

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

KELY SILVEIRA BONFIM

**FILMES BIODEGRADÁVEIS INCORPORADOS COM ÓLEO ESSENCIAL E
RESÍDUO DE NANOCELULOSE: DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÕES E
POTENCIAL APLICAÇÃO COSMÉTICA**

Ilha Solteira
2023

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

KELY SILVEIRA BONFIM

**FILMES BIODEGRADÁVEIS INCORPORADOS COM ÓLEO ESSENCIAL E
RESÍDUO DE NANOCELULOSE: DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÕES E
POTENCIAL APLICAÇÃO COSMÉTICA**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – Unesp como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciência dos Materiais. Área de concentração: Química dos Materiais.

Profa. Dra. Márcia Regina de Moura Aouada
Orientador

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

B713f Bonfim, Kely Silveira.
Filmes biodegradáveis incorporados com óleo essencial e resíduo de nanocelulose: desenvolvimento, caracterizações e potencial aplicação cosmética / Kely Silveira Bonfim. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2023
153 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Química dos Materiais, 2023

Orientador: Márcia Regina de Moura Aouada

Inclui bibliografia

1. Filmes cosméticos. 2. Nanocompósitos. 3. Nanocelulose. 4. Tea-tree oil. 5. Caracterização físico-química.


Amanda Sertori dos Santos
Bibliotecária - CRB/8-9061
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao
Usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação

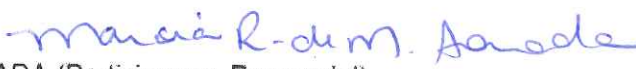
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

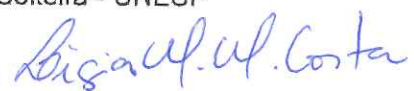
TÍTULO DA TESE: FILMES BIODEGRADÁVEIS INCORPORADOS COM ÓLEO ESSENCIAL E RESÍDUO DE NANOCELULOSE: DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E POTENCIAL APLICAÇÃO COSMÉTICA

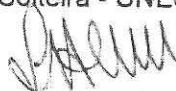
AUTORA: KELY SILVEIRA BONFIM

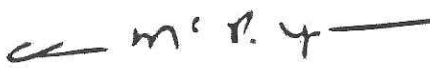
ORIENTADORA: MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIA DOS MATERIAIS, área: Química dos Materiais pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA (Participação Presencial)
Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP


Profa. Dra. LIGIA MARIA MANZINE COSTA (Participação Presencial)
Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP


Dr. LUIZ HENRIQUE CAPPARELLI MATTOSO (Participação Virtual)
Embrapa Instrumentação / Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA


Profa. Dra. CRISTIANA MARIA PEDROSO YOSHIDA (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Farmacêuticas / Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP

Profa. Dra. DOMINIQUE FERNANDES DE MOURA DO CARMO (Participação Virtual)
Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia / Universidade Federal do Amazonas - UFAM


Dominique Fernandes de Moura do Carmo

Ilha Solteira, 09 de outubro de 2023

DEDICATÓRIA

Aos meus amados pais, Florisvaldo e Maria Santa, por tanto amor e incentivo para que eu vencesse pelos estudos. Vencemos! Esse título também é de vocês, pais que abdicaram de muita coisa para educar eu e meus irmãos, pessoas simples e que não tiveram a oportunidade de estudar, mas que sempre acreditaram que os estudos mudariam a vida da nossa família!

AGRADECIMENTOS

Por muito tempo eu sonhei com esse momento e com a escrita desta sessão. Prestes a defender, reflito sobre todo o caminho percorrido até a finalização desta etapa e, mais do que escrever uma sessão cheia de agradecimentos automáticos, discorrerei brevemente sobre este percurso, caro leitor.

Cursei o ensino fundamental e médio em escola pública, fui professora da rede pública, sou discente ativa nos eventos da pós-graduação e fui doutoranda enquanto perdurou a pandemia. Assim como eu, muitos que trilharam o mesmo caminho sabe o quão difícil é chegar até aqui, por conseguinte,

agradeço primeiramente a Deus, pois Ele é o meu sustento, a minha força e o meu esteio, que me abençoou, protegeu o meu caminho e acalmou o meu coração em meio às tempestades.

Aos meus pais, Florisvaldo e Maria Santa, pelo amor e educação que deram a mim, pelas orações, bem como, por me incentivarem e por acreditarem que eu chegaria até aqui. Meus pais são exemplos de luta, trabalho e honestidade, onde encontro inspiração.

Aos meus amados irmãos: Claudia, Edivaldo e Katia. Obrigada pelo amor e por não medirem esforços para me ajudar em todas as situações. Ver vocês irmãos mais velhos, resilientes e lutando bravamente por um futuro promissor, me incentivou para que eu fizesse o mesmo.

Ao meu sobrinho Jean, pelo amor e incentivo.

À professora Márcia Aouada, minha orientadora, e ao professor Fauze Aouada, pela confiança e oportunidade em desenvolver esse trabalho no Grupo de Compósitos e Nanocompósitos Híbridos (GCNH). Ter participado do GCNH, contribuiu grandemente para a minha formação acadêmica, pessoal e networking.

Ao GCNH: alunos de iniciação científica que tive a oportunidade de coorientar, pois com vocês eu aprendi muito, principalmente na minha prática de orientação. Agradeço também ao Fabrício Tanaka e ao Gabriel Borges por todo suporte nos ensaios de liberação. Em especial, agradeço aos colegas que se tornaram grandes amigos, fizeram os meus dias mais felizes e leves, e mesmo após a defesa de todos, não soltaram a minha mão: Adhemar Watanuki; Elaine Florinda; Renan Fernandes; Uilian Yonezawa e Vanessa Solfa. Obrigada por tudo! Pela ajuda diária no laboratório, pelos cafés na copinha do DFQ e em casa, bolos na Nilda, espetinhos no Lyra, treinos

e caminhadas que só rendiam risadas, jantinhas, congressos, bate-papos na cantina, choro e risos compartilhados. Foram inúmeros momentos que marcaram a nossa vida em Ilha Solteira e sou grata por cada um deles.

Ao Departamento de Física e Química (DFQ): secretário Thiago Nicolette e colaborador Gilmar, sempre dispostos a me ajudar; professores José Malmonge e Renato Grillo, por serem tão atenciosos e solícitos; aos inúmeros colegas que passaram pelo DFQ ao longo desse período e em especial, às professoras Maria Ângela e Rosângela Laurentiz, sempre dispostas a me ouvir e que são exemplos de força e profissionalismo.

À professora Fernanda Brighenti e a Luciana Solera, da Faculdade de Odontologia de Araraquara (FOAr/UNESP) pelas análises microbiológicas realizadas.

À professora Vanusca Jahno e a Thaís Rodrigues, da Universidade Feevale/RS, pelas análises de biodegradação.

À Embrapa de São Carlos pelo suporte na realização das análises de tamanho médio, polidispersão, MET e TG.

À Nexfill® (Brasil) pela doação dos resíduos de celulose bacteriana.

Ao professor Hernane Barud, da UNIARA, sempre gentil e disposto a ajudar.

Ao Adhemar Watanuki e Renan Fernandes, já citados acima, pela enorme contribuição nas análises estatísticas e discussão de resultados.

Ao Grupo de Polímeros (GPol) e ao José Vilches pelo auxílio nas análises de propriedades mecânicas, DRX e TG.

A todos os professores que fizeram parte da minha formação na educação básica, ensino superior e pós-graduação.

Aos meus queridos alunos da Licenciatura em Física (UNESP – Ilha Solteira), EE “Cícero Castilho Cunha” (Sud Mennucci), em especial aos meus “filhos”: Elton, Jullia, Leonarda e Leonardo, por acreditarem em mim e serem tão compreensivos com uma professora doutoranda. Como eu sempre disse e continuarei dizendo: estudem, pois o estudo abre portas e vocês são capazes!

Aos colegas de profissão, em especial aos “besties” Claudemberg, Heloisa e minha eterna coordenadora, Maria Angélica. Obrigada pela paciência, compreensão e por compartilharem tanto conhecimento comigo.

