccharide films e A comparative study. *Food Hydrocolloids*, Volume 27, Issue 1, May 2012, Pages 175-184f

Cerqueira, M. A., Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Martins, J. T., Souza, B. W. S., Teixeira, J. A., & Vicente, A. A. (2011). Galactomannans use in the development of edible films/coatings for food applications. *Trends in Food Science & Technology*, 22(12), 662–671.

Cerqueira, M.A., Á.M. Lima, B.W.S. Souza, J.A. Teixeira, R.A. Moreira, A.A. Vicente, Functional polysaccharides as edible coatings fo cheese, *J. Agric. Food Chem.* 57 (2009) 1456–1462, <http://dx.doi.org/10.1021/jf802726d>.

Cerqueira, M.A., B.W.S. Souza, J.T. Martins, J.A. Teixeira, A.A. Vicente, Seed extracts of *Gleditsia triacanthos*: Functional properties evaluation and incorporation into galactomannan films, *Food Res. Int.* 43 (2010) 2031–2038, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.06.002>.

Cerqueira, M.A., Lima, A., Teixeira, J.A., Moreira, R.A., Vicente, A.A., 2009. Suitability of novel galactomannans as edible coatings for tropical fruits. *Journal of Food Engineering* 94, 372–378.

Chierici R, Vigi V. Lactoferrin in infant formulae. *Acta Paediatr* 1994;s402:83-8. *Food Hydrocolloids* 27 (2012) 175–184, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.07.007>.

Cunningham, P., Ogale, A. A., Dawson, P., & Acton, J. (2000). Tensile properties of soy protein isolate films produced by a thermal compaction technique. *J Food Sci*, 65(4), 668-671.

Dos Santos, V.R.F., B.W.S. Souza, J.A. Teixeira, A.A. Vicente, M.A. Cerqueira, Relationship between galactomannan structure and physicochemical properties of films produced thereof, *J. Food Sci. Technol.* 52 (2015) 8292–8299, <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-015-1961-6>.

Embleton, N.D., Berrington, J.E., McGuire, W., Stewart, C.J., Cummings, S.P., (2013). Lactoferrin: Antimicrobial activity and therapeutic potential. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* 18(3), 143-149.

Fakhreddin Hosseini, S., Rezaei, M., Zandi, M., & Ghavi, F. F. (2013). Preparation and functional properties of fish gelatin-chitosan blend edible films. *Food Chem*, 136(3-4), 1490-1495. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.09.081

Figueiró, S.D., J.C. Góes, R.A. Moreira, A.S.B. Sombra, On the physicochemical and dielectric properties of glutaraldehyde crosslinked galactomannan-collagen films, *Carbohydr. Polym.* 56 (2004) 313–320, <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.01.011>

Gaoxing Ma, Wenjian Yang, Yong Fang, Ning Ma, Fei Pei, Liyan Zhao, Qiuhui Hu. Antioxidant and cytotoxicities of *Pleurotus eryngii* residue polysaccharides obtained by ultrafiltration. *LWT - Food Science and Technology*, Volume 73, November 2016, Pages 108-116

García-Montoya, I. A., Cendón, T. S., Arévalo-Gallegos, S., & Rascón-Cruz, Q. (2012). Lactoferrin a multiple bioactive protein: An overview. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1820(3), 226–236.

George Dan Mogoşanu, Alexandru Mihai Grumezescu. Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. Original Research Article *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 463, Issue 2, 25 March 2014, Pages 127-136

Gontard, N., C. Duchez, B. Cuq, S. Guilbert, Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties, *Int. J. Food Sci. Tech.* 29 (1994) 39–50, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb02045>.

Habib, H.M., Ibrahim, W.H., Schneider-Stock, R., Hassan, H.M., (2013). Camel milk lactoferrin reduces the proliferation of colorectal cancer cells and exerts antioxidant and DNA damage inhibitory activities. *Food Chem.* 141 (1), 148–152.

Jouki M., N. Khazaei, M. Ghasemlou, M. Hadinezhad, Effect of glycerol concentration on edible film production from cress seed carbohydrate gum, *Carbohydr. Polym.* 96 (2013) 39–46, <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.03.077>.

Kato, Y., H. Onishi, Y. Machida, Application of chitin and chitosan derivatives in the pharmaceutical field, *Curr. Pharm. Biotechnol.* 4 (2003) 303–309, <http://dx.doi.org/10.2174/1389201033489748>.

Kowalczyk, D., M. Kordowska-Wiater, J. Nowak, B. Baraniak, Characterization of films based on chitosan lactate and its blends with oxidized starch and gelatin, *Int. J. Biol. Macromol.* 77 (2015) 350–359, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.03.032>

Kumar, K. Muthukumar, C. Muthukumar. Ultrasound assisted extraction of total phenolics from *Cassia auriculata* leaves and evaluation of its antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, Volume 84, June 2016, Pages 13-21

Liechty, W.B., Kryscio, D.R., Slaughter, B.V., Peppas, N.A., 2010. Polymers for drug delivery systems. *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.* 1, 149#173.

Martins, J.T., M.A. Cerqueira, B.W.S. Souza, M. do Carmo Avides, A.A. Vicente, Shelf life extension of ricotta cheese using coatings of galactomannans from nonconventional sources incorporating nisin against *Listeria monocytogenes*, *J. Agric. Food Chem.* 58 (2010) 1884–1891, <http://dx.doi.org/10.1021/jf902774z>.

McHugh, T.H., R.J. Avena-Bustillos, J.M. Krochta, Hydrophilic edible film: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects, *J. Food Sci.* 58 (1993) 899–903, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb09387.x>.

Merlini, L., Boccia, A. C., Mendichi, R., & Galante, Y. M. (2015). Enzymatic and chemical oxidation of polygalactomannans from the seeds of a few species of leguminous plants and characterization of the oxidized products. *J. Biotechnol.*, 198, 31-43.

Momoh, F.U., J.S. Boateng, S.C.W. Richardson, B.Z. Chowdhry, J.C. Mitchell, Development and functional characterization of alginate dressing as potential protein delivery system for wound healing, *Int. J. Biol. Macromol.* 81 (2015) 137–150, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.07.037>.

Monteiro, F.M.F., G.M.M. Silva, J.B.R. Silva, C.S. Porto, L.B. Carvalho Júnior, J.L. Lima Filho, A.M.A. Carneiro-Leão, M.G. Carneiro-da-Cunha, A.L.F. Porto, Immobilization of trypsin on polysaccharide film from *Anacardium occidentale* L. and its application as cutaneous dressing, *Process Biochem.* 42 (2007) 884–888, <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2007.01.006>.

Moreira, C. Q.; A influência da umidade relativa na taxa de permeabilidade ao oxigênio de filmes hidrofílicos. *Boletim de tecnologia e desenvolvimento de embalagens*, São Paulo, v.19 n, 3, p. 1-4, 2007.

Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to

proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunological Methods*, v. 65, n. 1-2, p. 55–63, 1983.

Müller, Cmo., F Yamashita, JB Laurindo. Evaluation of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. *Carbohydrate Polymers* 72 (1), 82-87, (2008).

Müller, M., B. Torger, D. Vehlow, B. Urban, D. Wehrum, B. Woltmann, U. Hempel, *Biointerphases* 10 (1) (2015) 011001.

Müller, M., B. Kebler. Release of pamidronate from poly(ethyleneimine)/cellulose sulphate complex nanoparticle films: An in situ ATR-FTIR study. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Volume 66, July 2012, Pages 183–190

Muscat, D., Adhikari, B., Adhikari, R., & Chaudhary, D. S. (2012). Comparative study of film forming behaviour of low and high amylose starches using glycerol and xylitol as plasticizers. *Journal of Food Engineering*, 109(2), 189-201. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.10.019>

Ochoa TJ, Cleary TG. Effect of lactoferrin on enteric pathogens. *Biochimie* 2009;91:30-4.

Pelissari, F.M., M.V.E. Grossmann, F. Yamashita, E.A.G. Pineda, Anti-microbial, mechanical, and barrier properties of cassava starch-chitosan film incorporated with oregano essential oil, *Agr. Food Chem.* 57 (2009) 7499–7504, <http://dx.doi.org/10.1021/jf9002363>

Pertici G. 2017. Introduction to bioresorbable polymers for biomedical applications. University of Applied Sciences and Arts of Southern Switzerland, SUPSI, Manno, Switzerland; Industrie Biomediche Insubri SA, Mezzovico-Vira, Switzerland.

Quintas, A.A. Vicente, Physico-chemical characterization of chitosan-based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight, *J. Food Eng.* 106 (2011) 111–118, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.03.024>. Research Centre Report (p. 159). Sabrina Dias Ribeiro, Guimes Rodrigues Filho, Andréia Bagliotti Meneguim, Fabíola Garavello

Prezotti, Fernanda Isadora Boni, Beatriz Stringhetti Ferreira Cury, Maria Palmira Daflon Gremião. Cellulose triacetate films obtained from sugarcane bagasse: Evaluation as coating and mucoadhesive material for drug delivery systems. *Carbohydrate Polymers*, Volume 152, 5 November 2016, Pages 764-774

Saurabh, C.K., S. Gupta, J. Bahadur, S. Mazumder, P.S. Variyar, A. Sharma, Radiation dose dependent change in physiochemical, mechanical and barrier properties of guar gum based films, *Carbohydr. Polym.* 98 (2013) 1610–1617, <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.07.041>.

Shaik, M.R., Korsapati, M., Panati, D., 2012. Polymers in controlled drug delivery systems. *Int. J. Pharm. Sci.* 2 (4), 112#116.

Sinha M., S. Kaushik, P. Kaur, S. Sharma, T.P. Singh, Antimicrobial lactoferrin peptides: the hidden players in the protective function of a multifunctional protein, *Int. J. Pept.* (2013), <http://dx.doi.org/10.1155/2013/390230>

Smith, P. K. et al. Measurement of protein using Bicinchoninic Acid. *Anal. Biochem.*, v.150, p. 76-86, 1985.

Steijns JM, Van Hooijdonk AC. Occurrence, structure, biochemical properties and technological characteristics of lactoferrin. *Br J Nutr* 2000;84 (Suppl 1):S11-7.

Teo A., K.K.T. Goh, J. Wen, I. Oey, S. Ko, H.-S. Kwak, S.J. Lee, Physicochemical properties of whey protein, lactoferrin and Tween 20 stabilised nanoemulsions: effect of temperature, pH and salt, *Food Chem.* 197 (2016) 297–306, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.086>.

Torger, B., D. Vehlow, B. Urban, S.R. Salem, D. Appelhans, M. Müller, *Biointerphases* 8 (2013) 25.

Valenga, F., D.F.S. Petri, N. Lucyszyn, T.A. Jó, M.R. Sierakowski, Galactomannan thin films as supports for the immobilization of Concanavalin A and/or dengue viruses, *Int. J. Biol. Macromol.* 50 (2012) 88–94, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.10.005>.

Vieira, M. G. A., da Silva, M. A., dos Santos, L. O., & Beppu, M. M. (2011). Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *European Polymer Journal*, 47(3), 254- 263. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2010.12.011>

Vilar, G., Tulla-Puche, J., Albericio, F., 2012. Polymers and drug delivery systems. *Curr. Drug Deliv.* 9 (4), 367#394.

Wanai Liang, Xuan Mao, Xiaohui Peng, Shunqing Tang. Effects of sulfate group in red seaweed polysaccharides on anticoagulant activity and cytotoxicity. *Carbohydrate Polymers* 101 (2014) 776– 785

Xu Yurui, Sajid Asghar, Liu Yang, Hongying Li, Zhilin Wang, Qineng Ping, Yanyu Xiao. Lactoferrin-coated polysaccharide nanoparticles based on chitosan hydrochloride/hyaluronic acid/PEG for treating brain glioma. *Carbohydrate Polymers* 157 (2017) 419–428

Yuen, S.N., S.M. Choi, D.L. Phillips, C.Y. Ma, Raman and FTIR spectroscopy study of carboxymethylated non-starch polysaccharides, *Food Chem.* 11 (2009) 1091–1098, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.053>

