

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS -
PPGCEM

LAURA FERNANDA DO RÊGO GARCIA

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGEL DE
CARBOXIMETILCELULOSE ATIVO COM ÓLEO ESSENCIAL DE PAU ROSA COM
POTENCIAL CURATIVO DÉRMICO

MANAUS - 2023

LAURA FERNANDA DO RÊGO GARCIA

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGEL DE
CARBOXIMETILCELULOSE ATIVO COM ÓLEO ESSENCIAL DE PAU ROSA COM
POTENCIAL CURATIVO DÉRMICO

Qualificação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal do Amazonas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientadora: Cristina Gomes da Silva.

MANAUS – 2023

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

G216d Garcia, Laura Fernanda do Rêgo
Desenvolvimento e caracterização de hidrogel de carboximetilcelulose ativo com óleo essencial de pau rosa com potencial curativo dérmico / Laura Fernanda do Rêgo Garcia . 2023
99 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Cristina Gomes da Silva
Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. Hidrogel. 2. Óleo de pau rosa. 3. Liberação Controlada. 4. Bioativos. I. Silva, Cristina Gomes da. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

AGRADECIMENTOS

A Deus, nosso pai celestial, por ter me conferido o dom da vida e ser capaz de compartilhar este momento maravilhoso com todas as pessoas por quem tenho carinho e admiração;

Agradeço essencialmente o apoio da minha família que sempre acreditou na minha capacidade, sobretudo a minha mãe, Vera, que sempre acreditou na minha competência e potencial, por isso jamais desistiu de mim, não tenho palavras para descrever a quão maravilhosa e amorosa é a minha mãe.

À Thais, que por meio do seu apoio e amor tive forças para superar muitas dificuldades. Obrigada por sempre está ao meu lado em todos os momentos.

À Léia Santos, professor Dr. Nazareno Braga e Prof. Dr. Paulo de Tarso Sampaio, por todo o empenho em conseguir os melhores óleos de pau rosa.

À Universidade Federal do Amazonas (UFAM) por fornecer suporte institucional, instalações para o trabalho experimental e por acreditar na minha capacidade em desenvolver projetos;

À minha orientadora Dra. Cristina Gomes da Silva pelo incentivo, apoio, paciência, comprometimento profissional e orientação durante esses dois últimos anos. Obrigada por ter confiado em mim.

A professora Dra. Antônia Queiroz por todo suporte com as análises antimicrobianas no Laboratório de Bioensaios e Microrganismos da Amazônia.

Ao professor Dr. Rannier Mendonça pelas análises de termogravimetria e calorimetria diferencial no Laboratório de Ensaios Físico-Químicos dos Materiais.

Aos técnicos Paulo e Julio, responsáveis pelo Laboratório de DNA do PPGBiotec, por todo suporte com as análises de UV-Vis.

Aos técnicos Robson e Sr. Orlando, responsáveis pelo Laboratório Temático de Microscopia e Nanotecnologia do INPA, pelas análises de MEV e conhecimento compartilhados.

Ao técnico Samuel Feitoza, responsável pelo Laboratório de Controle de Qualidade, meu sincero agradecimento por toda ajuda.

Ao meu chefe Michael Nascimento por todo apoio e compreensão.

E a todas as pessoas que estiveram comigo, apoiando, pronunciando palavras de incentivo para que eu não desistisse.

RESUMO

Os hidrogéis são pontos centrais de pesquisas atuais em virtude das suas aplicações potenciais em diversos campos; que incluem a engenharia de tecidos como curativos, sensores, filmes para embalagem, transporte de bioativos, entre outros. Nos últimos anos, os materiais para curativos à base de carboximetilcelulose sódica (CMC-Na) têm sido um atrativo devido às suas notáveis propriedades de biocompatibilidade, biodegradabilidade, semelhança tecidual, baixo custo e não tóxico. O óleo essencial extraído da árvore do pau-rosa apresenta propriedades de ação antiinflamatória, analgésica, bactericida e fungicida; com grande potencial para ser aplicado como princípio ativo em matriz polimérica de hidrogel CMC. O óleo de pau-rosa (*Aniba rosaeodora Ducke*) têm como constituinte majoritário o linalol, um monoterpene alcoólico terciário. O sistema de encapsulamento de princípios ativos, proporciona o controle de liberação do ativo, potencializando e prolongando sua ação no meio. Os óleos essenciais encapsulados e incorporados em matriz de hidrogéis reticulados compõem um sistema que promove inibição do crescimento de bactérias e fungos. Diante deste contexto, neste estudo foram desenvolvidos e caracterizados filmes de hidrogel à base de CMC-Na entrecruzados com ácido cítrico e ativos com óleo essencial de pau-rosa (OE) nanoencapsulado em emulsão aquosa, visando futuras aplicações como curativos dérmicos. A metodologia adotada para obtenção das nanocápsulas foi satisfatória, com tamanho médio de 122 nm, analisado por DLS. O filme de hidrogel de H3% e H3%OE apresentaram um grau de intumescimento entre 3500 e 3800 %, e os H5% e H5%OE entre 1000 e 1500 %, com coeficientes de difusão (D) entre $0,15 \cdot 10^{-10}$ m²/s e $1,6 \cdot 10^{-10}$ m²/s. O volume de óleo liberado pela emulsão em 24 h foi de 12,54 mL/L. A análise FTIR possibilitou a caracterização química, elucidando a presença dos principais grupos químicos e suas interações. As análises TGA/DSC constou que as propriedades de estabilidade térmica dos filmes de celulose foram mantidas, mesmo após a adição do OE. O MEV apresentou características morfológicas dos filmes, quanto à uniformidade e homogeneidade da superfície, sem a presença de vazios (*voids*). Todos estes parâmetros indicam que, os filmes de hidrogel desenvolvidos, possuem um excelente potencial para futuras aplicações como curativos dérmicos.

Palavras-chave: hidrogel, óleo de pau rosa, liberação controlada, bioativos.

ABSTRACT

Hydrogels are central points of current research due to their potential applications in several fields, which include tissue engineering, such as dressings, sensors, packaging films, and the transport of bioactive, among others. Recently, materials for dressings based on sodium carboxymethylcellulose (CMC-Na) have been attractive due to their remarkable biocompatibility properties, biodegradability, tissue similarity, low cost, and non-toxicity. The essential oil extracted from the rosewood tree has anti-inflammatory, analgesic, bactericidal, and fungicidal properties, with great potential to be applied as an active ingredient in a CMC hydrogel polymeric matrix. Rosewood oil (*Aniba rosaeodora Ducke*) has linalool as its major constituent, a tertiary alcoholic monoterpene. The encapsulation system of active principles provides control over the release of the active, enhancing and prolonging its action in the environment. Essential oils encapsulated and incorporated into a matrix of reticulated hydrogels make up a system that inhibits the growth of bacteria and fungi. Given this context, this study developed and characterized hydrogel films based on CMC-Na interspersed with citric acid and actives with rosewood essential oil (EO) nano encapsulated in aqueous emulsion, aiming at future applications as dermal dressings. The methodology adopted to obtain the nanocapsules was satisfactory, with an average size of 122 nm, analyzed by DLS. The H3% and H3%OE hydrogel film showed a degree of swelling between 3500 and 3800%, and the H5% and H5%OE between 1000 and 1500%, with diffusion coefficients (D) between $0.15 \cdot 10^{10} \text{ m}^2/\text{s}$ and $1.6 \cdot 10^{10} \text{ m}^2/\text{s}$. The volume of oil released by the emulsion in 24 h was 12.54 mL/L. The FTIR analysis allowed the chemical characterization, elucidating the presence of the main chemical groups and their interactions. The TGA/DSC analyses showed that the thermal stability properties of the cellulose films were maintained, even after the addition of EO. The SEM showed the films' morphological characteristics, regarding the surface's uniformity and homogeneity, without the presence of voids (voids). All these parameters indicate that the developed hydrogel films have excellent potential for future applications as dermal dressings.

Keywords: hydrogel, rosewood oil, controlled release, bioactives.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura linear da celulose.....	33
Figura 2 - Ligações de hidrogênio intramoleculares (----) e intermoleculares (----) na estrutura da celulose.	33
Figura 3 - O grupo substituinte R é indicado para MC, HPMC, EC, HEC e CMC-Na.	35
Figura 4 -Estrutura química da carboximetilcelulose.....	36
Figura 5 -Esquema de obtenção da carboximetilcelulose de sódio.	37
Figura 6 - Carboximetilcelulose reticulada com ácido cítrico.....	38
Figura 7 - Aniba rosaeodora Ducke.....	41
Figura 8 -Estrutura do Linalol.	41
Figura 9 - Comparativo entre a liberação convencional e a modificada.	50
Figura 10 - Esquema do preparo dos filmes poliméricos a partir do método de casting.....	31
Figura 11 - Screening das amostras para determinação da atividade antimicrobiana.	36
Figura 12 - Filmes de hidrogel (a) H3% e (b) H5% sem óleo essencial, respectivamente.	83
Figura 13 - Filmes de hidrogel (a) H3%OE e (b) H5%OE, respectivamente.	83
Figura 14 - Cromatograma do óleo essencial de pau rosa utilizado neste trabalho.....	84
Figura 15 – Curvas do grau de intumescimento (GI, %) dos filmes de hidrogel CMC, sem óleo essencial (H3%, H5%) e com óleo essencial (H3%OE, H5%OE).....	85
Figura 16 – M_t/M_∞ em função do tempo (h) para os filmes de hidrogel.....	87
Figura 17 – Perfil de liberação do OE de pau rosa em solução água/etanol (70 %).	89
Figura 18 - Esquema representativo adaptado de Silva et al. (2021) para preparação do teste CBM e CIM, 1º Step: inoculação das microplacas; 2ª Step: amostras submetidas a controles negativo e positivo.....	90
Figura 19 - Placa de Elisa das amostras de óleo para determinação da atividade antimicrobiana de <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i> . Perante o controle negativo (C-) e positivo (C+).....	91
Figura 20 - Contraprovas das amostras da dosagem mínima inibitória. a) 3 %; b) 1,5 % de OE, seta em verde: indica crescimento da <i>E. coli</i>	92
Figura 21 – Atividade antimicrobiana dos filmes de hidrogel (a) H3%OE e (b) H5%OE contra <i>P. aeruginosa</i>	93
Figura 22 - Micrografia obtida por MEV da superfície dos filmes: a) H3%; b) H5%; c) H3%OE; d) H5%OE.	95
Figura 23 – Espectros de FTIR do OE de pau rosa, CMC, Ácido cítrico e dos filmes de hidrogel H3%OE e H5%OE.	97

Figura 24 - Curvas de TGA obtidas para CMC, OE de pau rosa, filmes H3%, H5%, H3%OE e H5%OE, respectivamente.....	99
Figura 25 - Curvas de DTG obtidas para CMC, OE de pau rosa, filmes H3%, H5%, H3%OE e H5%OE, respectivamente.....	99
Figura 26 - Curvas de DSC obtidas para a) OE; b) CMC; c) filmes H3%, H5%, d) H3%OE e H5%OE.....	102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tipos de pau rosa (folha e tronco): rendimento do óleo, porcentagem de linalol e propriedades físico-químicas.....	43
Tabela 2 - Principais constituintes dos óleos de folhas e madeira da Aniba rosaeodora coletado por Adolph Ducke.	44
Tabela 3 - Fatores relacionados à amostra e fatores instrumentais que geram influência nas curvas de TGA.....	46
Tabela 4 - Concentrações empregadas para preparo dos filmes de hidrogel.....	31
Tabela 5 - Esquema das concentrações das diluições seriada nos poços da placa de Elisa.	36
Tabela 6 - Composição química do óleo essencial de pau rosa.....	84
Tabela 7 - Valores obtidos n e k a partir dos gráficos utilizando a Lei de Fick.	87
Tabela 8 - Valores obtidos $D (m^2/s) \times 10^{10}$ dos gráficos utilizando a Lei de Fick.....	88
Tabela 9 - Valores obtidos n e k a partir do gráfico utilizando a equação de Fick.	89
Tabela 10 - Resultados de CIM (%) e CBM (%) do ensaio antimicrobiano para os diferentes microrganismos gram positivo e gram negativo.....	91
Tabela 11 - Resultados da análise termogravimétrica, perda de massa (%) em função da temperatura (°C).....	100

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação (1).....	45
Equação (2).....	45
Equação (3).....	46
Equação (4).....	47
Equação (5).....	47
Equação (6).....	47
Equação (7).....	32
Equação (8).....	32
Equação (9).....	33
Equação (10).....	33

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

%	- Percentual
°C	- Graus Celsius
α	- Alfa
β	- Beta
cm	- Centímetro
nm	- Nanômetro
v	- Volume
g	- Grama
mL	- Mililitro
n	- Ordem de Fick
h	- Hora
min	- Minutos
mg	- Miligramas
rpm	- Rotações por minuto
m/m	- Massa por massa
UV	- Ultravioleta
UFC	- Unidade de formação de colônia
v/v	- Volume por volume
Pa	- Pascal
kV	- Quilovolts
pH	- Potencial Hidrogeniônico
OE	- Óleo essencial
GP	- Grau de polimerização
GS	- Grau de substituição
OH	- Hidroxila
GI	- Grau de intumescimento
W_d	- Massa inicial seca
W_t	- Massa da amostra em cada intervalo
meq	- Massa do hidrogel no equilíbrio
k	- Constante geométrica
m/v	- Massa por volume

L	- Litro
RI	- Índice de Retenção
Log	- Logaritmo
D	- Coeficiente de Difusão
π	- Pi
t	- Tempo
C	- Carbono
O	- Oxigênio
H	- Hidrogênio
R ²	- Coeficiente de correlação
μ L	- Microlitro
ns	- Nanosegundo

SUMÁRIO

RESUMO.....	1
ABSTRACT	3
LISTA DE FIGURAS	3
LISTA DE TABELAS.....	5
LISTA DE EQUAÇÕES	6
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS	7
INTRODUÇÃO.....	30
1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	32
1.1 Polímeros	32
1.2 Celulose.....	32
1.3 Derivados de Celulose	34
1.3.1 Hidrogéis de Carboximetilcelulose (CMC).....	36
1.4 Óleos bioativos.....	40
1.4.1 Óleo essencial de pau rosa.....	40
1.5 Técnicas de Caracterização do Hidrogel e OE de pau rosa	45
1.5.1 Termogravimetria (TGA)	45
1.5.2 Análise Térmica Diferencial (DTA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) 46	
1.5.3 FTIR.....	48
1.5.4 Processo de Intumescimento	48
1.5.5 Liberação Controlada de Ativos.....	49
1.5.6 Microscopia Eletrônica de Varredura.....	50
1.5.7 Cromatografia Gasosa	51
1.5.8 Biofilmes ativos antimicrobianos	52
1.5.9 Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais	53
2. OBJETIVOS.....	30

2.1	Objetivo geral.....	30
2.2	Objetivos específicos	30
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	30
3.1	Materiais	30
3.2	Preparo das nanocápsulas de OE de pau rosa	30
3.3	Preparo dos hidrogéis.....	30
3.4	Caracterização dos Hidrogéis	32
3.4.1	Ensaio de Intumescimento.....	32
3.4.2	Estudo de Liberação Controlada do ativo.....	34
3.4.3	Atividade antimicrobiana	34
3.4.3.1	Atividade antimicrobiana do OE de pau rosa.....	35
3.4.3.2	Atividade antimicrobiana dos filmes.....	37
3.4.4	Análise Microestrutural por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier – FTIR.....	37
3.4.5	Cromatografia Gasosa - CG	37
3.4.6	Análise termogravimétrica e Calorimetria de exploratória diferencial – TGA/DSC 38	
3.4.7	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	38
3.4.8	Espelhamento dinâmico de luz (DLS).....	38
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
4.1	Filmes de Hidrogéis: Análise morfológica	83
4.2	Cromatografia Gasosa.....	84
4.3	Ensaio de Intumescimento	85
4.4	Liberação do ativo.....	88
4.5	Atividade Antimicrobiana.....	90
4.5.1	Atividade Antimicrobiana do OE de pau rosa.....	90
4.5.2	Atividade antimicrobiana dos filmes de hidrogel.....	93
4.5.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	95

4.7	FTIR.....	97
4.8	Análise Térmica.....	98
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	83
6.	REFERÊNCIAS	85

INTRODUÇÃO

Os hidrogéis são estruturas tridimensionais hidrofílicas formadas por reticulação de cadeias poliméricas, os quais se tornam capazes de reter extensa quantidade de água ou fluidos em sua matriz (SHEN et al., 2016; TAN et al., 2016; HEBEISH et al., 2015; VARAPRASAD et al., 2017). Essa marcante capacidade de retenção de líquidos, depende do grau de reticulação das cadeias poliméricas por ligações cruzadas físicas ou químicas, dadas por ligações de hidrogênio ou ligações covalentes (GHORPADEA, 2017; BRUNNER et al., 2006).

O ácido cítrico é um ácido orgânico natural que contém três grupos carboxílicos presentes em frutas como a laranja, classificado como um aditivo alimentar seguro. É um dos mais utilizado com agente reticulante para produção de hidrogéis. Sua estrutura compreende em uma hidroxila e três grupos carboxílicos, este pode ser encontrado no organismo humano como produto metabólico do Ciclo de Krebs. Além disso, para que a reação de reticulação do ácido cítrico ocorra, este não requer altas temperaturas de cura (YANG et al, 2004; SHI et al, 2008; KANIKIREDDY et al., 2020; CAPANEMA et al., 2018; KANAFI et al., 2018).

Em seu estado de intumescimento, o hidrogel possui propriedade de maciez e flexibilidade semelhante ao tecido da pele. Eles apresentam um efeito anódino e refrescante capaz de reduzir a dor quando associado a troca de curativos. Ademais, a leve aderências dos hidrogéis proporciona a facilidade de remoção da ferida sem provocar mais lesões ao tecido em cicatrização. A translucidez, apresentada em alguns curativos de hidrogel, também possibilitam o acompanhamento do processo de cicatrização, excluindo a necessidade de remoção (PATEL & MEQUANINT, 2009; AHMED, 2015; KANIKIREDDY et al., 2020; GUPTA et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2013; BURD, 2007; PÉREZ-MARTÍNEZ et al., 2016; GHERMAN et al., 2018; CALÓ & KHUTORYANSKIY, 2015).

Já existem diversos curativos hidrocolóides no mercado e, em sua maioria, apresentam em sua composição carboximetilcelulose (*Hydrocare*® e *Cremer Advanced*®), alginato de cálcio (*M-Tec*®), espumas, colagenase, pectina e gelatina (*Cremer Advanced Regular*®) e alginato de sódio (BOSCH, 2016; SMANIOTTO, 2010; LIMA; DE SOUZA; ROSA, 2019; OLIVEIRA, 2020; DEVROCKET, 2019; BRASIL, 2023).

Vale ressaltar o crescente aumento em pesquisas que buscam a aplicação de biomateriais combinados com incorporação de fármacos, uma vez que apresentam uma possibilidade interessante para estimular o processo de cicatrização (ARAÚJO, 2017; LIMA, 2018; LOPES,

2018; LOWISE FERREIRA SÁ et al., 2020; PISTORE et al., 2014; PONTES, 2020; PORTO, 2020).

Para que sua aplicação seja de um agente transportador de bioativos, materiais atóxicos e biocompatíveis devem ser considerados para sua formulação. A carboximetilcelulose de sódio (CMC-Na) é um derivado iônico da celulose com grande aplicação em alimentos, cosméticos e farmacêuticos, isso se deve em função da excelente biocompatibilidade e propriedades biodegradáveis. Seu baixo custo e abundância é um dos grandes atrativos para a escolha e aplicação em estudos de curativos hidrocoloides (BASU et al., 2017; HEBEISH et al., 2013; DEERENBERG et al., 2011; DITZEL et al., 2012; BASU et al., 2018; FARIA, 2021; MONTEIRO et al., 2020).

Outros materiais oriundos de fontes naturais e renováveis, são os óleos essenciais. Estes despertam a atenção das indústrias farmacológicas, cosméticas e medicinal, além dos setores alimentícios. A literatura evidencia o grande volume de pesquisa em que os óleos essenciais e seus principais princípios ativos vêm sendo manipulados em sistemas reticulados como o hidrogel para estudo e aplicação de sistemas de encapsulamento. Diversos estudos investigam sua principal função, a liberação controlada e progressiva dos princípios ativos para o meio. Este sistema potencializa a aplicação dos óleos essenciais em diversos setores, da área da saúde. O óleo essencial de pau rosa (*Aniba rosaeodora*) tem como constituinte majoritário o linalol, um monoterpene alcoólico, que possui ação analgésica, antiinflamatória, fungicida, bactericida (LAWLESS, 2002; PRICE & PRICE, 1999).

Mediante a excepcional aceitação no corpo humano e ao número crescente de aplicações como biomaterial, este estudo visa desenvolver e caracterizar hidrogéis à base de carboximetilcelulose de sódio ativo com o óleo de pau rosa para posterior avaliação da liberação no combate à fungos e bactérias da pele, visando a obtenção de um potencial curativo dérmico.

1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 Polímeros

Os polímeros são macromoléculas definidas como sequenciais repetidos de unidades denominadas meros. Os polímeros podem ser classificados de acordo com a sua origem, método de preparação, formação, estrutura molecular, cadeia polimérica, propriedades mecânicas e resistência à degradação (CANEVAROLO JR., 2006).

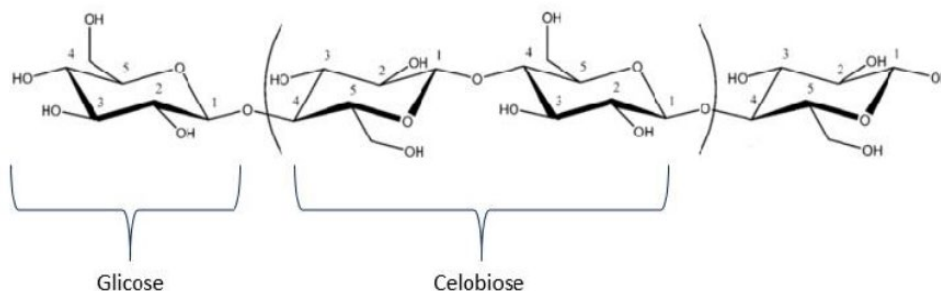
De acordo com a origem de cada material, eles podem ser definidos como sintéticos, naturais e semissintéticos (CUCCI et al., 2016). Os polímeros sintéticos foram desenvolvidos a partir de fontes fósseis para atender a demanda de materiais com propriedades físico-químicas específicas. No sentido contrário aos sintéticos, os polímeros naturais são provenientes de fontes renováveis, e no geral atendem as demandas por materiais sustentáveis. Além desses, os polímeros semissintéticos agregam as características de produtos naturais modificados quimicamente, para o aperfeiçoamento às suas propriedades iniciais (SIONKOWSKA, 2011; NAIR & LAURENCIN, 2007; FATHI & BARAR, 2017).

Nos últimos anos, o estudo, uso e aplicação de materiais poliméricos semissintéticos vem crescendo em diversos setores, sendo empregados amplamente na indústria cosmética, alimentícia e farmacêutica (EARLE et al., 2016). Dentre os polissacarídeos semissintéticos mais utilizados podemos destacar os derivados de celulose, atuando como agentes espessantes e gelificantes em soluções; formadores de filmes para revestimento e proteção de outros materiais; ou ainda atuando como matriz para liberação ou encapsulação de substâncias (SAHA & BHATTACHARYA, 2010).

1.2 Celulose

A celulose é uma macromolécula polimérica natural, abundantemente disponível na natureza. Esta foi caracterizada primeiramente em 1838 por Anselme Payen como um sólido fibroso e resistente. Posteriormente, em 1920, Hermann desvendou sua estrutura química, definida como um homopolissacarídeo linear formado por β -D-glucopirranose e ligações glicosídicas β (1 \rightarrow 4) (Figura 1). (STAUDINGER H., 1920; KLEMM et al., 2005; EICHHORN et al., 2010; PERCEC & XIAO, 2020; ISCUSSATI, 2020).

Figura 1 - Estrutura linear da celulose.



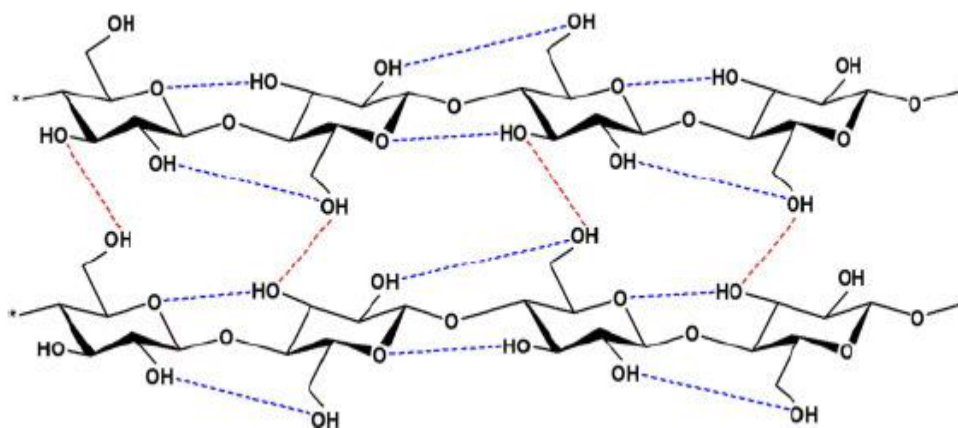
Fonte: ISCUISSATI (2020); NECHYPORCHUK et al. (2015).

A celobiose, a qual é denominada a unidade de repetição, apresenta-se com seis grupos hidroxila livres que constituem interações do tipo ligações de hidrogênio intermoleculares e intramoleculares responsáveis pela estabilidade química e estrutural (Figura 2) (ISCUISSATI, 2020; KLEMM et al., 2005).

Decorrente destas propriedades de interação, a celulose é termicamente estável em um range entre 200 e 300 °C, possui alta resistência à tensão e baixa solubilidade na maior parte dos solventes (ISCUISSATI, 2020; MOON et al., 2011; SILVA et al., 2009).

O grau de polimerização da celulose (GP) é definido pelo número das suas unidades de anidroglicose, na forma de $(C_6H_{10}O_5)_n$. Ao longo da cadeia de celulose estão distribuídos centros ativos de grupos hidroxilas, os quais são responsáveis por conferir a essa macromolécula uma estrutura semicristalina e com regiões de alta cristalinidade proporcionando de rigidez (KLEMM et al., 2005; BARUD, 2006; WERTZ et al., 2010).

Figura 2 - Ligações de hidrogênio intramoleculares (----) e intermoleculares (---) na estrutura da celulose.



Fonte: Iscuissati (2020); Nechyporchuk et al. (2015).

A biossíntese da celulose é proveniente da sacarose gerada durante a fotossíntese na estrutura das plantas. Tal fenômeno sucede em complexos terminais que são formados por várias proteínas, como a celulose-sintase. Nesse processo a sacarose é quebrada em unidades de glicose, para serem empregadas durante os processos de síntese para produzir a celulose. Por ser insolúvel em água, as estruturas formadas são liberadas na superfície externa da célula vegetal (SUCUPIRA, 2018; NELSON & COX, 2011; PARTIDA, 2018).