A todos os amigos de Aspásia, Ilha Solteira, Sud Mennucci e os que fiz ao longo do caminho: obrigada pelo ombro amigo e pelos momentos de descontração.

Ao Grupo de Oração Universitária (GOU) e Grupo de Partilha de Profissionais (GPP) da UNESP/Ilha por toda oração, partilha e apoio.

A Dona Nair, Dona Geni e Andreia por toda acolhida, cuidado e carinho durante a minha moradia em Ilha e Sud.

Aos parceiros de trabalho do Instituto Senai de Inovação (ISI) em Biomassa pela acolhida e apoio nessa fase de defesa.

A todos que contribuíram direta e indiretamente com esse trabalho e sempre acreditaram em mim.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”

“Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá.” (Ayrton Senna)

PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Artigos completos publicados em periódicos

de Oliveira, E. F. R., Bonfim, K. S., Aouada, F. A., de Azeredo, H. M. C., & de Moura, M. R. (2023). A sustainable approach on the potential use of kale puree in edible wraps. *Applied Food Research*, 3(1), 100261.

de Souza, M. V., da Silva, S. A., Cazella, P. H., Rodrigues, F. R., Bonfim, K. S., Sanches, A. O., ... & Lahr, F. A. (2022). Particleboards manufactured from *Tectona grandis* wood waste with homogeneous and three-layer heterogeneous compositions for commercial purposes. *BioResources*, 17(3), 5011.

Paixão, G. D. L. O., Watanuki Filho, A., Bonfim, K. S., Aouada, F. A., & Moura, M. R. D. (2022). Hidrofobização e odorização de madeira para uso na construção civil por imersão em nanoemulsões de óleo essencial de melaleuca e copaíba. *Matéria (Rio de Janeiro)*, 27.

Spricigo, P. C., Pilon, L., Trento, J. P., de Moura, M. R., Bonfim, K. S., Mitsuyuki, M. C., ... & Ferreira, M. D. (2021). Nano-chitosan as an antimicrobial agent in preservative solutions for cut flowers. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 96(8), 2168-2175.

Bonfim KS; Pereira, A. B. B. ; Lima, T. A. ; Oliveira, E. F. R. ; Santos, V. S. ; Santos, B. ; Bento, B. M. ; Melo, P. T. S. ; Costa, F. M. ; Aouada, F. A. ; Moura, M. R. . Active Polymeric Packaging: Innovation in Food with Potential Use of Sustainable Raw Material. *Active Polymeric Packaging: Innovation in Food with Potential Use of Sustainable Raw Material*, v. 7, p. 112, 2021.

Souza, J. R., Bonfim, K. S., Lorevice, M. V., Correa, D. S., Mattoso, L. H. C., & Moura, M. R. D. (2020). Antibacterial properties of oregano essential oil encapsulated in poly (ϵ -caprolactone) nanoparticles. *Advanced Science, Engineering and Medicine*, 12(7), 864-869.

Silvestrini Fernandes, D., Silveira Bonfim, K., & do Carmo, D. R. (2018). Silver hexacyanoferrate (III) on a hybrid graphene oxide/PAMAM dendrimer surface and application as an electrocatalyst in the detection of isoniazid. *Electroanalysis*, 30(6), 1107-1116.

De Sá, A. C., Maraldi, V. A., Bonfim, K. S., Souza, T. R., Paim, L. L., Barbosa, P. F. P., ... & Do Carmo, D. R. (2017). Electrocatalytic detection of hydrazine using chemically modified electrodes with cobalt pentacyanonitrosylferrate adsorbed on the 3-aminopropylsilica surface. *Int J Chem*, 9(4), 12-21.

dos Santos, V. S., Maraldi, V. A., Bonfim, K. S., Souza, T. R., Nakamura, A. P. R., de Souza Magossi, M., ... & do Carmo, D. R. (2017). Voltammetric behavior of zinc hexacyanoferrate (III) nanoparticles and their application in the detection of N-acetylcysteine. *International Journal of Electrochemical Science*, 12(8), 7142-7153.

Trabalhos completos publicados em anais de congressos

Bonfim, K. S.; Oliveira, E. F. R. ; Lorevice, M. V. ; Aouada, F. A. ; Moura, M. R. . Influência de Parâmetros Reacionais na Extração de Nanofibras de Celulose Bacteriana pelo Método de Oxidação. In: *15º Congresso Brasileiro de Polímeros (CBPol)*, 2019, Bento Gonçalves - RS. Nanocompósitos poliméricos e polímeros nanoestruturados, 2019. p. 2607-2610.

Angelotti, A. M. ; Bonfim, K. S. ; Oliveira, E. F. R. ; Barud, H. S. ; Moura, M. R. ; Aouada, F. A. . Influência de Nanofibra de Celulose Bacteriana nas Propriedades Hidrofílicas e Cinéticas de Hidrogéis de Poli(acrilamida e Metilcelulose). In: *15º Congresso Brasileiro de Polímeros (CBPol)*, 2019, Bento Gonçalves - RS. Nanocompósitos poliméricos e polímeros nanoestruturados, 2019. p. 2616-2620.

Resumos publicados em anais de congressos

Bonfim, K. S.; Watanuki Filho, A. ; Aouada, F. A. ; De Moura, M. R. . Mechanical Properties of Sodium Alginate and Melaleuca Essential Oil Films with addition of Bacterial Cellulose Nanofibers. In: IV Brazilian Nanocellulose Summit, 2023, São Carlos/SP. Anais do IV Brazilian Nanocellulose Summit, 2023.

Bonfim, K. S.; Aouada, F. A. ; De Moura, M. R. . Morphological and chemical characterization of active films of sodium alginate and melaleuca essential oil. In: Brazil MRS Meeting & International Union of Materials Research Societies. International Conference on Electronic Materials (IUMRS-ICEM 2021), 2021. Anais do XIX Brazil MRS Meeting & International Union of Materials Research Societies, 2021.

Paula, L. S. S.; Siqueri, V. A.; Watanuki Filho, Adhemar; Bonfim, K. S.; Moura, M. R. ; Aouada, F. A. . Biodegradable Hydrogels Based on Bacterial Cellulose Nanofibers as Potential Additive for Cement-pastes. In: II Encontro de Polímeros Naturais (EPNat), 2020, Online. Anais do II Encontro de Polímeros Naturais (EPNat). Araraquara - SP: International Journal of Advances in Medical Biotechnology, 2020. p. 7-7.

Bento, B. M.; Bonfim, K. S.; Aouada, F. A.; Moura, M. R. Sustainable Use of Canadian Sweet Potato Starch in the Elaboration of Biodegradable Films. In: II Encontro de Polímeros Naturais (EPNat), 2020, Online. Anais do II Encontro de Polímeros Naturais (EPNat). Araraquara - SP: International Journal of Advances in Medical Biotechnology - IJAMB, 2020. p. 123-123.

Bonfim, K. S.; Watanuki Filho, Adhemar; Aouada, F. A.; Moura, M. R. Effect of Oxidation Reaction Time on Water Retention Properties (WRV) of Bacterial Cellulose Nanofibers. In: II Encontro de Polímeros Naturais (EPNat), 2020, Online. Anais do II Encontro de Polímeros Naturais (EPNat). Araraquara - SP: International Journal of Advances in Medical Biotechnology - IJAMB, 2020. p. 92-92.

Braidoti, B. ; Bonfim, K. S. ; Aouada, F. A. ; Moura, M. R. . Use of Bacterial Cellulose in the Improvement of Barriers Properties of Pectin Biofilm. In: XVIII Brazil MRS Meeting, 2019, Balneário Camboriú - SC. XVIII Brazil MRS Meeting - Proceedings, 2019. p. 888-888.

Bonfim, K. S.; Maraldi, V. A. ; Do Carmo, D. R. . Síntese e Caracterização de um Material Híbrido à base de Óxido de Grafeno Modificado com o Dendrímero PAMAM G.0. In: 23º Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais (CBECiMat), 2018, Foz do Iguaçu - PR. Anais do 23º Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais (CBECiMat), 2018. p. 2144-2144.