Zhao Jingjing, Tong Wei, Zihao Wei, Fang Yuan, Yanxiang Gao. Influence of soybean soluble polysaccharides and beet pectin on the physicochemical properties of lactoferrin- coated orange oil emulsion. *Food Hydrocolloids* 44 (2015) 443 e 452.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O polissacarídeo contido nas sementes de *Cassia grandis* foi eficientemente extraído, apresentando rendimento de $36\% \pm 8$. O FITR confirmou que a membrana composta apenas por galactomanana, está em uniformidade com outros trabalhos, apresentando exclusivamente polissacarídeo purificado a partir de sementes de *C. grandis*, também foi confirmado a presença de Lf nas membranas com a proteína incorporada. As propriedades físico-químicas: WVP, solubilidade e cor, não apresentaram diferenças significantes quando se adicionou a Lf as membranas de galactomanana, mas apresentaram características particulares para várias aplicações biotecnológicas. As propriedades mecânicas revelaram que membranas com Lf incorporada apresentam aspectos menos rígido e mais elástico, melhorando assim sua mobilidade quando comparado a membrana sem a proteína incorporada. Os ensaios de liberação proteica, mostraram que a Lf consegue ser libertada gradualmente da matriz polissacarídica. Quanto a citotoxicidade, as células cresceram muito bem após exposição das amostras. Portanto, os constituintes das membranas podem ser considerados biocompatíveis. Em conclusão, os resultados obtidos sugerem um potencial de aplicação biotecnológica das membranas contendo Lf incorporada, com possibilidade de aplicação nas indústrias alimentícia e farmacêutica.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A.; MONTEIRO, D. S. Universidade Federal do Ceará Programa de Pós- Graduação em Química Síntese e Caracterização de Géis de Galactomanana de Fava Danta (*Dimorphandra gardneriana*) para Aplicação Biológica Programa de Pós-Graduação em Química Síntese e Caracterização de Géis (2009).
- ABRUZZO, A. Mucoadhesive chitosan/gelatin films for buccal delivery of propranolol hydrochloride. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 581-588, 2012.
- AFFATATO, S. 8 – Tribological interactions of polyethylene in total hip arthroplasty (THA). **Perspectives in Total Hip Arthroplasty** (Advances in Biomaterials and their Tribological interactions) 2014, Pages 117–126
- ALBUQUERQUE, P. B. S., BARROS, W., SANTOS, G. R. C., CORREIA, M. T. S., MOURÃO, P. A. S., TEIXEIRA, J. A., & CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. (2014). Characterization and rheological study of the galactomannan extracted from seeds of *Cassia grandis*. **Carbohydrate Polymers**, 104, 127–134.
- ALBUQUERQUE, P. B.S.; CERQUEIRA M. A; VICENTE A. A.; TEIXEIRA J. A., CARNEIRO-DA-CUNHA M.G; Immobilization of bioactive compounds in *Cassia grandis* galactomannan-based films: Influence on physicochemical properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, Volume 96, March 2017, Pages 727-735
- ALBUQUERQUE, P.B.S.; BARROS JR. W.; SANTOS, G.R.C.; CORREIA, M.T.S.; MOURAO, P.A.S.; TEIXEIRA, J.A., & CARNEIRO-DA-CUNHA, M.G. Characterization and rheological study of the galactomannan extracted from seeds of *Cassia grandis*, **Carbohydrate Polymers**.(2014)
- ALBUQUERQUE, P.B.S.; SILVA, C.S. , SOARES, P.A.G.; BARROS JR, W.; CORREIAM.T.S.; COELHO, L.C.B.B.; TEIXEIRA, J. A.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M.G. (2016). Investigating a galactomannan gel obtained from *Cassia grandis* seeds as immobilizing matrix for Cramoll lectin. **International Journal of Biological Macromolecules**, 86, 454- 461.
- ALEXANDER, D. E. Chapter 4 Biological Materials Blur Boundaries. **Nature's Machines**. 2017
- ALMEIDA, R. H.; SOUZA, M. J.R.R.; TREVISAN, M.T.S., VIEIRA I.G.P, FEITOSA, J.P.A., ARAÚJO, T.G., RICARDO, N.M.P.S.. Exploring the potential of *Dimorphandra gardneriana* galactomannans as drug delivery systems. **Industrial Crops and Products**, Volume 69, July 2015, Pages 284-289
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. **ASTM D882-91**. Philadelphia, p. 316, 1993.
- ANDERSON, J. M. Biocompatibility and Bioresponse to Biomaterials. Chapter 38, Pages 693-716. 2011.
- ANGELOVA, N.; HUNKELER, D.; **Trends Biotechnol**. 1999, 17, 409.
- ANTONIOU, J., LIU, F., MAJEED, H., & ZHONG, F; Characterization of tara gum edible films incorporated with bulk chitosan and chitosan nanoparticles: A comparative study. **Food Hydrocolloids**, 44, 309–319 (2015).

- APARECIDA, A. H.; GUASTALDI, A.; FOOK, M. V. L.; **Revista Polímeros** 2008, 18, 277.
- ARAÚJO, R. G.; PIRES, A. T. N. Nanocompósitos PVC/nanotubos de carbono: avaliação da resistividade elétrica e efeito do solvente utilizado na obtenção dos nanocompósitos nas propriedades térmicas. **Polímeros**, v. 23, n. 6, p. 839-843, 2013.
- ARAVAMUDHAN, A.; RAMOS, D. M.; NADA, A. A.; KUMBAR, S. G. Chapter – Natural Polymers: Polysaccharides and Their Derivatives for Biomedical Applications. **Natural and Synthetic Biomedical Polymers**. 2014, Pages 67–89
- ARVANITOYANNIS, I., & BILIADERIS, C. G. (1998). Physical properties of polyol-plasticized edible films made from sodium caseinate and soluble starch blends. **Food Chemistry**, 62(3), 333–342.
- ARVANITOYANNIS, I., NAKAYAMA, A., & AIBA, S. (1998). Edible films made from hydroxypropyl starch and gelatin and plasticized by polyols and water. **Carbohydrate Polymer**, 36(2–3), 105–119.
- AUDIC, J.L.; CHAUFER, B. Influence of plasticizers and crosslinking on the properties of biodegradable Membranass made from sodium caseinate. **European Polymer Journal**, v.41, p. 1934-1942, 2005.
- AVACHAT, A. M., KISHOR, K. N., WAGH, G. V. Development and evaluation of tamarind seed xyloglucan-based mucoadhesive buccal films of rizatriptan benzoate **Carbohydrate Polymers** 91, 2013, 537– 542.
- AWAJA, F.; PAVEL, D..Recycling of PET **Eur Polym J**, 41 (2005), pp. 1453-1477
- AZERO, E. G.; ANDRADE, C. T. Testing produces for galactomannan purification. **Polymer testing**, 21, 551-556, 2002.
- BAGHERSAD MOHAMMAD HADI, AZIZOLLAH HABIBI, AKBAR HEYDARI. Synthesis, characterization, thermal and computational studies of novel tetraezido compounds as energetic plasticizers. **Journal of Molecular Structure**, Volume 1130, 15 February 2017, Pages 447-454.
- BARRETO, P. L. M. Propriedades Físico-Químicas de Soluções Formadoras e de Filmes de Caseinato de Sódio Plastificado com Sorbitol., **Tese de Doutorado em Ciências** – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.
- BARROSO, G.M.; PEIXOTO, A.L.; COSTA, C.G.; ICHASO, C.L.; LIMA, H.C. Leguminosae: Sistemática de Angiosperma do Brasil. **Viçosa: Ed. Universidade Federal de Viçosa**, 1984. v.2 377p.
- BASU SNEHASISH, OKAKO OMADJELA, JOCHEN ZIMMER, JEFFREY M. CATCHMARK. Impact of Plant Matrix Polysaccharides on Cellulose Produced by Surface-Tethered Cellulose Synthases. **Carbohydrate Polymers**, In Press, Accepted Manuscript, Available online 9 January 2017.
- BATISTA, R.; SANTANA, C. C.; AZEVEDO-SANTOS, A. V.; SUAREZ-FONTES, A. M.; VANNIER-SANTOS, M. A. In vivo antimalarial extracts and constituents of *Prosopis juliflora* (Fabaceae). **Journal of Functional Foods**, Volume 44, May 2018, Pages 74-78
- BAWA, P., PILLAY, V., CHOONARA, Y.E., DU TOIT, L.C., 2009. Stimuli-responsive polymers and their applications in drug delivery. **Biomed. Mater.** 4 (2), 022001.

- BEALE, E. W., HOXWORTH, R. E., LIVINGSTON, E. H., & TRUSSLER, A. P. (2012). The role of biologic mesh in abdominal wall reconstruction: a systematic review of the current literature. **Am.J Surg**, 204, 510-517.
- BELLINI, M. Z.; PIRES, A. L. R.; VASCONCELOS, M. O.; MORAES, A. M.; J. Appl. **Polym. Sci.** 2012, 125, E421
- BENEKE, C. E., VILJEON, A. M., & HAMMAN, J. H. (2009). Polymeric plant derived excipients in drug delivery. **Molecule**, 14, 2602–2620.
- BENTHAM, G. Leguminosae I. Papilionaceae In: Von Martius, C.F.P. (Ed.). Flora brasiliensis. **Frid. Fleischer**, Leipzig. v.15, n.1p.1-216, 1865.
- BENTO JOÃO FRANCISCO, IRINEU MAZZARO, LIA MAGALHÃES DE ALMEIDA SILVA, RENATO DE AZEVEDO MOREIRA, MARÍLIA LOCATELLI CORREA FERREIRA, FANY REICHER, CARMEN LÚCIA DE OLIVEIRA PETKOWICZ. Diverse patterns of cell wall mannan/galactomannan occurrence in seeds of the Leguminosae. **Carbohydrate Polymers**, Volume 92, Issue 1, 30 January 2013, Pages 192-199
- BERNS, R.S. Principles of Color Technology, 3rd edition, **John Wiley & Sons**, (2000).
- BERTUZZI, M.A.; ARMADA, M.; GOTTIFREDI, J.C. Physicochemical characterization of starch based films. **Journal of Food Engineering**. Essex, v. 82, p. 17-25, 2007.
- BHAMARAPRAVATI, S.; PENDLAND, S.L.; MAHADY, G.B. Extracts of spice and food plants from Thai traditional medicine inhibit the growth of the human carcinogen *Helicobacter pylori*. In Vivo, 17(6), 541-544, 2003.
- BHARDWAJ, T. R., KANWAR, M., LAL, R., & GUPTA, A. (2000). Natural gums and modified natural gums as sustained release carriers. **Drug Delivery and Industrial Pharmacy**, 26, 1025–1038.
- BHAT S, KUMAR A. Biomaterials and bioengineering tomorrow's healthcare. **Biomatter** 2013;3.
- BHATNAGAR, S., VENUGANTI, V.V.K., 2015. Cancer targeting: responsive polymers for stimulus sensitive drug delivery. **J. Nanosci. Nanotechnol.** 15 (3), 1925-1945.
- BIANCA ROSSI, PAOLA CAMPIA, LUCA MERLINI, MILENA BRASCA, NADIA PASTORI, STEFANO FARRIS, LUCIO MELONE, CARLO PUNTA, YVES. GALANTE. An aerogel obtained from chemo -enzymatically oxidized fenugreek galactomannans as a versatile delivery system. **Carbohydrate Polymers**, Volume 144, 25 June 2016, Pages 353-361
- BIERMANN, URSULA, JUNGBAUER, ANTON AND METZGER, JURGEN O., Esters of maleinized fatty compounds as plasticizers. Eur. **J. Lipid Sci. Technol**, 2012, vol. 114, pp. 49-54.
- BIQUET, B.; LABUZA, T. P. Evaluation of the moisture permeability characteristics of chocolate films as an edible moisture barrier. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 53, n. 4, p. 989-998, 1988.
- BOKKHIM, H., BANSAL, N., GRØNDAHL, L., BHANDARI, B., (2013). Physico-

711 chemical properties of different forms of bovine lactoferrin. **Food Chemistry** 712 141(3), 3007-3013.

BOKKHIM, H., BANSAL, N., GRØNDAHL, L., BHANDARI, B., (2013). Physico-711 chemical properties of different forms of bovine lactoferrin. **Food Chemistry** 712 141(3), 3007-3013.

BONA, J. C. Preparação e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de blendas de amido com polietileno. 2007, 115f. **Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)** - Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

BORTOLUZZI, R.L.C. Leguminosas Cesalpinoídeas: Tribo Cercidae e Detarieae. In: Flora Ilustrada Catarinense. **Herbário “Barbosa Rodrigues**. 2006. Itajaí, Santa Catarina.96p.

BOURBON, A. I. Physico-chemical characterization of chitosan-based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. **Journal of Food Engineering**, v. 106, p. 111–118, 2011.

BRESOLIN, T.M.B.; MILAS, M.; RINAUDO, M.; REICHER, F.; GANTER, J.L.M.S. Role of galactomannan composition on the binary gel formation with xanthan. **International Journal of Biological Macromolecules**, 26, 225–231, 1999.

BUCKERIDGE, M.S.; DIETRICH, S.M.C.; LIMA, D.U. Galactomannans as the reserve carbohydrate in legume seeds. In: GUPTA, A.K.; NAUR, N. Carbohydrate Reserves in Plants - Synthesis and Regulation, São Paulo: **Elsevier Science B. V.**, 283-316, 2000.

BUNEKAR N., TSUNG-YEN TSAI, YANG-ZHI YU. Synthesis and characterization of Poly(ethylene terephthalate)/bio inorganic modified LiAl LDH nanocomposites. Materials Today: **Proceedings** 3 (2016) 1415–1422.

CÁCERES, A.; LÓPEZ, B.; JUÁREZ, X.; AGUILA J. del.; GARCÍA, S. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. Evaluation of antifungal activity of seven American plants. **Journal of Ethnopharmacology**, 40, 207-213, 1993.

CALVO, C.; DURÁN, L. Propiedades Físicas II – Ópticas y color. In: 122 CITED – Instituto Politécnico Nacional. Temas en Tecnología de alimentos, v. 1. Mexico, Ed: **José Miguel Aguilera**, v. 1, (1997).

CHETHANA, K. R.; SENOL, F.S.; ORHAN, I. E.; ANILAKUMAR, K. R.; KERI, R. S. Cassia tora Linn.: A boon to Alzheimer's disease for its anti-amyloidogenic and cholinergic activities. **Phytomedicine**, Volume 33, 15 September 2017, Pages 43-52

CAMPBELL PAOLA, ERIKA PONZINI, BIANCA ROSSI, STEFANO FARRIS, TIZIANA SILVETTI, LUCA MERLINI, MILENA BRASCA, RITA GRANDORI, YVES M. Galante. Aerogels on enzymatically oxidized galactomannans from leguminous plants: Versatile delivery systems of antimicrobial peptides and enzymes. **Carbohydrate Polymers**, Volume 158, 20 February 2017, Pages 102-111.