A celulose pode ser obtida no meio ambiente em diferentes fontes vegetais, animais e microbiológicas. Nas plantas, a celulose está alocada na região da parede celular, junto a hemicelulose e a lignina, contribuindo para as propriedades mecânicas das fibras. Além disso, também pode ser produzida durante o metabolismo de carboidratos hidrolisados de alguns microrganismos, entre bactérias e fungos, e animais como os tunicados (BROWN, 2004).

No que diz respeito a processos industriais, a principal fonte de celulose é adquirida a partir da madeira de eucalipto, composta por celulose (40 a 45 %), lignina (25 a 30 %), hemicelulose (30 %) e extrativos (até 4 %) (VILELA, 2010).

Estudos desenvolvidos pela Embrapa demonstram a grande possibilidade de inserção da celulose bacteriana em ramos industriais com expectativas de redução de 70% do custo. Essa celulose é obtida através de meios de cultura ricos em carboidratos, são mecanicamente e fisicamente mais resistentes que a celulose vegetal (GAMA et al., 2016).

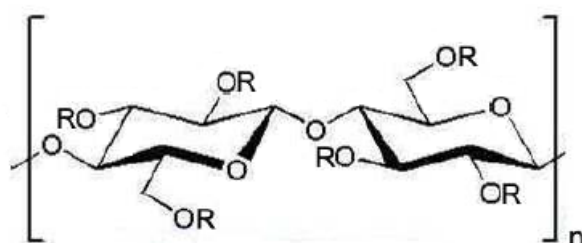
1.3 Derivados de Celulose

Os derivados celulósicos apresentam propriedades diferenciadas da celulose original. Tal desenvolvimento depende da reatividade de grupos metila e etila, além de fatores como a uniformidade e grau de substituição dos grupos -OH existentes em sua estrutura química (VILELA, 2010; KLEMM et al., 2009; EDGAR et al., 2001; GEYER *et al*, 1994; BARUD *et al*, 2008; OLIVEIRA, 2013).

A relevância comercial desses derivados pode ser mensurada pela quantidade de aplicações viáveis, como na produção de filmes para processos de separação (ARAÚJO, 2019; RIBEIRO, 2016), espessantes na indústria alimentícia (LEITE, 2021; BRITO, 2020), matrizes para liberação controlada de fármacos, formulação de géis e produtos cosméticos na indústria farmacêutica (ANGELOTTI, 2020; MENDONÇA *et al*, 2020; SOUSA *et al*, 2016; AMORIM, 2020; BIANCHET, 2021; SUCUPIRA, 2018). Além disso, tem sua aplicação na construção civil através do uso em argamassas colantes (VITORINO, 2019; SILVA, 2018).

Entre os derivados de celulose destacam-se nitrato de celulose, acetato de celulose, carboximetilcelulose (CMC), xantato de celulose, metilcelulose (MC), hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), etilcelulose (EC), hidroxietilcelulose (HEC). Vale ressaltar que a reatividade dos grupos hidroxila (OH) (Figura 3) presentes na celulose determina o tipo de derivado (SUCUPIRA, 2018; SOUZA *et al*, 2015; OLIVEIRA, 2013; SHAGHALEH *et al.*, 2018; HEINZE, 2018).

Figura 3 - O grupo substituinte R é indicado para MC, HPMC, EC, HEC e CMC-Na.



MC	R= H, CH ₃
HPMC	R= H, CH ₃ , CH ₂ CH(OH)CH ₃
EC	R= H, CH ₂ CH ₃
HEC	R= H, CH ₂ CH ₂ OH
NaCMC	R= H, CH ₂ COONa

Fonte: SANINO *et al*, 2009.

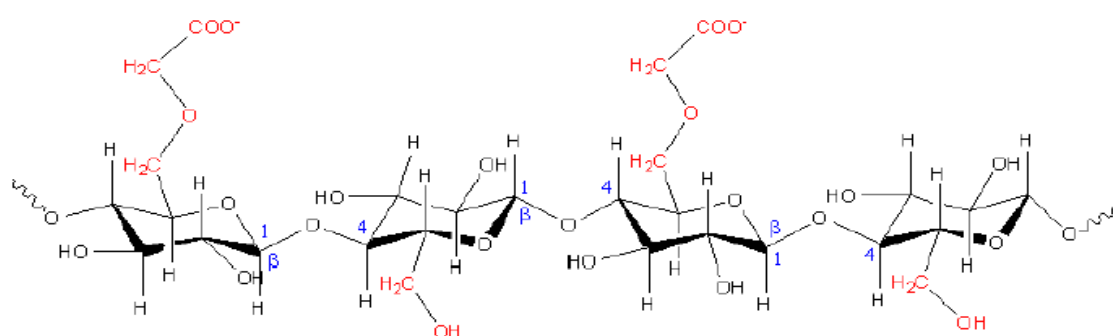
Um dos motivos para a produção dos derivados da celulose deve-se a circunstância de a celulose possuir baixo grau de solubilidade na grande maioria dos solventes. Conforme abordado previamente, a baixa solubilidade é resultante de dois fatores. O primeiro deles refere-se aos grupos hidrofílicos existentes por intermédio das ligações de hidrogênio intermolecular e intramolecular que impossibilita a interação com os solventes. A outra propriedade é atribuída a regiões de cristalinidade presentes em sua estrutura, atenuando o alcance dos solventes aos grupos polares livres (YE & FARRIOL, 2007; OLIVEIRA, 2013; KLEMM *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2009; MELLO, 2021; TRINDADE, 2014).

Os hidrogéis de carboximetilcelulose são redes tridimensionais de polímeros com habilidade hidrofílica e de intumescimento. A quantidade de água contida nessa rede pode ser estabelecida pela estrutura da cadeia polimérica e por fatores como temperatura, força iônica e pH da solução de água em contato com o polímero (SANINO & DEMITRI, 2009).

1.3.1 Hidrogéis de Carboximetilcelulose (CMC)

A carboximetilcelulose (CMC) é um polímero linear, aniônico, inodoro (Figura 4). A CMC é comumente empregada na indústria alimentícia e farmacêutica, decorrente da sua biocompatibilidade, biodegradabilidade por bactérias, solúvel em água fria ou quente e translúcido quando em solução (COVA, 2000; JAHIT *et al*, 2016). Habitualmente é um sal sódico, constituído através das estruturas β -D-glicose e 2-O-carboximetil- β -D-glicopirranose, vinculadas via ligação β -1,4-glicosídica (HABIB *et al.*, 2018).

Figura 4 -Estrutura química da carboximetilcelulose.



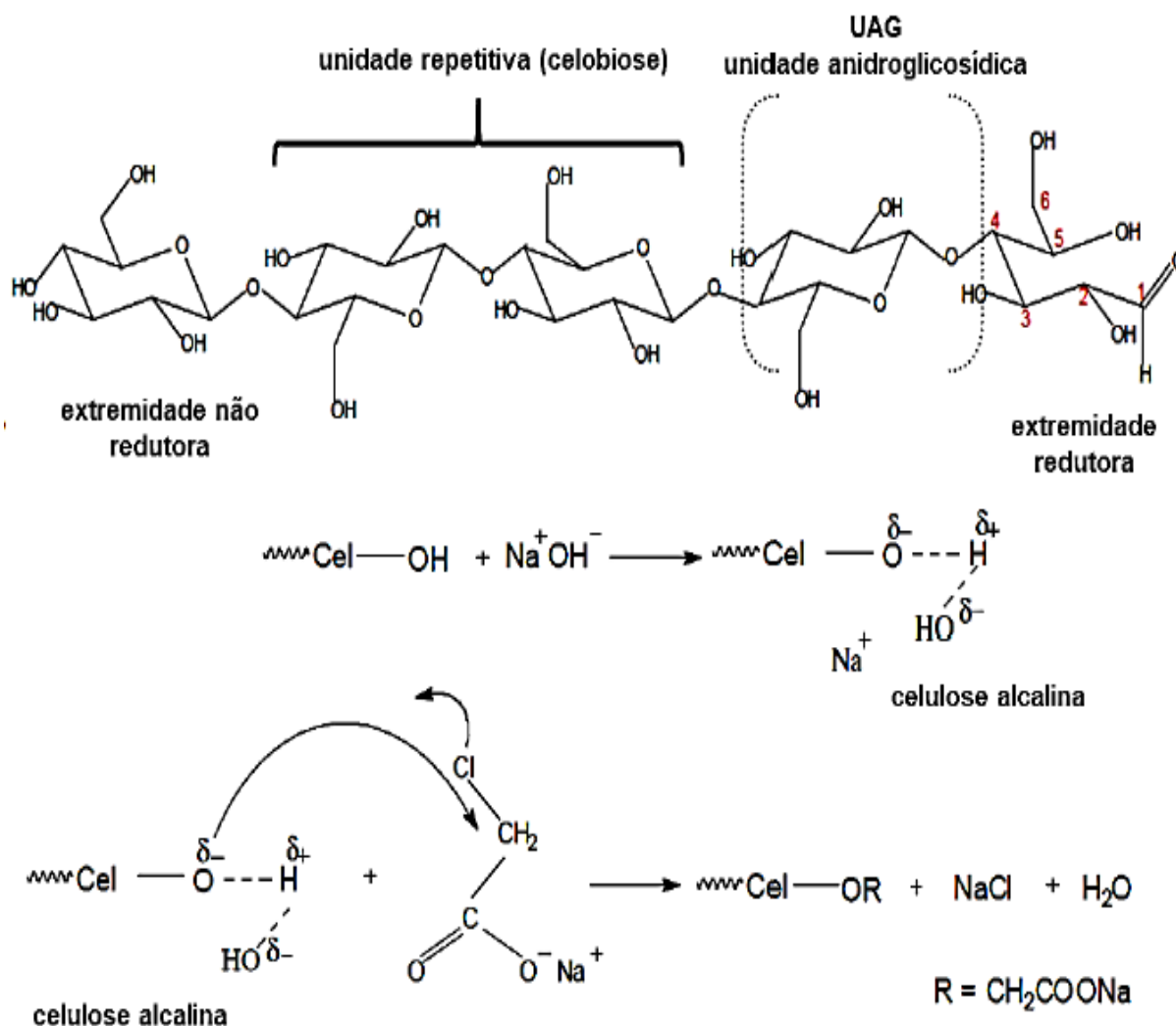
Fonte: HABIB *et al.* (2018).

A CMC foi sintetizada pela primeira vez em 1918 e pouco tempo depois, em 1920, já estava sendo produzida comercialmente na Alemanha (BALSER *et al*, 1986). A CMC é obtida via reação de Williamson, a partir do tratamento da celulose com ácido monocloraacético perante o excesso de hidróxido de sódio (NaOH) em condições controladas. O processo de alcalinização tem como objetivo intensificar as propriedades nucleofílicas das hidroxilas, para posterior ataque ao eletrófilo presente nos carbonos do ácido monocloraacético. A Figura 5 reproduz a reação da celulose que motiva a obtenção da carboximetilcelulose de sódio (LEAL, 2017; CERRUTI, 2010).

O principal solvente da CMC é a água, o que confirma a relevância de sua demanda e aplicação. Quando em contato com a água, a CMC, apresenta alto grau de solubilidade em meio aquoso, tanto a quente quanto a frio, tendo potencial de ser incorporada em diversas proporções. Contudo, a viscosidade da solução torna-se um fator limitante, isto é, quanto maior for quantidade de CMC presente em solução, maior a possibilidade de obtenção de um gel altamente viscoso. (GILMARA, 2000; CARASCHI, 1997; NICHOLSON, 1985; OLIVEIRA, 2013; MELO, 2019).

É relevante destacar que, a reatividade da celulose em sistemas heterogêneos baseia-se não somente da sua estrutura a nível molecular, supramolecular ou morfológica como dos atributos do meio onde a reação acontece. Dito isso, os parâmetros elementares da CMC são o grau de polimerização (GP), a viscosidade e o grau de substituição (GS) (HABIB et al., 2018; HAN; YU; WANG, 2018). O maior destaque é concedido ao GS uma vez que este parâmetro coordena os substituintes estruturais na molécula de CMC e que é bastante utilizado como base para o preparo de filmes, géis e hidrogéis (OLIVEIRA, 2013; KAMEL et al., 2008).

Figura 5 -Esquema de obtenção da carboximetilcelulose de sódio.



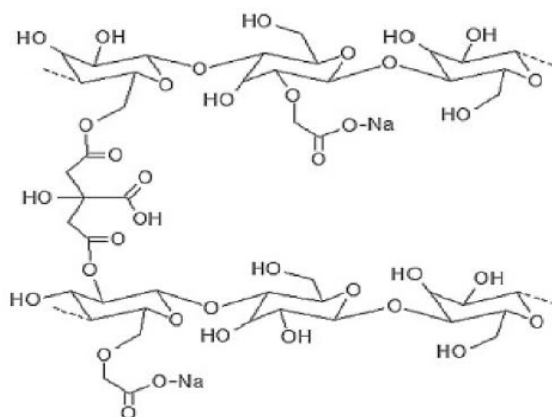
Fonte: CERRUTI (2010).

Para o desenvolvimento de materiais a partir da CMC, é fundamental estabelecer o grau e tipo de reticulação a ser empregada. O grau de reticulação permite a melhoria das propriedades

do hidrogel, pois aumenta consideravelmente a sua resistência mecânica em função do aumento das ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas. Esse processo pode ser de origem física ou química. A reticulação física, frequentemente, sucede na presença de íons, onde grupos carboxílicos comunicam-se eletrostaticamente com metais diferenciados, por exemplo o Cobre (Cu^{2+}), Alumínio (Al^{3+}), Lítio (Li^+), Ferro (Fe^{3+}) e Cálcio (Ca^{2+}) (BRITTO; ASSIS, 2009; SILVA, 2020; GYAWALLI et al., 2010). Este tipo de combinação pode afetar diretamente propriedades como estabilidade térmica, formas de degradação, inchamento, entre outros, em virtude da afinidade eletrônica, carga ou tamanho desses íons. Embora esse tipo de reticulação apresentem vantagens, ela é reversível, o que reduz as opções de aplicação desse material por intervalos de tempo mais longos (KE et al., 2014; KANAFI et al., 2018).

A reticulação química é aplicada com o intuito de solucionar o obstáculo da estabilidade das ligações de entrecruzamento das cadeias do hidrogel. A reticulação das cadeias poliméricas é proporcionada através das ligações com reagentes específicos, tais como, aldeídos, ácido fumárico, cítricos ou epícloridrina, resultando em uma estrutura com maior resistência, menor flexibilidade e maior resistência à degradação (MAZOUZI et al., 2019; NORDIN et al., 2018; KANAFI et al., 2018; HASANAH et al., 2015).

Figura 6 - Carboximetilcelulose reticulada com ácido cítrico.



Fonte: CAPANEMA et al. (2018).

O ácido cítrico é um dos reagentes mais utilizados para o entrecruzamento dos hidrogéis. O ácido cítrico reage com hidroxilas mais próximas formando ligações ésteres com a cadeia de Na-CMC (Figura 6). Esse ácido tem desempenho satisfatório como agente reticulante, possibilitando a redução da solubilidade e o aumento de regiões suplementares para outras ligações. Esta configuração de reticulação favorece a incorporação de componentes bioativos,

tanto por ligações de hidrogênio quanto por interações iônicas, promovendo a obtenção de hidrogéis elásticos (GHORPADEA et al., 2017; CAPANEMA et al., 2018; KANAFI et al., 2018). A reticulação é de grande importância para sustentação da estrutura do hidrogel, principalmente durante o intumescimento, melhorando a resistência mecânica e reduzindo a possibilidade de sua fragmentação (GHORPADEA et al., 2017).

Kanafí et al. (2019) desenvolveram um hidrogel de carboximetilcelulose sódica (Na-CMC) e poli(óxido de etileno) (PEO) para aplicação de fármacos controlados. Os autores utilizaram o ácido cítrico como agente reticulante e avaliaram o comportamento de inchamento do hidrogel baseado em quatro parâmetros: proporção entre a Na-CMC/PEO, porcentagem do ácido cítrico, temperatura e duração da cura. A partir dos estudos realizados por Kanafí e colaboradores, verificou-se que tanto o grau de intumescimento como a estabilidade térmica do filme de hidrogel melhoraram quando a Na-CMC foi composta de PEO em comparação com Na-CMC pura. Além disso, comprovou-se que o hidrogel de Na-CMC/PEO tem grande potencial para ser empregado na liberação controlada de fármacos para aplicações biomédicas.

Zheng et al. (2015) produziram um hidrogel de carboximetilcelulose sódica auto regenerável também com o ácido cítrico como agente reticulante. Esse hidrogel foi desenvolvido na forma de pasta e, posteriormente, liofilizado onde se possibilitou avaliar a ação da reticulação empregando várias proporções diferentes de saturação, sendo a mais eficiente de 8 mol/L. Neste parâmetro, o hidrogel apresentou-se com ampla resistência mecânica e ótima eficiência de cura de 81,2 % 2,9 % para um período de 12 horas à temperatura de 25 °C, isto é, pode-se reiterar a sua aplicabilidade como curativo.

Rakhshaei & Namaz produziram um hidrogel de carboximetilcelulose de sódio (Na-CMC) combinando sílica e óxido de zinco saturado (ZnO-MCM-41) como agente carreador de fármaco. Os pesquisadores também utilizaram o ácido cítrico como agente reticulante evitando os agentes reticulantes considerados tóxicos. A princípio verificaram que os hidrogéis de Na-CMC/ZnO eram decompostos logo nas primeiras horas e, para aumentar essa vida útil, incorporaram a sílica MCM-41. Tal fato proporcionou um aprimoramento no que diz respeito à permeabilidade ao gás, resistência a tração, intumescimento e liberação continuamente prolongada do antibiótico tetraciclina.

Chen et al. (2020) desenvolveram um hidrogel resistente e auto curável introduzindo uma reação entre carboximetilcelulose de sódio, poli (ácido acrílico) (PAA)-Fe³ com suporte de cloreto de sódio como agente reticulante. Como resultado, apresentaram-se amostras com ótimos parâmetros de elasticidade, resistência à tração de fratura e intumescimento.

1.4 Óleos bioativos

Existe uma diversidade de óleos direcionados a cicatrização de feridas, em que estes apresentam bioatividade que, em boa parte, são compostos de monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides (ALCÂNTARA et al., 2010; BIZZO et al., 2009; SOARES, 2019).

Tais óleos essenciais (OE) são produtos naturais constituídos por uma pluralidade de atributos biológicos, resultando amplamente no seu uso como cicatrizante. Os OE são descritos como metabólitos secundários de plantas, isto é, são fitoconstituintes e atuam na defesa contra herbívoros e possíveis patógenos, além da proteção ultravioleta. (BRANDT et al., 2021; SÁ et al., 2020). Ademais, são empregados desde o Egito antigo para fins estéticos e medicinais, permanecendo como aliado das indústrias agro alimentícias, farmacêuticas, perfumaria e cosmética até o presente momento. Essa duradoura aceitação constitui-se em sua variedade de características terapêuticas, como: atividade antimicrobiana, oxidante, fungicida, larvicida, analgésica, antitumoral, antiinflamatória, inseticida e cicatrizante (ANDRADE, et al., 2012; BUSATO et al., 2014; CAVALCANTI, et al., 2012; MACHADO, 2011; MORI, et al., 2016; SILVA et al., 2018; SOARES et al., 2019).

1.4.1 Óleo essencial de pau rosa

O pau rosa (*Aniba Rosaeodora* Ducke) pertence à família *Lauraceae* e pode ser encontrado a partir de outros nomes vernáculos como: pau rosa mulatinho, pau rosa-itaúba (Brasil), pau rosa-imbaúba, *rosewood* (Guiana), *bois de rose felelle* (Guiana Francesa) e *enclit rosenhout* (Suriname) (SANTOS, 2017).

Aniba Rosaeodora é uma árvore resistente que pode ser encontrada em áreas de terra firme em toda a bacia Amazônica, dentre os estados brasileiros do Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Roraima e, em porções amazônicas da Colômbia, Guiana, Peru e Venezuela (DUCKE, 1938; SUDAM, 1972). Identifica-se pelo seu grande porte, sendo capaz de alcançar 30 metros de altura e 2 metros de diâmetro, possuindo uma casca pardo-amarelada ou avermelhada, com floração de outubro a fevereiro e frutificação de novembro a março (BORGES, 2012; LIMA, 2006; MAGALHÃES & ALENCAR, 1979; MAIA & MOURÃO, 2016; OHASHI & ROSA, 2004; SANTOS, 2017).

Esta árvore dispõe de enorme relevância econômica no mercado internacional, especialmente para indústria cosmética, em virtude da extração do seu óleo essencial. O OE de

pau rosa é frequentemente definido pela sua cor amarelo palha, aroma característico e densidade inferior a água, sendo usualmente solúvel na maioria dos solventes orgânicos, Figura 7 (ARAÚJO et al., 1971; LIMA, 2006; MAIA & MOURÃO, 2016; PAES, 2016).

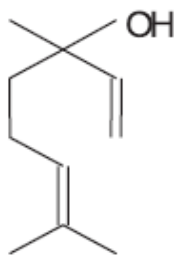
Figura 7 - Aniba rosaeodora Ducke.



Fonte: MAIA & MOURÃO, 2016.

Este tem como constituinte majoritário o linalol, cerca de 80-97 %, que pode ser transformado em diversos derivados de valor para as indústrias de aroma e cosméticos (Figura 8). O linalol é um monoterpeno alcoólico, precursor do acetato de linalila, um excelente fixador de fragrâncias (CHAAR, 2000; MAIA & MOURÃO, 2016; SILVA et al., 2003).

Figura 8 -Estrutura do Linalol.



Fonte: SILVA et al., 2003.

O rendimento deste OE é baixo e varia de 0,7 % a 1,2 %, correspondendo apenas a metade do rendimento real de óleo existente na planta, devido à baixa eficiência das destilarias de campo (cerca de 50 %). O rendimento e a qualidade do óleo também estão associados a outros fatores, como o período de precipitação de chuvas conforme estudos sazonais (Maia & Mourão, 2014), consequentemente comercializado no mercado nacional e internacional a elevados valores, aproximadamente 10 mL de óleo saem por \$ 81,65 (New Direction Aromatics.com, 2022).

No estudo realizado por Maia & Mourão (2014), o óleo extraído das folhas variou de 1,6 % para folhas coletadas em setembro a 2,2 % para folhas coletadas em outubro. Todavia essa variação é explicada pela fenologia da planta conforme explica o estudo realizado por Araújo et al. (1971). O maior rendimento de óleo ocorre entre novembro e maio, quando ocorre a troca das folhas. Nesses meses, o rendimento médio chega até 2,0 %. O maior teor de óleo extraído ocorre em março (2,2 %), que coincide com a estação chuvosa e, portanto, com o aumento da precipitação na Amazônia (MAIA et al., 2007).

De acordo com os produtores de óleo, para destilar um barril de óleo de pau rosa (~ 180 L), são necessários de 12 a 13 toneladas de cascos do tronco de madeira ou até mais dependendo do tipo de pau rosa. O óleo pode apresentar diferentes colorações e teores, perante a fonte de pau rosa como pode ser observado em outros estudos (GOTTLIEB et al., 1964; FAO, 1995; MAIA et al., 2007; May & Barata, 2004; OHASHI & ROSA., 2004).

As folhas mais velhas contribuem para obtenção de maiores porcentagens de α -terpinol, 4-terpinol e óxidos de linalol que são resultados diretos do processo oxidativo da planta, enquanto as folhas mais jovens são ricas em linalol. O baixo teor de linalol constatado nos meses de março (68 %) e abril (74,8 %) pode estar associado à maior concentração de água dentro das células que contém óleo (MAIA et al., 2007).

No que diz respeito à madeira, Maia et al. (2007) verificou que os troncos mais velhos apresentam maiores quantidades de α -terpinol, a parte oxidada do linalol. Tal concentração tende a elevar durante o processo de extração, caso o produtor de óleo corte a madeira do tronco próxima ao solo para obter maior escamação.

O teor de linalol e o rendimento do óleo variam também de acordo com o tipo e parte do pau rosa que é realizado a extração. O maior teor de linalol é encontrado no óleo extraído dos troncos de pau rosa-tachi (84,8 %) e o menor no pau rosa-preciosa (75,3 %). Enquanto nas folhas, o teor de linalol tem pouca variação, cerca de 83,9 % para pau rosa-preciosa e 79,7 % para pau rosa-itaúba (CHANTRAINE et al., 2011).

No processo extrativista, geralmente prefere-se o pau rosa-preciosa por conta do alto índice de rendimento de óleo e ignoram o teor de linalol. Entretanto, o mercado internacional exige que o óleo de pau rosa tenha, pelo menos, 85 % de linalol (MAIA et al, 2007). A porcentagem de linalol, densidade, índice de refração e rendimento do óleo para cada tipo específico de pau rosa pode ser observado na Tabela 1 e os principais constituintes do óleo na Tabela 2.

Tabela 1 - Tipos de pau rosa (folha e tronco): rendimento do óleo, porcentagem de linalol e propriedades físico-químicas.

Amostras	Parte da Planta	Óleo (%)	Linalol (%)	Densidade	Índice de Refração
Pau rosa- Preciosa	Folha Tronco	3,1 3,4	83,9 75,3	0,9045 0,9070	1,4669 1,4674
Pau rosa- tachi	Folha Tronco	2,6 2,9	82,1 84,8	0,8920 0,8885	1,4679 1,4660
Pau rosa- itaúba	Folha Tronco	2,6 1,8	79,7 78,9	0,9000 0,9090	1,4687 1,4610
Pau rosa- imbaúba	Folha Tronco	2,4 2,0	79,8 76,9	0,9095 0,9035	1,4690 1,4703

Fonte: MAIA et al., 2007.

O óleo de pau rosa tem vários usos medicinais: analgésico, anticonvulsivante, antidepressivo, antisséptico, afrodisíaco, bactericida, estimulante celular, regenerador de tecidos, tônico e para insônia (LAWLESS, 2002; PRICE & PRICE, 1999).

As propriedades sedativas e anticonvulsivantes do linalol em convulsões relacionadas ao glutamato, a inibição do potencial de ação do composto em roedores e a inibição da adenilato ciclase nas retinas de pintos foram relatadas (ELISABETSKY et al., 1995, 1999; ALMEIDA et al., 2009; SOUSA et al., 2010; SAMPAIO et al., 2012). Também foi relatado que o óleo de pau rosa rico em linalol apresentou atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella*

pneumoniae, *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Vibrio parahaemolyticus* e *Candida albicans* (AMAZONAS, 2012; NASCIMENTO et al., 2007; PIMENTEL et al., 2018).

Tabela 2 - Principais constituintes dos óleos de folhas e madeira da Aniba rosaeodora coletado por Adolph Ducke.

Constituintes	RI	Óleo das Folhas (%)	Óleo dos Troncos (%)
α -Pinoeno	939	0,4	0,1
β -Pinoeno	953	0,4	0,3
Limoneno	1029	0,1	0,7
T-Óxido de Linalol	1074	0,8	0,7
C-Óxido de Linalol	1088	0,7	0,6
Linalol	1098	85,5	84,8
T-Óxido de Linalol (Linalool oxide (Piranóide)	1176	0,3	0,1
α -Terpinol	1187	0,1	2,9
α -Copaene	1376	0,5	0,4
Óxido de Cariofileno	1581	0,8	0,1
Sesquiterpenos oxigenados menores	1655–1764	4,3	3,4
Benzoato de Benzila	1762	0,2	0,6
Total		94,4	94,3

Fonte: MAIA et al., 2007.