Bonfim, K. S.; Aouada, F. A. ; Azeredo, H. M. C. ; Moura, M. R. . Valorização das Propriedades Ativas de Biofilmes contendo Celulose Bacteriana Nanofibrilada. In: IV Encontro de Pesquisadores em Ciência e Engenharia de Materiais (EPCEM), 2018, Ilha Solteira - SP. Anais do IV Encontro de Pesquisadores em Ciência e Engenharia de Materiais (EPCEM), 2018. p. 60-60.

K. S. Bonfim; M. M. de Souza ; D. S. Fernandes ; D. R. Carmo . Detecção Voltamétrica de Ácido Ascórbico através de Pasta de Grafite modificada com Nanopartículas de Nitroprussiato de Cobalto. In: XXI Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica (SIBEE), 2017, Natal - RN. Anais do Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica. Campinas: Galoá, 2017.

RESUMO

Os cosméticos têm se tornado uma abordagem promissora no tratamento da acne. Esses produtos são formulados com diversos ingredientes, dentre eles, os polímeros. Diante da crescente preocupação com os microplásticos no meio ambiente, esse mercado está alinhado com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) para o desenvolvimento de formulações mais sustentáveis com inovação em filmes. Biopolímeros, como o alginato de sódio, são alternativas consolidadas nessas formulações e literatura científica; porém, o uso de resíduo de celulose bacteriana ainda é pouco explorado nesse segmento. Em vista disso, o presente trabalho objetiva-se em desenvolver filmes cosméticos biodegradáveis com potencial aplicação cosmética e caracterizá-los por técnicas físico-químicas e morfológicas. Para isso, desenvolveu-se filmes contendo alginato de sódio como matriz, resíduo de celulose bacteriana como agente de reforço e óleo essencial de melaleuca como ingrediente ativo. O trabalho dividiu-se em 4 etapas. Na primeira etapa, foi realizado um estudo para investigar as melhores condições experimentais para o preparo da nanoemulsão (NE) O/A. A NE apresentou tamanho médio de $52,46 \pm 3,53$ nm e PDI de $0,26 \pm 0,01$. Na segunda etapa, o resíduo de celulose bacteriana foi oxidado via 2,2,6,6-Tetramethylpiperidine 1-oxyl (TEMPO) e apresentou alto rendimento de síntese e teor de água. As técnicas de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) mostraram que as fibras produzidas possuem tamanho de 116,07 nm. Além disso, a Difração de Raios-X (DRX) comprovou que a estrutura cristalina não foi alterada com a oxidação e a Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) confirmou a inserção de grupos carboxílicos provenientes da oxidação. Na terceira etapa, foram realizados estudos de otimização de parâmetros para o desenvolvimento dos filmes nanocompósitos. Testou-se a concentração de óleo essencial; CaCl_2 , MnCl_2 e AlCl_3 como agentes reticuladores e a metodologia de incorporação da celulose bacteriana oxidada. Na última etapa, desenvolveu-se 08 filmes que foram submetidos a análises como: MEV; Propriedades Mecânicas; Permeabilidade ao Vapor de Água (WVP); Ângulo de Contato; Solubilidade em Água; Liberação em UV-Vis; FTIR e biodegradação. Os resultados demonstram que os filmes desenvolvidos são capazes de liberar o composto ativo em condições semelhantes à pele com acne; biodegradáveis; não afetam a germinação de sementes no solo e possuem

propriedades físico-químicas satisfatórias para a aplicação em cosméticos, bem como em curativos.

Palavras-chave: Filmes cosméticos; Nanocompósitos; Nanocelulose; Tea-tree oil; Caracterização físico-química.

ABSTRACT

Cosmetics are a promising treatment option for acne due to their formulation with diverse ingredients, such as polymers. The cosmetics industry is becoming increasingly concerned about growing environmental issues over microplastics on the environment. As a result, the industry is now aligned with the Sustainable Development Goals (SDGs) and is working towards developing more sustainable formulations such as innovative films. Biopolymers, including sodium alginate, are commonly used in these formulations and in the scientific literature. Nevertheless, the use of bacterial cellulose residue in this area is still not well-defined. Therefore, the objective of this research was to develop biodegradable cosmetic films with potential cosmetic applications and to evaluate their physicochemical and morphological properties. To achieve this goal, researchers produced films that consisted of sodium alginate serving as matrix, bacterial cellulose residue as reinforcement, and tea tree essential oil as active ingredient. The work consisted of four stages. The first stage involved conducting a study to determine the optimal experimental conditions for the preparation of the O/W nanoemulsion (NE). The NE exhibited an average size of 52.46 ± 3.53 nm and a PDI of 0.26 ± 0.01 . In the second stage, the bacterial cellulose residue was oxidized utilizing 2,2,6,6-Tetramethylpiperidine 1-oxyl (TEMPO), yielding a high synthesis yield and water content. Transmission Electron Microscopy (TEM) and Scanning Electron Microscopy (SEM) techniques showed that the fibers produced have a size of 116.07 nm. Additionally, XRD analysis revealed that oxidation did not alter the crystal structure, and FTIR analysis confirmed the insertion of carboxylic groups. The third stage involved parameter optimization to develop the nanocomposite films, which included testing the concentration of essential oil, CaCl_2 , MnCl_2 , and AlCl_3 as crosslinking agents, as well as the methodology for incorporating oxidized bacterial cellulose. In the last stage, 08 films were developed and submitted to analysis such as: SEM; Mechanical Properties; Water Vapor Permeability (WVP); Contact Angle; Water Solubility; UV-Vis Release; FTIR and biodegradation. The discoveries indicate that the developed films have the ability to release active compound under conditions similar to those of acne-prone skin. These films are also biodegradable, do not hamper seed germination in soil and exhibit satisfactory physical-chemical properties suitable for application in cosmetics as well as dressings.

Keywords: Cosmetics films; Nanocomposites; Nanocellulose; Tea-tree oil; Physico-chemical characterization.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Pesquisa bibliográfica realizada na base de dados da Web of Science, no campo “topic” com as palavras-chaves: Acne; Cosmetics; Microplastics; “Sodium Alginate”; “Bacterial cellulose” e “Tea tree oil” OR “Tea tree essential oil” OR Melaleuca essential oil” OR “Melaleuca alternifolia” OR “Melaleuca alternifolia oil”. Período: 01/01/2013 a 01/10/2023.	34
Figura 2: Pesquisa bibliográfica realizada na base de dados da Web of Science, no campo “topic” com as palavras chaves: “Cosmetic film” OR “Acne patch” OR “Cosmetic Patch” OR “Nanocosmetics”. Período: 01/01/2013 a 01/10/2023.....	34
Figura 3: Principais áreas de aplicação/publicação envolvendo a palavra-chave: Acne.	35
Figura 4: Principais áreas de aplicação/publicação envolvendo a palavra-chave: Cosmetics.....	35
Figura 5: Principais áreas de aplicação/publicação envolvendo a palavra-chave: Microplastics.....	36
Figura 6: Principais áreas de aplicação/publicação envolvendo a palavra-chave: “Sodium alginate”.	36
Figura 7: Principais áreas de aplicação/publicação envolvendo a palavra-chave: “Bacterial Cellulose”.	37
Figura 8: Principais áreas de aplicação/publicação envolvendo a palavra-chave: “Tea tree oil” OR “Tea tree essential oil” OR “Melaleuca essential oil” OR “Melaleuca alternifolia” OR “Melaleuca alternifolia oil”.	37
Figura 9: Principais áreas de aplicação/publicação envolvendo a palavra-chave: “Cosmetic film” OR “Acne patch” OR “Cosmetic Patch” OR “Nanocosmetics”.	38
Figura 10: Estrutura química do alginato de sódio.	43
Figura 11: Estrutura química da celulose.	44
Figura 12: Processo de obtenção de celulose bacteriana.	45
Figura 13: Estrutura da celulose oxidada via TEMPO.....	47
Figura 14: Estruturas químicas dos compostos bioativos majoritários nos óleos essenciais de melaleuca.	49
Figura 15 – Fotografia digital do aspecto visual das Nanoemulsões de Óleo Essencial de Melaleuca preparadas a 15.000 e 20.000 RPM: (a) sem flash e (b) com flash....	58