CARDOSO, D.B.O.S.; QUEIROZ, L.P. Diversidade de Leguminosae nas caatingas de Tucano (Bahia): implicações para a fitogeografia do semi-árido do Nordeste do Brasil. **Rodriguesia**, Rio de Janeiro, 58, n.2, p.379-391, (2007).

CARDOSO, G. B., HADO-SILVA, A. B., SABINO, M., SANTOS, A. R., JR., & ZAVAGLIA, C. A. Novel hybrid membrane of chitosan/poly (epsilon-caprolactone) for tissue engineering. **Biomatter** (2014).

CARNEIRO-DA-CUNHA M.G., MIGUEL A. CERQUEIRA, BARTOLOMEU W.S. SOUZA, MARTHYNA P. SOUZA, JOSÉ A. TEIXEIRA, ANTÔNIO A. VICENTE. Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. **Journal of Food Engineering** 95 (2009) 379–385

CARVALHO, P.E.R. Espécies arbóreas brasileiras. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica, Colombo, PR: Embrapa Florestas**, 2003. 1. 1039p.

CASARIEGO, A.; SOUZA, B. W. S; VICENTE, A. A.; TEIXEIRA, J. A.; CRUZ, L.; DIAZ, R. Chitosan coating surface properties as affected by plasticizer, surfactant and polymer concentrations in relation to the surface properties of tomato and carrot. **Food Hydrocolloids**, 2008.

CERQUEIRA MIGUEL A., BARTOLOMEU W.S. SOUZA, JOSÉ A. TEIXEIRA, ANTÔNIO A. VICENTE. Effect of glycerol and corn oil on physicochemical properties of polysaccharide films e A comparative study. **Food Hydrocolloids**, Volume 27, Issue 1, May 2012, Pages 175-184f

CERQUEIRA, M. A.. Seed extracts of *Gleditsia triacanthos*: Functional properties evaluation and incorporation into galactomannan films. **Food Research International**, v. 43, p. 2031–2038, 2010.

CERQUEIRA, M.A.; LIMA, A.M.; SOUZA, B.W.S.; TEIXEIRA, J.A.; MOREIRA, R.A.; VICENTE, A.A. Functional polysaccharides as edible coatings for cheese. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 57(4), 1456-1462, 2009a.

CERQUEIRA, M.A.; LIMA, A.M.; TEIXEIRA, J.A.; MOREIRA, R.A.; VICENTE, A.A. Suitability of novel galactomannans as edible coatings for tropical fruits. **Journal of Food Engineering**, 94, 372-378, 2009b.

CERQUEIRA, M.A.; PINHEIRO, A.C.; SOUZA, B.W.S.; LIMA, A.M.P.; RIBEIRO, C.; MIRANDA, C.; TEIXEIRA, J.A.; MOREIRA, R.A.; COIMBRA, M.A.; GONÇALVES, M.P.; VICENTE, A.A. Extraction, purification and characterization of galactomannans from non-traditional sources. **Carbohydrate Polymers**, 75, 408-414, 2009c.

CHARPENTIER, P.; FRAGNAUD, P.; SCHLEICH, D. M.; GEHAIN, E.; Preparation of thin film SOFCs working at reduced temperature; **Solid States Ionics**; Vol 135; 2000; pp 373-380.

CHAUHAN, A.; AGARWAL, M. Evaluating the antifertility potential of an aqueous extract from *Cassia fistula* seeds in male rats. **Fertility and Sterility**, 93(5), 1706-1710, 2010.

CHEN R, LI Y, DONG H, LIU Z, LI S, YANG S,. Optimization of ultrasonic extraction process of polysaccharides from *Ornithogalum Caudatum* Ait and evaluation of its biological activities. **Ultrason Sonochem** 2012;19(6):1160–8.

CHEN, C.H., KUO, W.S., LAI, L.S., 2009. Effect of surfactants on water barrier and physical properties of tapioca starch/decolorized hsian-tsao leaf gum films. **Food Hydrocolloids** 23, 714–721.

CHEN, F.; HUANG, G. Preparation and immunological activity of polysaccharides and their derivatives. **International Journal of Biological Macromolecules**. Volume 112, June 2018, Pages 211-216

CHEN, H. Functional properties and applications of edible films made of milk proteins. **J. of Dairy Science**, Champaign, v. 78, n. 11, p. 2563-2583, 1995.

CHEUNG, H. Y.; LAU, K. T.; LU, T. P.; HUI, D.; **Composites**, Part B 2007, 38, 291.

CHIERICI R, VIGI V. Lactoferrin in infant formulae. **Acta Paediatr** 1994;s402:83-8.

CHOPIN, T.; WHALEN, E. A new and rapid method for carrageenan identification by FT IR diffuse reflectance spectroscopy directly on dried, ground algal material.

Carbohydrate Research, 246, 51-59, 1993.

CLASEN C, WILHELMS T, KULICKE W-M. Formation and characterization of chitosan membranes. **Biomacromolecules** 2006;7:3210–22. doi:10.1021/bm060486x.

COELHO E, ROCHA MA, SARAIVA JA, COIMBRA MA. Microwave superheated water and dilute alkali extraction of brewers' spent grain arabinoxylans and arabinoxyloligosaccharides. **Carbohydr Polym** 2014;99:415–22.

COOK, S.L.; METHVEN, L.; PARKER, J.K.; KHUTORYANSKIY, V.V. Polysaccharide food matrices for controlling the release, retention and perception of flavours. **Food Hydrocolloids**. Volume 79, June 2018, Pages 253-261

CORREA, J.E.; BERNAL, H.Y. Especies vegetales promisorias de los países del convenio Andrés Bello. **Bogotá: Guadalupe**, 1990. 485p.

COVIELLO TOMMASINA, FRANCO ALHAIQUE, ANTONELLO DORIGO, PIETRO MATRICARDI, MARIO GRASSI. Two galactomannans and scleroglucan as matrices for drug delivery: Preparation and release studies. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Volume 66, Issue 2, May 2007, Pages 200-209.

CRESCENZI, V., DENTINI, M., RISICA, D., SPADONI, S., SKJAK-BRAEK, G., CAPITANI, D., MANNINA, L., & VIEL, S. (2004). C(6)-Oxidation Followed by C(5)-Epimerization of Guar Gum Studied by High Field NMR. *Biomacromol.*, 5, 537-546.

CULBERTSON ALAN T., ADRIENNE L. SMITH, MATTHEW D. COOK, OLGA A. ZABOTINA. Truncations of xyloglucan xylosyltransferase 2 provide insights into the roles of the N- and C-terminus. **Phytochemistry**, Volume 128, August 2016, Pages 12-19

CUNHA, LUÍS C.S., SÉRGIO A.L. DE MORAIS, FRANCISCO J.T. DE AQUINO, ROBERTO CHANG, ALBERTO DE OLIVEIRA, MÁRIO M. MARTINS, CARLOS H.G. MARTINS, LAÍS C.F. SOUSA, TRICYA T. BARROS, CLÁUDIO V. DA SILVA, EVANDRO A. DO NASCIMENTO. Bioassay-guided fractionation and antimicrobial and cytotoxic activities of *Cassia bakeriana* extracts. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Volume 27, Issue 1, January–February 2017, Pages 91-98

- CUNHA, P. L. R.; De paula, R. C. M.; Feitosa, J. P. A.; **Química Nova**, v. 32,n. 649. (2009).
- CUNHA, P. L. R.; VIEIRA, I. G. P.; ARRIAGA, A. M. C.; PAULA, R.C. M.; FEITOSA, J.P.A.; **Food Hydrocolloids**, v.23,n.880.(2009).
- CUNHA, P.L.R.; DE PAULA, R.C.M.; FEITOSA, J.P.A.; Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Quim. Nova**, 32(3), 649-660, 2009.
- CUNHA, P.L.R.; DE PAULA, R.C.M.; FEITOSA, J.P.A.; Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Quim. Nova**, 32(3), 649-660, 2009.
- CUQ, B. et al. Functional properties of myofibrillar protein-based biopackaging as effected by film thickness. **J. of Food Sci.**, Chicago, v. 61, n. 3, p. 580-584, 1996.
- DAAS, P. J. H., GROLLE, K., VAN VLIET, T., SCHOLS, H. A., & DE JONGH, H. H. J.(2002). Toward the Recognition of Structure-Function Relationships in Galactomannans. **J. Agric. Food Chem.**, 50, 4282-4289.
- DAAS, P. J. H., SCHOLS, H. A., & DE JONGH, H. H. J. (2000). On the galactosyl distribution of commercial galactomannans. **Carboydr. Res.**, 329, 609-619.
- DAGUANO, J. K. M. F.; SANTOS, C.; ROGERO, S. O. Avaliação da Citotoxicidade de Biocerâmicas Desenvolvidas para uso em Sistemas de Implantes. **Matéria**, v . 12, n. 1,p.134-139, 2007.
- DAKIA, P.A., WATHELET, B. & PAQUOT, M. (2007). Isolation and chemical evaluation of carob (*Ceratonia siliqua* L.) seed germ. **Food chemistry**, 102, 1368-1374.
- DAKIA, P.A.; BLECKER, C.; ROBERTA, C.; WATHELETA, B.; PAQUOTA, M. Composition and physicochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid or water dehulling pre-treatment. **Food Hydrocolloids**, 22, 807–818, 2008.
- DANIEL, J. R., WHISTLER, R. L., VORAGEN, A. G. J., & PILNIK, W. (1994). Starch and other Polysaccharides. In B. Elvers, S. Hawkins & W. Russey, *Ulmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Vol. A25 (pp. 1-62), Weinheim, Germany: VCH.
- DEA, I.C.M.; MORRISON, A. Chemistry and interactions of seed galactomannans. **Advances in Carbohydrate Chemistry**, 31, 241-312. 1975.
- DI, J.; SUN, Q.; SONG, X. Laccase-TEMPO-mediated air oxidation of galactomannan for use as paper strengthening agent. **Carbohydrate Polymers**, Volume 184, 15 March 2018, Pages 94-99
- DIXIT, R. P.; PUTHLI, S. P. Strip thechnology: Overview and future potential. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 139, p. 94-107, 2009.
- DJAILTON RAMOS DE FIGUEIREDO. Avaliação da Citotoxicidade do Extrato Hídrico da Erva Doce (*Pimpinella anisum* L.) ATRAVÉS DO TESTE EM *Allium cepa* L. **UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA**, 2014.
- DONHOWE, I. G.; FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: characteristics, formation, definitions and testing methods. In: Krochta, J. M.; Baldwin, E. A.; Nisperos- Carriedo, M.O.

(Ed.). Edible coatings and films to improve food quality. Lancaster, PA(USA): **Technomic Publishing Co.**, 1994, p.1-25.

DOYLE, J.P.; GIANNOULI, P.; MARTIN, E.J.; BROOKS, M., MORRIS, E.R. Effect of sugars, galactose content and chainlength on freeze-thaw gelation of galactomannans. **Carbohydrate Polymers**, 64, 391-401, 2006.

DURAIPANDIYAN, V.; ALBERT BASKAR, A.; IGNACIMUTHU, MUTHUKUMAR, C.; AL-HARBI, N.A. Anticancer activity of Rhein isolated from Cassia fistula L. flower. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, 2(1), 2012.

EMBLETON, N.D., BERRINGTON, J.E., MCGUIRE, W., STEWART, CUMMINGS, S.P., (2013). **Lactoferrin: Antimicrobial activity and therapeutic potential**. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* **18(3)**, 143-149.

ESPINOSA-RUIZ A., P. ZORRILLA-RIBOT Y J.A. SALIDO-VALLE. Recambio de polietileno mediante la cementación de un nuevo componente sobre el metal-back osteointegrado. **Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología**. 2015.

EXPÓSITO, M. E.; MONTES, R. I.; RODRÍGUEZ, L. M.; RUIZ, C.; TORRECILLAS, J. R.; BERTOS, E. L. Multifunctional capacity and therapeutic potential of lactoferrin. **Life Sciences** 195 (2018) 61–64

FARIAS, MÔNICA GUIMARÃES; FARAYDE MATTIA FAKHOURI; CARLOS WANDERLEI PILER DE CARVALHO; JOSÉ LUIS RAMÍREZ ASCHERI. Caracterização físico-química de filmes comestíveis de amido adicionado de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). **Quím. Nova**. vol.35 no.3 São Paulo 2012.

FARMACOPÉIA PORTUGUESA. 6 edição oficial. São Paulo. 1997. 1818p.

FAUZI FAZLIN MOHD, CINI MATHEW JOHN, ARUNKUMAR KARUNANIDHI, HAMSE Y. MUSSA, RAJESH RAMASAMY, AISHAH ADAM, ANDREAS BENDER. Understanding the mode-of-action of cassia auriculata via in silico and in vivo studies towards validating it as a long term therapy for type II diabetes. **Journal of Ethnopharmacology**, In Press, Corrected Proof, Available online 22 July 2016

FENG LEI, JUNYI YIN, SHAOPING NIE, YIQUN WAN, MINGYONG XIE. Fractionation, Physicochemical property and immunological activity of polysaccharides from Cassia obtusifolia. **International Journal of Biological Macromolecules**, Volume 91, October 2016, Pages 946-953

FERNANDES, P.B.; GONCALVES, M.P.; DOUBLIER, J.L. A rheological characterization of Kappa-carrageenan/galactomannan mixed gels: A comparison of locust bean gum samples. **Carbohydrate Polymers**, 16, 253–274, 1991.