De acordo com outros estudos, é amplamente empregado em boa parte da fabricação de alimentos, como bebidas alcoólicas, refrigerantes, confeitos (LAWLESS, 2002; RHIND; 2014). Também é utilizado como acaricida contra *Tirófago putrescentiae* (ANDO, 1994; KIM et al., 2003).

1.5 Técnicas de Caracterização do Hidrogel e OE de pau rosa

1.5.1 Termogravimetria (TGA)

A Termogravimetria constitui-se em uma técnica de análise térmica em que se investiga a variação da massa da amostra (ganho ou perda) em função da temperatura e/ou tempo. Tal técnica torna possível identificar as alterações que o aquecimento pode ocasionar na massa das substâncias, sendo assim, é factível acompanhar reações de oxidação, desidratação, absorção, sublimação, combustão e decomposição (CANEVAROLO JR, 2002; MATOS & MACHADO, 2003).

Essa análise térmica é executada com a assistência de uma termo balança (combinação de forno-balança), que promove a pesagem contínua de uma determinada amostra em função da temperatura. Através desse experimento são concebidas curvas, as quais concedem informações quanto à estabilidade térmica e a composição da amostra, de acordo com a Equação 1. Na Termogravimetria derivada (DTG), a derivada dessa variação de massa em relação ao tempo (dm/dt) é compilada em função da temperatura ou tempo, concomitante à TGA, sendo possível obter curvas que correspondem à essa derivada, conforme Equação 2 (IONASHIRO, 2004; LOGANATHAN et al., 2017; NEJMAN, 2016).

$$\text{TG:} \quad m = f(T \text{ ou } t) \quad (1)$$

$$\text{DTG:} \quad \frac{dm}{dt} = f(T \text{ ou } t) \quad (2)$$

É importante salientar que, as curvas termogravimétricas sofrem influências tanto de fatores instrumentais como aqueles relativos à amostra, como pode ser observado na Tabela 3.

O equipamento empregado na análise termogravimétrica é comumente formado por uma balança registradora, suporte de amostra, forno, sensores de temperatura, programador da temperatura de forno, controle da atmosfera do forno e registrador. O forno compreende de uma zona quente onde o cadinho e amostra são posicionados. A temperatura do forno a ser registrada é determinada por um sensor termopar e o cadinho pode apresentar diversos formatos e composição (alumina, platina, vidro ou quartzo). É importante que a balança seja calibrada e reproduzível pois parte do princípio de uma aplicação de uma força restauradora eletromagnética

Tabela 3 - Fatores relacionados à amostra e fatores instrumentais que geram influência nas curvas de TGA.

Fatores relacionados à amostra	Fatores instrumentais
Geometria do Forno	Tamanho da partícula da amostra
Localização da balança em relação ao forno	Compactação da amostra
Taxa de aquecimento ou resfriamento	Tamanho, composição e formato da amostra
Tamanho, formato e material de composição do cadinho	Condutividade térmica do material
Velocidade e sensibilidade de registro das respostas	Liberação de gases
Atmosfera de análise	Quantidade de água existente no material

Fonte: IONASHIRO, 2004; MOTHE, 2009; CANEVAROLO JR., 2004.

1.5.2 Análise Térmica Diferencial (DTA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A análise térmica diferencial (DTA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) são apontadas como método termoanalíticos visto que se embasam na medição de propriedades físicas em função direta ou indireta sob condições controladas de temperatura (CANEVAROLO JR., 2007). Ambas são técnicas utilizadas para investigar transições de fase sob influência de diferentes temperaturas, atmosferas e taxas de resfriamento/aquecimento (TERRA et al., 2022).

O DTA corresponde a diferença de temperatura entre uma amostra (X) analisada e um material de referência (R) inerte sendo estabelecida a partir da temperatura quando ambos são sujeitos a um processo controlado (CANEVAROLO JR., 2007). O resultado pode ser observado a partir da curva térmica diferencial adquirido pela diferença de temperatura estruturada na ordenada e a temperatura ou tempo na abscissa.

$$T = T_X - T_R \quad (3)$$

Essa análise térmica não é quantitativa no que se refere ao calor incluso nas transformações porque a variação da temperatura é estabelecida em função da condutividade térmica e da densidade da amostra. A área de pico a ser detectada é proporcional as alterações de calor que estarão envolvidas nas transformações (MOTHE, 2009).

O DSC é conhecido como uma das técnicas mais importante dentro das análises térmicas uma vez que propicia a definição das curvas de aquecimento e resfriamento com mecanismos

quantitativos da calorimetria. Durante a análise, a temperatura é determinada constantemente e torna-se um instrumento diferencial para análise do fluxo de calor na amostra (LUCAS et al., 2001; EHRENSTEIN et al., 2004).

A calorimetria é responsável por estabelecer a quantidade de calor absorvido ou fornecido por um material quando este experimenta mudanças físicas ou químicas assim como sua energia interna. A uma pressão constante, a energia interna é representada como Entalpia (H), todavia, analisam-se a variação dela (ΔH) entre dois estados conforme Equação 4 (EHRENSTEIN et al., 2004; TERRA et al., 2022).

$$\Delta H = \int C_p \cdot dT \quad (4)$$

O ΔH é obtido a partir de um calorímetro cujo deslocamento do fluxo de calor (Q) é identificado com alteração da linha de base. De modo que a capacidade calorífica (C_p) exige de equipamentos mais aprimorados para sua determinação, no DSC é possível determinar o Q, denominado como a quantidade de calor transferida por unidade de tempo e massa cujo apresenta proporcionalidade a C_p , vide Equação 5 (TERRA et al., 2022).

$$\frac{Q}{m} = C_p \quad (5)$$

Os resultados adquiridos do DSC exibem informações significativas no panorama térmico, como obtenção das temperaturas de transição (transição vítrea – T_g), cristalização (T_c) e temperatura de fusão (T_m) e medidas quantitativas de calor (calor específico – C_p ; calor de fusão – ΔH_f ; calor de cristalização – ΔH_c ; calor de reação – ΔH_r) (LUCAS et al., 2001; TERRA et al., 2022).

O DSC, tal como o DTA, contém a área da curva diretamente proporcional à variação de entalpia, conforme Equação 6.

$$\text{Área} = \frac{H_m}{K} \quad (6)$$

Onde H_m é a entalpia média e K é uma constante.

1.5.3 FTIR

Os dados adquiridos através da análise térmica são capazes de ser complementados com outros métodos, entre eles, a Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), com o propósito de analisar e interpretar as alterações químicas provenientes do processo de cura (TEIXEIRA, 2015).

O FTIR é constituído por um feixe infravermelho que penetra a amostra e espelhos fixos, móveis que redirecionam energia transmitida para registro (PEREIRA, 2015).

O ensaio de compostos orgânicos por meio da radiação infravermelha encontra-se localizada na faixa do espectro eletromagnético médio, entre 4000 e 400 cm^{-1} . Essa técnica permite quantificar a absorção de radiação infravermelha mediante de moléculas de uma substância específica que é convertida em energia de vibração molecular. O comprimento de onda no qual as bandas no espectro se manifestam constituem a ligações específicas, em concordância com a massa relativa, geometria dos átomos e constantes de força das ligações, promovendo a identificação e definição de grupos químicos funcionais (TEIXEIRA, 2015; SILVERSTAIN & WEBSTER, 2000).

O processo de cura é assistido a partir da avaliação das alterações químicas através da comparação empírica das frequências vibracionais apresentadas nos espectros de amostras curadas e não curadas, em princípio, tendo que suceder com o aparecimento dos grupos associados aos reagentes e, posteriormente à cura, o desaparecimento dessas bandas resultados do produto adquirido na reação (SILVERSTAIN & WEBSTER, 2000).

Além do método de análise por transmissão, o qual emprega a técnica de pastilha em Brometo de Potássio (KBr) para amostras sólidas, bem como podem ser elaboradas análises por Reflexão Total Atenuada (ATR) para filmes, amostras sólidas e líquidos viscosos (UFRGS, 2019).

1.5.4 Processo de Intumescimento

O processo difusivo da água no interior dos hidrogéis permite determinar a permeabilidade a partir de uma seção com uma concentração específica, além de servir como estrutura para estimar as alterações no sistema ao longo do tempo como resultado de fluxo como também para outros fenômenos que controlam o transporte de água através da rede do hidrogel (VERA, 2012).

O conhecimento da quantidade de água absorvida pelo hidrogel é importante, uma vez que possibilitam adquirir a permeação total de nutrientes. Isto é, a água age como meio de transporte na matriz polimérica para os componentes dissolvidos, como oxigênio e bioativos. Sendo assim, a água presente nos hidrogéis pode ser encontrado tanto na forma livre como associada (PING, 2001).

No momento em que a membrana seca inicia o processo de absorção da água, as primeiras moléculas que entram na matriz passam a hidratar os grupos hidroxilas (OH) existentes na cadeia polimérica. Essa primeira camada de água que interage com o polímero é denominada água primária. Logo que as hidroxilas ficam completamente hidratadas, as moléculas de água que permanecem circulando pelo polímero interagem com as moléculas de água primária e formam uma segunda chamada de água secundária. A combinação entre a água primária e secundária é chamada de água total e água adicional que é absorvida após a água total é denominada água livre (PING, 2001; SILVA, 2015).

A condição em que a água é detectada no hidrogel é fundamental uma vez que o aumento na proporção de água livre degenera sua resistência mecânica visto que a água atua como plastificante reduzindo a temperatura de transição vítrea do material (SILVA, 2015).

1.5.5 Liberação Controlada de Ativos

Há vários sistemas de liberação de ativo, intitulados sistemas de liberação controlada, retardada, sustentada e outros. Esta vasta série de denominações surgiu devido as diversas classificações geradas tanto pelos estudos farmacológicos em si como os oriundos de melhorias em processos tecnológicos visando obtenção de novos medicamentos. Segundo LYRA et al. (2007), o termo mais apropriado é o de liberação controlada por ser capaz de agregar todos os outros sem necessidade de especificar o grupo de controle específico e a metodologia para obtê-lo.

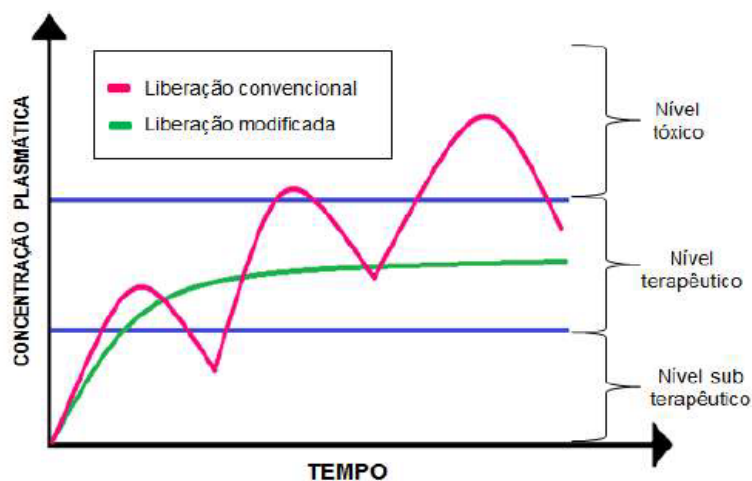
Um sistema de liberação controlada de ativo é determinado a partir de uma estratégia de administração (dispositivo ou formulação) que concede a introdução de uma substância com fins terapêuticos no corpo, de forma a prolongar o tempo de liberação no organismo, aprimorando sua eficiência e segurança a partir do controle da taxa, local e tempo de liberação do ativo no corpo (JAIN, 2014; VILLANOVA et al., 2010).

Isto é, esse processo compreende desde a administração do produto terapêutico, liberação do ativo pelo produto e o transporte dos componentes do ativo através da membrana biológica para o local em que ocorrerá a ação (JAIN, 2014).

Cada ativo possui um perfil diferenciado, singular para liberação e execução conforme a sua solubilidade em água. Ativos poucos solúveis necessitam de tecnologias específicas para realizar sua liberação controlada em alvos específicos uma vez que a absorção pode ocorrer lentamente e precisa de melhorias através de sistemas engenhosos (SHAH, 2006).

Quando se compara o emprego de medicamento convencionais, é habitual o aparecimento de fenômenos de “pico” após o acesso do ativo na corrente sanguínea a partir do metabolismo do próprio corpo causando restrição aos benefícios do tratamento e gerando efeitos colaterais (LIN et al., 2013). O funcionamento e comparações com sistemas convencionais de administração de ativos podem ser observados na Figura 12. No interior do corpo, a concentração do ativo pode alcançar três níveis: nível subterapêutico onde a concentração do ativo encontra-se abaixo do necessário; nível terapêutico em que o ativo tem a função terapêutica; nível tóxico no qual a concentração do ativo é excessiva tendo potencial de provocar graves efeitos colaterais e óbito (AZEVEDO, 2005; COSTA, 2015; AOUADA, 2009).

Figura 9 - Comparativo entre a liberação convencional e a modificada.



Fonte: Adaptado de AZEVEDO (2005).

1.5.6 Microscopia Eletrônica de Varredura

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica empregada para aquisição de imagens de materiais que compreendam superfícies sólidas polidas ou rugosas com ampla

profundidade de campo e alta resolução (QUEIROZ et al., 2012). O MEV opera de forma similar ao microscópio ótico para obtenção de imagens, todavia, ao contrário de utilizar lentes de vidro para focalizar o feixe luz habitual, emprega-se feixe de elétrons a partir de lentes magnéticas que interagem, geram um desvio das ondas quando estas passam pelo material e produzem imagens (GOLDSTEIN et al., 2003; TERRA et al., 2022).

As amostras a serem analisadas no MEV necessitam ser resistentes a vácuo e, no caso de não condutoras, têm necessidade de ser recobertas com uma fina camada de ouro (QUEIROZ et al., 2012) dessa maneira possibilitando a geração de imagens em ampla escala de aumentos, desde 10 vezes até 100.000 vezes (GALETTI, 2003; COSTA, 2015).

O MEV é composto habitualmente por uma coluna com canhão eletrônico, um sistema de vácuo e uma série de lentes eletrônicas onde as imagens podem ser observadas e registradas digitalmente (GALLETTI, 2003; TERRA et al., 2022).

Seu princípio de funcionamento compreende na emissão de um feixe de elétrons a partir de um filamento de tungstênio (eletrodo negativo), por intermédio de uma aplicação de diferença de potencial que pode variar de 0,5 a 30 kV. Esta variação de voltagem envolve a aceleração de elétrons e, à vista disso, no aquecimento do filamento. O eletrodo positivo atinge fortemente os elétrons acelerados movimentando-os em sua direção. A retificação do percurso do feixe é operada por lentes condensadoras que organizam o mesmo em direção à abertura da lente objetiva. Esta última, no que lhe diz respeito, ajusta o foco dos feixes de elétrons antes do mesmo atingir a amostra (GOLDSTEIN et al., 2003).

1.5.7 Cromatografia Gasosa

A cromatografia gasosa (CG) é uma das técnicas analíticas mais utilizadas atualmente para determinar componentes de uma amostra contanto que as propriedades físico e química sejam conhecidas previamente (COHN, 2006). A CG tem vasta aplicação, extrema sensibilidade, flexibilidade e multifuncionalidade com grande poder de resolução tornando factível a identificação e quantificação de várias substâncias em uma só amostra.

A exatidão da CG é uma das principais razões da sua popularidade e, dependendo do tipo de material e detector empregado, é possível identificar cerca de 10^{-12} g. No entanto, é necessário que seja utilizada para analisar substâncias voláteis e estáveis termicamente, dado que, de outro modo, será imprescindível produzir um derivado com essas características (COLLINS; BRAGA; BONATO, 1997). O mecanismo de funcionamento da CG pode ser determinado como um

método físico de separação onde os componentes a serem desprendidos são distribuídos entre duas fases: a móvel (gases inertes como Hélio e Nitrogênio) e a estacionária (SKOOG et al., 2002).

Tal processo é bastante similar ao da cromatografia líquida, no entanto, cada etapa diferenças conceituais. No caso da CG, a amostra é injetada no estado gasoso ou líquido (sofrerá posterior vaporização). Os analitos são separados não somente por conta da interação com a coluna cromatográfica, como através da sua volatilidade e pressão de vapor por meio da aplicação do gradiente de temperatura durante a corrida cromatográfica (LANÇAS, 1993; MONTAGNER et al., 2021).

1.5.8 Biofilmes ativos antimicrobianos

Filmes a base de biopolímeros para serem utilizados como sistema carreador de agentes antimicrobianos (AM) é uma concepção consolidada. Diversos estudos apresentados na literatura e validam o emprego desses filmes desde os usos como curativos na superfície cutânea até o setor de filmes para embalagens prolongar o tempo de vida de diversos alimentos (SILVA, 2015; UGALDE, 2014).

Esse tipo de proteção vem recebendo atenção significativa de uma nova demanda de consumidores que buscam por produtos oriundos de materiais sustentáveis (DURANGO et al., 2006).

Segundo Cooksey (2001), são essencialmente três as categorias de filmes antimicrobianos:

- i. Substâncias antimicrobianas voláteis apresentam-se em sachês e são liberadas no decorrer do armazenamento do produto;
- ii. Incorporação direta do agente antimicrobiano no filme;
- iii. A matriz do filme funciona como um transportador para o agente antimicrobiano.

Essas categorias de materiais possibilitam a liberação do AM para superfície do alimento, ou pele através da evaporação no *headspace*, ou deslocar para dentro da pele ou alimento por difusão. Estes materiais tornam-se mais eficientes quando comparados com a aplicação direta do ativo, uma vez que é possível controlar a liberação deste, mantendo altas concentrações conforme planejado (UGALDE, 2014; PEN & JIANG, 2003).

Alguns aspectos podem sensibilizar a efetividade de um filme antimicrobiano, como as características do AM (solubilidade e tamanho da molécula), condições de estocagem e distribuição (temperatura e tempo), método de preparo do filme (*casting* ou extrusão) e interação entre o polímero escolhido e o AM em si (MONTEIRO et al., 2019; CELESTINO et al., 2017; CLARO, 2020).

1.5.9 Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais

As plantas concebem uma ampla diversidade de compostos orgânicos de atividade antimicrobiana. A caracterização desses compostos ativos presentes nos OEs demanda uma investigação detalhada, decorrente da vasta presença de mais de quarenta e cinco componentes distintos, os quais podem vivenciar variações percentuais conforme a época da colheita, parte da planta, ou ainda o método de extração (ESPINA et al., 2011).

O recurso de ação dos OEs como AM no combate de fungos e bactérias ainda é obscuro e não totalmente elucidado. Tem-se conhecimento do caráter hidrofóbico dos OEs e seus componentes, que possibilitam a sua ligação aos lipídeos da membrana celular alterando sua estrutura e elevando sua permeabilidade. Esta alteração pode favorecer o transporte de íons e outros constituintes para dentro da célula ocasionando a morte desta. Este é um dos principais mecanismos pelo qual os OEs têm ações fatais no combate do crescimento microbiano (COX et al., 2000; BURT, 2004; UGALDE, 2014).

Outros atos dos OEs são os danos às proteínas da membrana celular, suspensão da força motriz de prótons (ULTEE & SMID, 2001), do fluxo de elétrons, da coagulação de conteúdo celular e do próprio transporte do ativo (BURT, 2004). Em contrapartida, os OEs apresentam baixa solubilidade aquosa, o que os impossibilita de se aproximarem de um nível tóxico para as membranas (COX et al., 2000).

Análises e testes da atividade antimicrobiana de OEs são complexos por conta da volatilidade deles, insolubilidade em água, necessitando de modificações. Os OEs com características hidrofóbicas e com grande viscosidade podem limitar a capacidade de diluição ou causar distribuição desigual destes, até mesmo com o emprego de emulsificantes (KALEMBRA & KUNICKA, 2003).

Na literatura podem ser encontrados dois métodos para testes de atividade antimicrobiana: difusão ou diluição. Nenhuma referência menciona a existência de uma padronização para avaliar a atividade antibacteriana (BURT, 2004; UGALDE, 2014).

O método de difusão em ágar é uma das técnicas mais utilizadas para avaliação da atividade antimicrobiana dos OEs, devido à facilidade de execução e o uso de pequena quantidade de óleo. Em alguns estudos é descrita precisa e confiável, apesar de produzir resultados qualitativos e não usualmente reprodutíveis (KALODERA et al., 1997; PRADO et al., 2017). Entretanto, existem estudos que consideram essa técnica inadequada para avaliação de OEs considerando sua possível evaporação no decorrer do período de incubação, bem como a difusão inapropriada dos seus componentes poucos solúveis no ágar (GRIFFIN et al., 2010).

O método de diluição compreende na diluição do OEs em ágar ou caldo, podendo empregar diversos solventes para facilitar a incorporação do óleo no meio e diferentes volumes de inóculo (BURT, 2004). Segundo UGALDE (2014), o efeito de inibição pode ser calculado por diferenças na turbidez do líquido e podem ser descritos de duas formas:

- i. Índice de inibição do crescimento a partir da definição da percentagem de inibição do crescimento em relação a cultura (sem adição do OE);
- ii. Concentração mínima inibitória (CIM), sendo a menor concentração de OE no caldo, que sucede a ausência do crescimento microbiano (BURT, 2004).
- iii. Concentração Bactericida Mínima (CBM), sendo a concentração mais baixa do OE, no qual os microrganismos incubados são totalmente mortos (BARBOSA et al., 2021).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver e caracterizar filmes finos de hidrogéis a base de carboximetilcelulose sódica (CMC-Na) com atividade bactericida e fungicida, com óleo essencial de pau rosa, visando potenciais aplicações como curativo dérmico.

2.2 Objetivos específicos

- i. Sintetizar filmes hidrogéis de CMC-Na entrecruzados com ácido cítrico com diferentes concentrações utilizando método de *casting*.
- ii. Identificar os componentes majoritários presentes no OE do pau rosa por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS).
- iii. Incorporar óleo essencial (OE) de pau rosa encapsulados por emulsão aos hidrogéis desenvolvidos.
- iv. Avaliar o tamanho de partícula do óleo encapsulado por emulsão por meio do espelhamento dinâmico de luz (DLS).
- v. Avaliar a atividade bactericida e fungicida dos filmes de hidrogéis com OE de pau rosa.
- vi. Estudar a liberação controlada do OE em meio aquoso e em solvente orgânico, por meio da espectroscopia no ultravioleta visível (UV/VIS).
- vii. Caracterizar os hidrogéis quanto à sua capacidade de intumescimento, espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), análise térmica (TGA/DSC), microscopia eletrônica de varredura (MEV).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

No presente estudo foram selecionados materiais que apresentam a possibilidade de biocompatibilidade com a pele humana, buscando evitar materiais tóxicos e sintéticos.

A carboximetilcelulose (CMC) é um biopolímero, obtido de fontes naturais diversificadas, extraída e purificada de maneira adequada. A CMC utilizada neste trabalho foi obtida comercialmente e apresenta íons de sódio (Na^+) em sua estrutura, com objetivo de facilitar o intumescimento (processo de absorção de água) para o preparo do hidrogel. A CMC-Na da marca *Synth* possui um grau de substituição entre 0,80 e 0,95; com viscosidade entre 2000 e 3000 cP.

O ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$) é ácido orgânico tricarboxílico, obtido na indústria através da fermentação da sacarose executada pela levedura *Aspergillus niger* em várias fases de preparação e purificação. Neste estudo, o ácido cítrico foi o agente reticulante químico, isto é, proporcionou a junção das cadeias poliméricas através das ligações com a CMC.

O óleo essencial de pau rosa utilizado neste trabalho foi obtido através da doação do professor Dr. Paulo de Tarso Sampaio, responsável pelo Laboratório de Silvicultura Tropical e Propagação de Plantas do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e coordenador de um projeto que busca estratégias de extração sustentáveis com comunidades extrativistas do estado do Amazonas.

3.2 Preparo das nanocápsulas de OE de pau rosa

Adicionou-se o OE de pau rosa na proporção de 1 % em um béquer contendo uma solução 0,75 % de Tween80[®] em 100 mL de água destilada onde foram submetidos à agitação em Ultra-Turrax (IKA[®] T10) a 12000 rpm por 3 minutos (UGALDE, 2014).

3.3 Preparo dos hidrogéis

As amostras de filmes de hidrogel foram preparadas com CMC-Na por *casting*, técnica de deposição de solução polimérica em placas de Petri. A Figura 10 representa o esquema de preparação das amostras de hidrogel e a Tabela 4 exibe as concentrações definidas para cada um.

O hidrogel foi preparado a partir de duas etapas adaptando a metodologia de Lima (2020) e Saranti (2021). A Etapa I foi realizada a hidratação da CMC (2 g) em meio aquoso (100 mL), em banho maria a 60 °C, sob agitação mecânica em 430 rpm. A solução permaneceu sob agitação até completa solubilização da CMC, resultando em uma solução-gel de 2 % (m/m) de CMC.

Em seguida, foi adicionado o ácido cítrico (como agente reticulante) nas porcentagens de 3 % (com relação à 2 g de CMC, massa de 0,06 g de ácido cítrico) e 5 % (com relação à 2 g de CMC, massa 0,1 g de ácido cítrico) sob agitação mecânica. O sistema foi mantido nas condições iniciais de temperatura e rotação até completa solubilização para obtenção dos hidrogéis H3% e H5%.

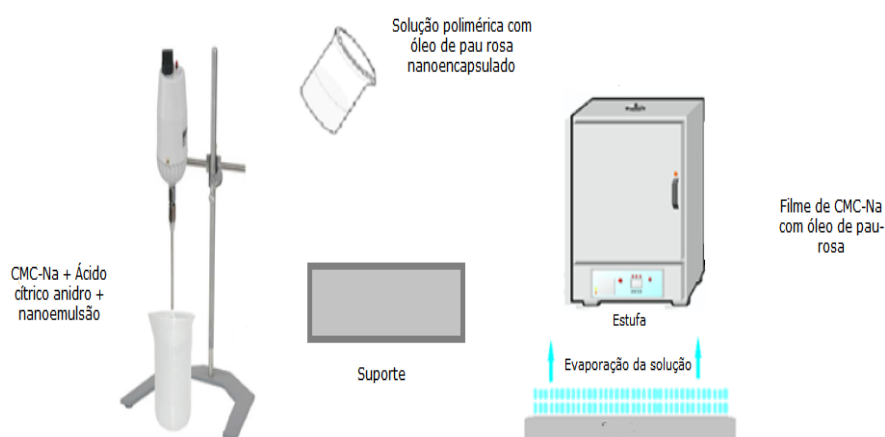
Na etapa II foram seguidos os mesmos procedimentos da etapa I e ao final foi realizada a adição de 2 % em massa das nanocápsulas de óleo de pau rosa (previamente preparada), mantendo o sistema sob agitação mecânica, até a completa homogeneização para obtenção dos hidrogéis H3%OE e H5%OE.

Tabela 4 - Concentrações empregadas para preparo dos filmes de hidrogel.