Figura 16 - Tamanho médio (nm) de Nanoemulsões de Óleo Essencial de Melaleuca (NOEM) preparadas a 15.000 e 20.000 RPM. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.....	59
Figura 17: Polidispersão (PDI) de Nanoemulsões de Óleo Essencial de Melaleuca (NOEM) preparadas a 15.000 e 20.000 RPM. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.....	60
Figura 18: Processo de obtenção de Nanofibras de Celulose Bacteriana via Oxidação Mediada por TEMPO.....	64
Figura 19: Micrografia Eletrônica de Transmissão de Nanofibras de Celulose Bacteriana (NFCB) obtidas via oxidação mediada por TEMPO. Barra de escala de (a) 2 µm e (b) 1 µm.....	69
Figura 20 - Micrografias Eletrônicas de Varredura com aumento de 20.000x para as amostras de: (a) Resíduo de Celulose Bacteriana e (b) Nanofibras de Celulose Bacteriana obtidas via oxidação mediada por TEMPO.	70
Figura 21: Tamanho médio e distribuição de tamanho das nanofibras de celulose bacteriana.....	71
Figura 22 - Espectros vibracionais na região do infravermelho para amostras de CB e NFCB com varredura de: (a) 4000 - 655 cm ⁻¹ e (b) 2232-655 cm ⁻¹	72
Figura 23 - Difratogramas de Raios-X para as amostras de Celulose Bacteriana (CB) e Nanofibras de Celulose Bacteriana (NFCB).	73
Figura 24: Curvas termogravimétricas para a Perda de Massa (%) da Celulose Bacteriana (CB) e Nanofibras de Celulose Bacteriana (NFCB).....	74
Figura 25 - Curvas termogravimétricas para: (a) Derivada da Massa (%) da Celulose Bacteriana (CB) e Nanofibras de Celulose Bacteriana (NFCB) e (b): ampliação da curva para a NFCB.....	75
Figura 26: Processo de obtenção do filme de alginato de sódio pelo método de <i>casting</i>	80
Figura 27: Processo de reticulação física com os íons Ca ²⁺ ; Mn ²⁺ e Al ³⁺ para o filme de alginato de sódio.	81
Figura 28: Incorporação do óleo essencial de melaleuca na matriz polimérica de alginato de sódio.	81

Figura 29: Método de incorporação da NFCB antes da desgaseificação da suspensão filmogênica contendo alginato de sódio e óleo essencial de melaleuca.....	82
Figura 30: Método de incorporação da NFCB após a desgaseificação da suspensão filmogênica contendo alginato de sódio e óleo essencial de melaleuca.....	82
Figura 31: Aspecto visual dos filmes de alginato reticulados com: (a) CaCl_2 ; (b) MnCl_2 e (c) AlCl_3	84
Figura 32: Aspecto visual dos filmes com nanoemulsão contendo: (a) 1,0 e (b) 2,5 % m/V de óleo essencial de melaleuca.	85
Figura 33: Aspecto visual dos filmes de alginato de sódio e nanoemulsão de óleo essencial de melaleuca incorporados com nanofibras de celulose bacteriana: (a) antes e (b) após a desgaseificação da suspensão filmogênica.	86
Figura 34: Processo de otimização para o desenvolvimento dos filmes nanocompósitos.	91
Figura 35: Organização do experimento de biodegradação da área 1: biodegradação com malha plástica.....	97
Figura 36: Organização do experimento de biodegradação da área 2: biodegradação sem malha plástica simulando a realidade.....	98
Figura 37: Aspecto visual dos filmes nanocompósitos.	102
Figura 38: Micrografias Eletrônicas de Varredura da superfície dos filmes com aumento de 1.000x.....	104
Figura 39: Micrografias Eletrônicas de Varredura da superfície dos filmes com aumento de 5.000x.....	105
Figura 40: Micrografias Eletrônicas de Varredura da superfície dos filmes com aumento de 10.000x.....	106
Figura 41: Micrografias Eletrônicas de Varredura da superfície dos filmes com aumento de 20.000x.....	107
Figura 42: Micrografias Eletrônicas de Varredura da fratura dos filmes com aumento de 1.000x.....	108
Figura 43: Micrografias Eletrônicas de Varredura da fratura dos filmes com aumento de 5.000x.....	109
Figura 44: Resistência à tração dos filmes sem reticular. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.	110

Figura 45: Resistência à tração dos filmes reticulados. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.	111
Figura 46: Resistência à tração dos filmes nanocompósitos. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.	111
Figura 47: Elongação dos filmes sem reticular. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.	112
Figura 48: Elongação dos filmes reticulados. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.	113
Figura 49: Elongação dos filmes nanocompósitos. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.	113
Figura 50: Módulo de Young dos filmes sem reticular. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.	114
Figura 51: Módulo de Young dos filmes reticulados. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.	115
Figura 52: Módulo de Young dos filmes nanocompósitos. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.	115
Figura 53: WVP dos filmes sem reticular. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.	117
Figura 54: WVP dos filmes reticulados. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.	118

Figura 55: WVP dos filmes nanocompósitos. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.....	119
Figura 56: Ângulo de contato com a água dos filmes nanocompósitos. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.	120
Figura 57: Ângulo de contato dos filmes sem reticular. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.	120
Figura 58: Solubilidade em água dos filmes nanocompósitos. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.	121
Figura 59: Solubilidade em água dos filmes sem reticular. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.	122
Figura 60: Solubilidade em água dos filmes reticulados. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.	123
Figura 61: Curva de calibração do óleo essencial de melaleuca utilizando tampão fosfato pH = 5,5.	124
Figura 62: Quantidade liberada de óleo essencial de melaleuca dos filmes nanocompósitos. Tempo: 0 a 300 minutos.....	124
Figura 63: Porcentagem liberada de óleo essencial de melaleuca dos filmes nanocompósitos. Tempo: 0 a 300 minutos.....	125
Figura 64: Espectros de FTIR dos filmes nanocompósitos sem reticular: (a) 4000 a 650 cm ⁻¹ e (b) 2.270 a 650 cm ⁻¹	127
Figura 65: Espectros de FTIR dos filmes nanocompósitos reticulados.	128
Figura 66: Disposição das amostras (em triplicata) e do sistema completo com malha plástica.	129

Figura 67: Disposição das amostras (em triplicata) e do sistema completo sem malha plástica.	129
Figura 68: Biodegradação com malha plástica no período de 0 a 180 dias para as amostras: a) PEBD; b) Celulose; c) 0% NFCB; d) 0% NFCB/Mn; e) 5,0% NFCB e f) 5,0% NFCB/Mn.	130
Figura 69: Amostras após 15 dias de biodegradação em malha plástica, com aumento de 64x.	131
Figura 70: Biodegradação sem malha plástica no período de 0 a 180 dias para as amostras: a) PEBD; b) Celulose; c) 0% NFCB; d) 0% NFCB/Mn; e) 5,0% NFCB e f) 5,0% NFCB/Mn.	131
Figura 71: Disposição das sementes de feijão e do sistema completo no substrato em que as amostras foram degradadas durante 30 dias e germinação após 10 dias. Da esquerda para a direita: PEBD; Celulose; 0% NFCB; 0% NFCB/Mn; 5,0% NFCB; 5,0% NFCB/Mn e substrato controle.	132
Figura 72: Germinação de sementes de feijão em substrato após 30 dias.	133
Figura 73: Disposição das sementes de feijão e do sistema completo no substrato em que as amostras foram degradadas durante 180 dias e germinação após 10 dias. Da esquerda para a direita: PEBD; Celulose; 0% NFCB; 0% NFCB/Mn; 5,0% NFCB; 5,0% NFCB/Mn e substrato controle.	133
Figura 74: Germinação de sementes de feijão em substrato após 180 dias.	134
Figura 75: Potencial aplicação cosmética: adesão à pele úmida e elasticidade do filme 5,0% NFCB/Mn.	135
Figura 76: Potencial aplicação cosmética: elasticidade do filme 5,0% NFCB/Mn após contato com a pele úmida.	136