FIGUEIREDO, A. A. Extração, identificação e características do polissacarídeo dasemente de algaroba (*Prosopis juliflora* DC). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 3(1), 82– 89, 1983.

FIGUEIRÓ, S.D., GÓES, J.C., MOREIRA, R.A. & SOMBRA, A.S.B. (2004). On the physicochemical and dielectric properties of glutaraldehyde crosslinked galactomannan–collagen films. **Carbohydrate Polymers**, 56, 313–320.

FIGUEREDO, D. R. de. Avaliação da citotoxicidade do extrato hídrico da erva doce (*Pimpinella*

anissum L.) através do teste em Allium cepa L. 2014.

FILHO, M.S.M.S.; NASCIMENTO, R.M.; CAVALCANTE, F.L.; ROSA, M.F.; MORAIS J.P.S.; FEITOSA, J.P.A.; MELO, E.F.; CRUZ, M.R.; ALEXANDRE, L.C.; Extração e Caracterização de Galactomanana de Vagens de Algaroba (*Prosopis juliflora*). **ISSN 1679-6535**, Dezembro 2013, Fortaleza,CE.

FLECK, C. A. & SIMMAN, R. (2010). Modern collagen wound dressings: function and purpose. **J Am.Col.Certif.Wound.Spec.**, 2, 50-54. Fragmentation of poly(lactic acid) nanosheets and patchwork treatment for burn wounds. **Adv.Mater.**, 25, 545-551.

FRANCESKO, A. & TZANOV, T. (2011). Chitin, chitosan and derivatives for wound healing and tissue engineering. **Adv.Biochem.Eng Biotechnol.**, 125, 1-27.

FREI, B.; BALTISBERGER, M.; STICHER, O.; HEINRICH, M. Medical ethnobotany of the Zapotecs of the Isthmus-Sierra (Oaxaca, Mexico): Documentation and assessment of indigenous uses. **Journal of Ethnopharmacology**, 62, 149-165, 1998.

FUENTES-ZARAGOZA E, RIQUELME-NAVARRETE MJ, SÁNCHEZ-ZAPATA E, PÉREZ-ÁLVAREZ JA. Resistant starch as functional ingredient: a review. **Food Res Int** 2010;43(4):931–42.

FURTADO, R. F. . A novel xyloglucan film-based biosensor for toxicity assessment of ricin in castor seed meal. **Carbohydrate Polymers**, v.89, p.586– 591, 2012.

GAHARWAR, A. K., AVERY, R. K., ASSMANN, A., PAUL, A., MCKINLEY, G. H., KHADEMHOSEINI, A. (2014). Shear thinning nanocomposite hydrogels for the treatment of hemorrhage. **ACS Nano**, 8, 9833-9842.

GALDEANO, M. C.; WILHELM, A. E.; GROSSMANN, M. V. E.; MALI, S. Efeito do processamento e das condições ambientais nas propriedades de materiais biodegradáveis de amido e aveia. **Polímeros**, v. 24, n. 1, p. 80-87, 2014.

GALDINO A. G. S., E. M. OLIVEIRA, F. B. FILIPPIN-MONTEIRO, C. A. C.ZAVAGLIA. Análise de ensaios in vitro do compósito de 50% HA-50% TiO₂ fabricados pelo método da esponja polimérica. **Cerâmica** 60 (2014) 586-593

GANTER, J.L.M.S. Galactomanana de sementes de Mimosa scabrella (Bracatinga). **Tese (Mestrado em Bioquímica) - Departamento de Bioquímica**, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 1988.

GANTER, J.L.M.S.; HEYRAUD, A.; PETKOWICZ, C. L. O.; RINAUDO, M.; REICHER, F. Galactomannans from brazilian seeds: characterization of the oligosaccharides produced by mild acid hydrolysis. **International Journal of Biological Macromolecules**, 17, 13-19, 1995.

GANTER, J.L.M.S.; MILAS, M.; CORRÊA, J.B.C.; REICHER, F.; RINAUDO, M. Study of solution properties of galactomannan from the seeds of Mimosa scabrella. **Carbohydrate Polymers**, 17, 171-175, 1992.

GANTER, J.L.M.S.; REICHER, F. Water-soluble galactomannans from seeds of Mimosaceae spp. **Bioresearch Technology**, 68(1), 55-62, 1999.

- GANTER, J.L.M.S.; ZAWADZKI-BAGGIO, S.F.; LEITNER, S.C.S.; SIERAKOWSKI, M.R.; REICHER, F. Structural studies on galactomannans from brazilian seeds. **Journal of Carbohydrate Chemistry**, 12(6), 753-767, 1993.
- GAO, Q.H.; FU, X.; ZHANG, R.; WANG, Z.; GUO, M. Neuroprotective effects of plant polysaccharides: A review of the mechanisms. **International Journal of Biological Macromolecules**. Volume 106, January 2018, Pages 749-754
- GARCÍA MA, FERRERO C, BÉRTOLA N, MARTINO M, ZARITZKY N. Edible coatings from cellulose derivatives to reduce oil uptake in fried products. **Innovative Food Sci Emerg Technol** 2002;3(4):391–7.
- GARCÍA-MONTOYA, I. A., CENDÓN, T. S., ARÉVALO-GALLEGOS, S., & RASCÓN-CRUZ, Q. (2012). Lactoferrin a multiple bioactive protein: An overview. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1820(3), 226–236.
- GARNI MARTINA, SAGANA THAMBOO, CORA-ANN SCHOENENBERGER, CORNELIA G. PALIVAN. Biopores/membrane proteins in synthetic polymer membranes. **Biomembranes**. 2016.
- GENTRY, A.H. Changes in plant community diversity and floristic composition on environmental and geographical gradients. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Saint Louis, v.75, p.1-34, 1988.
- GIBBONS, R. A. **Polydispersity**. *Nature*. London, v.2000, p.665, 1993.
- GIDLEY, M.J.; REID, J.S.G. Galactomannans and other cell wall storage polysaccharides in seeds. **Food polysaccharides and their applications**. 2 ed. Boca Raton: CRC Press, 2006.
- GILLET SÉBASTIEN, MARIO AGUEDO, RAUL PETRUT, GILLES OLIVE, PAUL ANASTAS, CHRISTOPHE BLECKER, AURORE RICHEL. Structure impact of two galactomannan fractions on their viscosity properties in dilute solution, unperturbed state and gel state. **International Journal of Biological Macromolecules**, Volume 96, March 2017, Pages 550-559
- GIULIETTI, A.M.; HARLEY, R.M.; QUEIROZ, L.P.; WANDERLEY, M.G.L. ; VAN DENBERG, C. Biodiversity and Conservation of Plants in Brazil. **Conservation Biology**, Philadelphia, v.19, n.3, p.632-639, 2005.
- GOMES, A. F.; Filmes finos de cromita de lantânio intrínsecos e dopados com Ca e Mn; **Dissertação de mestrado**; UENF; Campos dos Goytacazes; RJ; Agosto-2002
- GOMES, M.; AZEVEDO, H.; MALAFAYA, P.; SILVA, S.; OLIVEIRA, J.; SILVA, G.; MANO, R. S. J.; REIS, R. Em Natural Polymers in Tissue Engineering Applications; Ebnesajjad, S., eds.; **Elsevier: Kidlington**, 2013, cap. 16.
- GÓMEZ-GUILLÉN, M.C.; GIMENEZ, B.; LÓPEZ- CABALLERO, M. E.; & MONTERO, M. P. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable filmes. **Tends in Food Science & Technology**. v.20, 3-16, 2009.
- GÓMEZ-ORDÓÑEZ, EV.; RUPÉREZ, P. FTIR-ATR spectroscopy as a tool for polysaccharide identification in edible brown and red seaweeds. **Food Hydrocolloids**, 25, 1514-1520, 2011.

GONTARD, N.; GUILBERT, S. Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. **Bulletin SBCTA**, v.30, n.1, p.3-15, 1996.

GONZÁLEZ-CHÁVEZ, S. A., ARÉVALO-GALLEGOS, S., & RASCÓN-CRUZ, Q. (2009). Lactoferrin: structure, function and applications.

International Journal of Antimicrobial Agents, 33(4), 301.e1–8. GOTO, K.; TAMURA, J.; SHINZATO, S.; FUJIBAYASHI, S.; HASHIMOTO, M.; KAWASHITA, M.; KOKUBO, T.; NAKAMURA, T.; **Biomaterials** 2005, 26, 6496.

GRANVILLE-CHAPMAN, J., JACOBS, N., & MIDWINTER, M. J. (2011). Pre-hospital

GRISEL MICHEL, YOUSSEF AGUNI, FRÉDÉRIC RENOU, CATHERINE

MALHIAC. Impact of fine structure of galactomannans on their interactions with xanthan: Two co-existing mechanisms to explain the synergy. **Food Hydrocolloids**, Volume 51, October 2015, Pages 449-458

HABERT, A. C., BORGES, C. P., NOBREGA, R., 2006, **Processos de Separação por Membranas**, 1 ed. Rio de Janeiro, Editora E-papers, 2006.

HABIB, H.M., IBRAHIM, W.H., SCHNEIDER-STOCK, R., HASSAN, H.M., (2013a). Camel milk lactoferrin reduces the proliferation of colorectal cancer cells and exerts antioxidant and DNA damage inhibitory activities. **Food Chem.** 141 (1), 148–152.

Haemostatic dressings: a systematic review. **Injury**, 42, 447-459.

HAMMAN, J. H., & TARIRAI, C. (2006). Functional excipients. **Chemistry Today**, 24, 57–62.

HEATH, D. E.; COOPER, S. L.; Em Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine. Ratner, B. D.; Hoffman, A. S.; Schoen, F. J.; Lemons, J. E., eds.; Academic Press: Oxford, 2013, cap. I.2.2. **Polymers: Basic Principles**

HEINRICH, M.; ANKLI, A.; FREI, B.; WEIMANN, C.; STICHER, O. Medicinal plants in Mexico: healers' consensus and cultural importance. **Social Science & Medicine**, 47(11), 1859-1871, 1998.

HEYWOOD, V. H.; BRUMMITT, R. K.; CULHAM, A. ; SEBERG, O. Flowering Plant Families of the World. London, UK. :**Oxford University Press**, 2007. 424p.

HILIJIMA, K.; TSUJI, Y.; KURIKI, I.; KAKIMOTO, A.; NIKAIDO, Y.; INOMIAYA, R.; LYODA, T.; FUKAI, F.; HASHIZUME, M. Control of cell adhesion and proliferation utilizing polysaccharide composite film scaffolds. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. Volume 160, 1 December 2017, Pages 228-237

HOLZAPFEL, B. M.; REICHERT, J. C.; SCHANTZ, J.-T.; GBURECK, U.; RACKWITZ, L.; NÖTH, U.; JAKOB, F.; RUDERT, M.; GROLL, J.; HUTMACHER, D. W.; Adv. **Drug Deliv. Rev.** 2013, 65, 581.

HOMLAR, K. C.; SELLERS, M. H.; HALPERN, J. L.; SEELEY, E. H.; HOLT, G. E.; Serum Levels of Methyl Methacrylate Following Inhalational Exposure to Polymethylmethacrylate Bone Cement. **Arthroplasty** 2013, 28, 406.

HU,W; GUO, Y. CHEN, R. XIE, H. JIANG, P. HE. **Eur. Polym. J.**, 85 (2016), p. 313

HUO, M., YUAN, J., TAO, L., WEI, Y., 2014. Redox-responsive polymers for drug delivery: from molecular design to applications. **Polym. Chem.** 5 (5), 1519#1528.

HUSSAIN MAJID, SERAFIM BAKALIS, OURANIA GOUSETI, TAHIR ZAHOOOR, FAQIR MUHAMMAD ANJUM, MUHAMMAD SHAHID. Dynamic and shear stress rheological properties of guar galactomannans and its hydrolyzed derivatives. **International Journal of Biological Macromolecules**, Volume 72, January 2015, Pages 687-691

LINA A.V., D.V. KUREK, A.A. ZUBAREVA, M.M. IL'IN JR., N.M. MESTECHKINA, V.P. VARLAMOV. Preparation and characterization of biopolymer nanoparticles based on lactoferrin-polysaccharide complexes. **Reactive and Functional Polymers**, Volume 102, May 2016, Pages 33-38.

IPC-TM-650 TEST METHODS MANUAL. The Institute for Interconnecting and Packaging Electronic Circuits 2215 **Sanders Road** • Northbrook, IL 60062-6135

J.A.P. DUTRA, S.G. CARVALHO, A.C.D. ZAMPIROLI, R.D. DALTOÉ, R.M. TEIXEIRA, F.P. CARETA, M.A.P. COTRIM, R.L. ORÉFICE, J.C.O. VILLANOVA. Papain Wound dressings obtained from poly (vinyl alcohol)/calcium alginate blends as new pharmaceutical dosage form: Preparation and preliminary evaluation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Volume 113, April 2017, Pages 11-23

JAE-EON YANG, SU-HYUN CHUN, HA HYUNG KIM, HEE-DON CHOI, KWANG-WON LEE. Characterization of Maillard-type lysozyme-galactomannan conjugate having immune-enhancing effects. **Food Chemistry**, Volume 227, 15 July 2017, Pages 149-157

JENSSEN, H., & HANCOCK, R. (2009). Antimicrobial properties of lactoferrin. **Biochimie**, 91(1), 19–29.