Hidrogel	CMC	Ácido Cítrico	Nanoemulsão
H3%	2%	3%	-
H5%	2%	5%	-
H3%OE	2%	3%	2 %
H5%OE	2%	5%	2 %

Fonte: Autoria própria (2023).

Figura 10 - Esquema do preparo dos filmes poliméricos a partir do método de casting.



Fonte: Autoria própria (2023).

Os hidrogéis produzidos foram depositados em placas de vidro 15 x 15 cm, para evaporação em temperatura ambiente por 24 h. Após esse período, os filmes foram secos em estufa à temperatura de 70 °C por 2 h. Após este período os filmes de hidrogel foram desmoldados e acondicionados em recipiente fechado, para garantir as propriedades dos óleos essenciais nos filmes.

3.4 Caracterização dos Hidrogéis

3.4.1 Ensaio de Intumescimento

O grau de intumescimento e estabilidade estrutural dos filmes de hidrogel foram mensurados a partir da imersão de uma amostra dos filmes em meio aquoso, conforme ASTM D570, com algumas modificações. Os filmes de hidrogel foram submetidos ao ensaio para avaliação da propriedade de reticulação baseada no grau de intumescimento do filme.

Os filmes foram previamente secos em estufa a 100 °C por 2 h (para padronização e retirada do excesso de umidade), resfriados em dessecador, pesados em balança analítica e foram imersos em béqueres contendo água destilada (em temperatura ambiente). Em diferentes intervalos de tempo, os hidrogéis foram retirados da água, removendo o excesso de água da superfície com papel toalha e pesados (BAULI et al., 2021). Após a pesagem, os filmes de hidrogel foram imediatamente imergidos. As medidas foram realizadas até estabilização da quantidade de água absorvida, no total de 72 h. Calculou-se o grau de intumescimento (GI %) empregando a Equação 7:

$$GI(\%) = \left[\frac{w_t - w_d}{w_d} \right] \times 100 \quad (7)$$

Onde: GI: grau de intumescimento; w_d : massa inicial seca; w_t : massa da amostra em cada intervalo.

Em complemento ao experimento de intumescimento, realizou-se o estudo de velocidade de difusão das moléculas de água no interior do material segundo a Lei de *Fick* conforme Equação 8 considerando um processo difusivo unidimensional (ESPERT; VILAPLANA; KARLSSON, 2004):

$$\left[\frac{M_t}{M_\infty} \right] = kt^n \quad (8)$$

Onde: M_t é a massa do hidrogel inchado no tempo t , M_∞ é a massa do hidrogel inchado no equilíbrio, os valores de k fornecem informações sobre a afinidade entre as moléculas de água e o material em estudo, t é o tempo de inchamento e n é a ordem que define o tipo de mecanismo que a difusão segue.

Substituindo os dados experimentais da absorção de água nas curvas na Equação 9, o mecanismo de difusão pode ser estudado, determinando k e n a partir da inclinação e interceptação da parte linear das curvas obtidas.

$$\log\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right) = \log k + n \log t \quad (9)$$

A cinética é regida principalmente pela velocidade de formação e quebra das pontes de hidrogênio entre as moléculas de água e a matriz polimérica. A velocidade da difusão das moléculas de água no interior dos compósitos pode ser relacionada ao coeficiente de difusão (D) (CRANK, 1975). Para tempos com $M_t/M_\infty \leq 0,5$, a Equação 10 pode ser considerada:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = \frac{4}{L} \left(\frac{D}{\pi}\right)^{1/2} t^{1/2} \quad (10)$$

Onde L é a espessura da amostra. A partir da inclinação da parte inicial da curva M_t/M_∞ versus $t^{1/2}/L$, foi possível obter o valor de D . O coeficiente de difusão, D , reflete a capacidade das moléculas de água se moverem dentro do material.

Três diferentes tipos de processos difusivos podem ser descritos a partir da ordem obtida, tanto em relação as taxas difusivas como relaxamento das cadeias poliméricas (CRANK, 1975).

- i. Tipo I (Difusão Fickiana) ($n \leq 0,5$): ocorre quando a taxa de difusão é muito menor do que a mobilidade do segmento de polímero. O equilíbrio dentro do polímero é rapidamente alcançado e é mantida com independência de tempo. Isto é, a difusão é quem controlará o processo difusivo;
- ii. Tipo II ($n = 1,0$) e super caso II: ocorre quando a mobilidade do penetrante é muito maior do que outros processos de relaxamento. Essa difusão é caracterizada pelo desenvolvimento de uma fronteira entre a parte externa inchada e o núcleo vítreo interno do polímero. A fronteira avança a uma velocidade constante e o núcleo diminui de tamanho até um equilíbrio concentração do penetrante é atingida em todo o polímero.

- iii. Tipo III (Não Fickiana) ($n = 0,5 - 1,0$): ocorre quando a mobilidade do penetrante e o relaxamento do segmento polimérico são comparáveis. Trata-se, então, de um comportamento intermediário entre Difusão de Caso I e Caso II.;

3.4.2 Estudo de Liberação Controlada do ativo

A nanoemulsão com princípio ativo de OE encapsulados foi avaliada quanto ao tempo de liberação deste ativo em solução água/tampão acetato de sódio para aquisição de uma solução aquosa com pH 5,0 – 5,5 a fim de buscar similaridade a ao pH cutâneo (CAMPOS & MELO, 2016)

A amostra foi mantida no frasco com solução água/tampão acetato de sódio pH 5,3 e as medidas foram realizadas em intervalos de tempo (t) de 10, 20, 30, 60, 120 min, para o primeiro dia. As amostras foram avaliadas por um período mais longo, até 7 dias, para construção de um perfil de liberação do óleo. Neste intervalo foram coletados os resultados em 24 h, 48 h, 72 h, 96 h, 120 h e 168 h. Os dados obtidos foram ajustados ao modelo de *Fick* através da Equação 8 (WU et al., 2019).

A construção de uma curva de calibração permitiu determinar a liberação do ativo. O comprimento de onda do OE de pau rosa é de 207 nm (JABIR et al., 2018; BARBOSA et al., 2021). A partir da aquisição desses dados, foi estabelecida uma correlação da intensidade de absorvância com o volume de óleo, a qual foi utilizada na construção da curva de calibração.

A coleta de dados por UV-vis para os filmes com OE determinou o volume liberado das cápsulas do OE de pau rosa em diferentes momentos, correlacionando a intensidade de absorvância na curva de calibração.

Esta análise foi realizada no Laboratório de DNA do Programa de Pós-graduação de Biotecnologia (PPGBIOTEC) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) empregando um espectrofotômetro Ultravioleta Visível (Modelo Biomatte 3, da Thermo Electron Corporation).

3.4.3 Atividade antimicrobiana

Os microrganismos testados foram cepas da coleção Cefar Diagnóstica (CCCD): *Staphylococcus aureus* (S 007), *Escherichia coli* (E 004), *Pseudomonas aeruginosa* (P 004), *Enterococcus faecalis* (E 002), *Bacillus cereus* e *Candida parapsilosis* (Cepa clínica). As bactérias foram reativadas em *Mueller Hinton* (MH) ágar (HIMEDIA®) e a levedura e o fungo

filamentoso em *Sabouraud* (SB) ágar (HIMEDIA[®]), e mantidos a 36 ± 1 °C por 24 h e 48 h, respectivamente. Após reativação dos patógenos, uma colônia isolada foi transferida para um tubo de ensaio contendo 5 mL de caldo MH para bactérias, e caldo SB para levedura, ambos posteriormente incubados a 36 ± 1 °C por 24 horas (CLSI, 2002; CLSI, 2003).

A concentração de colônias utilizada no teste foi correspondente ao número 0,5 da escala de turbidez McFarland, na concentração de $1,5 \times 10^8$ Unidades Formadoras de Colônia (UFC.mL⁻¹) para bactérias e $2,0 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹ para levedura de acordo com as recomendações da *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2002; CLSI, 2003). Os ensaios foram realizados em placas de cultura de células de 24 poços.

3.4.3.1 Atividade antimicrobiana do OE de pau rosa

Essa análise foi realizada no Laboratório de Bioensaios e Microrganismos da Amazônia da Universidade Federal do Amazonas. A amostra de óleo de pau rosa foi aplicada em proporção (1:1) por poço inicialmente na triagem de atividade. Experimento realizado duas vezes para *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*. Os ensaios de dosagem quantitativa das atividades foram com diluições sequenciais.

O controle negativo foi realizado com a substituição da amostra por água destilada autoclavada. O controle positivo foi realizado substituindo as amostras por antibióticos na concentração de 2 mg/mL sendo administrado tetraciclina para *E. coli* e *P. aeruginosa*, ampicilina para *S. aureus* e *E. faecalis*, e Nistatina para *C. parapsilosis*.

Inicialmente realizou-se uma triagem (*screening*) das amostras para verificação da efetividade das mesmas frente aos patógenos. A triagem foi realizada em microplaca de 96 poços onde foram adicionados em triplicata 100 µL do meio de cultura na concentração dobrada, 100 µL da amostra e 10 µL da suspensão de células dos patógenos na concentração citada no item 1. Por fim, os ensaios foram incubados a 36 ± 1 °C por 24 h. Figura 11 (CLSI, 2006).

Após 24 h colocou-se 10 µL do revelador NBT (nitroazul de tetrazólio) a 1% nos poços com inóculo leveduriforme, e 10 µL de revelador TTC (2,3,5-cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio) a 1% nos poços com inóculo bacteriano.

Havendo crescimento microbiano, o revelador NBT muda a cor da solução para azul escuro e o TTC para rósea, caso haja crescimento microbiano (AMAZONAS, 2012).

Havendo crescimento microbiano, é indicativo de que a amostra não é eficiente contra tal patógeno na concentração testada. Como contraprova, plaqueou-se 10 µL do experimento em

meio sólido para verificação do crescimento microbiano ou ausência deste. Não há necessidade de relevação para fungos filamentosos.

Após os resultados do *screen* realizou-se o teste de diluições sucessivas também em triplicata para a determinação da dosagem mínima inibitória (MIC) onde em placa de Elisa colocou-se 100 μ L, do meio de cultura na concentração dobrada, juntamente com 100 μ L da amostra.

Figura 11 - Screening das amostras para determinação da atividade antimicrobiana.



Fonte: Autorial própria (2023).

Tabela 5 - Esquema das concentrações das diluições seriada nos poços da placa de Elisa.

Poços	Concentração
A ○○○	50%
B ○○○	25%
C ○○○	12%
D ○○○	6%
E ○○○	3%
F ○○○	1,5%
G ○○○	0,75%
H ○○○	0,375%

Os primeiros poços foram homogeneizados com a própria pipeta e destes retirou-se 100 μ L sendo inserido no poço seguinte e assim sucessivamente até a linha H da placa, conforme o Tabela 5. Posteriormente, acrescentou-se em todos os poços 10 μ L dos patógenos nas

concentrações de células citadas no item 1. Para os controles positivo e negativo realizou-se o mesmo procedimento de diluição.

O experimento foi incubado a 36 ± 1 °C por 24 h. Em seguida colocou-se 10 µL do revelador respectivo para cada patógeno. Como contraprova, plaqueou-se 10 µL do experimento em meio sólido para confirmar se a ação das amostras foi estática ou mortal

3.4.3.2 Atividade antimicrobiana dos filmes

A atividade antimicrobiana dos hidrogéis de CMC (H3%OE e H5%OE) com óleo bioativo foi realizada no Laboratório Proteômica da Universidade Federal do Amazonas a partir do método de difusão em ágar por poços em meio de cultura sólido (Norma M2-A8, NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS).

A zona de inibição do microrganismo foi preparada apenas nos filmes H3%OE e H5%OE contendo as cápsulas de pau rosa. As culturas padrão foram cultivadas em ágar Mueller Hinton (MH) e incubados a 37 °C por 24 h. A partir da cultura padrão, preparou-se a suspensão isolada contendo cepas bacterianas padrão de *Staphylococcus aureus* (S 007), conforme descrito anteriormente (padrão turbidez: 0,5 McFarland, concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL).

As amostras dos filmes (1 cm²) foram colocadas na placa de Petri inoculadas e incubadas em estufa a 37 °C por 24 h. O software Image J/Figi mediu os diâmetros dos halos de inibição.

3.4.4 Análise Microestrutural por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier – FTIR

A qualificação das amostras foi executada a partir da análise de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier. Esta avaliação teve como objetivo verificar a interatividade entre as cadeias de Na-CMC, ácido cítrico e com o óleo de pau rosa. A análise foi realizada em um equipamento (Cary 630) e os espectros coletado na faixa de 400 cm⁻¹ a 4000 cm⁻¹ e 16 varreduras em média com uma resolução de 4 cm⁻¹ conforme metodologia proposta por Ayouch et al. (2021).

3.4.5 Cromatografia Gasosa - CG

As análises cromatográficas do óleo de pau rosa foram executadas empregando a metodologia de Paes (2016) um sistema de cromatográfica gasosa (CG) acoplada a um

espectrofotômetro de massas (EM), marca *Shimadzu*, modelo GCMS-QP 2010 plus, coluna (RTX) com gás Hélio em fluxo de 2 mL/50 min no Laboratório de Cromatografia Gasosa na Central Analítica da Universidade Federal do Amazonas.

A injeção em razão de *Split* (1:10), temperatura do injetor à 200 °C, forno com programação de 60 °C e com incremento de 8 °C min⁻¹.

3.4.6 Análise termogravimétrica e Calorimetria de exploratória diferencial – TGA/DSC

A análise termogravimétrica possibilitará a obtenção de referências relacionadas à vaporização, desidratação e degradação das amostras. A calorimetria exploratória diferencial consistirá no registro da variação do fluxo de energia calorífica associado a transições nos materiais em função da temperatura e tempo (PALMA, 2017; RAMBO et al., 2015).

As corridas foram realizadas em um SDT Q600 da *Ta Instrument*, localizado no laboratório de Ensaio Físico-Químicos-LFQM/FT/UFAM. As amostras foram aferidas a aproximadamente 10 mg, a taxa de aquecimento foi de 10 °C/min, da temperatura ambiente até a temperatura final de 600 °C, com fluxo de gás Nitrogênio 5,0 de 30 ml/min. O cadinho utilizado nos testes foi o de alumina de 90 microlitros sem tampa.

3.4.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A caracterização morfológica dos hidrogéis foi avaliada pelo microscópio eletrônico de varredura Vega3 (Tescan) e metalizador SCD 050 Sputer Coater (BAL-TEC) presente no Laboratório Temático de Microscopia e Nanotecnologia do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA). Os parâmetros utilizados foram baseados nos estudos de Singh & Khatri (2012) definindo a pressão da câmara: 10 Pa; Tensão: 15 kV; Inclinação: 0,0; Resolução: 133,44.

3.4.8 Espelhamento dinâmico de luz (DLS)

Os experimentos de espelhamento dinâmico de luz foram baseados em Marques et al. (2018) empregando o equipamento operando no comprimento de onda de 632,8 nm, corretor digital múltiplo t com amostragem inicial de 120 ns e com temperatura controlada. Os ângulos de espelhamento serão variados entre 30° e 150°. O equipamento utilizado foi um *Zetasizer Nano*

Series (*Malvern Instruments* Ltd.) presente no Laboratório de Síntese e Caracterização de Nanomateriais.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Filmes de Hidrogéis

As Figuras 12 e 13 mostram os filmes obtidos sem e com óleo essencial. Os filmes formados apresentaram características uniformes, translúcidos e flexíveis, tanto no método I, contendo CMC-Na e concentrações crescentes de ácido cítrico (Figura 12), como no método II com a adição da nanoemulsão contendo cápsulas de pau rosa (Figura 13). Nos filmes preparados com nanoemulsão não foi observada a separação de fases durante o preparo dos filmes.

Além disso, verificou-se que, de maneira geral, os filmes reticulados apresentaram flexibilidade. Capanema *et al* (2017) e Gonzales (2012) constataram que esse fenômeno é atribuído ao processo de contração das cadeias poliméricas, isto é, durante a polimerização ocorre a conversão de monômeros que se unem para formar uma rede de polímeros e, conforme essa rede vai formando, as moléculas vão se aproximando para formar novas ligações.

Figura 12 - Filmes de hidrogel (a) H3% e (b) H5% sem óleo essencial, respectivamente.

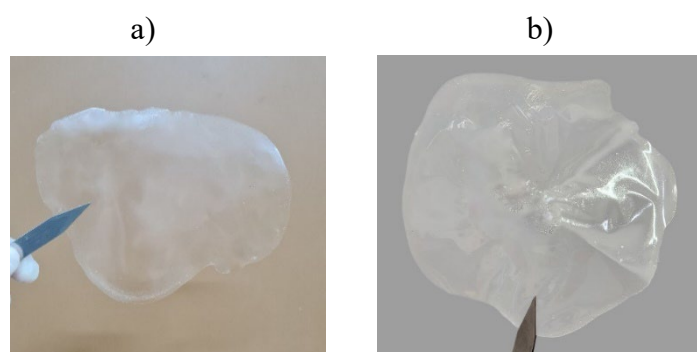
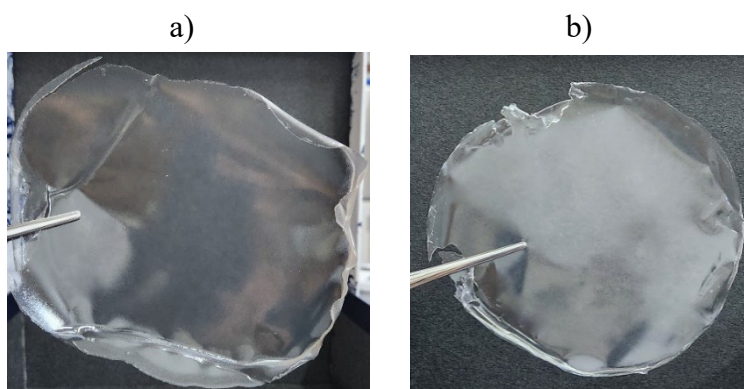


Figura 13 - Filmes de hidrogel (a) H3%OE e (b) H5%OE, respectivamente.



A literatura apresenta filmes com características diversificadas, no entanto com características necessárias para filmes com fins curativos. Conforme o estudo apresentado por Namazi et al. (2016), onde foi desenvolvido um gel como película fina. Capanema et al. (2017) com hidrogéis superabsorventes e filmes lisos, flexíveis e com finos, Rakhshaei e Namazi (2017) desenvolveram películas flexíveis, Celestino et al. (2017) obtiveram filmes finos, translúcidos e flexíveis.

4.2 Cromatografia Gasosa

Os compostos químicos identificados e quantificados no óleo essencial de pau rosa são apresentados no cromatograma (Figura 14) e na Tabela 6. Cinco compostos foram identificados e enumerados de acordo com a ordem de eluição e tempo de retenção.

Figura 14 - Cromatograma do óleo essencial de pau rosa utilizado neste trabalho.

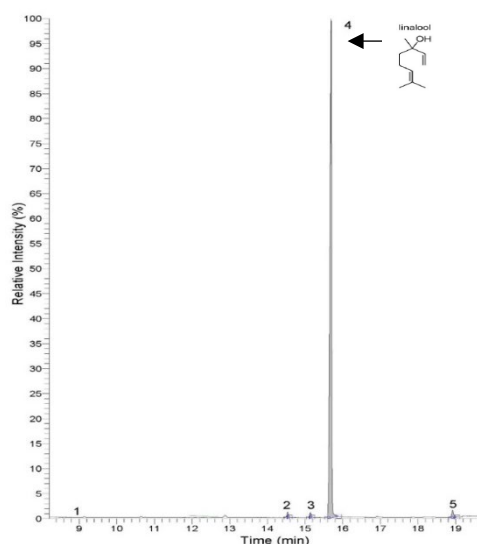


Tabela 6 - Composição química do óleo essencial de pau rosa.

Pico	Compostos	Tempo de Retenção (min)	Área do Pico (%) ¹
1	α -Tujeno	8,08	0,07
2	α -Terpinol	14,59	0,98
3	Óxido de linalol	15,19	0,92
4	Linalol	15,9	96,23
5	Germacreno D	19,04	1,80

¹ % da área do pico em relação a área total do pico.

O principal constituinte detectado para o óleo essencial de pau rosa foi o linalol, com 96,23 %. Além disso, outros componentes minoritários foram detectados, o α -terpinol, óxido de linalol e Germacreno D foram identificados e quantificados em 1,19 %, 1,06 % e 1,55 %, respectivamente. Os resultados obtidos estão de acordo com a literatura

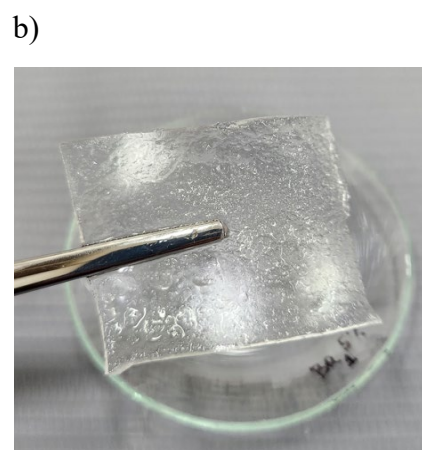
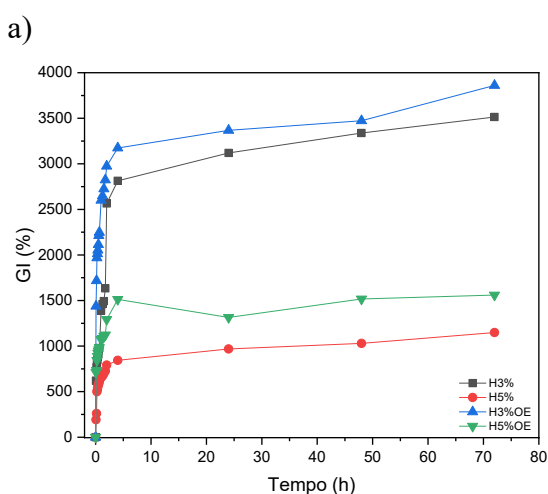
O estudo apresentado na literatura por Teles *et al* (2020) identificou e quantificou 93,60 % de linalol, 3,37 % de α -terpinol e 3,03 % de óxido de linalol; Chantraine *et al* (2012) quantificou 95-99 % de linalol, enquanto Sarrazin *et al.* (2016) encontrou 88,6% de linalol, entre outros componentes.

4.3 Ensaio de Intumescimento

Os ensaios de intumescimento são amplamente utilizados para avaliar a capacidade de absorção de água dos filmes e materiais em geral. Além disso, a partir do conjunto de resultados, comparativamente, é possível estimar sua estabilidade em meio aquoso e difusão das moléculas de água em sua rede polimérica.

A Figura 15 exibe o filme intumescido e as curvas do grau de intumescimento dos filmes de hidrogéis, sem e com óleo essencial. O grau de intumescimento do filme de hidrogel em equilíbrio depende da proporção de polímero e da concentração de ácido cítrico. O perfil das curvas do teste de inchamento foi semelhante para todos os filmes, com um rápido aumento na absorção de água, seguida da estabilidade. Nas primeiras 2 h houve um rápido aumento na absorção de água, atingindo um platô após 4 h de imersão, o qual se manteve até o final de 72 h de monitoramento.

Figura 15 – a) Curvas do grau de intumescimento (GI, %) dos filmes de hidrogel CMC, sem óleo essencial (H3%, H5%) e com óleo essencial (H3%OE, H5%OE); b) Filme intumescido.



As curvas mostram que os filmes preparados com concentrações de 3 % de ácido cítrico, apresentaram maiores porcentagens de absorção de água em torno de 3500 %. No entanto, há uma drástica redução na porcentagem de intumescimento para em torno de 1150 %, quando a concentração do agente reticulador aumenta para 5 %. Estes resultados evidenciam o aumento da formação de ligações covalentes entre os grupos laterais da CMC-Na e a sua cadeia principal, conseqüentemente, aumentando a rigidez da matriz polimérica. Além disso, a quantidade de grupos polares livres da cadeia celulósica diminui, conseqüentemente a mobilidade de moléculas de água na rede polimérica diminui. Mali et al. (2018) constataram que quando a concentração de ácido cítrico é aumentada, a taxa de intumescimento do filme de hidrogel diminui significativamente. Este comportamento indica que tal fato pode ser atribuído ao possível aumento no grau de reticulação das cadeias poliméricas, que conseqüentemente diminui a mobilidade das moléculas de água.

O estudo apresentado por Capanema *et al.* (2017) com CMC-Na com grau de substituição (DS) de 0,77 e 1,22, reticulado com ácido cítrico em concentrações de 20 % e 25 %, mostrou que o aumento da porcentagem do ácido cítrico resulta em filmes mais entrecruzados e que o DS não exerce influência no parâmetro de entrecruzamento.

Uyanga et al. (2020) desenvolveu filmes com blenda de CMC-Na/Quitossana/Ácido cítrico obtendo um grau de reticulação ideal, o que resultou em filmes com intumescimento máximo, superabsorvência (2200% intumescimento, 1229,7% absorção de água) e maior estabilidade hidrolítica (84,7% fração de gel). Os resultados superaram relatos de desempenhos de alguns hidrogéis compósitos à base de polímeros sintéticos naturais ou sintéticos.

O grau de intumescimento dos hidrogéis é um fator muito importante que deve ser considerado em aplicações práticas, incluindo a liberação de compostos bioativos. No estudo de Tang et al. (2014) houve um aumento no inchamento dos hidrogéis de CMC após a incorporação de nanopartículas de ZnO. De acordo com os autores, a presença de nanopartículas de diferentes tamanhos e morfologias resultou em maior penetração de água, expandindo assim a rede de cadeias poliméricas do hidrogel. Frühauf et al. (2023) e Zare-Akbari *et al* (2016) verificaram comportamento similar em que o intumescimento se tornou maior nas amostras de filmes com encapsulamento de ativos.

Assim, quanto ao efeito do grau de substituição no intumescimento deste estudo, verificou-se que a menor concentração de grupos carboxilados na CMC favoreceu o processo de reticulação em baixa concentração de ácido cítrico. Além disso, os resultados evidenciam que os filmes de hidrogéis à base de CMC produzidos apresentam ampla faixa de hidrofiliidade (normalmente de 100 a 5000 %) para incorporação de água/ativos (CAPANEMA et al., 2017).

Dessa maneira, eles podem ser potencialmente adequados para curativos onde o comportamento de intumescimento é de suma importância para promover um ambiente úmido auxiliando no processo de cicatrização de feridas (SUN; SIPRASHVILI; KHAVARI, 2014).

A Figura 16 exibe o ajuste dos dados experimentais a partir Equação 9. Na Tabela 7 estão apresentados os valores dos parâmetros n e k resultantes do ajuste para todas as amostras.

Figura 16 – M_t/M_∞ em função do tempo (h) para os filmes de hidrogel.