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Aplicações do alginato de sódio em cosméticos.....	44
Tabela 2: Comparativo entre as propriedades da celulose vegetal e celulose bacteriana.....	46
Tabela 3: Aplicações da celulose bacteriana em cosméticos.....	46
Tabela 4: Óleos essenciais utilizados no tratamento da acne.	48
Tabela 5 – Caracterização do Óleo Essencial de Gengibre Fresco.....	53
Tabela 6 - Caracterização do óleo essencial de melaleuca.....	54
Tabela 7: Parâmetros de preparo das nanoemulsões de óleo essencial de melaleuca.	56
Tabela 8 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do Óleo Essencial de Melaleuca (OEM); Óleo Essencial de Gengibre (OEG) e Digluconato de Clorexidina (CHX) para a bactéria <i>Staphylococcus aureus</i>	57
Tabela 9 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do Óleo Essencial de Melaleuca (OEM); Óleo Essencial de Gengibre (OEG) e Digluconato de Clorexidina (CHX) para a bactéria <i>Cutibacterium acnes</i>	57
Tabela 10 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do Óleo Essencial de Melaleuca (OEM); Óleo Essencial de Gengibre (OEG) e Digluconato de Clorexidina (CHX) para a bactéria <i>Staphylococcus epidermidis</i>	57
Tabela 11 - Potencial Hidrogeniônico (pH) Nanoemulsões de Óleo Essencial de Melaleuca (NOEM) preparadas a 15.000 e 20.000 RPM.	60
Tabela 12 - Rendimento do processo de oxidação mediado por TEMPO e teor de água das nanofibras de celulose bacteriana produzidas.....	68
Tabela 13: Índice de cristalinidade para as amostras de Celulose Bacteriana (CB) e Nanofibras de Celulose Bacteriana (NFCB).....	74
Tabela 14: Valores da Temperatura Inicial (Ti); Temperatura Máxima (T _{máx.}) e Temperatura Final (T _f) dos eventos térmicos de degradação da Celulose Bacteriana (CB) e Nanofibras de Celulose Bacteriana (NFCB).....	76
Tabela 15: Perda de Massa (%) nos eventos térmicos de degradação da Celulose Bacteriana (CB) e Nanofibras de Celulose Bacteriana (NFCB).....	76
Tabela 16: Análise subjetiva do processo de otimização dos filmes.	87
Tabela 17: Composição dos filmes nanocompósitos obtidos.	91
Tabela 18 - Caracterização do substrato comercial para plantas.	96

Tabela 19: Potencial Hidrogeniônico das suspensões filmogênicas dos filmes nanocompósitos.	100
--	-----

Tabela 20: Viscosidade aparente das suspensões filmogênicas sem e com NFCB.	101
---	-----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AS	Alginato de Sódio
CB	Celulose Bacteriana
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CHX	Clorexidina
CIM	Concentração Inibitória Mínima
DRX	Difração de Raios-X
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NE	Nanoemulsão
NFCB	Nanofibras de Celulose Bacteriana
OEG	Óleo Essencial de Gengibre
OEM	Óleo Essencial de Melaleuca
PDI	Polidispersividade
SF	Suspensão Filmogênica
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidine 1-oxyl
TG	Termogravimetria
WVP	Permeabilidade ao Vapor de Água do inglês “ <i>Water Vapor Permeability</i> ”

SUMÁRIO

CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO	29
CAPÍTULO II: RELEVÂNCIA CIENTÍFICO-SOCIAL DA PESQUISA DESENVOLVIDA	32
CAPÍTULO III: REVISÃO DA LITERATURA	39
3.1 ACNE	40
3.2 COSMÉTICOS: DEFINIÇÕES E MERCADO	40
3.3 POLÍMEROS NA INDÚSTRIA COSMÉTICA	41
3.4 MICROPLÁSTICOS NO MEIO AMBIENTE	42
3.5 ALGINATO DE SÓDIO	42
3.6 CELULOSE	44
3.6.1 Celulose vegetal	44
3.6.2 Celulose bacteriana	45
3.7 ÓLEOS ESSENCIAIS	47
CAPÍTULO IV: OBJETIVOS	50
4.1 Objetivo geral	51
4.2 Objetivos específicos	51
CAPÍTULO V: PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS E PREPARO E CARACTERIZAÇÕES DAS NANOEMULSÕES	52
5.1 MATERIAL	53
5.2 MÉTODOS	54
5.2.1 Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM)	54
5.2.2 Preparo das Nanoemulsões de Óleo Essencial de Melaleuca	55
5.2.3 Tamanho médio e Índice de polidispersividade (PDI)	56
5.2.4 Potencial Hidrogeniônico (pH)	56

5.2.5 Análise Estatística.....	56
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
5.3.1 Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos óleos essenciais	57
5.3.2 Tamanho Médio e Índice de Polidispersividade (PDI) das Nanoemulsões de Óleo Essencial de Melaleuca	58
5.3.3 Potencial Hidrogeniônico (pH)	60
CAPÍTULO VI: PREPARO E CARACTERIZAÇÕES DE NANOFIBRAS DE CELULOSE BACTERIANA	62
6.1 MATERIAL	63
6.2 MÉTODOS	63
6.2.1 Oxidação mediada por TEMPO	63
6.2.2 <i>Rendimento</i>.....	64
6.2.3 Teor de Água	65
6.2.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	65
6.2.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	65
6.2.6 Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR).....	66
6.2.7 Difração de Raios-X (DRX).....	66
6.2.8 Propriedades Térmicas.....	67
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
6.3.1 Rendimento (R) e Teor de Água.....	68
6.3.2 Análise morfológica e tamanho médio das nanofibras de celulose bacteriana produzidas	68
6.3.4 Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)	71
6.3.5 Difração de Raios-X (DRX)	73
6.3.6 Propriedades Térmicas.....	74

CAPÍTULO VII: PREPARO DA MATRIZ POLIMÉRICA E OTIMIZAÇÃO DE PROCESSOS PARA O DESENVOLVIMENTO DE FILMES NANOCOMPÓSITOS	78
7.1 MATERIAL	79
7.2 MÉTODOS	79
7.2.1 Matriz polimérica	79
7.2.2 Reticulação	80
7.2.3 Incorporação da Nanoemulsão de Óleo Essencial de Melaleuca (NEOEM)	81
7.2.4 Incorporação das Nanofibras de Celulose Bacteriana.....	81
7.2.5 Análise Subjetiva e aspecto visual	83
7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	84
7.3.1 Reticulação	84
7.3.2 Incorporação da nanoemulsão	85
7.3.3 Incorporação das nanofibras de celulose bacteriana	86
7.3.4 Análise subjetiva do processo de otimização dos filmes.....	87
CAPÍTULO VIII: PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES NANOCOMPÓSITOS	89
8.1 MATERIAL	90
8.2 MÉTODOS	90
8.2.1 Preparo dos filmes nanocompósitos.....	90
8.2.2 Espessura dos filmes.....	92
8.2.3 Potencial Hidrogeniônico (pH)	92
8.2.4 Viscosidade	92
8.2.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	92
8.2.6 Propriedades Mecânicas	93
8.2.7 Permeabilidade ao Vapor de Água (WVP)	93
8.2.8 Ângulo de contato com a água	93
8.2.9 Solubilidade em água.....	94

8.2.10 Liberação do óleo essencial de melaleuca e Eficiência de Encapsulação	94
8.2.11 Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	96
8.2.12 Biodegradação	96
8.2.13 Análise Estatística	99
8.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	100
8.3.1 Potencial Hidrogeniônico (pH)	100
8.3.2 Viscosidade	101
8.3.3 Aspecto visual dos filmes nanocompósitos	101
8.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	103
8.3.5 Propriedades Mecânicas	110
8.3.6 Permeabilidade ao Vapor de Água (WVP)	116
8.3.7 Ângulo de contato com a água	119
8.3.8 Solubilidade em água	121
8.3.9 Liberação de óleo essencial de melaleuca	123
8.3.10 Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	125
8.3.11 Biodegradação	128
8.3.12 Potencial aplicação cosmética	134
CAPÍTULO IX: CONCLUSÃO	137
REFERÊNCIAS	140

CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO

A acne é uma doença que ocorre em folículos capilares e glândulas sebáceas da face, costas e peito; na forma de comedões, pápulas, pústulas e nódulos. O principal fator para o seu desenvolvimento é a colonização de bactérias como *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*), *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) [1]–[3].