JOLY, A.B. Botânica: Introdução à Taxonomia Vegetal. São Paulo: **Companhia Editorial nacional**, 1998, 777p.

JONES, D.S.; MEDLICOTT, N.J. Casting solvent controlled release of chlorhexidine from ethylcellulose films prepared by solvent evaporation. **Int. J. of Pharm.** v.114, p. 257- 261, 1995.

JOSHI, H.; KAPOOR, V.P. Cassia grandis Linn. f. seed galactomannan: structural and crystallographical studies. **Carbohydrate Research**, 338, 1907-1912, 2003.

JUANSANG JURALUCK, SANTHANEEPUNCHA-ARNON, DUDSADEE UTTAPAP,CHUREERAT PUTTANLEK, VILAI RUNGSARDTHONG, YANIKA WATCHARATEWINKUL. Concentration of plasticizers applied during heat-moisture treatment affects properties of the modified canna starch. **Food Chemistry**, Volume 221, 15 April 2017, Pages 1587-1594.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P F. ; DONOGHUE, M.J. Sistemática Vegetal: Um enfoque filogenético. 3.ed. **Porto Alegre: Editora ARTMED**. 2009. 612p.

KAKINOKI, S., SEO, J.-H., INOUE, Y., ISHIHARA, K., YUI, N., YAMAOKA, T. A

large mobility of hydrophilic molecules at the out most layer controls the protein adsorption and adhering behavior with the actin fiber orientation of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). **Journal of Biomaterials Science**, Polymer Edition, 11, 1320-1332, 2013.

KAMPER, S L.; FENNEMA, O. Water vapor permeability of an edible, fatty acid, bilayer film. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 49, n. 6, p. 1482-1485, 1984.

KARABELAS, A. J.; KARANASIOU, A.; SIOUTOPOULOS, D. C. Experimental study on the effect of polysaccharides on incipient membrane scaling during desalination. **Desalination**. Volume 416, 15 August 2017, Pages 106-121

KATO, Y., ONISHI, H., & MACHIDA, Y. (2003). Application of chitin and chitosan derivatives in the pharmaceutical field. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, 4(5), 303–309.

KAUR SANDEEP, MANISH KUMAR, PARAMJEET KAUR, VARINDER KAUR, SATWINDERJEET KAUR. Modulatory effects of Cassia fistula fruits against free radicals and genotoxicity of mutagens. **Food and Chemical Toxicology**, Volume 98, Part B, December 2016, Pages 220-231

KFURI, C. R. Revestimento gastro-resistente em comprimidos de diclofenaco sódico pelo processo de leito de jorro fluidizado. 2003. **Mestrado em Ciencias Farmaceuticas**. Faculdade de Ciencias Farmaceuticas, Universidade de Sao Paulo, Ribeirao Preto, São Paulo.

KFURI, C. R. Revestimento gastro-resistente em comprimidos de diclofenaco sódico pelo processo de leito de jorro fluidizado. 2003. **Mestrado em Ciencias Farmaceuticas**. Faculdade de Ciencias Farmaceuticas, Universidade de Sao Paulo, Ribeirao Preto, São Paulo.

KIM, S. B.; KIM, Y. J.; YOON, T. L.; PARK, S. A.; CHO, I. H.; KIM, E. J.; KIM, I. A.; SHIN, J. W.; **Biomaterials** 2004, 25, 5715.

KIPLAGAT DAVID M., HOSEAH M. AKALA, PAMELA O. LIYALA, JULIA M. WANGUI, ROSE A.O. ODHIAMBO, JOSIAH O. OMOLO. Antiplasmodial activity of flavan derivatives from rootbark of Cassia abbreviata Oliv. **Journal of Saudi Chemical Society**, Volume 20, Supplement 1, September 2016, Pages S140-S144

KOSKINEN, M., SUORTTI, T., AUTIO, K., MYLLÄRINEN, P., & POUTANEN, K. (1996). Effect of pre-treatment on the film forming properties of potato and barley starch dispersions. **Industrial Crops and Products**, 5, 23–34.

KRAUSKOPF, LEONARD G.. How About Alternatives to Phthalate Plasticizers. **Journal of Vinyl Additive Technology**, 2003, Vol.9, No.4.

KUMAR RAJEEV, MOHAMMAD OVES, TALAL ALMEELBI, NAIEF H. AL-MAKISHAH, M.A. BARAKAT. Hybrid chitosan/polyaniline-polypyrrole biomaterial for enhanced adsorption and antimicrobial activity. **Journal of Colloid and Interface Science**, Volume 490, 15 March 2017, Pages 488-496

KUMATA, K.; KAPLAN, D.L. 20 – Biologically derived scaffolds. **Advanced Wound Repair Therapies A volume in Woodhead Publishing Series in Biomaterials**. 2011, Pages 524–551

LANG DING, XINDI SHAN, XIAOLIANG ZHAO, HUALIAN ZHA, XIAOYUCHEN, JIANJUN WANG, CHAO CAI, XIAOJIANG WANG, GUOYUN LI, JIEJIE HAO,

GUANGLI YU. Spongy bilayer dressing comped of chitosan-Ag nanoparticles and chitosan-Bletilla striata polysaccharide for wound healing applications. **Carbohydrate Polymers**, Volume 157, 10 February 2017, Pages 1538-1547

LAWSON, H. C., SAMPATH, P., BOHAN, E., PARK, M. C., HUSSAIN, N., OLIVI, A., WEINGART, J., KLEINBERG, L., & BREN, H. (2007). Inter- stitial chemotherapy for malignant gliomas: The Johns Hop-kins experience. **J. Neurooncol.**, 83(1), 61–70.

LEE, K. Y.; SHIM, J.; LEE, H. G. Mechanical properties of gellan and gelatincomposite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, p. 251-254, 2004.

LEWIS, G.P. Legumes of Bahia. Royal Botanic Gardens Kew. **Great Britain**,1987.369p.

LEWIS, G.P. Legumes of Bahia. **Royal Botanic Gardens Kew**. Great Britain,1987.369p.

LEWIS, G.P.; FOREST, F. Tribe Cercideae In: LEWIS, G.; SCHIRE, B.;MACKINDER, B. ; LOCK, M. (Ed.). S40 Vaz, A.M.S.F. Rodriguésia 61 (Sup.): S33- S40. 2005. Legumes of the world. **Royal Botanical Gardens**, Kew. 2010. p. 57-67.

LEWIS, G.P.; SCHIRE, B.D.; MACKINDER, B.; LOCK, M. Legumes of the World. **The Royal Botanic Gardens**. Kew, p. 577, 2005.

LI DEFU, YOUXIN YE, DERONG LI, XINYING LI, CHANGDAO MU. Biological properties os dialdehyde carboxymethyl cellulose crosslinked gelatin-PEG compositehydrogel fibers for wound dressings. **Carbohydrate Polymers**, Volume 137, 10 February 2016, Pages 508-514.

LI, H.; XUE, Y.; JIA, B.; BAI, Y.; ZUO, Y.; WANGA, S.; ZHAO, Y.; YANG, W.; TANG, H. The preparation of hyaluronic acid grafted pullulan polymers and their use in the formation of novel biocompatible wound healing film. **Carbohydrate Polymers**. Carbohydrate Polymers 188 (2018) 92–100

LIECHTY, W.B., KRYSCIO, D.R., SLAUGHTER, B.V., PEPPAS, N.A., 2010. Polymers for drug delivery systems. Annu. Rev. **Chem. Biomol. Eng.** 1, 149#173.

LIMA, D.U.; OLIVEIRA, R.C.; BUCKERIDGE, M.S. Seed storage hemicelluloses aswet-end additives in paper making. **Carbohydrate Polymers**, 52, 367-373, 2003.

LIMA, H.C. de; PINTO, R.B. Hymenaea In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. 2014. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB22971>>. Acesso em: 06 Abr. 2014.

LIN Y.M., K.G.J. NIEROP, E. GIRBAL-NEUHAUSER, M. ADRIAANSE, M.C.M. VAN LOOSDRECHT. Suntainable polysaccharide- base biomaterial recovered from waste aerobic granular sludge as a surface coating material. **Sustainable Materials and Technologies**, Volume 4, July 2015, Pages 24-29

LIYANAGE, S.; ABIDIA, N.; AULDB, D.; e MOUSSA, H. (2015). Chemical and physical characterization of galactomannan extracted from guar cultivars (Cyamopsis tetragonolobus L.). **Industr. Crops & Products**, 74, 388–396.

LONGARES, A.; MONAHAN, F.J.; O’RIORDAN, E.D.; O’SULLIVAN, M. Physical

properties of edible films made from mixtures of sodium caseinate and WPI. **International Dairy Journal**.v. 15, p. 1255–1260, 2005.

LOPES, T. D., RIEGEL-VIDOTTI, I. C., GREIN, A., TISCHER, C. A., & FARIA-TISCHER, P. C. (2014). Bacterial cellulose and hyaluronic acid hybrid membranes: Production and characterization. **Int.J Biol.Macromol.**, 67, 401- 408.

LUCYSZYN NEOLI, LUCY ONO, ADRIANA FREIRE LUBAMBO, MARCO A. WOEHL, CAMILA V. SENS, CLAYTON F. DE SOUZA, MARIA RITA SIERAKOWSKI. Physicochemical and in vitro biocompatibility of films combining reconstituted bacterial cellulose with arabinogalactan and xyloglucan. **Carbohydrate Polymers**, Volume 151, 20 October 2016, Pages 889-898.

LUCYSZYN, N.; QUORIN, M.; RIBAS, L. F.; KOEHLER, H. S.; REICHER, F., SIERAKOWSKI, M-R. Micropropagation of Durondeau pear in modified – gelled medium. **In Vitro Cellular & Developmental Biology**–Plant, 42, 287-290. 2006.

LUTOLF, M. P., GILBERT, P. M., & BLAU, H. M. (2009). Designing materials to direct stem cell fate. **Nature**, 462, 433–441.

MAIA, M.; KLEIN, E. S.; MONJE, T. V.; PAGLIOSA, C.; **Rev. Bras. Cir. Plást.** 2010, 25, 566. Merchant Research & Consulting,Ltd: <https://mcgroup.co.uk/news/20140117/global-pet-supply-exceed-2439-mln-tonnes-2015.html>.

MAJUMDAR, S., GUO, Q., GARZA-MADRID, M., CALDERON-COLON, X., DUAN, D., CARBAJAL, P. et al. (2015). Influence of collagen source on fibrillar architecture and properties of vitrified collagen membranes. **J Biomed Mater.Res.B Appl.Biomater** (2015).

MALAFAYA, P.B., G.A. SILVA, AND R.L. REIS, Natural–origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2007. 59(4): p. 207-233.

MARTELLI-TOSI, M.; ASSIS, O.B.G.; SILVA, N.C.; ESPOSTO, B.S.; MARTINS, M. A., TAPIA-BLÁCIDO, D.R.; Chemical treatment and characterization of soybean straw and soybean protein isolate/straw composite films. **Carbohydrate Polymers** 157 (2017) 512–520.

MATHLOUTHI, M.; KOENIG, J.L. Vibrational spectra of carbohydrates. **Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry**, 44, 82-89, 1987.

MATTA JR, M. D.; SARMENTO, S. B. S.; SARANTOPOULOS, C. I. G. L.; ZOCCHI, S. S. Propriedades de barreira e solubilidade de filmes de amido de ervilha associado com goma xantana e glicerol. **Polímeros**, v.21, n.1, p. 67-72, 2011.

MCCLEARY, B. V., CLARK, A. H., DEA, I. C. M. & REES, D. A. (1985). The fine structures of carob and guar galactomannans. **Carbohydr. Res.**, 139, 237–260.

MEDEIROS, B.G. S., PINHEIRO, A.C., CARNEIRO-DA-CUNHA M.G., VICENTE A. A. Development and characterization of a nanomultilayer coating of pectin and chitosan – Evaluation of its gas barrier properties and application on ‘Tommy Atkins’ mangoes. **Journal of Food Engineering** 110 (2012) 457–464

MERCÊ, A. L. R.; LOMBARDI, S. C.; MANGRICH, A. S.; REICHER, F.; SZPOGANICZ,

B.; SIERAKOWSKI, M. R.; **Carbohydrate Polymers**, v.35, n.13, (1998).

MERLINI, L., BOCCIA, A. C., MENDICHI, R., & GALANTE, Y. M. (2015). Enzymatic and chemical oxidation of polygalactomannans from the seeds of a few species of leguminous plants and characterization of the oxidized products. **J. Biotechnol.**, 198, 31-43.

MIKKONEN, K. S., & TENKANEN, M. (2012). Sustainable food-packaging materials based on future biorefinery products: Xylans and mannans. **Trends in Food Science & Technology**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2012.06.012>

MIKKONEN, K.S.; RITA, H.; HELEN, H.; TALJA, R.A., HYVÖNEN, L.; TENKANEN, M. Effect of polysaccharide structure on mechanical and thermal properties of galactomannan-based films. **Biomacromolecules**, 8, 3198-3205, 2007.