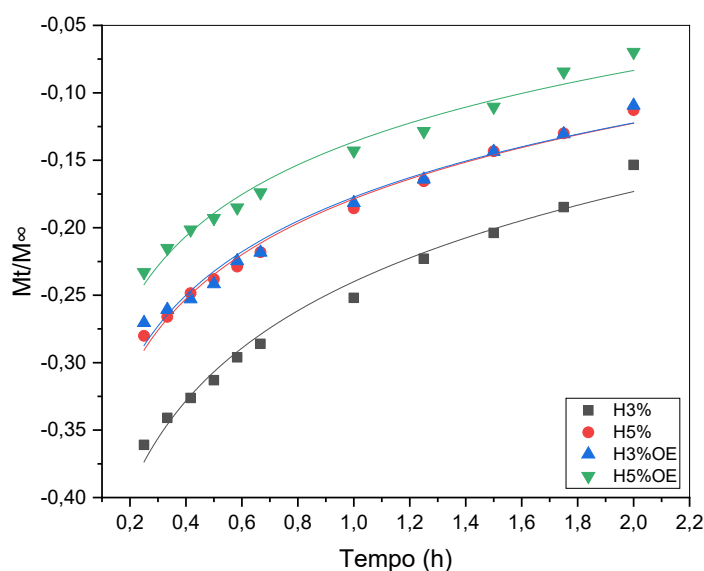


Tabela 7 - Valores obtidos n e k a partir dos gráficos utilizando a Lei de Fick.

Filmes	n	k	R^2
H3%	$0,22 \pm 0,01$	$0,57 \pm 0,01$	0,98
H5%	$0,19 \pm 0,01$	$0,66 \pm 0,01$	0,99
H3%OE	$0,18 \pm 0,01$	$0,67 \pm 0,01$	0,99
H5%OE	$0,18 \pm 0,01$	$0,73 \pm 0,01$	0,98

A investigação dos dados experimentais, assim como, a interpretação dos valores de n levam a um conhecimento favorável do mecanismo difusivo. Dessa maneira, foi possível verificar que o processo de difusão segue o modelo de Difusão Fickiana (onde $n \leq 0,5$), sendo que os valores de n foi de aproximadamente $0,20 \pm 0,01$ para todos os filmes.

Os resultados obtidos no ensaio de intumescimento foram utilizados para o estudo do processo difusivo. O coeficiente de difusão (D) é um parâmetro relevante do modelo de Fick, pois mostra a capacidade das moléculas do solvente penetrarem na estrutura do compósito. A

Tabela 8 exibe os valores do coeficiente de difusão obtidos para o ajuste da parte linear à Equação 10.

Tabela 8 - Valores obtidos $D \text{ (m}^2\text{/s)} \times 10^{-10}$ dos gráficos utilizando a Lei de Fick.

Filmes	D (m²/s) × 10¹⁰
H3%	1,032
H5%	0,152
H3%OE	1,636
H5%OE	0,303

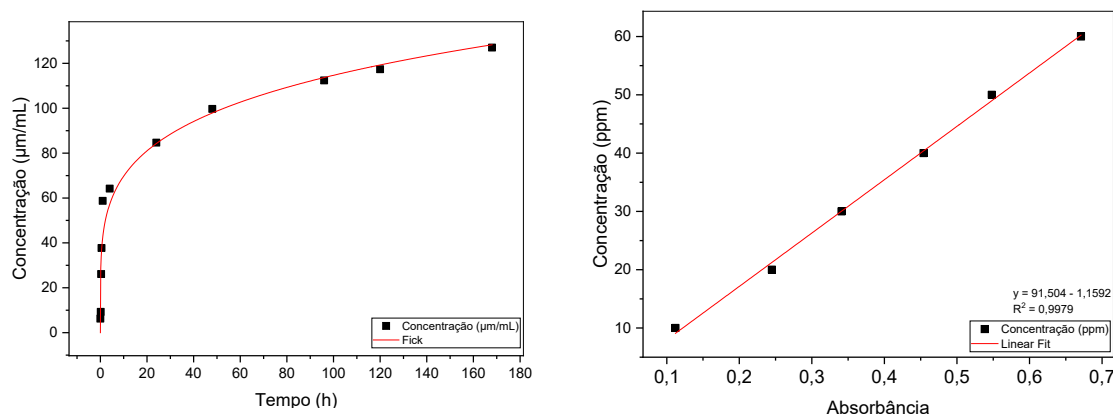
Como discutido previamente, o aumento na concentração de ácido cítrico leva à diminuição de sítios (grupos laterais da cadeia) livres. Logo, comparando os valores de n com o aumento do grau de entrecruzamento, a mobilidade das moléculas de água diminui sutilmente (como visto na Tabela 7). Esta tendência também é constatada pela diminuição acentuada do parâmetro D (Tabela 8), o qual indica a velocidade de difusão das moléculas no interior da matriz polimérica de celulose. O aumento do grau de entrecruzamento promove a diminuição dos sítios livres onde as moléculas de água podem se ligar e desligar (por formação de pontes temporárias entre a moléculas de água e o grupo lateral livre da celulose), promovendo a mobilidade (OLSSON et al., 2013; WU et al., 2019).

Além disso, comparando os resultados de filmes sem OE e com OE, a difusão das moléculas de água na matriz de celulose permaneceu com comportamentos semelhantes; pois estas são moléculas de cadeia pequena e em pouca quantidade, quando comparada a quantidade de matriz celulósica (MIEHLE et al., 2021).

4.4 Liberação do ativo

Para compreender as propriedades das cápsulas de pau rosa. A Figura 17 apresenta o perfil da curva de liberação do OE, quando os filmes foram imersos em solução aquosa de etanol (70 %). A curva mostra que houve uma liberação acentuada do ativo nas primeiras 10 h de análise. A tendência dos valores obtidos mostra que a intensidade da absorbância aumentou constantemente durante o processo de liberação do óleo em todos os intervalos de tempo analisados.

Figura 17 – Perfil de liberação do OE de pau rosa em solução água/etanol (70 %).



A curva mostra a existência de duas regiões distintas na curva. A primeira reflete as primeiras 24 h de teste, com um rápido aumento da liberação de OE em solução, seguida de uma segunda mais lenta e constante. Segundo Silva et al. (2021), a fração de óleo liberada até 24 h remete às informações mais relevantes para os testes biológicos (isto é, CMI e CBM) no combate de morte e inibição do crescimento microbiano. A liberação rápida e em concentrações elevadas de OE favorece a aplicação de cápsulas em filmes finos poliméricos em diversas áreas, desde embalagens alimentícias até filmes curativos cirúrgicos. Esse comportamento é regularmente constatado em sistemas encapsulados e essa rápida liberação do ativo está relacionada ao OE encontrar-se na parede da cápsula, segundo o estudo realizado por Xue e colaboradores (XUE et al., 2019).

Após 24 h de liberação do ativo, a curva expressa a concentração do OE entrando em um estágio de equilíbrio, apontando uma liberação mais lenta do ativo; uma vez que o OE presente na região mais ao centro da cápsula, deve ser liberada lenta e gradativamente (SHETTA et al., 2019). Além disso, nesse período, a fração de óleo liberada é pertinentemente suficiente para detectar que o filme ainda permanece ativo (SILVA et al., 2021).

Neste estudo o volume de óleo liberado nesse período (24 h) foi de 84,67 mL/L devido à alta concentração de óleo utilizada no preparo da nanoemulsão. Silva et al. (2021) e Barbosa et al. (2021) obtiveram uma liberação de 1,50 mL/L e 0,33 mL/L, respectivamente.

Tabela 9 - Valores obtidos n e k a partir do gráfico utilizando a equação de Fick.

#	n	k	R ²
Nanoemulsão	0,22	41,47	0,98

O perfil de liberação do OE de pau rosa foi ajustado seguindo o modelo de Fick. Dessa maneira, foi determinado o parâmetro n e, conseqüentemente, o mecanismo de liberação. A Tabela 9 exhibe que o valor encontrado de n foi menor que 0,5 mostrando que o mecanismo dominante é do tipo I com difusão Fickiana (WU et al., 2019; SPAGNOL et al., 2018). Tal resultado indica que a liberação do OE de pau rosa está associada com a concentração interna e externa da cápsula uma vez que, após atingir o equilíbrio de concentração inicial, tende a manter-se constante com o tempo.

4.5 Atividade Antimicrobiana

4.5.1 Atividade Antimicrobiana do OE de pau rosa

Segundo a literatura, no teste de diluição seriada são determinadas as os valores de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM). O primeiro poço em que não é detectado o crescimento de bactérias, este corresponde à concentração mínima de óleo essencial que inibe o crescimento destas (CIM). A concentração ligeiramente anterior à CIM corresponde à menor concentração de óleo essencial com ação que promove a morte destas (CBM) (ANDREWS, 2001; NIE et al., 2023).

Figura 18 - Esquema representativo adaptado de Silva et al. (2021) para preparação do teste CBM e CIM, 1º Step: inoculação das microplacas; 2ª Step: amostras submetidas a controles negativo e positivo.

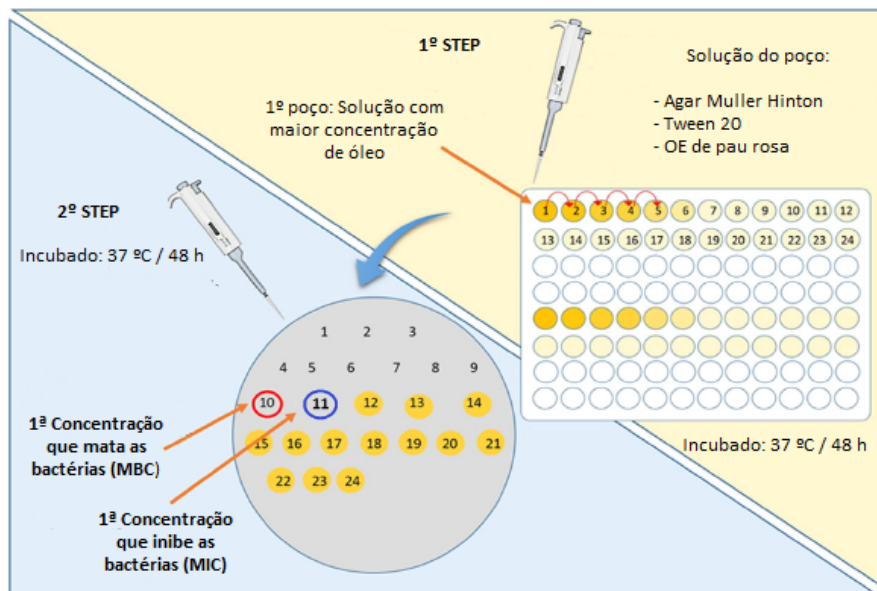
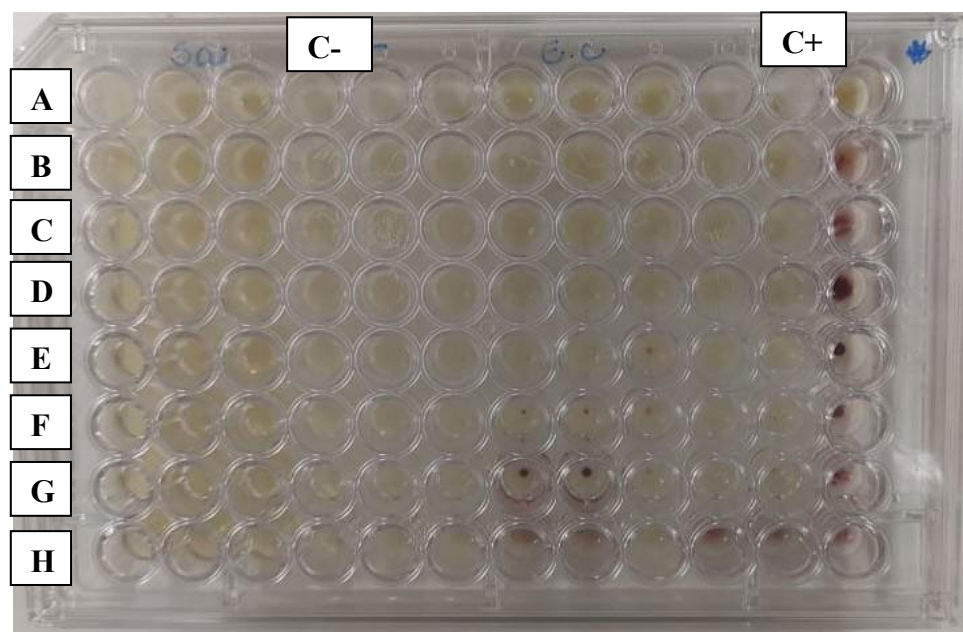


Figura 19 - Placa de Elisa das amostras de óleo para determinação da atividade antimicrobiana de *S. aureus* e *E. coli*. Perante o controle negativo (C-) e positivo (C+)



A Figura 19 mostra as diluições do OE de pau rosa preparadas em 24 poços. A concentração máxima iniciou com 200 μ L da esquerda para direita, feita com diluição de 50 % em 24 poços. Cada letra equivale a uma concentração diferente do OE conforme Tabela 5.

A amostra testada do OE de pau rosa foi testada em todos os microrganismos apresentados na Tabela 10 e apresentou atividade antimicrobiana conforme os valores apresentados de concentração para cada uma delas.

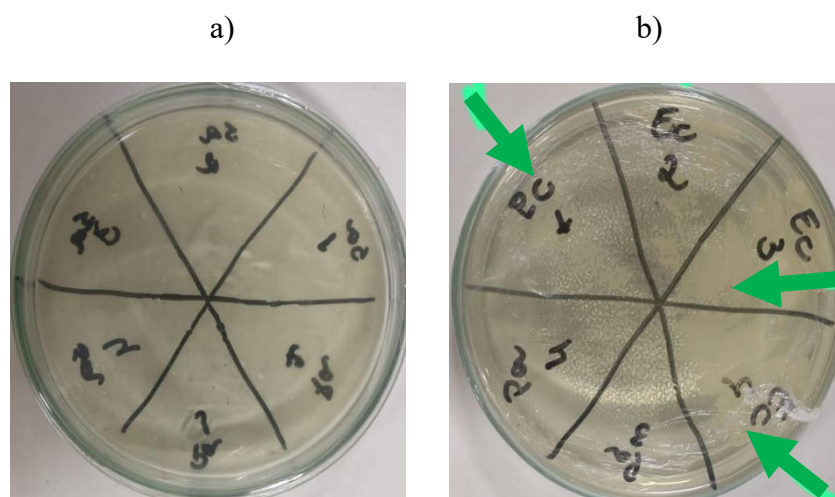
Tabela 10 - Resultados de CIM (%) e CBM (%) do ensaio antimicrobiano para os diferentes microrganismos gram positivo e gram negativo.

Microrganismos	Gram	CIM (%)	CBM (%)
<i>P. aeruginosa</i>	Negativo	0,38	0,75
<i>E. coli</i>	Negativo	1,50	3,00
<i>S. aureus</i>	Positivo	0,38	0,75
<i>E. feacalis</i>	Positivo	0,38	0,75
<i>B. cereus</i>	Positivo	0,38	0,75
<i>C. parapsilosis</i>	Positivo	0,38	0,75

Os resultados dos testes mostram que o óleo pau rosa possui atividade antimicrobiana, promovendo a morte celular (atividade bactericida e fungicida) das bactérias *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. feacalis*, *B. cereus* e da levedura *C. parapsilosis*, em todas as concentrações testadas

(Tabela 10). Para a bactéria *E. coli* o óleo essencial apresentou atividades de inibição em concentrações mais elevadas de 1,5 % (CIM) e 3,0 % (CBM) (Figura 20). Este comportamento obtido para a *E. coli* é relatado em outros estudos apresentados na literatura, decorrente da resistência relacionada a sua parede celular e camada lipídica.

Figura 20 - Contraprovas das amostras da dosagem mínima inibitória. a) 3 %; b) 1,5 % de OE, seta em verde: indica crescimento da *E. coli*.



Vale ressaltar que as bactérias *E. coli* e *P. aeruginosa* são bactérias Gram-negativas. Como apresentado pela literatura, geralmente, os OE são mais eficazes contra bactérias Gram-positivas, pois as bactérias Gram-negativas possuem uma membrana externa composta por uma dupla camada de fosfolipídios, além do peptidoglicano, que protegem as bactérias de rupturas ocasionadas pela maioria dos OE antimicrobianos. Sendo assim, os resultados obtidos com o OE de pau rosa, provavelmente, estão relacionados com às propriedades específicas presentes na estrutura da parede, de modo a facilitar ou impedir a ação do óleo (PROCHNOW et al., 2016; SEOW et al., 2014; VOLLMER et al., 2008; ESMAEILI et al., 2020).

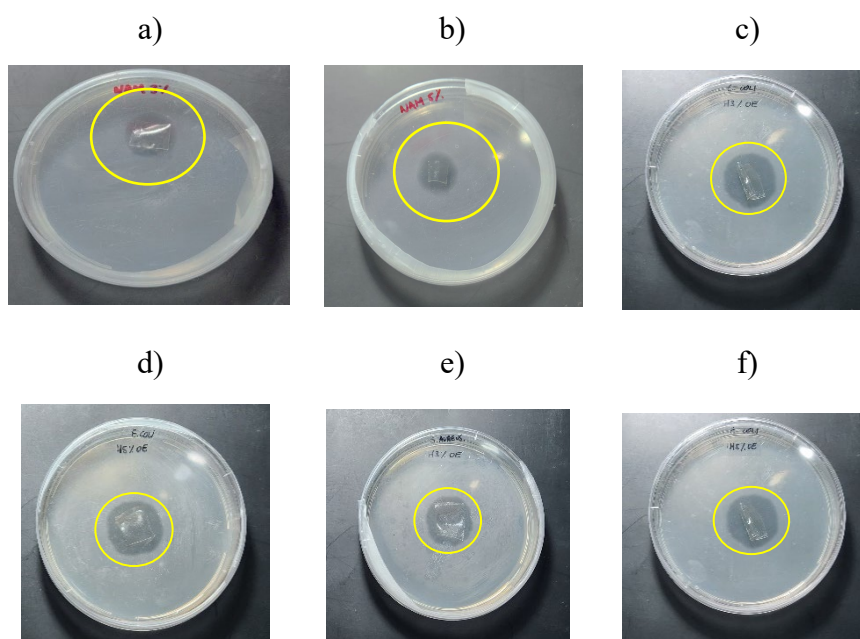
Todavia, observou-se excelentes propriedades de inibição contra todas as cepas testadas, na grande maioria das concentrações utilizadas, o que destaca a eficiência deste óleo. Chen et al., (2020) constatou que o linalol proporciona danos à parede celular, assim como distúrbios metabólicos que afetam diretamente no metabolismo dos aminoácidos, ocasionando à morte celular. Além disso, Gao et al. (2019) relatou a eficácia do linalol como agente anti-listerial, por agir de forma eficiente contra formas planctônicas e outros biofilmes.

4.5.2 Atividade antimicrobiana dos filmes de hidrogel

Ambos os filmes H3%OE e H5%OE produzidos neste trabalho apresentaram atividade contra *P. aeruginosa*, *E. Coli* e *S. aureus* conforme evidenciado pelos halos de inibição após 24 h. O volume de OE liberado durante o teste em 24 h foi suficiente para formar zonas de inibição de 17 mm e 15 mm para *P. aeruginosa*, 35 mm e 41 mm para *E. coli*, 32 mm e 35 mm para *S. aureus*, respectivamente, conforme Figura 21.

Sarrazin et al. (2016) verificou que OE de pau rosa apresentou atividade bactericida contra 86% dos microrganismos testados. Além disso, o halo de inibição para *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615) foi superior a 40 mm de diâmetro e para as demais cepas de microrganismos, apresentou halos inibição variando de 8,8 a 38,4 mm de diâmetro. Teles et al. (2021) evidenciou atividade bacteriana contra cepas gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) e gram-negativas (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella sp.*). Bactérias gram-positivas exibiram o maior halo de inibição tanto do óleo essencial quanto do linalol. O halo de inibição perante *P. aeruginosa* e *E. coli* foram de 13 mm e 15 mm, respectivamente.

Figura 21 – Atividade antimicrobiana dos filmes de hidrogel (a) H3%OE e (b) H5%OE contra *P. aeruginosa*; c) H3%OE e d) H5%OE contra *E. coli*; e) H3%OE e f) H5%OE contra *S. aureus*.



Os óleos essenciais, principalmente por meio de seus compostos fenólicos, interagem fortemente com os lipídios da membrana celular, aumentando a permeabilidade da membrana, perturbando as estruturas celulares originais, quebrando a homeostase e causando o

deslocamento de íons e conteúdo citoplasmático (SEOW et al., 2014; SALVIA-TRUJILLO et al., 2015).

Portanto, o encapsulamento de OEs em nanoemulsões, ao mesmo tempo em que aumenta a dispersibilidade em matrizes poliméricas e melhora a estabilidade físico-química dos OE, apresentam um efeito significativo em sua interação com células microbianas, bem como em sua atividade biológica (DONSÌ & FERRARI, 2016).

Gotículas da nanoemulsão, devido ao seu tamanho e à exposição dos grupos hidrofílicos das moléculas emulsificantes, podem ser transportadas de forma eficiente através das proteínas da membrana externa, permitindo uma entrega efetiva de OEs também para a membrana celular de bactérias Gram-negativas. Por esta razão, a comparação da atividade antimicrobiana de nanoemulsões de OE contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas não apresenta diferenças significativas (WU et al., 2014). Outros resultados da literatura mostram que, da mesma forma, nenhuma diferença significativa foi observada na cinética de inativação do eugenol encapsulado contra *L. monocytogenes* e *E. coli* (SHAH et al., 2013). Por outro lado, *Lactobacillus delbrueckii* (Gram-positiva) exibiu maior resistência que *E. coli* a diferentes OEs encapsulados, como óleo de melaleuca (DONSÌ et al., 2011), sugerindo que as nanoemulsões afetam também outras vias de inativação bacteriana.

O espectro da atividade antimicrobiana, dos OEs encapsulados em sistemas de nanoemulsão são geralmente mais amplos e mais fortes do que para OEs livres. A formulação da nanoemulsão, o tamanho médio da gota e a carga superficial, de fato, influenciam o transporte de OEs para a membrana celular, bem como sua interação com os múltiplos sítios moleculares na membrana celular microbiana. No entanto, nanoemulsões em alguns casos também são relatadas para inibir a atividade antimicrobiana dos OEs (DONSÌ & FERRARI, 2016).

A literatura relata que as formulações de nanoemulsão, que causaram uma redução mensurável na inatividade microbiana em relação aos OEs livres, geralmente envolvem o uso de macromoléculas como emulsificantes, com os quais o OE preferencialmente interage (SANLA-EAD et al., 2013).

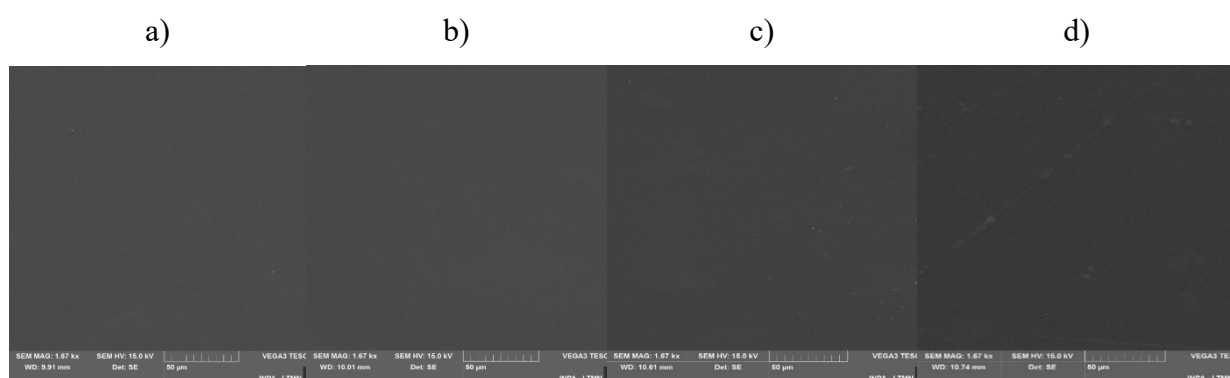
Por exemplo, nanoemulsões de óleo de hortelã-pimenta estabilizadas por amido modificado (LIANG et al., 2012) ou eugenol nanodisperso (SHAH et al., 2013) exibiram menor atividade antimicrobiana do que compostos não encapsulados. Outras macromoléculas contribuíram para aumentar a atividade antimicrobiana, como óleo de tomilho emulsionado por caseinato de sódio (XUE et al., 2015), ou óleo de capim-limão emulsionado por uma combinação de Tween 80 e alginato de sódio (SALVIA-TRUJILLO et al., 2014).

Além disso, as nanoemulsões permitem dispersar os OEs na fase aquosa em uma concentração maior do que sua solubilidade em água. Portanto, quando a concentração mínima de inibição do OE está acima de sua hidrossolubilidade, o uso de nanoemulsões aumenta a atividade antimicrobiana resultante (DONSÌ et al., 2011; LIANG et al., 2012).

4.5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Na Figura 22 observa-se que todos os filmes apresentam uma superfície lisa e homogênea, sem porosidade na superfície ou presença de separação de fase, indicando a formação de matrizes compactas. Mesmo nos filmes com a presença do óleo também não foi evidenciada separação de fase. Estas características são esperadas para filmes de matriz celulósica, como apresentam diversos trabalhos na literatura (Nunes et al. (2018). Em geral, os filmes em que nanocápsulas de óleos, por emulsão ou cápsulas sólidas, são incorporadas à matriz de celulose é esperada a formação de *voids*, tanto em sua superfície quanto no interior da matriz. Estes *voids* podem ser decorrentes da evaporação do ativo, no caso de alguns óleos essenciais que possuem componentes voláteis com baixo ponto de ebulição e pressão de vapor.

Figura 22 - Micrografia obtida por MEV da superfície dos filmes: a) H3%; b) H5%; c) H3%OE; d) H5%OE.



Nunes et al. (2018) evidenciou uma diferença significativa nas estruturas dos filmes após adição da nanoemulsão. Em adição a irregularidade do filme, também se observou a presença de poros tornando-os mais susceptíveis à passagem de vapores de água e resistência menores. Saranti et al (2021) demonstrou que a nanoemulsão de óleo essencial de pimenta-do-reino provocou alterações na microestrutura dos filmes indicando, segundo Atarés, Bonilla & Chiralt (2010), a separação das gotas de óleo da solução aquosa.

Geralmente, filmes à base de nanoemulsão experimentam uma reorganização em sua microestrutura em razão dos componentes com caráter hidrofóbicos em uma matriz hidrofílica originando uma estrutura em bicamada (ACEVEDO-FANI et al, 2015; NUNES et al., 2018; CÓRDOBA et al., 2017).

4.6 Tamanho da partícula

A análise de DLS indica o resultado de distribuição de tamanho de partículas em solução diluída. Este é um parâmetro fornecido para sistemas monodispersos medidos por esta técnica. Segundo a literatura, este é o valor máximo do pico da distribuição de tamanho de partículas (FANI et al., 2015). A nanoemulsão preparada para este estudo foi obtida com um tamanho médio (z) de 122 nm, com PI de 1,452.

A nanoemulsão preparada em meio aquoso, com o reagente surfactante, proporcionou formação de um sistema micelar promovendo o encapsulamento das nanogotículas de OE. O processo de encapsulamento por emulsão em alta rotação (12000 rpm), como utilizado neste estudo, promove a formação de nano gotículas de óleo em meio aquoso. Este sistema (óleo/água) quando na presença de um agente surfactante (molécula formada por uma cauda apolar e uma cabeça polar) em condições ideais de concentração (CMC, concentração micelar crítica), resulta na formação das micelas. Este sistema micelar, por sua vez, engloba e transporta em seu interior o princípio ativo, disperso em um meio aquoso (MANIASSO, 2001).