No Brasil, 14% das consultas dermatológicas são devido a acne, e embora seja uma condição benigna, causa dor, desconforto e cicatrizes, o que pode desencadear depressão, ansiedade e baixa autoestima nos pacientes. Os tratamentos convencionais incluem ácidos e antibióticos que podem ocasionar irritações e resistência bacteriana. Desse modo, os cosméticos têm se tornado uma abordagem eficiente e muito utilizada [4]–[12].

A indústria cosmética tem se firmado como uma das áreas mais promissoras da atualidade [13] e, diante da crescente preocupação ambiental devido ao uso exacerbado de matérias-primas provenientes de recursos não naturais, como os polímeros sintéticos, tem surgido um novo segmento no mercado, os produtos naturais, que podem ser compostos por polissacarídeos, excelentes formadores de filmes, e óleos essenciais [13]–[19]. Esses materiais, aliados à nanotecnologia, são capazes de substituir os materiais convencionais, reduzir os impactos ambientais, aumentar a eficácia do produto e reduzir possíveis reações alérgicas e resistência bacteriana [18].

A escolha da forma cosmética tem como objetivo a funcionalidade, percepção sensorial, estabilidade, segurança e eficácia do produto. As preparações desenvolvidas na forma de filmes no lugar das formas clássicas, apresentam facilidade e segurança no transporte, pois o peso e o risco de vazamento são praticamente eliminados, além disso, os filmes cosméticos ou cosméticos em filmes, apresentam praticidade e comodidade no uso, uma vez que, seus componentes ativos serão liberados quando em contato com a pele [20].

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho é desenvolver e caracterizar filmes nanocompósitos à base de biopolímeros como, alginato de sódio e celulose bacteriana, incorporados com nanoemulsão de óleo essencial de melaleuca com potencial aplicação como filme cosmético. Para isso, a presente tese foi estruturada da seguinte forma:

Capítulo I: Introdução – Apresenta uma introdução ao trabalho realizado;

Capítulo II: Relevância Científico-Social da pesquisa desenvolvida – Escrita com base na normativa do PPGCM, aborda a relevância do trabalho nas áreas científica e social;

Capítulo III: Revisão da literatura – Oferece uma revisão teórica; estado da arte e propriedades dos materiais;

Capítulo IV: Objetivos – Elucida os objetivos e hipóteses mediante ao que apresenta a literatura;

Capítulo V: Propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais e preparo e caracterização das nanoemulsões – Apresenta o material e métodos, bem como resultados e discussões acerca dos óleos essenciais e nanoemulsões;

Capítulo VI: Preparo e caracterização das Nanofibras de Celulose Bacteriana – Nesse capítulo, será apresentado a metodologia para obtenção de nanofibras via oxidação mediada por TEMPO, resultados obtidos e discussões;

Capítulo VII: Preparo da matriz polimérica e otimização de processos para o desenvolvimento de filmes nanocompósitos – Será apresentado as etapas para a seleção da concentração de óleo essencial, agente reticulação e método de incorporação das nanofibras nos filmes;

Capítulo VIII: Preparo e caracterização dos filmes nanocompósitos: Nesse capítulo, serão apresentados os filmes desenvolvidos, bem como a caracterização e discussão e

Capitulo IX: Conclusão - Será abordado os objetivos e resultados alcançados.

CAPÍTULO II: RELEVÂNCIA CIENTÍFICO-SOCIAL DA PESQUISA DESENVOLVIDA

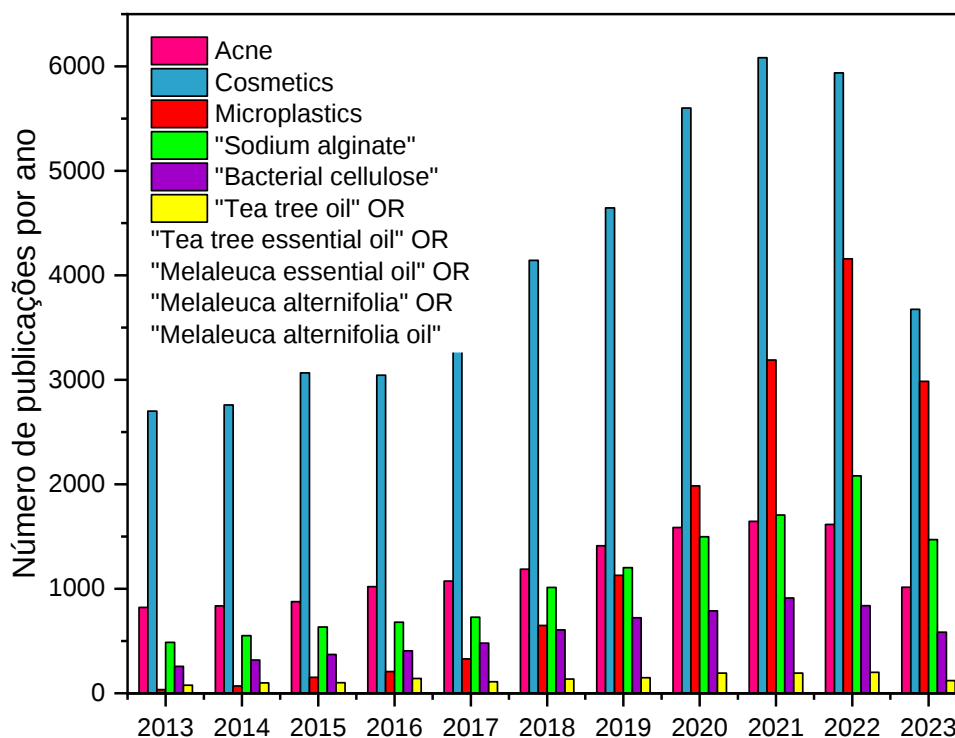
A pesquisa bibliográfica realizada na plataforma da Web of Science (Figura 1) mostra que os temas abordados nesse projeto são relevantes na literatura e de interesse científico e social. No entanto, quando os termos “Cosmetic film”, “Acne patch”, “Cosmetic Patch” e “Nanocosmetics” são pesquisados, a quantidade de artigos encontrada é menos expressiva (Figura 2). Isso indica que o material proposto tem potencial inovação científica e mercadológica.

As principais áreas de aplicação/publicação dos termos pesquisados podem ser analisadas nas Figura 3Figura 9. A área de Materiais tem um destaque interessante para a aplicação dos filmes cosméticos.

Os filmes desenvolvidos nesse trabalho estão alinhados com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) e contribuem para a redução da poluição ambiental oriunda dos cosméticos formulados com polímeros sintéticos, impactando diretamente na qualidade de vida da sociedade em geral. Além disso, o uso de resíduos incentiva a bioeconomia circular.

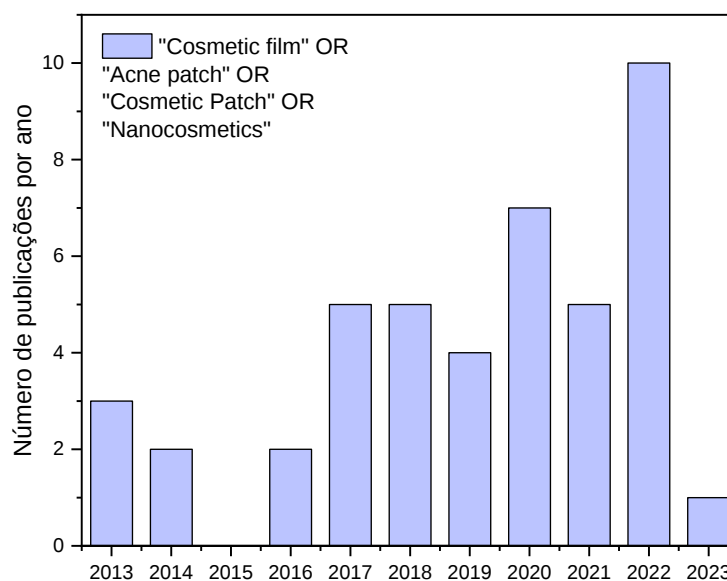
Durante o doutorado, tive a oportunidade de ministrar aulas e palestras que contribuíram para novas pesquisas e despertaram o interesse dos jovens de ensino médio da escola pública em ingressar na universidade e fazer ciência.