MIYAZAKI, S., KUBO, W., & ATTWOOD, D. J. (2000). Oral sustained delivery of theophylline using in-situ gelation of sodium alginate. **Journal of Controlled Release**, 67(2), 275–280.

MOGOŞANU, G. D.; GRUMEZESCU, A. M.; **INT. J. PHARM.** 2014, 463, 127.

MOHAMMAD OVES R., TALLA AMEELBI, NAIEF H. AL-MAKISHAH , M.A. BARAKAT. Hybrid chitosan/polyaniline-polypyrrole biomaterial for enhanced adsorption and antimicrobial activity. **Journal of Colloid and Interface Science**. 2016.

MOHAMMADI, M.; FAZLI, H.; KAREVAN, M; DAVOODI, J. **Eur. Polym. J.**, 91 (2017), p. 121

MOMOH, F. U., BOATENG, J. S., RICHARDSON, S. C. W., CHOWDHRY, B. Z., & MITCHELL, J. C. (2015). Development and functional characterization of alginate dressing as potential protein delivery system for wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, 81, 137–150.

MONTEIRO, F. M. F., SILVA, G. M. M., SILVA, J. B. R., PORTO, C. S., CARVALHO JÚNIOR, L. B., LIMA FILHO, J. L., CARNEIRO-LEÃO, A. M. A., CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G., & PORTO, A. L. F. (2007). Immobilization of trypsin on polysaccharide film from *Anacardium occidentale* L. and its application as cutaneous dressing. **Process Biochemistry**, 42, 884–888.

MORALES, J. O.; MCCONVILLE, J. T. Manufacture and characterization of mucoadhesive buccal films. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, London, v. 77, p. 187-199, 2011.

MOREIRA, C. Q.; A influência da umidade relativa na taxa de permeabilidade ao oxigênio de filmes hidrofílicos. **Boletim de tecnologia e desenvolvimento de embalagens**, São Paulo, v.19 n, 3, p. 1-4, 2007.

MORENO, R. O.; PENOTT-CHANG, E. K.; GÁSCUE, B. R.; MÜLLER, A. J. The effect of the solvent employed in the synthesis of hydrogels of poly (acrylamide-co-methyl methacrylate) on their structure, properties and possible biomedical applications. **European Polymer Journal**, Volume 88, March 2017, Pages 148-160 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975016301367> - bbb0660

MUDGIL, D.; BARAK S.; KHATKAR, B.S. Effect of enzymatic depolymerization on physicochemical and rheological properties of guar gum. **Carbohydr. Pol.**, 90 (2012a), pp. 224-228

MUDGIL, D.; BARAK, S.; KHATKAR, B.S. X-ray diffraction, IR spectroscopy and thermal characterization of partially hydrolyzed guar gum. **Int. J. Biol. Macromol.**, 50 (4) (2012b), pp. 1035-1039

MÜLLER, C.; YAMASHITA, F.; LAURINDO, J. B. ; Effect of cellulose fibers addition on the mechanical properties and water vapor barrier of starch-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 5, p. 1328-1333, 2009.

MÜLLER, CMO, F YAMASHITA, JB LAURINDO. Evaluation of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. **Carbohydrate Polymers** 72 (1), 82-87, (2008).

MUSAZZI, U. M.; SELMIN, F.; FRANZÉ, S.; GENNARI, C. G. M.; ROCCO, P.; MINGHETTI, P.; CILURZO, F. Poly(methyl methacrylate) salt as film forming material to design orodispersible films. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Volume 115, 30 March 2018, Pages 37-42

MUTCHNICK, P.A.; MCCARTHY, B.C. An ethnobotanical analysis of the three species common to the subtropical moist forests of the Petén, Guatemala. **Economic Botany**, 51(2), 158-183, 1997.

MYSORE SHOBHA S., THARANATHAN N. RUDRAPATNAM. Modulation in the rheological behaviour of porcine pepsin treated guar galactomannan on admixture with κ -carrageenan. **Carbohydrate Polymers**, Volume 115, 22 January 2015, Pages 253-259.

NAGAR, P.; CHAUHAN, I.; YASIR, M. Insights into polymers: Film formers in mouth dissolving films. **Drug Invention Today**, v. 3, n. 12, p. 280-289, 2011.

NAIR LS, LAURENCIN CT. Biodegradable polymers as biomaterials. **Prog Polym Sci** 2007;32:762–98.

NANKIVELL BJ, BORROWS RJ, FUNG CL, O'CONNELL PJ, ALLEN RD, CHAPMAN JR. The natural history of chronic allograft nephropathy. **N Engl J Med**. 2003;349:2326-33.

NATASA Z. TOMIĆ, D ĐORĐE VELJOVIĆ, KATA TRIFKOVIĆ, BOJAN MEĐO, MARKO RAKIN, VESNA RADOJEVIĆ, RADMILA JANČIĆ-HEINEMANN. Numerical and experimental approach to testing the adhesive properties of modified polymer blend based on EVA/PMMA as coatings for optical fibers. **International Journal of Adhesion and Adhesives**. 2017.

NEWMAN, R.H.; HEMMINGSON, J.A. Interactions between locust bean gum and cellulose characterized by ^{13}C n.m.r. spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, 36, 167-172, 1998.

NISHIMURA, M. In vitro and in vivo characteristics of prochlorperazine oral disintegrating film. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 268, p. 98-102, 2009.

NOBRE C., MIGUEL ÂNGELO CERQUEIRA, LÍGIA RAQUEL RODRIGUES, ANTÔNIO AUGUSTO VICENTE, JOSÉ ANTÔNIO TEIXEIRA. Production and Extration of Polysaccharides and Oligosaccharides and Their Use as New Food Additives. **Industrial Biorefineries & White Biotechnology**, 2015, Pages 653-679.

NOH, M., MOK, Y., LEE, S., KIM, H., LEE, S., JIN, G.-W., SEO, J.-H., KOO, H.,

PARK, T.-H., LEE, Y. Novel lower critical solution temperature phase transition materials effectively control osmosis by mild temperature change. **Chemical Communications**, 48, 3845-3847, 2012.

NTCHAPDA FIDÈLE, JOSEPH BARAMA, DAVID ROMAIN KEMETA AZAMBOU, PAUL FAUSTIN SEKE ETET, THÉOPHILE DIMO. Diuretic and antioxidant activities of the aqueous extract of leaves of *Cassia occidentalis* (Linn.) in rats. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, Volume 8, Issue 9, September 2015, Pages 685-693

OCHOA TJ, Cleary TG. Effect of lactoferrin on enteric pathogens. *Biochimie* 2009;91:30-4.

OGUNJIMI ABAYOMI T., SHAIANI M.G. MELO, CAREM G. VARGAS-RECHIA, FLÁVIO S. EMERY, RENATA F.V. LOPEZ. Hydrophilic polymeric nanoparticles prepared from Delonix galactomannan with low cytotoxicity for ocular drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, Volume 157, 10 February 2017, Pages 1065-1075

OHRING, MILTON; The Material Science of Thin Films; **Harcourt BraceJavanovich**, Publishers; London; 1992

OHTA, S., NISHIYAMA, T., SAKODA, M., MACHIOKA, K., FUKU, M., ICHIMURA, S. Development of carboxymethyl cellulose nonwoven sheet as a novel hemostatic agent. **J Biosci.Bioeng.** (2014)

OKAMOTO M, JOHN B. Synthetic biopolymer nanocomposites for tissue engineering scaffolds. **Prog Polym Sci.** 2013;38:1487–503.doi:10.1016/j.progpolymsci.2013.06.001.

OKAMOTO, S. Factors affecting protein film formation. **Cereal Foods World.** v. 23,p. 256-262, 1978.

OLIVEIRA, L. M. et al. Ensaios para avaliação de embalagens plásticas flexíveis. **Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem**, CETEA, 1996. 219 p

OLIVEIRA, M. A. O.; CEREDA, M. P. Pós-colheita de pêssegos (*Prunus persica* L. Bastsch) revestidos com filmes a base de amido como alternativa à cera comercial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 28-33, 2003.

ÖZTAŞYEŞİM, E.R., ÖZGÜNEŞ, N., 2005. Lactoferrin: a multifunctional protein. *Adv. Mol. Med.*1 (4), 149–154.

PAINTER, T.J. Algal Polysaccharides. In: ASPINALL, G. The polysaccharides, v. 2, p. 195-285, (1983).

PANDIS, C., MADEIRA, S., MATOS, J., KYRITSIS, A., MANO, J. F., & RIBELLES, J. L. (2014). Chitosan-silica hybrid porous membranes. *Mater.Sci Eng C.Mater.Biol.Appl.*, 42, 553-561.

PARIMALA KR, SUDHA ML. Effect of hydrocolloids on the rheological, microscopic, mass transfer characteristics during frying and quality characteristics of puri. **Food Hydrocoll** 2012;27(1):191–200.

PARK, H. J.; CHINNAN, M. S. Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. **J. of Food Eng.**, Oxford, v. 25, p. 497-507, 1995.

PARK, J.; LAKES, R. S.; **Biomaterials**: An Introduction , 3th ed., Springer: New York, 2007.

PARRA, A.L.; SARDIÑAS, M.I.G. Toxicidad aguda oral de 3 formas farmacéuticas a partir de *Cassia grandis* L. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM), Departamento de Investigaciones Biológicas. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, 5(2), 68-70, 2000.

PATEL ALOK, DEV K. SINDHU, NEHA ARORA, RAJESH P. SINGH, VIKAS PRUTHI, PARUL A. PRUTHI. Biodiesel production from non-edible lignocellulosic biomass of *Cassia fistula* L. fruit pulp using oleaginous yeast *Rhodospiridium kratochvilovae* HIMPA1. **Bioresource Technology**, Volume 197, December 2015, Pages 91-98

PAWAR, HARSHAL A., K.G. LALITHA, K. RUCKMANI. Alginate beads of Captopril using galactomannan containing *Senna tora* gum, guar gum and locust bean gum. **International Journal of Biological Macromolecules**, Volume 76, May 2015, Pages 119-131.

PEKMEZOVIC, M., K. RAJKOVIC, A. BARAC, L. SENEROVIĆ, V. ARSIC ARSENJEVIC. Development of kinetic model for testing antifungal effect of *Thymus vulgaris* L. and *Cinnamomum cassia* L. essentials oils on *Aspergillus flavus* spores and application for optimization of synergistic effect. **Biochemical Engineering Journal**, Volume 99, 15 July 2015, Pages 131-137

PENG LINCAI, HUI LI, YAHONG MENG. Layer-by-layer structured polysaccharides-based multilayers on cellulose acetate membrane: Towards better hemocompatibility, antibacterial and antioxidant activities. **APPLIED SURFACE SCIENCE**, Volume 401, 15 April 2017, Pages 25-39

PENG, Z.; LIU, M.; FANG, Z.; WU, J.; ZHANG, Q. Composition and cytotoxicity of a novel polysaccharide from brown alga (*Laminaria japonica*). **Carbohydrate Polymers**, 89, 1022–1026, 2012.

PEREDNIS, G.; WILHELM, O.; PRATSINIS, S. E.; GAUCKLER, L. J.; Morphology and deposition of thin yttria-stabilized zirconia films using spray pyrolysis; **Thin solid films**; Vol 474; 2005; p 84-95.

PEREIRA, L.; AMADO, A.M.; CRITCHLEY, A.T.; VAN DE VELDE, F.; RIBEIRO-CLARO, P.J.A. Identification of selected seaweed polysaccharides (phycocolloids) by vibrational spectroscopy (FTIR-ATR and FT-Raman). **Food Hydrocolloids**, 23(7), 1903-1909, 2009.

PEREIRA, L.; SOUSA, A.; COELHO, H.; AMADO, A.M.; RIBEIRO-CLARO, P.J.A. Use of FTIR, FT-Raman and ¹³C-NMR spectroscopy for identification of some seaweed phycocolloids. **Biomolecular Engineering**, 20(4 e 6), 223-228, 2003.

PERESSINI D, SENSIDONI A. Effect of soluble dietary fibre addition on rheological and breadmaking properties of wheat doughs. **J Cereal Sci** 2009;49(2):190–201.

PERTICI G. 2017. Introduction to bioresorbable polymers for biomedical applications. University of Applied Sciences and Arts of Southern Switzerland, SUPSI, Manno, Switzerland; **Industrie Biomediche Insubri SA**, Mezzovico-Vira,

Switzerland. PETKOWICZ, C.L.O.; REICHER, F.; MAZEAU, K. Conformational analysis of galactomannans: from oligomeric segments to polymeric chains. **Carbohydrate Polymers**, 37, 25–39, 1998.

PETRULYTE, S.; PETRULIS, D. Modern textiles and biomaterials for healthcare. **Handbook of Medical Textiles**. Pages 1-35; 2011.

PINHEIRO, A. C. Transport mechanism of macromolecules on hydrophilic bio- polymeric matrices – Diffusion of protein-based compounds from chitosan films. **Journal of Food Engineering**, v.116, p. 633–638, 2013.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, Â. M. Biomateriais: Tipos, Aplicações e Mercado. **Quim. Nova**, Vol. 38, No. 7, 957-971, 2015

PLETTIG, J., JOHNEN, C. M., BRAUTIGAM, K., KNOSPEL, F., WONNE, E. C., SCHUBERT, F. (2014). Feasibility study of an active wound dressing based on hollow fiber membranes in a porcine wound model. *Burns*.