A finalidade deste sistema é proporcionar a liberação controlada do óleo essencial quando adicionado ao filme de hidrogel. Como mostram os estudos apresentados na literatura, as nanocápsulas de óleo, possivelmente, podem ser alocadas nos interstícios na rede entrecruzada das cadeias de celulose. Sendo assim, podendo conferir ao filme hidrogel a propriedade de atividade antimicrobiana. Este sistema vem sendo amplamente estudado e apresentado na literatura como nanocápsulas poliméricas transportadoras de princípios ativos diversificados, preparados por agitação mecânica de alta rotação.

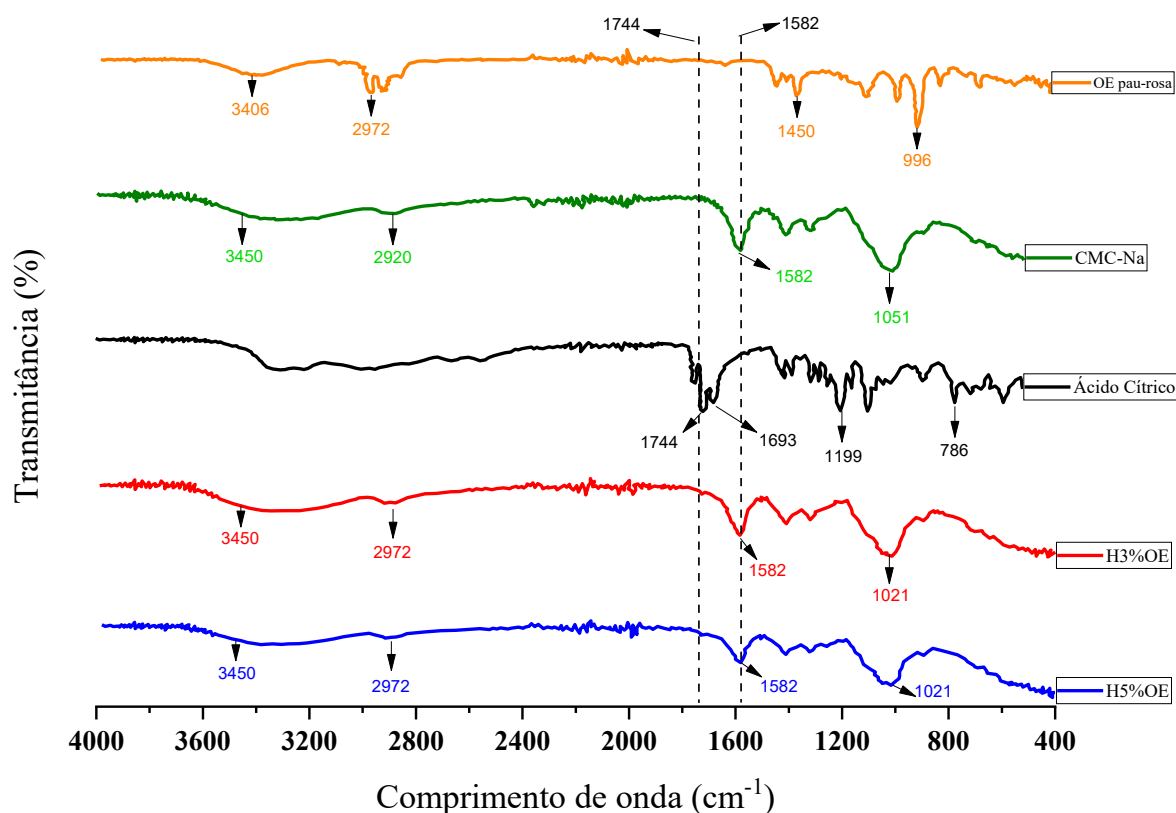
O desenvolvimento deste estudo possibilitou desenvolver um sistema de encapsulamento do princípio ativo em meio aquoso, decorrente da combinação de um agente surfactante e de um sistema de agitação mecânica de alta rotação e cisalhamento. Este sistema, quando preparado em condições ideais de proporções de surfactante e água, pode resultar em uma emulsão de nano cápsulas de OE que permanecem estáveis por um período maior. Desta maneira sua aplicação pode se estender para diversos tipos de matriz, líquida, gel ou sólida (JUFRI, MAHDI, et al. 2022; SPINELLI et al. 2010; ASMAWATI, et al. 2014).

A literatura considera nanoemulsões, contendo óleo em água, as quais são constituídas por gotículas de óleo (encapsuladas) com tamanho médio de 20 a 200 nm. Estas podem estar dispersas em meio aquoso e estabilizadas por uma camada tensoativa (SAGALOWICZAND & LESER, 2010; DONSI & FERRARI, 2016; FLORES et al., 2011; NUNES et al., 2018).

4.7 FTIR

A presença das reticulações de éster nos filmes H3%OE e H5%OE foi confirmada a partir da análise de FTIR. A Figura 23 exibe os espectros FTIR do OE de pau rosa, pó de CMC, ácido cítrico e dos filmes de hidrogel H3%OE e H5%OE.

Figura 23 – Espectros de FTIR do OE de pau rosa, CMC, Ácido cítrico e dos filmes de hidrogel H3%OE e H5%OE.



O espectro de CMC mostrou os picos característicos em 3450 cm^{-1} (alongamento O-H), 2920 cm^{-1} (estiramento C-H), 1582 cm^{-1} (estiramento C=O) e 1051 cm^{-1} (estiramento C-O). O espectro do ácido cítrico mostrou picos agudos em 1744 cm^{-1} e 1693 cm^{-1} (ambos com estiramento C=O), 1199 cm^{-1} (estiramento C-O) e 786 cm^{-1} (estiramento C-C).

O espectro do OE de pau rosa apresentou vibrações de estiramento C-C, C-O, C-H e O-H, correlacionados aos picos em 996, 1450, 2972, 2929 e 3406 cm^{-1} , respectivamente. Estas bandas estão relacionadas ao seu componente majoritário, o linalol. A banda alargada na região de 3406 cm^{-1} corresponde ao estiramento simétrico do grupo OH e os dois picos em 2929 cm^{-1} e 2972 cm^{-1} correspondem ao estiramento C-H de cadeia alifática. Os picos entre 1115 cm^{-1} e 900 cm^{-1} correspondem às ligações C-H, estruturas de grupos álcool (OH) e ligações de grupos C-O de compostos aromáticos (JABIR et al., 2018; CAMPIANI et al., 2021).

Nos espectros de todos os filmes de hidrogel, o pico carbonílico do ácido cítrico, que aparece inicialmente em 1693 cm^{-1} foi deslocado para 1744 cm^{-1} (no filme hidrogel após entrecruzamento, Figura 23), o que indica a existência de uma ligação éster junto com o ácido carboxílico livre, isto é, indica a presença de reticulações de éster nos filmes (REDDY & YANG, 2010; GHORPADE et al., 2019; JABIR et al., 2018). O pico em 1582 cm^{-1} representou o alongamento C=O do grupo carboxilato da CMC.

O deslocamento no pico de carbonila identificado nos espectros para os filmes de hidrogel, entrecruzados pela ação do ácido cítrico, também podem ser observadas na Figura 23. Verificou-se que a intensidade do pico correspondente à carbonila, em 1051 cm^{-1} da amostra de CMC, desloca para 1021 cm^{-1} à medida as cadeias de CMC são entrecruzadas (H3%OE e H5%OE). Esta alteração pode sugerir um aumento no teor de grupos carboxila ou um aumento na reticulação dos filmes de hidrogel à medida que a concentração do ácido aumenta.

Os picos correspondentes ao OE de pau rosa puro em 3406, 2974, 1450 e 996 cm^{-1} . Quando o OE é adicionado aos filmes de hidrogel de CMC as bandas são sobrepostas pelas bandas características da celulose. A sobreposição de picos e eventos é regularmente apresentada quando os componentes apresentam grupos de absorção na mesma região. Além disso, devemos considerar que a celulose está em proporção muito maior que o OE. Regularmente, esta sobreposição de eventos é observada em resultados apresentados na literatura (XIAO et al., 2017).

4.8 Análise Térmica

O comportamento de degradação térmica de CMC puro, do OE, dos filmes de hidrogel (H3% e H5%) e filmes de hidrogel com as nanocápsulas (H3%OE e H5%OE) foram verificados por análise termogravimétrica (TGA/DTG), conforme Figura 24. A Tabela 11 mostra os estágios de decomposição e perda percentual de massa para os materiais estudados.

Figura 24 - Curvas de TGA obtidas para CMC, OE de pau rosa, filmes H3%, H5%, H3%OE e H5%OE, respectivamente.

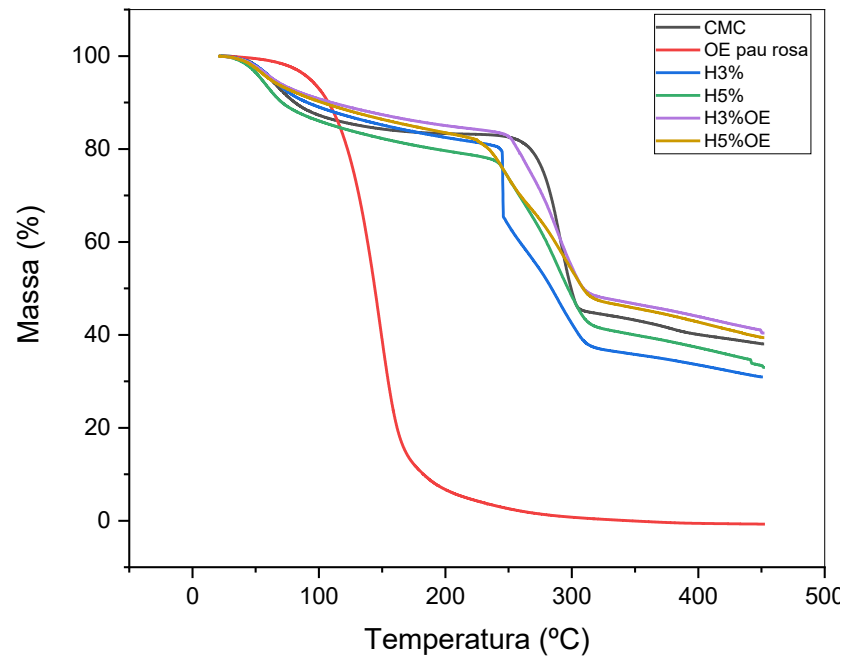


Figura 25 - Curvas de DTG obtidas para CMC, OE de pau rosa, filmes H3%, H5%, H3%OE e H5%OE, respectivamente.

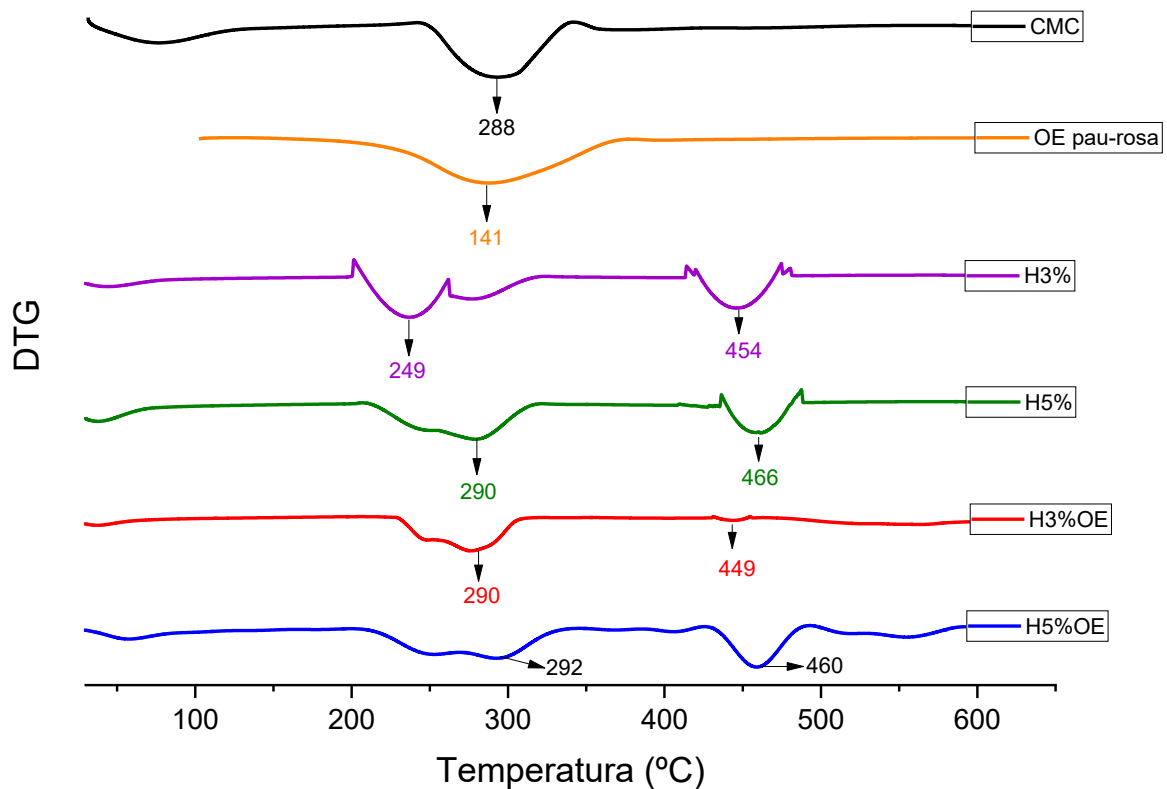


Tabela 11 - Resultados da análise termogravimétrica, perda de massa (%) em função da temperatura (°C).

Intervalo de Temperatura	22 – 180 °C	250 – 320 °C	320 - 450 °C	Em 450 °C
Amostras	Perda de Massa (%)			Massa Residual (%)
OE pau rosa	89	7		11
CMC	18	37	36	45
H3%	19	43	7	30
H5%	22	36	10	33
H3%OE	16	35	8	37
H5%OE	18	34	9	39

Observou-se que OE apresentou um único evento de degradação térmica entre 22 °C e 180 °C, com perda de massa de 89 %, o que pode indicar sua temperatura de volatilização, seguida de degradação térmica. Esses resultados são consistentes com as observações da literatura (RAO et al., 2019; SATHASIVAM et al., 2018). Isso mostra a necessidade de preservar OEs durante o preparo das amostras para que suas propriedades antimicrobianas seja efetiva (REYES-JURADO et al., 2019). Sendo que o valor residual obtido foi de 6,89 %, em temperatura de aproximadamente 190 °C. Estes dados mostram a excelente propriedade térmica dos óleos essenciais em altas temperaturas.

Para CMC puro foi observado dois picos de perda de massa no gráfico TGA/DTG, Figuras 23 e 24 (Tabela 11). O primeiro está relacionado à perda de água correspondente à remoção das moléculas intermoleculares e intramoleculares (abaixo de 100 °C). A introdução de grupos carboximetil de sódio (Na^+/CM^-) aumenta a absorção de água quando comparado à celulose pura, devido à formação de pontes de hidrogênio entre esses grupos polares hidrofílicos com as moléculas de água. Isso também foi verificado por Capanema et al. (2018), Neto et al. (2005), Li et al (2009) e Mali et al. (2018). O segundo pico de perda de massa, em 288 °C, está relacionado à degradação térmica das cadeias de celulose (Figura 24). O resultado de estabilidade térmica da CMC-Na está de acordo com os resultados apresentados pela literatura, com uma porcentagem de massa residual de aproximadamente 36 %, correspondente ao teor de cinzas desta amostra.

Para os filmes de hidrogéis, reticulados com ácido cítrico e sem nanocápsulas de OE, foi observado a redução da perda de massa associada à remoção de água entre 250 °C e 370 °C

atribuída à degradação térmica de grupos carboxila. De acordo com Raucci et al. (2015), a reticulação do CMC com ácido cítrico ocorreu com o consumo de grupos hidroxila, resultando em menos grupos hidrofílicos disponíveis para interagir com as moléculas de água. A segunda fase é a degradação das cadeias poliméricas. Além da reticulação no filme o tornar mais estável em altas temperaturas.

Existem três estágios de perda de massa observadas nos termogramas de filmes de hidrogéis com nanocápsulas de pau rosa com diferentes percentuais de perda de peso. A perda de peso inicial é devido a evaporação da água e/ou moléculas voláteis. O segundo estágio de perda de peso foi observado entre 250 °C e 320 °C que indica a existência de um processo de degradação química que pode estar relacionado à desintegração das interações das cadeias poliméricas, como pontes de hidrogênio. O terceiro estágio está ligado à presença do OEs. Em comparação com o OE puro, é possível observar uma temperatura mais elevada (em torno de 20 °C) para o início do processo de degradação do óleo. Isso sugere que as cápsulas protegem o OE da degradação térmica. Shetta, Kegere, & Mamdouh, 2019 estudaram o encapsulamento do OE de chá verde com quitosana e mostraram que o encapsulamento poderia melhorar a estabilidade térmica e proteger os compostos ativos, aumentando as propriedades antibacterianas.

É importante ressaltar que durante o desenvolvimento das nanocápsulas foi utilizada a mistura de OE, Tween 80 e água. Assim, esses resultados podem ser explicados pela presença da água residual aprisionada. Durante o aquecimento térmico, a estrutura polimérica torna-se mais dúctil, e os compostos voláteis começam a evaporar, o que explicaria essa pequena diferença, principalmente para o OE de pau rosa que apresenta como composto principal o linalol, que possui estrutura alcoólica.

As curvas TGA e DTG dos hidrogéis H3%, H5%, H3%OE e H5%OE foram semelhantes às observadas para membranas CMC (com ou sem nanocápsulas) com uma perda de massa essencialmente associada à remoção de água entre até 180 e 230 °C seguida de degradação do polímero, conforme Figura 25.

Todas as amostras foram analisadas por DSC. Os resultados são apresentados na Figura 26. Os eventos observados estão de acordo com os eventos térmico descritos previamente por TGA/DTG.

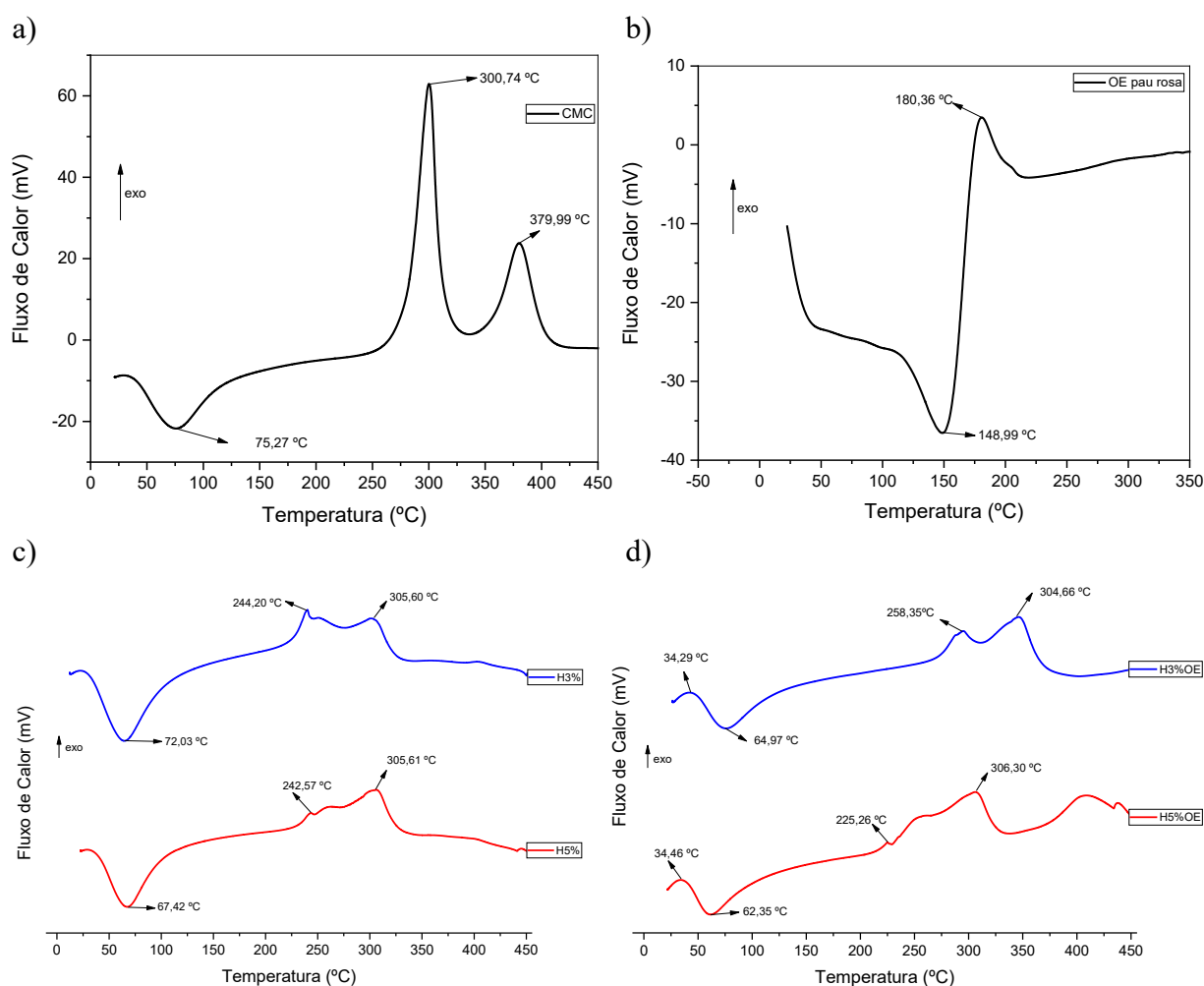
Para o óleo essencial um único evento endotérmico é observado em entre 50 e 100 °C, correspondente a degradação do óleo.

A Figura 26b mostra a estabilidade térmica da CMC pura, com o evento endotérmico abaixo de 100 °C. Os eventos exotérmicos em 300 e 400 °C são correspondentes à decomposição

seguida da degradação térmica. Os eventos estão de acordo com os eventos observados previamente, que identificam a estabilidade térmica da CMC.

Os filmes de hidrogel apresentam o primeiro evento correspondente à perda de massa de água intermolecular. A intensidade dos picos endotérmicos reflete a porcentagem de perda de massa calculada em DTG (Tabela 11). Para os filmes sem a presença de OE a porcentagem de perda de água é ligeiramente maior, aproximadamente 2 %, a mais que os filmes com OE. Este fato pode estar correlacionado à retenção das moléculas de água na rede polimérica ou à ligação a grupos polares do OE, dificultando a retirada de água na etapa inicial.

Figura 26 - Curvas de DSC obtidas para a) OE; b) CMC; c) filmes H3%, H5%, d) H3%OE e H5%OE.



Os filmes entrecruzados apresentaram um aumento das temperaturas de decomposição, possivelmente decorrente do entrecruzamento das cadeias de CMC. Conseqüentemente, a estabilidade térmica dos filmes aumentou, tanto pela reticulação, quanto pela presença do OE na

rede polimérica. Resultados semelhantes foram relatados por Su et al. (2010), onde o filme misto de isolado de proteína de soja (SPI)/CMC refletiu o aumento no valor de estabilidade térmica, devido à reticulação nas misturas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, os filmes de hidrogel de CMC com atividade bactericida decorrente das propriedades dos óleos essenciais nanoencapsulados em sistema de emulsão apresentaram resultados promissores.

As análises de intumescimento demonstraram que os hidrogéis entrecruzados com ácido cítrico foi eficiente, mantendo a estabilidade do filme em meio aquoso por longo período, de até 7 dias. Além disso, apresentaram elevados valores de grau de intumescimento, chegando até 3800% para os filmes com 3 % de ácido cítrico, e até 1500 % para os filmes com 5 % de ácido cítrico. Esta variação está diretamente correlacionada ao grau de reticulação promovida pelo ácido cítrico. Outro parâmetro relevante para o aumento da porcentagem de água absorvida por estes filmes é a presença do OE na rede polimérica, possivelmente aumentando a presença de grupos polares livres. Os resultados obtidos no ensaio de intumescimento foram utilizados para o estudo do processo difusivo, baseado no modelo de Fick, apresentando coeficientes difusivos entre $0,152 \cdot 10^{10} \text{ m}^2/\text{s}$ e $1,63 \cdot 10^{10} \text{ m}^2/\text{s}$.

O ensaio de liberação controlada do OE em meio aquoso, mostrou que o sistema de encapsulamento de OE em emulsões é eficiente, decorrente da liberação gradativa e contínuo. O volume de óleo liberado em 24 h foi de 12,54 mL/L, sendo este um dado relevante para o estudo de filmes ativos e a compreensão dos resultados para os testes biológicos; visto que, transcorre o crescimento microbiano ocorre nas primeiras 24 h, depois de inoculado. A análise de DLS caracterizou o tamanho médio das nanocápsulas em emulsão em 122 nm, como resultado do procedimento adotado para este estudo.

Os testes antimicrobianos, em geral, mostraram que tanto o OE de pau rosa puro, quanto em filmes de hidrogel apresentaram excelentes resultados de atividade antimicrobiana, principalmente contra *E. coli* e *P. aeruginosa*, bactérias Gram-negativas. Os valores de CIM e CBM e zona de inibição para os filmes evidenciaram o comportamento de atividade.

A análise FTIR possibilitou a caracterização química, elucidando a presença dos principais grupos químicos e reticulação. As análises térmicas (TGA/DSC) corroboraram para avaliação da estabilidade térmica dos filmes com relação a presença de óleo e o grau de reticulação, mantidas em até cerca de 300 °C. O MEV apresentou características morfológicas dos filmes, quanto à uniformidade e homogeneidade da superfície, sem a presença de vazios (*voids*).

Sendo assim, este trabalho evidencia diversas possibilidades de valorização de produtos naturais, como o óleo essencial da árvore do pau rosa coletado na região Amazônica, bem como,

o ácido cítrico e a celulose oriundos de fontes renováveis, os quais podem ser potencialmente adequados para o preparo de filmes curativos dérmicos. Esta possibilidade é evidenciada pelo comportamento de intumescimento, de suma importância para promover um ambiente úmido auxiliando no processo de cicatrização de feridas, e a liberação gradativa do princípio ativo no combate ao crescimento de fungos e bactérias.

6. REFERÊNCIAS

ACEVEDO-FANI, A., SALVIA-TRUJILLO, L., ROJAS-GRAÜ, M. A., & MARTÍN-BELLOSO, O. Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. *Food Hydrocolloids*, 47, 168–177. doi:10.1016/j.foodhyd.2015.01.03, 2015.

ALCÂNTARA, J. M.; YAMAGUCHI, K. K.; VEIGA JR, F. V.; LIMA, E. S. Composição química de óleos essenciais de espécies de *Aniba* e *Licaria* e suas atividades antioxidantes e antiagregante plaquetária. *Quim. Nova*, Vol. 33, No. 1, 141-145, 2010.

AMORIM, J. D. P. D. Obtenção de celulose bacteriana aditivada com extrato de própolis para aplicação em cosméticos (Master's thesis, Universidade Federal de Pernambuco), 2020.