Figura 1: Pesquisa bibliográfica realizada na base de dados da Web of Science, no campo “topic” com as palavras-chaves: Acne; Cosmetics; Microplastics; “Sodium Alginate”; “Bacterial celulose” e “Tea tree oil” OR “Tea tree essential oil” OR Melaleuca essential oil” OR “Melaleuca alternifolia” OR “Melaleuca alternifolia oil”. Período: 01/01/2013 a 01/10/2023.



Fonte: Elaborado pelo autor com base na pesquisa realizada no Web of Science.

Figura 2: Pesquisa bibliográfica realizada na base de dados da Web of Science, no campo “topic” com as palavras chaves: “Cosmetic film” OR “Acne patch” OR “Cosmetic Patch” OR “Nanocosmetics”. Período: 01/01/2013 a 01/10/2023.



Fonte: Elaborado pelo autor com base na pesquisa realizada no Web of Science.

Figura 3: Principais áreas de aplicação/publicação envolvendo a palavra-chave: Acne.



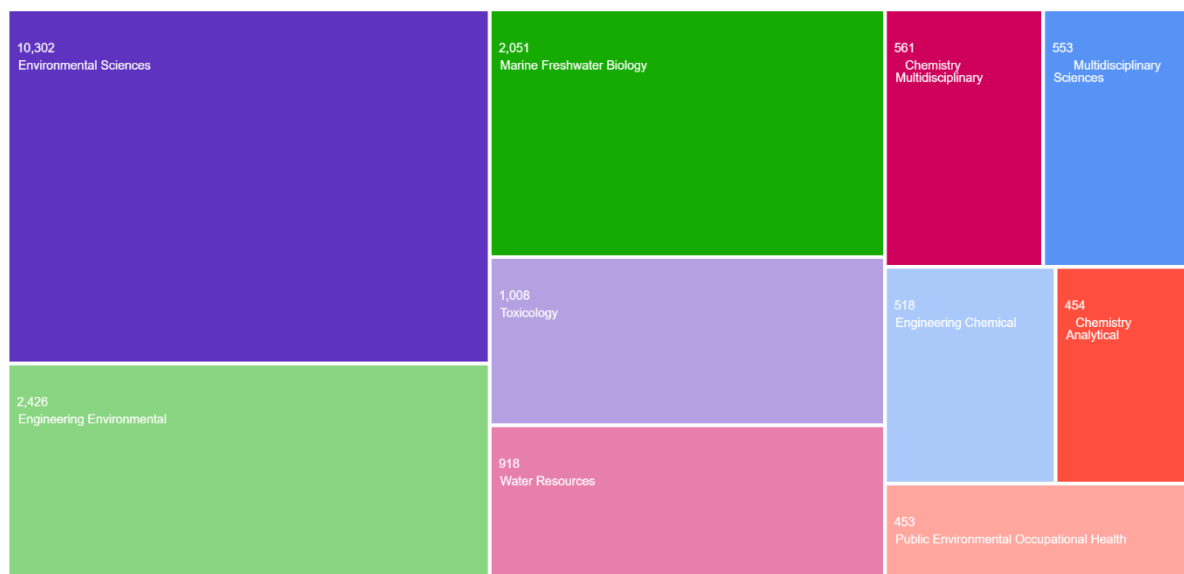
Fonte: Relatório gerado pelo Web of Science após a pesquisa realizada.

Figura 4: Principais áreas de aplicação/publicação envolvendo a palavra-chave: Cosmetics.



Fonte: Relatório gerado pelo Web of Science após a pesquisa realizada.

Figura 5: Principais áreas de aplicação/publicação envolvendo a palavra-chave: Microplastics.



Fonte: Relatório gerado pelo Web of Science após a pesquisa realizada.

Figura 6: Principais áreas de aplicação/publicação envolvendo a palavra-chave: "Sodium alginate".



Fonte: Relatório gerado pelo Web of Science após a pesquisa realizada.

Figura 7: Principais áreas de aplicação/publicação envolvendo a palavra-chave: “Bacterial Cellulose”.



Fonte: Relatório gerado pelo Web of Science após a pesquisa realizada.

Figura 8: Principais áreas de aplicação/publicação envolvendo a palavra-chave: “Tea tree oil” OR “Tea tree essential oil” OR “Melaleuca essential oil” OR “Melaleuca alternifolia” OR “Melaleuca alternifolia oil”.



Fonte: Relatório gerado pelo Web of Science após a pesquisa realizada.

Figura 9: Principais áreas de aplicação/publicação envolvendo a palavra-chave: “Cosmetic film” OR “Acne patch” OR “Cosmetic Patch” OR “Nanocosmetics”.



Fonte: Relatório gerado pelo Web of Science após a pesquisa realizada.

CAPÍTULO III: REVISÃO DA LITERATURA

3.1 ACNE

A acne é uma condição inflamatória crônica que ocorre em folículos capilares e glândulas sebáceas em regiões do corpo como face, costas e peito, na forma de comedões, pápulas, pústulas e nódulos. A acne pode ser classificada em: Grau I (presença apenas de comedões, sem lesões inflamatórias); Grau II (comedões, pápulas e pústulas); Grau III (comedões, pústulas e cistos) e Grau IV (comedões, pústulas e lesões císticas maiores) [1], [2].

O principal fator para o desenvolvimento dessa doença é a colonização das bactérias gram-positivas que estão presentes na flora da pele humana: *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*), anteriormente denominada *Propionibacterium acnes*; *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) [3].

Apesar de não ser uma doença infecciosa, no Brasil, a acne responde por aproximadamente 14% das consultas dermatológicas, sendo predominante nas três primeiras décadas de vida [4]. Um estudo realizado em São Paulo, revelou que 100% dos adolescentes acima de 14 anos foram diagnosticados com acne vulgar [5]. Em 2010, a acne ocupou a oitava posição (645.499.136 casos) no ranking das 10 doenças predominantes no mundo [6], [7].

Embora seja uma condição benigna, a acne causa dor, desconforto e cicatrizes, o que pode desencadear depressão, ansiedade e baixa autoestima nos pacientes [8], [9].

Atualmente, os tratamentos convencionais para casos graves incluem medicamentos como antibióticos (azitromicina, clindamicina e eritromicina) e ácidos (azelaico, salicílico e retinóico), que podem causar resistência bacteriana e irritações cutâneas, respectivamente [10]. No entanto, para peles sensíveis e com acne leve a moderada, estudos científicos relatam que os cosméticos podem melhorar o resultado clínicos [11], [12].

3.2 COSMÉTICOS: DEFINIÇÕES E MERCADO

Os produtos cosméticos são definidos pela União Europeia (2009) como qualquer substância ou mistura destinada a entrar em contato com as partes externas do corpo humano (epiderme, sistema capilar, unhas, lábios e órgãos genitais

externos) ou com os dentes e as mucosas da cavidade oral, com a função de limpar, perfumar, mudar a aparência, proteger e corrigir odores corporais [21].

Nos Estados Unidos, a indústria cosmética é regulamentada pela Food and Drug Administration (FDA) que, baseada na Lei Federal de Alimentos, Medicamentos e Cosméticos Act (FD&C Act) aprovada em 1938, define cosmético (com exceção do sabão puro) como “um produto destinado a ser aplicado no corpo humano para limpeza, embelezamento, promoção da atratividade ou alteração da aparência” [22].

No Brasil, a RDC Nº 752/2022 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) segue a os padrões internacionais e define produtos cosméticos, de higiene pessoal e perfumes como “preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e ou corrigir odores corporais e ou protegê-los ou mantê-los em bom estado” [23].

O mercado global de cosméticos foi avaliado em US\$ 299,77 bilhões em 2022 e a projeção é de que cresça de US\$ 313,22 bilhões em 2023 para US\$ 417,24 bilhões até 2030 [13]. Em 2021, o segmento global de cosméticos antiacne foi avaliado em US\$ 4,13 bilhões e espera-se que cresça a uma taxa de crescimento anual composta (CAGR) de 9,0% de 2022 a 2030 [14].

Para atender a demanda desse mercado, existem inúmeros tipos de cosméticos com funções, aplicações e características distintas que necessitam de uma ampla gama de polímeros e ingredientes ativos.