POLHILL, R.M.; RAVEN, P.H.; STIRTON, C.H. Evolution and systematics of the Leguminosae. In: POLHILL, R.M. ; RAVEN, P.H. (Ed.). *Advances in Legume Systematics. Royal Botanic Gardens, Kew*, v.1,p.1-26, 1981.

POLLARD, M.A.; KELLY, R.; FISCHER, P.A.; WINDHAB, E.J.; EDER, B.; AMADÒ, R. Investigation of molecular weight distribution of LBG galactomannan for flours prepared from individual seeds, mixtures, and commercial samples. **Food Hydrocolloids**, 22, 1596-1606, 2008.

PRAJAPATI, V. D., JANI, G. K., MORADIYA, N. G., RANDERIA, N. P., NAGAR, B. J., NAIKWADI, N. N., & VARIYA, B. C. (2013). Galactomannan: A versatile biodegradable seed polysaccharide. **Intl. J. Biol. Macromol.**, 60, 83- 92.

PRASHANTH, M.R.S.; PARVATHY, K.S.; SUSHEELAMMA, N.S.; PRASHANTH, K.V.H.; THARANATHAN, R.N.; CHA, A.; ANILKUMAR, G. Galactomannan esters—A simple, cost-effective method of preparation and characterization. **Food Hydrocolloids**, 20(8), 1198–1205, 2006.

QUEIROZ, L.P. Leguminosas da caatinga. **Universidade Estadual de Feira de Santana**, Feira de Santana, Bahia. 2009.913p.

QUONG, D., & NEUFELD, R. J. (1999). DNA encapsulation within co-guanidine membrane coated alginate beads and protection from extracapsular nuclease. **Journal of Microencapsulation**, 16(5), 573–585.

RAFTERY, R.M., WOODS, B., ANA L.P. MARQUES, JOANA MOREIRA-SILVA, TIAGO H. SILVA, SALLY-ANN CRYAN, RUI L. REIS, FERGAL J. O'BRIEN. Multifunctional Biomaterials from the Sea: Assessing the effects of Chitosan incorporation into Collagen Scaffolds on Mechanical and Biological Functionality. **Acta Biomaterialia**. 2016

RAHMAN, MUSTAFIZUR, BRAZEL, S. CHRISTOPHER, The plasticizer market: an assessment of traditional plasticizers and research trends to meet new challenges. *Prog. Polym. Sci.*, 2004, 29, 1223-1248.

RAMOS AVILEZ H.V., D.A. CASTILLA CASADIEGO, A.L. VEGA AVILA, O.J. PERALES PEREZ, J. ALMODOVAR. Production of chitosan coatings on metal and ceramic biomaterials. **Chitosan Based Biomaterials** Volume 1, 2017, Pages 255-293 RATNER, B. D. (2011). The biocompatibility manifesto: biocompatibility for the twenty-first century. **J. Cardiovasc. Translat. Res.**, 4(5), 523–527.

RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S.; SCHOEN, F. J.; LEMONS, J. E., eds; Elsevier: Oxford, cap. **History of Biomaterials**. 2013.

REICHER, F.; LEITNER, S.C.S.; SIERAKOWSKI, M.R.; FONTANA, J.D.; CORRÊA, J.B.C. Seed gum of *Stryphnodendron barbatiman*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 28, 353-361, 1991.

REID, J.S.G.; EDWARDS, M.E. Galactomannans and other cell wall storage polysaccharides in seeds. In: STEPHEN, A.M. **Food Polysaccharides and Their Applications**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1995. p. 155-186.

REZAEI F., MICHAEL D. DICKEY, MOHAMED BOURHAM, PETER J. HAUSER. Surface modification of PET film via a large area atmospheric pressure plasma: An optical analysis of the plasma and surface characterization of the polymer film. **Surface e Coatings Technology**. 2016.

RIGO, L. N. Desenvolvimento e Caracterização de Filmes comestíveis. uri - campus erechim. **Departamento de Ciências Agrárias Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos** (2006).

RINAUDO, M.; **Polym. Int.** 2008, 57, 397.

RODRIGUEZ, M., OSÉS, J., ZIANI, K., MATE, J.I., 2006. Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films. **Food Research International** 39, 840–846.

RODRÍGUEZ, M.; OSÉS, J.; ZIANI, K.; MATÉ, J.I. Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films. **Food Research International**, v. 39, p. 840-846, 2006.

ROGERO, S. O.; LUGÃO, A. B.; IKEDA, T.I.; CRUZ, A. S. Teste in vitro de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Material Research**, v. 6, n. 3, p.317-320, 2003.

RONCA, S. Chapter 10 – Polyethylene. **Brydson's Plastics Materials** (Eighth Edition) 2017, Pages 247–278 RECHIA-VARGAS, C. G. Polysaccharides from the of *Senna multijuga*. **International Journal of Biological Macromolecules**, 17(6), 409-412, 1995.

SALINAS, B.E.; GRIJALVA, A. Diagnóstico de Nicaragua. In: Ocampo, R.A. (ed.). Domesticación de plantas medicinales em Centroamérica. **Turrialba: CATIE/OEA**, 1994. 135p.

SALVALAGGIO, M.O.; FREITAS, R.A.; FRANQUETTO, E.M.; KOOP, H.S.; SILVEIRA, J.L.M; Influence of the extraction time on macromolecular parameters of galactomannans. **Carbohydrate Polymers**, Volume 116, 13 February 2015, Pages 200-206

SANFORD, P.A.; BAIRD, J.; Industrial utilization of polysaccharides. In: ASPINALL, G.O. **The polysaccharides** vol. 1, New York: Academic Press, 1983. p. 411-490.

SANTOS A.N.; Síntese, caracterização e avaliação citotóxica de vidro bioativo com adição de diferentes proporções de cério. **Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas**. Universidade Federal de Minas Gerais(2014).

SANZ T, SALVADOR A, FISZMAN SM. Evaluation of four types of resistant starchin muffin baking performance and relationship with batter rheology. **Eur Food Res Technol** 2008;227(3):813–9.

SARANTÓPOULOS, C. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; PADULA, M.; COLTRO, L.; ALVES, R. M. V.; GARCIA, E. E. C. Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades. **Campinas: CETEA/ITAL**, 2002.

SARAVANAKUMAR ARTHANARI, MANI GANESH, JAYABALAN JAYAPRAKASH, HYUN TAE JANG. Biosynthesis of silver nanoparticles using Cassia tora leaf extract and its antioxidant and antibacterial activities. .ogj, Volume 28, 25 August 2015, Pages 277-281

SÉBASTIEN, G.; CHRISTOPHE, B.; MARIO, A.; PASCAL, L.; MICHEL, P; AURORE, R. Impact of purification and fractionation process on the chemical structure and physical properties of locust bean gum. **Carbohydr. Pol.** 108 (2014), pp. 159-168

SELVI, T. R.; PRASANNA, A.P.S.; NIRANJAN, R.; KAUSHIK, M.; DEVASENA,T.; KUMAR, J.; CHELLIAH, R.; OH, D.; SWAMINATHAN, S.; VENKATASUBBU, G.D. Metal oxide curcumin incorporated polymer patches for woundhealing. **Applied Surface Science**, 2018.

SEO, J.-H., KAKINOKI, S., INOUE, Y., NAM, K., YAMAOKA, T., ISHIHARA, K., KISHIDA, A., YUI, N. The significance of hydrated surface molecular mobility in the control of the morphology of adhering fibroblasts. **Biomaterials**, 34, 3206-3214, 2013b.

SEO, J.-H., KAKINOKI, S., YAMAOKA, T., YUI, N. Movable polyrotaxane surfaces for modulating cellular adhesion via specific RGD-integrin binding. **Advances in Scienceand Technology**, 86, 59-62, 2013a.

SEO, J.-H., SAKAI, K., YUI, N. Adsorption state of fibronectin on poly(dimethyl siloxane) surfaces with varied stiffness can dominate adhesion density of fibroblasts. **Acta Biomaterialia**, 9, 5493-5501, 2013.

SEO, J.-H., YUI, N. The effect of molecular mobility of supramolecular polymersurfaces on fibroblast adhesion. **Biomaterials**, 34, 55-63, 2013.

SETOGUCHI, T.; INOUE, T.; TAKEBE, H.; EGUCHI, E.; MORINAGA, K.; ARAI, H.; **Solid State Ionics**; Vol 37; 1990; pp 217.

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**, 17, 397-409, 2004.

SHAIK, M.R., KORSAPATI, M., PANATI, D., 2012. Polymers in controlled drug delivery systems. **Int. J. Pharm. Sci.** 2 (4), 112#116.

SHARMA N., M.K. PURKAIT. Impact of synthesized amino alcohol plasticizer on the morphology and hydrophilicity of polysulfone ultrafiltration membrane. **Journal of Membrane Science**, Volume 522, 15 January 2017, Pages 202-215.

SHARMILA, G., V.S. NIKITHA, S. ILAIYARASI, K. DHIVYA, V. RAJASEKAR, N.MANOJ KUMAR, K. MUTHUKUMARAN, C. MUTHUKUMARAN. Ultrasound assisted extraction of total phenolics from Cassia auriculata leaves and evaluation of its antioxidant activities. **Industrial Crops and Products**, Volume 84, June 2016, Pages 13-21

SHI M, YANG Y, HU X, ZHANG Z. Effect of ultrasonic extraction conditions on antioxidative and immu-nomodulatory activities of a Ganoderma lucidum polysaccharideoriginated from fermented soybean curd residue. **Food Chem** 2014;155:50–6.

SIDDIQUI, N.; BHARDWAJ, A.; HADA, R.; VISHWAJEET, S.; DEEPTI, G. Synthesis, characterization and antimicrobial study of poly (methyl methacrylate)/Ag nanocomposites. **Vacuum**, Volume 153, July 2018, Pages 6-11

SIERAKOWSKI et al. Specific modifications of galactomannans. **Carbohydrate Polymers**, 42, 51-57, 2000.

SIEVENS-FIGUEROA, L. Preparation and characterization of hydroxypropyl methyl cellulose films containing stable BCS class II drug nanoparticles for pharmaceutical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 423, p. 496-508,2012.

SILVA E, BIRKENHAKE M, SCHOLTEN E, SAGIS LMC, VAN DER LINDEN E. Controlling rheology and structure of sweet potato starch noodles with high broccoli powder content by hydrocolloids. **Food Hydrocoll** 2013;30(1):42–52.

SINGH, N.; BRIDGES, A. W.; GARCIA, A. J.; LYON, L. A.; **Biomacromolecules** 2007, 8, 3271.

SINGH, R. P., KARMAKAR, G. P., RATH, S. K., KARMAKAR, N. C., PANDEY, S. R., TRIPANTHY, T., PANDA, J., KANAN, K., JAIN, S. K., & LAN, N. T. (2000). Biodegradable drag reducing agents and flocculants based on polysaccharides: Materials and applications. **Polymer Engineering and Science**, 40, 46–60.

SITTIKIYOTHIN, W., TORRES, D., & GONÇALVES, M. P. (2005), Modelling the rheological behaviour of galactomannan aqueous solutions. **Carbohydrate Polymers**, 59, 339-350.

SMIRNOVA, N.I.; MESTECHKINA, N.M.; SHERBUKHIN, V.D. Fractional Isolation and Study of the Structure of Galactomannan from Sophora (*Styphnolobium japonicum*) Seeds. **Applied Biochemistry and Microbiology**, 40(5), 517-521, 2004.

SMITH, A. H., LAIRD, C., PORTER, K., & BLOCH, M. (2013). Haemostatic dressings in prehospital care. **Emerg.Med.J**, 30, 784-789.

SMITH, T.J.; KENNEDY, J.E.; HIGGINBOTHAM, C.L. Rheological and thermal characteristics of a two phase hydrogel system for potential wound healing applications. **Journal of Material Science**, 45,2884–2891, 2010.

SOARES, P.A.G.; SEIXAS, J.R.P. C.; ALBUQUERQUE, P.B.S.; SANTOS, G.R.C., MOURÃO, P. A.S.; BARROS, W. JR., CORREIA, M.T.S.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M.G.; Development and characterization of a new hydrogel based on galactomannan and k-carrageenan. **Carbohydrate Polymers**, Volume 134, 10 December 2015, Pages 673-679

SOBRAL, P. J. A. Propriedades funcionais de biofilmes de gelatina em função da espessura. **Ciência & Engenharia, Uberlândia**, v. 8, n. 1, p. 60-67, 1999.

SOLEZ K, COLVIN RB, RACUSEN LC, SIS B, HALLORAN PF. Meeting Report: differential diagnosis of chronic allograft injury and elimination of chronic allograft nephropathy ('CAN'). **Am J Transplant**. 2007;3:518-26.

SHUKLA, S.; HEGDE, S.; KUMAR, A.; CHAUDHARY, G.; PAL, M. Fatty acid composition and antibacterial potential of *Cassia tora* (leaves and stem) collected from different geographic areas of India. **Journal of Food and Drug Analysis**, Volume 26, Issue1, January 2018, Pages 107-111.

SOUZA, M.P.; Desenvolvimento e Otimização de Revestimentos Comestíveis à Base do Polissacarídeo da Goma do Cajueiro (*anacardium occidentale*.) Para Melhorar a Qualidade Pós-colheita de Frutas. **Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas** (2010).