ANDO, Y., 1994. Breeding control and immobilizing effects of wood micro ingredients on house dust mites. *Nippon Koshu Eisei Zasshi* 41, 741–750.

ANDRADE, M. A.; CARDOSO, M. G.; BATISTA, L. R.; TEIXEIRA, A. C.; MACHADO, S. M. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. *Revista Ciência Agronômica*. 43(2): 399-408, 2012.

ANGELOTTI, A. M. Obtenção de nanocompósitos baseados em nanofibras de celulose e hidrogéis polissacarídicos para aplicação na remoção ou liberação controlada de paraquat comercial. 2020.

AHMED, E.M. Hydrogel: preparation, characterization, and applications: a review, *J. Adv. Res.* 6, 105–121, <https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.07.006>, 2015.

ALMEIDA, R.N., ARAÚJO, D.A.M., GONÇALVES, J.C.R., MONTENEGRO, F.C., SOUSA, D.P., LEITE, J.R., MATTEI, R., BENEDITO, M.A.C., CARVALHO, J.G.B., CRUZ, J.S., MAIA, J.G.S. Rosewood oil induces sedation and inhibits compound action potential in rodents. *J. Ethnopharmacol.* 124, 440–443, 2009.

AMAZONAS, D. R. Variabilidade Química e Atividade Antimicrobiana de Espécimes indicados como pau rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) do Oeste do Pará. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais da Amazônia. Santarém, 2012.

ANDREWS, J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(suppl_1), 5–16. doi:10.1093/jac/48.suppl_1.5, 2001.

ARAÚJO, A. T. F. Produção e caracterização de polieletrólitos catiônicos derivados da celulose. 28f. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2019.

ARAÚJO, J. G. Eficácia do curativo de hidrogel com nanopartículas de prata na cicatrização de feridas crônicas: estudo clínico randomizado. 2017.

ARAÚJO, V. C.; CORRÊA, G. C.; MAIA, J. G.; SILVA, M. L.; GOTTLIEB, O. R.; MARX, M. C.; MAGALHÃES, M. T. Óleos essenciais da Amazônia contendo linalol. *Acta Amazônica* 1(3): 45-47, 1971.

ASMAWATI, M. W., YUSOP, S. M., MASKAT, M. Y., & SHAMSUDDIN, A. F. (2014, September). Characteristics of cinnamaldehyde nanoemulsion prepared using APV-high pressure homogenizer and ultra turrax. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 1614, No. 1, pp. 244-250). American Institute of Physics.7

ASTM - American Society for Testing and Materials. ASTM D570-98 – Standard Test Method for Water Absorption of Plastics. West Conshohocken: ASTM, 2010.

ATARÉS, L.; BONILLA, J.; CHIRALT, A. Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *J. Food Eng.* 100, 678–687, 2010.

AOUADA, F. A. Hidrogéis biodegradáveis: uma opção na aplicação como veículos carreadores de sistemas de liberação controlada de pesticidas/Fauze Ahmad Aouada, Luiz Henrique Capparelli Mattoso. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 32p, 2009.

AZEVEDO, M. M. M. Sistemas poliméricos de liberação controlada utilizando micro e nanopartículas encapsulando violaceína: caracterização, atividade biológica, consequências e perspectivas. Tese (doutorado - Universidade Estadual de Campinas). Campinas, SP: [s/n], 2005.

BALSER, K.; HOPPE, L.; EICHER, T.; WANDEL, M.; ASTHEIMER, H.J.; STEINMEIER, H.; ALLEN, J.M. Cellulose esters In: W. Gerhartz, Y.Y. Stephen, C.F. Thomas, R. Pfefferkorn, and F. James, eds. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry New York: Wiley, 1986.

BARBOSA, R. F., YUDICE, E. D. C., MITRA, S. K., ROSA, D. S. Characterization of Rosewood and Cinnamon Cassia essential oil polymeric capsules: Stability, loading efficiency, release rate and antimicrobial properties, Food Control, Volume 121, 2021, 107605, ISSN 0956-7135, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107605>, 2021.

BARUD, S.H. Preparo e caracterização de novos compósitos de celulose bacteriana. Dissertação de Mestrado. 114 f. Instituto de Química. Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

BARUD, H. S., ARAUJO JUNIOR, A. M., SANTOS, D. B., ASSUNÇÃO, R. M. N., MEIRELES, C. S., CERQUEIRA, D. A., RODRIGUES FILHO, G., RIBEIRO, C. A., MESSADDEQ, Y., RIBEIRO, S. J. L. Thermal behavior of cellulose acetate produced from homogeneous acetylation of bacterial cellulose. *Thermochimica Acta*, v. 471, p. 61-69, 2008.

BASU, P., REPANAS, A., CHATTERJEE, A., GLASMACHER, B., NARENDRAKUMAR, U., MANJUBALA, I. PEO–CMC blend nanofibers fabrication by electrospinning for soft tissue engineering applications. *Mater. Lett.* 195, 10–13, 2017.

BASU, P., NARENDRAKUMAR, U., MANJUBALA, I. Wound healing materials-a perspective for skin tissue engineering. *Curr. Sci.*, 112, 2392–2404, 2017.

BERNARDI, F., NICOLINI, K. P., NICOLINI, J.. Estudo fitoquímico de *Hydrangea* sp. por meio de métodos clássicos de análise por espectroscopia no ultravioleta visível (UV-Vis) e cromatografia em coluna e em papel. *Infarma*, v. 29, n. 1, p. 68-70, 2017.

BIANCHET, R. T. Aplicabilidade do plasma não-térmico em membranas de celulose bacteriana para finalidade cosmética, 2021.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: Aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. *Quim. Nova*, Vol. 32, No. 3, 588-594, 2009.

BORGES, J. S. A Cultura do Pau rosa (*Aniba rosaeodora* DUCKE). Dissertação em Gestão Florestal - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2012.

BRANDT, P. N.; SILVA, C. M.; RENNER, J. D.; SILVA, L. B.; BRIXNER, B.; HAMM, J. B.; POLLO, L. D. Atividade Antimicrobiana de um biofilme de quitosana associado aos óleos essenciais de cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllus*) e orégano (*Origanum vulgare*). II Mostra de Extensão, Ciência e Tecnologia da UNISC. Rio Grande do Sul, 2021.

BRITO, L. M., AGUIAR, V. O., SILVA, P. S., AMANTES, B. P., RODRIGUES, E. J., MERAT, P. P. Produção de álcool em gel 70% com diferentes precursores poliméricos. *Braz. J. of Develop.*, Curitiba, v. 6, n. 11, p.86148-86158, nov. 2020.

BROWN, R. M. Jr. Cellulose structure and biosynthesis: what is in store for the 21st century? *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, v. 42, p. 487-495, 2004. Staudinger, H., *Ber. dtsh. chem. ges.* 53, 1073, 1920.

BRUNNER, C.A, GRÖNER, R.W. Carboxy-methyl-cellulose hydrogel-filled breast implants – an ideal alternative? A report of five years' experience with this device, *Can. J. Plast. Surg.* 14, 151–154, <https://doi.org/10.1177/229255030601400302>, 2006.

BURD, A. Evaluating the use of hydrogel sheet dressings in comprehensive burn wound care. *Ostomy Wound Manag.* 53(3):52–62, 2007.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology*, vol.94, p. 223–253, 2004.

BUSATO, N. V.; SILVEIRA, J. C.; COSTA, A. O.; JUNIOR, E. F. Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor. *Ciência Rural.* 44 (9):1574-1582, 2014.

CANEVAROLO JR., S. V. Ciência dos Polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros. 2º edição. Ed. Artliber Editora, São Paulo, 2006, p. 21-60 e 139-168, 2006.

CALLISTER, W. D.; RETHWISCH, D. Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução. 9ª Edição, Ed. LTC, Rio de Janeiro, 2016, cap. 14- 16, p. 498-521, 531-541, 548-551, 584-600, 614-620.

CALÓ, E.; KHUTORYANSKIY, V. Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. *Eur Polym J.* 2015.

CAMPIANI, P. A.; OLIVEIRA, E. R.; CAMANI, P. H.; SILVA, C. G.; YUDICE, E. D.; OLIVEIRA, S. A.; ROSA, D. S. Assessing the efficiency of essential oil and active compounds/poly (lactic acid) microcapsules against common foodborne pathogens, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 186, Pages 702-713, ISSN 0141-8130, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.071>, 2021, 2021.

CAMPOS, P. M.; MELO, M. O. Bioengenharia Cutânea - Cosmetics & Toiletries. Vol. 28. Ribeirão Preto, 2016.

CANEVAROLO JR., S.V. Ciência dos Polímeros – Um texto básico para tecnólogos e engenheiros. São Paulo: Ed. Artliber, 183 p., 2002.

CAPANEMA, N.S.V., MANSUR, A.A.P., JESUS, A.C., CARVALHO, S.M., OLIVEIRA, L.C., MANSUR H. S. Superabsorbent crosslinked carboxymethyl cellulose-PEG hydrogels for potential wound dressing applications, *Int. J. Biol. Macromol.* 106 (2018)

CARASCHI, J. C. Estudo das relações estrutura/propriedades de carboximetilcelulose obtida por derivatização de polpa de bagaço de cana-de açúcar. 188 f. Tese (Doutorado em Físico-química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de Sao Paulo, São Carlos, 1997.

CAVALCANTI, J. M.; CARDOSO, J. H.; DINIZ, L. R.; PORTELLA, V. G.; COSTA, C. O.; LINARD, C. F.; ALVES, K.; ROCHA, M. V.; LIMA, C. C.; CECATTO, V. M.; SOUZA, A. N. The essential oil of *Croton zehntneri* and trans-anethole improves cutaneous wound healing. *Journal Of Ethnopharmacology.* 144 (2): 240-247, 2012.

CELESTINO, V. P.; MAESTRI, G.; BIERHALZ, A. C.; IMMICH, A. P. Produção e Caracterização de hidrogel de carboximetilcelulose para aplicação na área de curativos biomédicos. 14º Congresso da Sociedade Latino-Americana de Biomateriais, Órgãos Artificiais e Engenharia de Tecidos. 5ª Edição do Workshop de Biomateriais, Engenharia de Tecidos e Órgãos Artificiais. São Paulo - Maresias, 2017

CERRUTI, B.M. Biomacromoléculas Carboximetiladas: Atuação como Agentes de Estabilização de Suspensões Aquosas de Alumina. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química –USP, 2010. Tese de doutorado, 139p.

CHAAR, J. S. Estudos analíticos e modificação química por acetilação do linalol contido no óleo essencial da espécie *Aniba duckei* Kostermans. Tese de Doutorado em Química. Universidade de São Carlos. São Carlos, 2000.

CHANTRAINE, J. M.; DHÉNIN, J. M.; MORETII, C. Chemical Variability of Rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) Essential Oil in French Guiana, *Journal of Essential Oil Research*, 21:6, 486-495, 2011.

CHEN, J., TANG, C., ZHANG, R., YE, S., ZHAO, Z., HUANG, Y. Metabolomics analysis to evaluate the antibacterial activity of the essential oil from the leaves of *Cinnamomum camphora* (Linn.) Presl. *Journal of Ethnopharmacology*, 253(February), Article 112652. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112652>, 2020.

CIOLA, R. Introdução à cromatografia em fase gasosa. São Paulo: Edgar Blucher, 1973.

CLARO, F. C.; JORDÃO, C.; VIVEIROS, B. M.; ISAKA, L. J.; JUNIOR, J. A.; MAGALHÃES, W. L. Low cost membrane of wood nanocellulose obtained by mechanical defibrillation por potencial applications as wound dressing. *Cellulose*. 27:10765-10779, 2020.

COHN, P. E. Analisadores industriais: no processo, na área de utilidades, na supervisão da emissão de poluentes. Rio de Janeiro: Interciência; IBP, 2006.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Introdução a métodos cromatográficos. 7. ed. Campinas: Editora Unicamp, 1997.

COOKSEY, Kay. Antimicrobial food packaging materials. *Additives for Polymers*, v. 2001, n. 8, p. 6-10, 2001.

CÓRDOBA, L.J.P.; SOBRAL, P.J. Physical and antioxidant properties of films based on gelatin, gelatin-chitosan or gelatin-sodium caseinate blends loaded with nanoemulsified active compounds. *J. Food Eng.* 2017.

COSTA, F. F. P. da. Efeito retardante de blocos de copolímero na liberação controlada de fármacos por polímero entérico eletrofiado / Fábria Fernandes Pinheiro da Costa. – Juazeiro, BA, 2015. 83 f.: il. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) – Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Juazeiro, Juazeiro - BA, 2015.

COX, P.; BETTS, R. A; JONES, C.; SPALL, S.; TOTTERDELL, I. Acceleration of global warming due to carbon-cycle feedbacks in a coupled model. *Nature*. 408. 10.1038/35047138, 2000.

CRANK, J. “Mathematics of diffusion”. Oxford: Oxford University Press, 1975. 414 p.

CUCCI, C.; BARTOLOZZI, G.; MARCHIAFAVA, V. et al. Study of semi-synthetic plastic objects of historic interest using non-invasive total reflectance FT-IR. *Microchemical Journal*, v. 124, p. 889–897, 2016.

CUSSLER, E. L. *Diffusion Mass Transfer in Fluid Systems*. New York: Cambridge University Press, 2009.

DONSÌ, F.; FERRARI, G. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food, *Journal of Biotechnology*, Volume 233, 2016, Pages 106-120, ISSN 0168-1656, [tps://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.07.005](https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.07.005), 2016.

DONSÌ, F., ANNUNZIATA, M., SESSA, M., FERRARI, G. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT: Food Sci. Technol.* 44, 1908–1914, <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2011.03.003>, 2011.

DUCKE, A. Lauraceae aromáticas do Amazonas. *An. Reun. Sul-Amer. Bot.* 3, 55–74, 1938.

DURANGO, A.M; SOARES, N. F. F; ANDRADE, N. J. Microbial coating on minimally processed corrats. *Food Control.* V.17. p.336-341, 2006.

EARLE, R. R.; AYALASOMAYAJULA L. U.; LOKNADH, G. et al. A Review on Natural Polymers Used in Pharmaceutical Dosage Forms. *International Journal of Science and Research Methodology*, v. 3, n. 3, p. 77–88, 2016.

EDGAR, K. J., BUCHANAN, C. M., DEBENHAM, J. S., RUNDQUIST, P. A., SEILER, B. D., SHELTON, M. C., TINDALL, D. Advances in cellulose ester performance and application. *Progress Polymer Science*, v. 26, p. 1605-1688, 2001.

EICHHORN, S.J., DUFRESNE, A., ARANGUREN, M., MARCOVICH, N.E., CAPADONA, J.R., ROWAN, S.J., WEDWE, C., THIELEMANS, W., ROMAN, M., RENNECKAR, S., GINDL, W., VEIGEL, S., KECKES, J., VANO, H., ABE, K. NOGI, M., NAKAGAITO, A.N.,

ESPINA, P.J.P.; SOARES, N. DE F.F.S.; BOTTI, L.C.M.; SILVA, W.A. Effect of essential oils in the properties of cellulosic active packaging. *Macromolecular Symposia*, vol. 299/300, p. 199–205, 2011.

EHRENSTEIN, G. W.; RIEDEL, G.; TRAWIEL, P., eds., *In Thermal Analysis of Plastics*; Hanser Gardner Publications: Ohio, USA, 2004.

ELISABETSKY, E., SOUZA, G.P.C., SANTOS, M.A.C., SIQUEIRA, I.R., AMADOR, T.A. Sedative properties of linalool. *Fitoterapia* 66, 407–414, 1995.

ESMAEILI, H., CHERAGHI, N., KHANJARI, A., REZAEIGOLESTANI, M., BASTI, A. A., KAMKAR, A. Incorporation of nanoencapsulated garlic essential oil into edible films: A novel

approach for extending shelf life of vacuum-packed sausages. *Meat Science*, 166(March), Article 108135. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108135>, 2020.

FAO, Corporate Document Repository. *Flavours and Fragrances of Plant Origin*. Forestry Department, Washington, D.C, 1995.

FARIA, A. P. *Avaliação do hidrogel de celulose bacteriana na cicatrização de feridas em equinos*. Araçatuba, 2021.

FATHI, M.; BARAR, J. Perspective highlights on biodegradable polymeric nanosystems for targeted therapy of solid tumors. *BioImpacts*, v. 7, n. 1, p. 49–57, 2017.

FLORES, F. C., RIBEIRO, R. F., OURIQUE, A. F., ROLIM, C. M. B., SILVA, C. de B. da ., POHLMANN, A. R., BECK, R. C. R., & GUTERRES, S. S. Nanostructured systems containing an essential oil: protection against volatilization. *Química Nova*, 34(6), 968–972. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000600010>, 2011

GALLETI, S. R. Introdução à microscopia eletrônica. *Biológico*, v. 65, n. 2, p. 33 – 35, 2003.

GAMA, M.; DOURADO, F.; BIELECKI, S. *Bacterial nanocellulose: From biotechnology to bio-economy*. Elsevier, 2016.

GAO, Z., VAN NOSTRAND, J. D., ZHOU, J., ZHONG, W., CHEN, K., & GUO, J. Anti-listeria activities of linalool and its mechanism revealed by Comparative transcriptome analysis. *Frontiers in Microbiology*, 10(December). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02947>, 2019.

GEYER, U., HEINZE, T., STEIN, A., KLEMM, D., MARSCH, S., SCHUMANN, D., SCHMAUDER, H-P. Formation, derivatization and applications of bacterial cellulose. *International Journal Biological Macromolecules*, v.16, n. 6, p. 343-347, 1994.

GHERMAN, T.; POPESCU, V.; CARPA, R.; GAVRIL, G. L.; RAPA, M.; OPRESCU, E. E. *Salvia officinalis* essential oil loaded gelatin hydrogel as potential antibacterial wound dressing materials. *Rev Chim*, 2018.

GILMARA, O. M. Preparação e caracterização de CMC e CMC graftizada. Dissertação (Mestrado em Físico-química) – Instituto de Química de Sao Carlos, Universidade de Sao Paulo, Sao Carlos, 2000.

GHORPADEA, V. S., YADAV, A. V., DIAS, R. J. Citric acid crosslinked - cyclodextrin/carboxymethylcellulose hydrogel films for controlled delivery of poorly soluble drugs. *Carbohydrate Polymers*, v. 164, p. 339-348, 2017.

GOLDSTEIN, J. I., NEWBURY, D. E., MICHAEL, J. R., RITCHIE, N. W., SCOTT, J. H. J., & JOY, D. C. *Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis*. Springer, 2017.

GONZALEZ, M. R. Avaliação da tensão de contração durante a polimerização de uma resina em função da área aderida. *Rev. Bras. Odontol. Rio de Janeiro*, v.69, n.1, p. 21-24. 2012.

GOTTLIEB, O.R.; FINEBERG, M.; GUIMARÃES, M.L.; MAGALHÃES, M.T.; MARAVALHAS, M. Notes on brazilian rosewood. *Perfum. Essent. Oil Rec.* 55, 253–257, 1964.

GRIFFIN, M. O., FRICOVSKY E., CEBALLOS G., VILLARREAL F. Tetracyclines: a pleiotropic family of compounds with promising therapeutic properties. Review of the literature. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 299, C539–C548 10.1152/ajpcell.00047.2010

GUPTA, A.; KOWALCZUK, M.; HEASELGRAVE, W.; BRITLAND, S.T.; MARTIN, C.; RADECKA, I. The production and application of hydrogels for wound management: A review. *Eur Polym J*, 2019.

HATAKEYAMA, T. Determination of bound water content in polymers by DTA,DSC and TG, *Thermochim. Acta* 123 153–161, 1988.

HEBEISH, A. SHARAF, S. Novel nanocomposite hydrogel forwound dressing and Other medical applications, *RSC Adv.* 5. 103036–103046, <https://doi.org/10.1039/C5RA07076G>, 2015.

HEBEISH, A., HASHEM, M., EL-HADY, M. M. A., SHARAF, S. Development of CMC hydrogels loaded with silver nano-particles for medical applications. *Carbohydr. Polym.* 92, 407–41, 2013.

IONASHIRO, M. *Princípios Básicos da Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial/Calorimetria Exploratória Diferencial*, Giz Editorial: São Paulo, Brasil, 2004.

ISCUISSATI, V. B. Estudo das propriedades físico-químicas de nanocristais de celulose após reação de oxidação utilizando N-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina (TEMPO). 2020. 54 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Materiais) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2020.

JABIR, M. S.; TAHA; A.A.; SAHIB, UI.; TAQI, Z.J.; AL-SHAMMARI, A. M.; SALMAN AS. Novel of nano delivery system for Linalool loaded on gold nanoparticles conjugated with CALNN peptide for application in drug uptake and induction of cell death on breast cancer cell line. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2019 Jan 1; 94:949-964. doi: 10.1016/j.msec.2018.10.014. Epub 2018 Oct 13. PMID: 30423784.

JAIN, K. K. *Drug Delivery System, Methods in Molecular Biology*. Springer Science + Business Media: New York, v. 1141, 2014.

JUFRI, M., ISWANDANA, R., WARDANI, D. A., & Malik, S. F. Formulation of Red Fruit Oil Nanoemulsion Using Sucrose Palmitate. *Int. J. Appl. Pharm*, 14(5), 175-180, 2002.

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10, 813-829.2003

KALODERA, Z.; PEPELJNJAK, S.; BLAZEVIC, N. Chemical composition and antimicrobial activity of *Tanacetum parthenium* essential oi. *Pharmazie*, Berlin, v.11, p.885-886, 1997.

KANAFI, N. M., RAHMAN, N. A., & ROSDI, N. H. Citric acid cross-linking of highly porous carboxymethyl cellulose/poly (ethylene oxide) composite hydrogel films for controlled release applications. *Materials Today: Proceedings*, 7, 721-731, 2019.

KIM E.-H., KIM, H.-K., AHN, Y.-J. Acaricidal activity of plant essential oils against *Tyrophagus putrescentiae* (Acar: Acaridae). *J. Asia-Pacific Entomol.* 6, 77–82, 2003.

KLEMM D., PHILIPP B., HEINZE T., HEINZE U., WAGENKNECHT W. *Comprehensive Cellulose Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, 1998.

KLEMM, D., HEUBLEIN, B., FINK, H. P., BOHN, A. Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte Chemie - International Edition*, v. 44, n. 22, p. 3358–3393, 2005.

KLEMM, D., SCHUMANN, D., KRAMER, F., HESSLER, N., KOTH, D., SULTANOVA, B. Nanocellulose materials – different cellulose, different functionality. *Macromolecular Symposia*, v. 280, p. 60-71, 2009.

LANÇAS, F.M. *Cromatografia em Fase Gasosa*. Acta, São Carlos, 1993.

LAWLESS, J. *The Encyclopedia of Essential Oils*. Thorsons, London, 2002.

LEITE, L. T., VIANA, B. B., MACÊDO, L. O., LIMA, R. B., ANDRADE, A. K., MEIRELES, S. S., MONTENEGRO, R. V., DANTAS, R. V., DUARTE, R. M. Efeito do clareamento caseiro contendo diferentes espessantes sobre a cor do esmalte dentário bovino. *Research, Society and Development*, v.10, n.11, e348101119559, 2021.

LI, W. SUN, B. WU, P. Study on hydrogen bonds of carboxymethyl cellulosesodium film with two-dimensional correlation infrared spectroscopy, *Carbohydr. Polym.* 78 454–461, 2009.

LIANG, R., XU, S., SHOEMAKER, C.F., LI, Y., ZHONG, F., HUANG, Q. Physical and antimicrobial properties of peppermint oil nanoemulsions. *J. Agric. Food Chem.* 60, 7548–7555, <http://dx.doi.org/10.1021/jf301129k>, 2012.

LIMA, R. B. S. Características fisiológicas e conteúdo de óleos voláteis em folhas de paurosa (*Aniba rosaeodora* Ducke em diferentes períodos de precipitação, na Amazônia Central. / Renata Braga Souza Lima - Manaus: [s.n.], xii, 69 p.iil. 2006.

LIMA, M. S. D. DE. Estudo da influência da incorporação do óleo essencial de cravo em filmes de poli (cloreto de vinila), 2018.

LIMA, G. F., SOUZA, A. G., ROSA S., D., Nanocellulose as Reinforcement in Carboxymethylcellulose Superabsorbent Nanocomposite Hydrogels. *Macromol. Symp.* 394, 2000126. <https://doi.org/10.1002/masy.202000126>, 2020.

LIN, X.; TANG, D.; DU, H. Self-assembly and controlled release behavior of the water insoluble drug nifedipino from electrospun PCL-based polyurethane nanofibres. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 65, p. 673 – 681, 2013.

LOGANATHAN, S.; VALAPA, R. B.; MISHRA, R. K.; PUGAZHENTHI, G.; THOMAS, S. In *Thermal and Rheological Measurement Techniques for Nanomaterials Characterization* (pp. 67-108). Thomas, S., Thomas, R., Zachariah, A. K., & Kumar, R., eds.; Elsevier, 2017

LOPES, V. M. P. Produção e caracterização de filmes bioativos à base de nanocelulose por incorporação de óleo essencial de cravinho-da-Índia e eugenol. Diss. 2018.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A.; *Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas*, Instituto Plantarum: Nova Odessa, 2002.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E., eds., *Caracterização de Polímeros: Determinação de peso molecular e análise térmica*; E-papers: Rio de Janeiro, 2001.

LUSIANA, R. A.; ISDADIYANTO, S. KHABIBI, S. urea permeability of citric acid crosslinked chitosan-poly (vinyl alcohol) blend membranes, *Int. J. Chem. Eng.* 7 186–189, 2016.

LYRA, M. A. M.; SOARES SOBRINHO, J. L.; BRASILEIRO, M. T.; ROCA, M. F. L.; BARRAZA, J. A.; VIANA, O. S.; ROLIN NETO, P. J. Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para Liberação Controlada de Fármacos. *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 26, p. 784 – 93, 2007.

MACHADO, B. F.; JUNIOR, A. F.; TELES, F. M. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. *Cadernos Acadêmicos*, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

MAGALHÃES, L. M.; ALENCAR, J. C. Fenologia do pau rosa (*Aniba duckei* Kostermans), Lauraceae, em floresta primária na Amazônia Central. *ActA AMAZONICA* 9(2) : 227-232. 1979

MAI-PROCHNOW, A., CLAUSON, M., HONG, J., Murphy, A.B. Gram positive and Gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma. *Sci Rep.* Dec 9;6:38610. doi: 10.1038/srep38610. PMID: 27934958; PMCID: PMC514692, 2016.

MAIA, J.G.S.; MOURÃO, R.H.V. Volatiles from the Wood of *Aniba Parviflora* (Meiss.) Mez. Unpublished results, 2014.

MAIA, J.G.S.; ANDRADE, E.H.A.; COUTO, H.A.R.; da SILVA, A.C.M.; MARX, F.; HENKE, C. Plant Sources of Amazon Rosewood Oil. *Quim. Nova*, Vol. 30, No. 8, 1906-1910, 2007.

MAIA, J. G.; MOURÃO, R. H. Amazon Rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) Oils. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Elsevier, 2016.

MACHADO, L. D. B., MATOS, J. R. Análise Térmica diferencial e calorimetria exploratória diferencial. In.: CANEVAROLO, A. V. *Técnicas de caracterização de polímeros*. 1ed. Artliber Editora Ltda. São Paulo, p. 229-261, 2003.

MARQUES, N. N., BALAHN, R. C., HALILA, S., BORSALI, R. Synthesis and characterization of carboxymethylcellulose grafted with thermoresponsive side chains of high LCST: The high temperature and high salinity self-assembly dependence, *Carbohydrate Polymers*, Volume 184, 2018.

MANGALAM, A., SIMONSEN, J., BENIGHT, A.S., BISMARCK, A., BERGLUND, L.A., PEIJS, T., review: Current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites, *j. mater. sci.* 45,1–33, 2010.

MANIASSO, N. Ambientes micelares em Química analítica. *Quím Nova* [internet]. Jan; 24(1):97-93. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422001000100015>, 2001.

MAY, P.H.; BARATA, L.E.S. Rosewood exploitation in the Brazilian Amazon: options for sustainable production. *Econ. Bot.* 58, 257–265, 2004.

MAZOUZI, D., GRISSA, R., PARIS, M., KARKAR, Z., HUET, L., GUYOMARD, D., LESTRIEZ, B. CMC-citric acid Cu (II) cross-linked binder approach to improve the electrochemical performance of Si-based electrodes. *Electrochimica Acta*, 304, 495-504, 2019.

MELLO, A. L., Obtenção de nanocristais de celulose e sua modificação utilizando 3-Isopropenil- α,α' -Dimetilbenzil Isocianato (TMI). Dissertação de Mestrado em Química Industrial. Universidade Federal de Uberlândia. Minas Gerais, 2021.

MIEHLE, E.; BADER-MITTERMAIER, S.; SCHWEIGGERT-WEISZ, U.; HAUNER, H.; EISNER, P. Effect of Physicochemical Properties of Carboxymethyl Cellulose on Diffusion of Glucose. *Nutrients* 2021, 13, 1398. <https://doi.org/10.3390/nu13051398>, 2021.

MOON, R. J.; MARTINI, A.; NAIRN, J.; SIMONSEN, J.; YOUNGBLOOD, J. Cellulose nanomaterials review: Structure, properties, and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*, 2011.

MONTAGNER, C.; VIDAL, C.; VIZIOLI, B.; GOMES, L. Aspectos analíticos para a determinação de contaminantes ambientais no contexto da ecotoxicologia. 10.4322/978-65-86819-07-6-12, 2021.

MONTEIRO, M. S.; SANTOS, T. M; OLIVEIRA, C. A.; FREITAS, Z. M.; SANTOS, E. P. Desenvolvimento e avaliação de hidrogéis de carboximetilcelulose para o tratamento de feridas. *REvista Infarma. Ciências Farmacêuticas*. 10.14450/2318-9312.v32.e1.a2020.pp41-55, 2020.

MORI, H. M.; KAWANAMI, H.; KAWAHATA, H.; AOKI, M. Wound healing potential of lavender oil by acceleration of granulation and wound contraction through induction of TGF- in a rat model. *Bmc Complementary And Alternative Medicine*. 16 (1): 144, 2016.

MOTHÉ, C. G.; AZEVEDO, A. D; *Análise térmica de materiais*, Artliber Editora: São Paulo, Brasil, 2009.

NAIR, L. S.; LAURENCIN, C. T. Biodegradable polymers as biomaterials. *Progress in Polymer Science (Oxford)*, v. 32, n. 8–9, p. 762–798, 2007.

NASCIMENTO, A. R.; CARVALHO, E. P.; NETO, M. A.; MARTINS, A. G.; VIEIRA, R. H. Atividade Antibacteriana de óleos essenciais frente a bactérias isoladas de sururu, *Mytella falcata*. *Arq. Ciên. Mar, Fortaleza*, 40(2): 47 - 54, 2007.

NELSON, D. L.; COX, M. M.; *Princípios de Bioquímica*. 5th ed.; Artmed: Porto Alegre, 2011.

NEJMAN, M.; *Thermal Analysis in Practice Tips and Hints Booklet*. Mettler Toledo International Inc.: Zurique, Suíça, 2016
<https://www.mt.com/gb/en/home/library/applications/lab-analytical-instruments/thermal-analysis-tips--and-hints.html>, acessado em Abril 2023.

NETO, C.G.T., GIACOMETTI, J.A., JOB, A.E., FERREIRA, F.C., FONSECA, J.L.C. PEREIRA, M.R., Thermal analysis of chitosan based networks, *Carbohydr. Polym.* 62 97–103, 2005.

NICHOLSON, M. D., MERRIT, F. M. Cellulose ethers. In: NEVELL, T. P., ZERONIAN, H. S. *Cellulose chemistry and its applications*. New York: John Wiley, Cap. 15. 1985.

NIE, Y. PAN, Y.; YUE, J., DANDAN, X., RONG, Y., YI, Z., ZHENGKE, Z., Stability and bioactivity evaluation of black pepper essential oil nanoemulsion, *Heliyon*, Volume 9, Issue 4, 2023, e14730, ISSN 2405-8440, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14730>.

NORDIN, N. A., RAHMAN, N. A., TALIP, N., & YACOB, N. Citric acid cross-linking of carboxymethyl sago starch based hydrogel for controlled release application. In *Macromolecular Symposia* (Vol. 382, No. 1,), 2018.

NUNES, J.C.; MELO, P.T.S.; AOUADA, F.A.; MOURA, M.R.D. Influência da nanoemulsão de óleo essencial de limão em filmes à base de gelatina. *Quím. Nova* 2018, 41, 1006–1010, 2018.

OHASHI, S. T.; ROSA, L. S. Influência do diâmetro e da altura de corte das cepas na brotação de pau rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke). *Revista de Ciência Agrárias*. Nº 41. 2004.

PAES, O. A. Análise Comparativa De Óleos Essenciais E Extratos De Cinco Variedades Da Espécie *Aniba rosaeodora* Ducke (*Lauraceae*) Dissertação em Química Orgânica. Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2016.

PEREIRA, M. S. Preparação e caracterização de fibras de curauá (*Ananás euructifolius*) e poliuretano obtido a partir do óleo de mamona (*Ricinus communis*). Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade de Brasília. Brasília, 2015.

PISTORE, M., BRUSTOLIN, M., ROSSET, A., ZANELLA, C. A., CANSIAN, R. L., & ROMAN, S. S. Avaliação do uso tópico do óleo essencial de *Ruta graveolens* L.(arruda) na cicatrização de feridas em ratos. *Revista Perspectiva*, 38(141), 57-68, 2014.

PONTES, E. R. (2020). Aerogel de celulose bacteriana silanizada incorporado de óleos naturais como potencial curativo dérmico.

PORTO, A. S. Desenvolvimento de nanoemulsão a base de óleo de copaíba-Copaifera Multijuga Hayne e nanopartícula de prata associada a itraconazol e terbinafina: ensaios antimicrobianos, 2020.

OLIVEIRA, M.J.; PARRA, D.F.; AMATO, V.S.; LUGÃO, A. B. Hydrogel membranes of PVAI/clay by gamma radiation. *Radiat Phys Chem*. 84:111–4, 2013.

OLIVEIRA, A. M. C. V. O Hidrogel no campo da inovação: revisão integrativa de estudos baseados em dados de poli(álcool vinílico) e carboximetilcelulose sódica usados na composição de hidrogéis para o tratamento de feridas. *Conhecimentos e desenvolvimento de pesquisas nas ciências da saúde* 4, n. 10.22533/at.ed.80820161115, 2020.

OLSSON, E., HEDENQVIST, M. S., JOHANSSON, C., & JÄRNSTRÖM, L. Influence of citric acid and curing on moisture sorption, diffusion and permeability of starch films. *Carbohydrate Polymers*, 94(2), 765–772. doi:10.1016/j.carbpol.2013.02.006, 2013.

PALMA, J. W. C. Caracterização físico-química e otimização de formulações de poliuretano para indústria elétrica. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Itajubá. Itajubá, 2017.

PATEL, A., MEQUANINT, K. Swelling kinetics of physically crosslinked Polyurethane-block-polyacrylamide hydrogels. *Materials Science Engineering. IEEE 35th Annual Northeast Bioengineering Conference.*, pp. 1-2, 2009. doi: 10.1109/NEBC.2009.4967632. 2009.

PEN, L.T.; JIANG, Y. M.. (2003). Effects of chitosan on shelf life and quality of fresh-cut Chinese water chestnut. *LWT - Food Science and Technology*. 36. 359-364. 10.1016/S0023-6438(03)00024-0.

PERCEC, V.; XIAO, Q. The Legacy of Hermann Staudinger: Covalently Linked Macromolecules. *Chem* 6, 2855–2861, November 5, 2020.

PÉREZ-MARTÍNEZ, C. J.; MORALES CHÁVEZ, S. D.; CASTILLO-CASTRO, T.; LARA CENICEROS, T. E.; CASTILLO-ORTEGA, M. M.; RODRÍGUEZ-FÉLIX, D. E. Electroconductive nanocomposite hydrogel for pulsatile drug release. *React Funct Polym*, 2016.

PIMENTEL, R. B.; SOUZA, D. P.; ALBUQUERQUE, P. M.; DUVOISIN, S.; FERNANDES, A. V.; SANTOS, A. S.; GONÇALVES, J. F. Variability and antifungal activity of volatile compounds from *Aniba rosaeodora* Ducke, harvested from Central Amazonia in two different seasons, *Industrial Crops and Products*, Volume 123, 2018.

PING, Z. H.; NGUYEN, Q. T.; CHEN, S. M.; ZHOU, J. Q.; DING, Y. D. “States of water in diferente hydrophilic polymers – DSC and FTIR studies”. *Polymer*, 42: 8461–8467, 2001.

PINTO, E. P. Estudo da molhabilidade e flexibilidade de filmes de quitosana contendo glicerol para aplicações biomédicas / Erveton Pinheiro Pinto; orientador, Robert Ronald Maguiña Zamora. – Macapá. Dissertação (Mestrado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2018.

PRADO, F. B.; ROCHA, W. C.; MARTIM, S. R.; ALECRIM, M. M.; SILVA, L. P.; SILVA, L. S.; SILVA, T. A.; TEIXEIRA, M. Produção de compostos bioativos por *Aspergillus* mantidos sob duas condições de preservação. *Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. Cienc. Nat.*, Belém, v. 12, n. 1, p. 37-47, jan.-abr. 2017

PRICE, S., PRICE, L. *Aromatherapy for Health Professionals*. Churchill Livingstone, London, 1999.

QUEIROZ, J. R. C.; MAROCHO, S. S.; BENETTI, P.; TANGO, R. N.; NOGUEIRA JUNIOR, L. Métodos de caracterização de materiais para pesquisa em odontologia. *Revista da Faculdade de Odontologia*, v. 17, p. 106 – 112, 2012.

RAO, J., CHEN, B., MCCLEMENTS, D. J. Improving the efficacy of essential oils as antimicrobials in foods: Mechanisms of action. *Annual Review of Food Science and Technology*, 10(1), 365–387. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032818-121727>, 2019.

Raucci, M.G., Alvarez-Perez, M.A., DEMITRI, C., GIUGLIANO, D., BENEDICTIS, V., SANNINO, A., AMBROSIO, L., Effect of citric acid crosslinking cellulose-based hydrogels on osteogenic differentiation, *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 103A 2045–2056, 2015.

REDDY, N., YANG, Y. Citric acid cross-linking of starch films, *Food Chem.* 118 702–711. doi:10.1016/j.foodchem.2009.05.050, 2010.

RHIND, J.P. *Fragrance and Wellbeing: Plant Aromatics and Their Influence on the Psyche*. Singing Dragon (Jessice Kingsley Publishers), London, 2014.

RIBEIRO, S. D. Obtenção de triacetato de celulose a partir do bagaço de cana-de-açúcar para revestimento de micropartículas de goma gelana e avaliação do seu perfil de liberação in vitro e da mucoadesão ex vivo. 2016. 102 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, DOI <https://doi.org/10.14393/ufu.te.2016.105>, 2016.

REYES-JURADO, F., NAVARRO-CRUZ, A. R., OCHOA-VELASCO, C. E., PALOU, E., L'ÓPEZ-MALO, A., & 'AVILA-SOSA, R. Essential oils in vapor phase as alternative antimicrobials: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–10. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1586641>, 2019.

SÁ, A.L.F.; PAZ, J.C.; BARROSO, K.S.N.; SALVIANO, F.S.N.; LEANDRO, R.I.S.L.; MARTINS, A.B.T.; O uso dos óleos essenciais na cicatrização de feridas. *Revista Saúde coletiva*, nº 52, v.1, 2020.

SAGALOWICZ, L., LESER, M.E., Delivery systems for liquid food products. *Curr.Opin. Colloid Interface Sci.* 15, 61–72, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cocis.2009.12.003>, 2010.

SAHA, D.; BHATTACHARYA, S. Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: A critical review. *Journal of Food Science and Technology*, v. 47, n. 6, p. 587–597, 2010.

SALVIA-TRUJILLO, L., ROJAS-GRAU, M.A., SOLIVA-FORTUNY, R., MARTIN-BELLOSO, O. Formulation of antimicrobial edible nanoemulsions with pseudo-ternary phase experimental design. *Food Bioprocess Technol.* 7, 3022–3032, <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-014-1314-x>, 2014.

SALVIA-TRUJILLO, L., ROJAS-GRAU, M.A., SOLIVA-FORTUNY, R., MARTIN-BELLOSO, O. Use of antimicrobial nanoemulsions as edible coatings: impact on safety and quality attributes of fresh-cut fuji apples. *Postharvest Biol. Technol.* 105, 8–16, <http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.03.009>, 2015.

SAMPAIO, L.F.S., MAIA, J.G.S., PARIJÓS, A.M., SOUZA, R.Z., BARATA, L.E.S. Linalool from rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) oil inhibits adenylate cyclase in the retina, contributing to understanding its biological activity. *Phytother. Res.* 26, 73–77, 2012.

SANLA-EAD, N. A. JANGCHUD, V. CHONHENCHOB, P. SUPPAKUL, Antimicrobial activity of Cinnamaldehyde and eugenol and their activity after incorporation into cellulose-based packaging films, *Packag. Technol. Sci.* 29 399e412, <https://doi.org/10.1002/pts>, 2013.

SANTOS, E. R. Óleos Essenciais Ricos em Linalol (*Aniba rosaeodora*, *A. parviflora* e *Aeollanthus suaveolens*) na Amazônia e seus efeitos neurocomportamentais em roedores. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Belém, 2017.

SANINO, A.; DEMITRI, C.; MADAGHIELE, M. “Biodegradable cellulose-based hydrogels: design and applications”. *Materials*, Lecce, v.2, 353-373, 2009.

SARANTI, T.F.D.S., MELO, P.T.S., CERQUEIRA, M.A., AOUADA, F.A., MOURA, M.R. Performance of Gelatin Films Reinforced with Cloisite Na⁺ and Black Pepper Essential Oil Loaded Nanoemulsion. *Polymers*, 13, 4298. <https://doi.org/10.3390/polym13244298>, 2021.

SHAH, P. Use of Nanotechnologies for Drug Delivery. *MRS Bulletin*, v. 31, p. 894 – 899, 2006.

SATHASIVAM, T., MUNIYANDY, S., CHUAH, L. H., & JANARTHANAN, P. Encapsulation of red palm oil in carboxymethyl sago cellulose beads by emulsification and vibration technology: Physicochemical characterization and in vitro digestion. *Journal of Food Engineering*, 231, 10–21. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.03.008>, 2018.

SEOW, Y.X., YEO, C.R., CHUNG, H.L., YUK, H.-G., Plant essential oils as active antimicrobial agents. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 54, 625–644, <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2011.599504>, 2014

SHAH, B., DAVIDSON, P.M., ZHONG, Q., Nanodispersed eugenol has improved antimicrobial activity against *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in bovine milk. *Int. J. Food Microbiol.* 161, 53–59, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.11.020>, 2013.

SHETTA, A., KEGERE, J., MAMDOUH, W. Comparative study of encapsulated peppermint and green tea essential oils in chitosan nanoparticles: Encapsulation, thermal stability, in-vitro release, antioxidant and antibacterial activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126, 731–742. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.161>, 2019.

SHI, R.; BI, J.; ZHANG, Z.; ZHU, A.; CHEN, D.; ZHOU, X.; ZHANG, L.; TIAN, W.; The effect of citric acid on the structural properties and cytotoxicity of polyvinyl alcohol/starch films when molding at high temperature. *Carbohydrate Polymers*, Elsevier, 2008.

SILVA, A. C. M. Contribuição ao estudo da influência da área de contato na aderência da interface argamassa colante-cerâmica. 121 fl. Dissertação (Mestrado) - Universidade Católica de Pernambuco. Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil. Mestrado em Engenharia Civil, 2018.

SILVA, D. D.; CHIERICE, G. O.; GALHIANE, M. S.; CHAAR, J. S.; FILHO, V. E. Quantificação do linalol no óleo essencial da *Aniba duckei* Korstermans utilizando uma nova

coluna capilar POLYH4-MD em Cromatografia Gasosa. *Química Nova* [online], v. 26, n. 4 [Acessado 29 Maio 2022], pp. 461-465, 2003.

SILVA, M. M.; AGUIAR, M. I.; RODRIGUES, A. B.; MIRANDA, M. C.; SOUZA, A. M.; ROLIM, I. L.; ARAÚJO, M. A. Utilização de nanopartículas no tratamento de feridas: revisão sistemática. *Rev Esc Enferm USP*. 51, 2018.

SILVA, R.; HARAGUCHI, S.K.; MUNIZ, E.C.; RUBIRA, A.F. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. *Química Nova*. 32, 3, 661-671. 2009.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. *Princípios de análise instrumental*. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

SINGH, R. K, KHATRI, O. P. A scanning electron microscope based new method for determining degree of substitution of sodium carboxymethyl cellulose. *J Microsc.* 2012 Apr, 246(1):43-52. doi: 10.1111/j.1365-2818.2011.03583.x. Epub, 2011.

SIONKOWSKA, A. Current research on the blends of natural and synthetic polymers as new biomaterials: Review. *Progress in Polymer Science (Oxford)*, v. 36, n. 9, p. 1254–1276, 2011.

SILVA, V. B. Avaliação da potencialidade do uso de hidrogéis poliméricos na terapêutica de leishmaniose cutânea /Vanessa Bezerra da Silva. -- São Carlos : UFSCar, 2015.

SILVA, A. M. Desenvolvimento de filmes antimicrobianos para aplicação na indústria alimentar. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Bioquímica (2º ciclo de estudos). Universidade da Beira Interior. Covilhã, 2015.

SILVA, C.G., YUDICE, E.D.C. CAMPINI, P.A.L. ROSA, D.S. The performance evaluation of Eugenol and Linalool microencapsulated by PLA on their activities against pathogenic bacteria, *Materials Today Chemistry*, Volume 21, 100493, ISSN 2468-5194, <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2021.100493>, 2021.

SILVERSTAIN, R. M.; WEBSTER, F. X. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos, 6 ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 460 p., 2000.

SPAGNOL, C. M., ZAERA, A. M., ISAAC, V. L. B., CORRÊA, M. A.; SALGADO, H. R. N. Release and permeation profiles of spray-dried chitosan microparticles containing caffeic acid. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 26(3), 410–415. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2017.12.021>, 2018.

SPINELLI, L.S., MANSUR, C.R.E., GONZÁLEZ, G. et al. Evaluation of process conditions and characterization of particle size and stability of oil-in-water nanoemulsions. *Colloid J* 72, 56–65 <https://doi.org/10.1134/S1061933X10010084>, 2010.

SOARES, S. H. Hidrogéis de Carboximetil Celulose Sódica Carregados com Óleos Bioativos e Ureia Para o Tratamento de Feridas. Dissertação em Engenharia Química. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, 2019.

SOARES, C. S.; SILVA, M.; COSTA, M. B.; BEZERRA, C. E.; Ação inseticida de óleos essenciais sobre a lagarta desfolhadora *Thyrntina arnobia* (stoll) (Lepidoptera: geometridae). *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, ISSN-e 1981-8203, Vol. 6, Nº. 2, 2011.

SOUZA, S. A. M. S.; MEIRA, M. R.; FIGUEIREDE, L. S. F.; MARTINS. E. R. Óleos essenciais: aspectos econômicos e sustentáveis. *ENCICLOPÉDIA BIOSFERA*, Centro Científico Conhecer - Goiânia, vol.6, N.10, Pág.1. 2010.

SOUZA, C. C., PINTO, G. I., KERPPERS, I. I., PAULA, D. (2016). Desenvolvimento e caracterização de Formulação Tópica de Extrato de Uvarana para Tratamento de Feridas. *Revista Eletrônica de Farmácia*, 13(4), 191-200.

SU, J.F., HUANG, X.Y. YUAN, X.Y. WANG, M. Li, Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions, *Carbohydr. Polym.* 79 145-153, 2010.

SUN, B.K., SIPRASHVILI, Z. KHAVARI, P.A. Advances in skin grafting and treatment of cutaneous wounds, *Science* 346 941–945, 2014

SUCUPIRA, R. R. Síntese, caracterização e aplicação química e biológica de derivados carboxilados de celulose. Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

SUDAM. O extrativismo do pau rosa. *Sudam-Documenta*, Vol.3, p.5-58. Belém, PA. 1972.

STAUDINGER, H. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 53, 1073–1085, 1920.

TANG, H. CHEN, H.; DUAN, N.; LU, A. Zhang, J. *Mater. Sci.* 49, 2235, 2014.

TAN, H.L., WONG, Y.Y., MUNIYANDY, S., HASHIM, K., PUSHPAMALAR, J. Carboxymethyl sago pulp/carboxymethyl sago starch hydrogel: effect of polymer mixing ratio and study of controlled drug release. *J Appl Polym Sci*. doi: 10.1002/app.43652, 2016.

TEIXEIRA, B. C. A. Avaliação do grau de cura de formulações poliméricas por análise térmica e métodos complementares. Dissertação de Mestrado. Universidade do Porto. Porto, 2015.

TERRA, I. A. A.; AOKI, P. H.; DELEZUK, J. A.; MARTINS, M. A.; MANRICH, A.; SILVA, M. J.; COSTA, M. M.; TORRES, B. B.; AVANSI, W.; FERREIRA, C. S. G.; SOUSA, M. S.; VOLPATI, D.; MIRANDA, P. B. "Técnicas de Caracterização de Polímeros", p. 497 -590. In: *Nanotecnologia Aplicada a Polímeros*. São Paulo: Blucher, 2022.

UFRGS. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). Disponível em: < https://www.enq.ufrgs.br/labs/files/Texto_sobre_FTIR.pdf>. Acessado em abril de 2023.

UGALDE, M. L. Biofilmes ativos com incorporação de óleos essenciais. 168f. Tese (Engenharia de Alimentos). Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai, Erechim, 2014.

ULTEE, A. SMID, E. J. Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. *Int J Food Microbiol.* 2001 Mar 20;64(3):373-8. doi: 10.1016/s0168-1605(00)00480-3. PMID: 11294360, 2001.

VARAPRASAD, K., RAGHAVENDRA, G.M., JAYARAMUDU, T., YALLAPU., SADIKU, R. A mini review on hydrogels classification and recent developments in miscellaneous applications, *Mater. Sci. Eng. C.* 79 958–971, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.05.096>, 2017

VERA, C. R. C. Síntesis de hidrogeles interpenetrados en base a acrilammida para la recuperación de metales en aguas. 2012. 126 p. Dissertação. Universidad de Simón Bolívar, Sartenejas. 2012.

VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA, A. S. Aplicações farmacêuticas de polímeros. *Polímeros: ciência e tecnologia*, v. 20, p. 51 – 64, 2010.

VILELA, D.D. Hidrogel de carboximetilcelulose de sódio e própolis: Desenvolvimento e caracterização. 2010. 55f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação Interunidades Bioengenharia, EESC/FMRP/IQSC, da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

VISHWAJEET, S. GHORPADE, R. J., KAILAS, K. M., SAFINA, I. M., Citric acid crosslinked carboxymethylcellulose-polyvinyl alcohol hydrogel films for extended release of water soluble basic drugs, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, Volume 52, 2019, Pages 421-430, ISSN 1773-2247, <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.05.013>, 2019.

VITORINO, S. J. Desenvolvimento de argamassa colante polimerizada para aplicação de revestimentos cerâmicos em fachadas / Stefane Jardim Vitorino. – Belo Horizonte, 2019.

VOLLMER, W.; BLANOT, D.; de PEDRO, M.A. Peptidoglycan structure and architecture. *FEMS Microbiol Rev.* 2008 Mar;32(2):149-67. doi: 10.1111/j.1574-6976.2007.00094.x. Epub 2008 Jan 8. PMID: 18194336.

WEN, P.; ZHU, D.H., WU, H.; ZONG, M.H; JING, Y.R.; HAN, S.Y. Encapsulation of cinnamon essential oil in electrospun nanofibrous film for active food packaging, *Food Control* 59 (2016) 366e376, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.06.005>., 2016.

WERTZ, J-L., BÉDUÉ, O., MERCIER, J-P. Cellulose, science and technology. Boca Raton: EPFL Press. 364p. 2010.

WU, J.E., LIN, J., ZHONG, Q., Physical and antimicrobial characteristics of thyme oil emulsified with soluble soybean polysaccharide. *Food Hydrocolloids* 39,144–150, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.12.029>, 2014.

WU, I. Y., BALA, S., SKALKO-BASNET, N., & DI CAGNO, M. P. Interpreting non-linear drug diffusion data: Utilizing Korsmeyer-Peppas model to study drug release from liposomes. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 138(July), Article 105026. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.105026>, 2019.

WU, H.; LEI, Y.; LU, J.; ZHU, R.; XIAO, D.; JIAO, C.; XIA, R.; ZHANG, Z.; SHEN, G.; LIU, Y.; LI, S.; LI, M. Effect of citric acid induced crosslinking on the structure and properties of potato starch/chitosan composite films, *Food Hydrocolloids*, Volume 97, 2019, 105208, ISSN 0268-005X, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105208>, 2019.

XUE, J., MICHAEL DAVIDSON, P., ZHONG, Q. Antimicrobial activity of thyme oil nanoemulsified with sodium caseinate and lecithin. *Int. J. Food Microbiol.* 210, 1–8, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.06.00>, 2015

XUE, F., GU, Y., WANG, Y., Li, C., & ADHIKARI, B. Encapsulation of essential oil in emulsion based edible films prepared by soy protein isolate-gum acacia conjugates. *Food Hydrocolloids*, 96(January), 178–189. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.05.014>, 2019.

YAN, E. Y., HAO, X.Y. CAO, M.L. FAN, Y.M., ZHANG, D.Q. XIE, W. SUN J.P. S.Q. Hou, Preparation and characterization of carboxymethyl chitosan hydrogel, *Pigm. Resin Technol.* 45 (2016) 246–251.

YANG, J.; WEBB, A.R.; AMEER, G.A.; Novel Citric Acid-Based Biodegradable Elastomers for Tissue Engineering. *Advanced Materials*, 2004.

ZARE-AKBARI, Z., FARHADNEJAD, H.; FURUGHI-NIA, B. ABEDIN, S. YADOLLAHI, M.; KHORSAND-GHAYENI, M. *Int. J. Biol. Macromol.* 2016, 93, 1317.