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. Botânica Sistemática. Guia ilustrado para identificação das famílias de baseado em APG III. 3 ed. Nova Odessa: **Instituto Plantarum de Estudos da Flora**, 2012. 768p.

SREELAKSHMI V, ANNIE ABRAHAM. Cassia tora leaves modulates selenite cataract by enhancing antioxidant status and preventing cytoskeletal protein loss in lenses of Sprague Dawley rat pups. **Journal of Ethnopharmacology**, Volume 178, 3 February 2016, Pages 137-143

SRIVASTAVA, M.; KAPOOR, V. P. Seed galactomannans: An overview. **Chemistry & Biodiversity**, 2, 295–317. 2005.

STEIJNS JM, VAN HOOIJDONK AC. Occurrence, structure, biochemical properties and technological characteristics of lactoferrin. **Br J Nutr** 2000;84 (Suppl 1):S11-7.

SULTZBAUGH, K. J., & SPEAKER, T. J. (1996). A method to attach lectins to the surface of spermine alginate microparticles based on the avidin biotin interaction. **Journal of Microencapsulation**, 13(4), 363–375.

SUN LAN, SHAO-BO ZONG, JIA-CHUN LI, YAO-ZHONG LV, LI-NA LIU, ZHENG-ZHONG WANG, JUN ZHOU, LIANG CAO, JUN-PING KOU, WEI XIAO. The essential oil from the twigs of *Cinnamomum cassia* Presl alleviates pain and inflammation in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, Volume 194, 24 December 2016, Pages 904-912

SUN LIJUN, JIAOJIAO SUN, LEI CHEN, PENGFEI NIU, XINGBIN YANG, YURONG GUO. Preparation and characterization of chitosan film incorporated with thinned young apple polyphenols as an active packaging material. **Carbohydrate Polymers**, Volume 163, 1 May 2017, Pages 81-91

TAGHIZADEH, B., TARANEJOO, S., MONEMIAN, S.A., SALEHI MOGHADDAM, Z., DALIRI, K., DERAKHSHANKHAH, H., 2015. Classification of stimuli-responsive polymers as anti-cancer drug delivery systems. **Drug Deliv.** 22 (2), 145#155.

TAHMASEBIFAR, A., KAYHAN, S.M., EVIS, Z., TEZCANER, A., ÇINICI, H., KOÇ, M. Mechanical, electrochemical and biocompatibility evaluation of AZ91D magnesium alloy as a biomaterial (2016) **Journal of Alloys and Compounds**, 687, pp. 906-919.

TAMURA, A., IKEDA, G., SEO, J.-H., TSUCHIYA, K., YAJIMA, H., SASAKI, Y., AKIYOSHI, K., YUI, N.. Molecular logistics using cytotcleavable polyrotaxanes for the reactivation of enzymes delivered in living cells. **Scientific Reports**, 3, 2252-2260, 2013.

TANG, M. Preparation, characterization and properties of partially hydrolyzed ethylene vinyl acetate copolymer films for controlled drug release. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 400, n. 1-2, p. 66-73, 2010.

TÁRREGA A, MARTÍNEZ M, VÉLEZ-RUIZ JF, FISZMAN S. Hydrocolloids as a tool for modulating the expected satiety of milk-based snacks. **Food Hydrocoll** 2014;39:51–7.

TAYNARA REZENDE MACHADO. Elaboração e Avaliação de Filmes Biodegradáveis à Base de Amido de Mandioca e Bagaço de Cevada. **Universidade Estadual**

de Goiás – UEG Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas Licenciatura em Química (2013).

TIAN, H.; TANG, Z.; ZHUANG, X.; CHEN, X.; JING, X.; Prog. Biodegradable synthetic polymers: Preparation, functionalization and biomedical application. **Polym. Sci.** 2012, 37, 237.

TIAN, H.; TANG, Z.; ZHUANG, X.; CHEN, X.; JING, XI, J. Biodegradable synthetic polymers: Preparation, functionalization and biomedical application. **Progress in Polymer Science**. Volume 37, Issue 2, February 2012, Pages 237-280

TIANO, P; avaliação tóxica, citotóxica, genotóxica e mutagênica daturnera ulmifolia l. (chanana) em células eucarióticas. Cor e colorimetria (2009). **CONSELHO REGIONAL DE QUÍMICA - IV REGIÃO (SP)**.

TONNESEN, H. H., & KARLSEN, J. (2002). Alginate in drug delivery system. **Drug Delivery and Industrial Pharmacy**, 28(6), 621–630.

UGHINI F. , I.F ANDREAZZA, J.L.M.S GANTER, T.M.B BRESOLIN. Evaluation of xanthan and highly substituted galactomannan from *M. scabrella* as a sustained release matrix. **International Journal of Pharmaceutics**, Volume 271, Issues 1–2, 1 March 2004, Pages 197-205

Union E. Directive of the European Parliament and of the Council on the approximation of the laws of the Member States on extraction solvents used in the production of foodstuffs and food ingredients; 2009. L141-3-L141/11.

VALENGA, F. Galactomannan thin films as supports for the immobilization of Concanavalin A and/or dengue viruses. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.50, p. 88–94, 2012.

VALENGA, F., PETRI, D. F. S., LUCYSZYN, N., JÓ, T. A., & SIERAKOWSKI, M. R. (2012). Galactomannan thin films as supports for the immobilization of Concanavalin A and/or dengue viruses. **International Journal of Biological Macromolecules**, 50(1), 88–94.

VAN DER STRATE BW, BELJAARS L, MOLEMA G, HARMSSEN MC, MEIJER DK. Antiviral activities of lactoferrin. **Antiviral Res** 2001;52:225-39.

VARELA P, PINTOR A, FISZMAN S. How hydrocolloids affect the temporal oral perception of ice cream. **Food Hydrocoll** 2014;36:220–8.

VASILE, C., PIEPTU, D., DUMITRIU, R. P., PANZARIU, A., & PROFIRE, L. (2013). Chitosan/hyaluronic acid polyelectrolyte complex hydrogels in the management of burn wounds. **Rev.Med.Chir Soc.Med.Nat.Iasi**, 117, 565-571.

VEERAPUR, V.P., V. PRATAP, B.S. THIPPESWAMY, P. MARIETTA, P. BANSAL, P.V. KULKARNI, V.H. KULKARNI. Polyphenolic enriched extract of *Cassia glauca* Lamk, improves streptozotocin-induced type-1 diabetes linked with partial insulin resistance in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, In Press, Accepted Manuscript, Available online 18 January 2017

VEIGA-SANTOS, P.; SUZUKI, C.K.; CEREDA, M.P.; SCAMPARINI, A.R.P. Microstructure and color of starch–gum films: Effect of gum deacetylation and additives. Part

2. **Food Hydrocolloids** . vol. 19, p.1064 - 1073, 2005.

VENKATESAN, J.; LOWE, B.; KIM, S.K. 3 – Bone tissue engineering using functional marine biomaterials. **Functional Marine Biomaterials Properties and Applications A volume in Woodhead Publishing Series in Biomaterials** 2015, Pages 53–61

VERGARA-VALENCIA N, GRANADOS-PÉREZ E, AGAMA-ACEVEDO E, TOVAR J, RUALES J, BELLO-PÉREZ LA. Fibre concentrate from mango fruit: characterization, associated antioxidant capacity and application as a bakery product ingredient. **LWT Food Sci Technol** 2007;40(4):722–9.

VIEIRA, L.S. Fitoterapia da Amazônia: manual de plantas medicinais (A Farmácia de Deus). 2ª ed. São Paulo: **Agronômica Ceres**, 1992. 347p.

VILAR, G., TULLA-PUCHE, J., ALBERICIO, F., 2012. Polymers and drug delivery systems. **Curr. Drug Deliv.** 9 (4), 367#394.

VON DER MARK, K. AND J. PARK, Engineering biocompatible implant surfaces: Part II: Cellular recognition of biomaterial surfaces: Lessons from cell–matrix interactions. **Progress in Materials Science**, 2013. 58(3): p. 327-381.

WANDE, A. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 2. ed., Washington: **American Pharmaceutical Association**, 1994.

WANG, C.S.; VIRGILIO, N.; ADAMS, W. M. P.; HEUZEY, M.C. A gelation mechanism for gelatin/polysaccharide aqueous mixtures. **Food Hydrocolloids**. Volume 79, June 2018, Pages 462-472

WEI, Y., LIN, Y., XIE, R., XU, Y., YAO, J., & ZHANG, J. (2015). The flow behavior, thixotropy and dynamical viscoelasticity of fenugreek gum. **J. Food Eng.**, 166, 21-28.

WILL, J. MITTERDORFER, A.; KLEINLOGE L, C.; PEREDNIS, D.; GLAUCKLER, L. J.; Fabrication of thin electrolytes for second-generation solid oxide fuel cells; **Solid States Ionics**; Vol 131; 2000; p 79-96.

WU, T.H.; YEN, F.L.; LIN, L.T.; TSAI, T.R.; LIN, C.C.; CHAMD, T.M. Preparation, physicochemical characterization, and antioxidant effects of quercetin nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, 346, 160–168, 2008.

XIONG G, CHENG W, YE L, DU X, ZHOU M, LIN R, . Effects of konjac glucomannan on physico-chemical properties of myofibrillar protein and surimi gels from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Food Chem** 2009;116(2):413–8.

XU YURUI, SAJID ASGHAR, LIU YANG, HONGYING LI, ZHILIN WANG, QINENG PING, YANYU XIAO. Lactoferrin-coated polysaccharide nanoparticles based on chitosan hydrochloride/hyaluronic acid/PEG for treating brain glioma. **Carbohydrate Polymers** 157 (2017) 419–428

XU, R., LUO, G., XIA, H., HE, W., ZHAO, J., LIU, B. (2015). Novel bilayer wound dressing composed of silicone rubber with particular micropores enhanced wound re-epithelialization and contraction. **Biomaterials**, 40, 1-11.

YAN YONG-MING, PING FANG, MU-TIAN YANG, NING LI, QING LU, YONG-XIAN CHENG. Anti-diabetic nephropathy compounds from *Cinnamomum cassia*. **Cinnamomum cassia**. **Journal of Ethnopharmacology**, Volume 165, 13 May 2015, Pages 141-147

YANG, L.; CHU, J.S.; FIX, J.A. Colon-specific drug delivery: new approaches and in vitro/in vivo evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, 235, 1-15, 2002.

YI JEE HYUN, HEY JIN PARK, SEUNGHEON LEE, JI WOOK JUNG, BYEONG C. KIM, YOUNG CHOON LEE, JONG HOON RYU, DONG HYUN KIM. *Cassia obtusifolia* seed ameliorates amyloid β -induced synaptic dysfunction through anti-inflammatory and Akt/GSK-3 β pathways. **Journal of Ethnopharmacology**, Volume 178, 3 February 2016, Pages 50-57

YOU Q, YIN X, ZHANG S, JIANG Z. Extraction, purification, and antioxidant activities of polysaccharides from *Tricholoma mongolicum* Imai. **Carbohydr Polym** 2014;99:1–10.

YUEN, S.N.; CHOI, S.M.; PHILLIPS, D.L.; MA, C.Y. Raman and FTIR spectroscopy study of carboxymethylated non-starch polysaccharides. **Food Chemistry**, 114, 1091–1098, 2009.

ZALIPSKY; JAMES A. HAMILTON; JOYCE Y. WONG.' Taylor & Francis Group: New York. Targeted binding of PLA microparticles with lipid-PEG-tethered ligands. **Biomaterials**. 2007

ZAWADZKI, SOFIA F., PEDROZO, TIAGO H. E RAMOS, LUIZ P., Estudo do Uso de Plastificantes de Fontes Renovável em Composições de PVC. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 2009, vol. 19, no4, pp. 263-270.

ZHANG, Y., ZHANG, X., SHI, B., & MIRON, R. J. (2013). Membranes for guided tissue and bone regeneration. *Annals of Oral & Maxillofacial Surgery*, 1(1):10. Okamura, Y., Kabata, K., Kinoshita, M., Miyazaki, H., Saito, A., Fujie, T. et al. (2013).

ZHAO JINGJING, TONG WEI, ZIHAO WEI, FANG YUAN, YANXIANG GAO. Influence of soybean soluble polysaccharides and beet pectin on the physicochemical properties of lactoferrin-coated orange oil emulsion. **Food Hydrocolloids** 44 (2015) 443 e 452.

ZHAOHUI TANG, CHAOLIANGHE, HUAYU TIAN, JIANXUN DING, BENJAMIN S. HSIAO, BENJAMIN CHU BAND XUESI CHEN. Polymeric Nanostructured Materials for Biomedical Applications. **Polym. Sci**. 2016.

ZHENG, G., LIU, X., WANG, X., CHEN, L., XIE, H., WANG, F. (2014). Improving

stability and biocompatibility of alginate/chitosan microcapsule by fabricating bi-functional membrane. **Macromol.Biosci.**, 14, 655-666.

ZHU HONGMEI, MIN DU, LARRY FOX, MEI-JUN ZHU. Bactericidal effects of Cinnamon cassia oil against bovine mastitis bacterial pathogens. **Food Control**, Volume 66, August 2016, Pages 291-299

ZIANI KHALID , JAVIER OSES , VERONIQUE COMA , JUAN I. MATÉ. Effect of the presence of glycerol and Tween 20 on the chemical and physical properties of films based on chitosan with different degree of deacetylation. **LWT - Food Science and Technology** 41 (2008) 2159e2165