3.3 POLÍMEROS NA INDÚSTRIA COSMÉTICA

Os polímeros são “macromoléculas composta por muitas (dezenas de milhares) de unidades de repetição denominadas meros, ligadas por ligação covalente” [24]. Essas macromoléculas são a segunda maior classe de ingredientes em cosméticos e produtos de higiene pessoal [19] e desempenham um papel fundamental nas formulações, como: modificadores de reologia, espessantes, estabilizadores e desestabilizadores de espuma, emulsificantes, fixadores, condicionadores e formadores de filme [20-23]. Eles podem ser divididos em sintéticos; semissintéticos e naturais [15]:

- I. Sintéticos: Polietilenoglicol (PEG); à base de Ácido acrílico; Poliacrilamida; Acetato de vinila; Poliamida; Poloxamer; Poliéter; Poliéster; Silicones e Poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA).
- II. Semissintéticos: Carboximetilcelulose (CMC); Hidroxipropilcelulose (HPC); Etilcelulose (CE); Hidroxietilcelulose (HEC) e Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC).
- III. Naturais: Goma xantana; Goma guar; Amido; Alginato de Sódio; Quitosana; Celulose; Colágeno; Gelatina; Pectina e Ágar.

Dentre as classes supracitadas, é habitual a utilização de micropartículas constituídas de polímeros sintéticos e com diversas finalidades em proporções de 1% a 90% [25].

3.4 MICROPLÁSTICOS NO MEIO AMBIENTE

Os microplásticos (MP) são definidos como partículas sólidas sintéticas ou matriz polimérica, com formato regular ou irregular e com tamanho de 1 μm a 5 mm. Esses materiais podem ser de fabricação primária ou secundária e são insolúveis em água [26]. Os MP de origem primária, são fabricados intencionalmente para determinada aplicação, principalmente, para o setor de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (HPPC). Já os secundários, são provenientes da fragmentação de plásticos maiores, como embalagens. Esses materiais, quando descartados de maneira incorreta, contaminam o ar, solo, mares, rios e até alimentos [27].

Recentemente, pesquisadores encontraram MP no pulmão [28] e coração [29] de humanos. Além disso, uma pesquisa realizada no Brasil, constatou a presença de MP em mexilhões da região de Santos/SP [30].

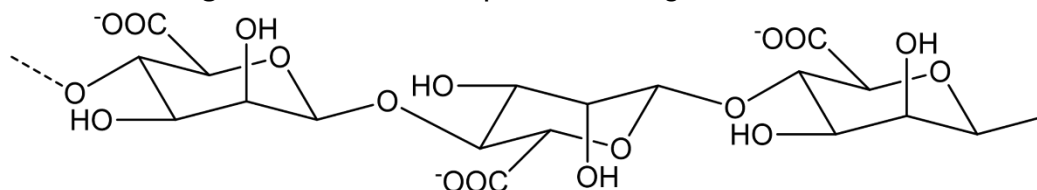
Os MP primários, correspondem a 10% dos MP encontrados no mar; dessa porcentagem, 93% é oriunda do setor de HPPC [31], [32].

3.5 ALGINATO DE SÓDIO

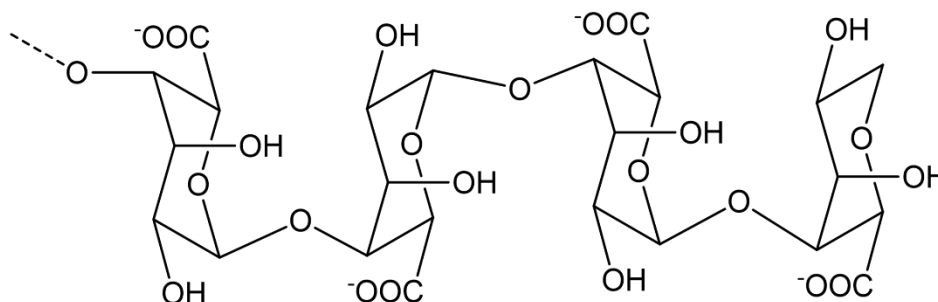
O alginato de sódio é extraído de algas marrons pertencentes à classe *Phaeophyceae*. Esse biopolímero apresenta uma estrutura linear formada por unidades de ácido β -D-manurônico (blocos M responsáveis pela flexibilidade) e ácido

α -L-gulurônico (blocos G responsáveis pela rigidez), em diferentes proporções e distribuições em cadeia (Figura 10) [33].

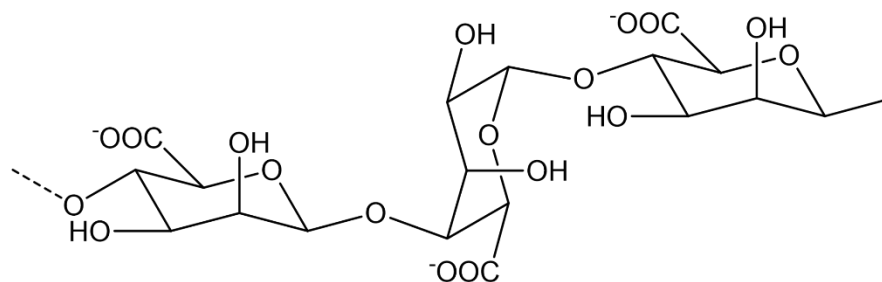
Figura 10: Estrutura química do alginato de sódio.



Blocos: M-M-M



Blocos: G-G-G-G



Blocos: M-G-M

Fonte: Próprio autor.

Devido às propriedades como biodegradabilidade, biocompatibilidade, solubilidade em água, não toxicidade e alta capacidade de formar géis e filmes [34], o alginato de sódio vem sendo extensivamente estudado para aplicações em filmes e revestimentos de alimentos [35], engenharia de tecidos [36], liberação controlada [37] e cosméticos (Tabela 1).

Tabela 1: Aplicações do alginato de sódio em cosméticos.

Aplicação	Forma cosmética	Ref.
Esfoliante para a pele com curcumina	Microesferas	[38]
Encapsulamento de filtros UV	Microcápsulas	[39]
Estabilizador de emulsão	Emulsão Pickering	[40]
Máscara facial para liberação de calêndula	Filme	[41]
Complexo polieletrólito para liberação de fragrância	Microcápsulas	[42]
Micropartículas para esfoliação da pele	Micropartículas	[43]
Micropartículas para peeling	Micropartículas	[44]

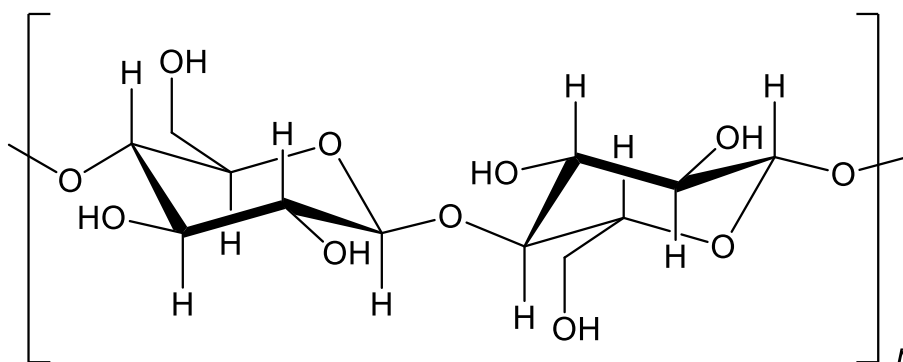
Fonte: Próprio autor.

3.6 CELULOSE

3.6.1 Celulose vegetal

A celulose vegetal ($C_6H_{10}O_5$)_n, descrita pela primeira vez em 1838 pelo químico agrícola francês Anselme Payen, é o principal componente da maior parte das fibras vegetais, sendo considerada o polímero natural mais abundante na terra, com taxa de produção total de 1011 - 1012 toneladas por ano [45], [46].

A estrutura da celulose (Figura 11) é linear e não ramificada, composta por 10 a 15 mil unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas do tipo β entre os carbonos 1 e 4.

Figura 11: Estrutura química da celulose.

Fonte: Próprio autor.

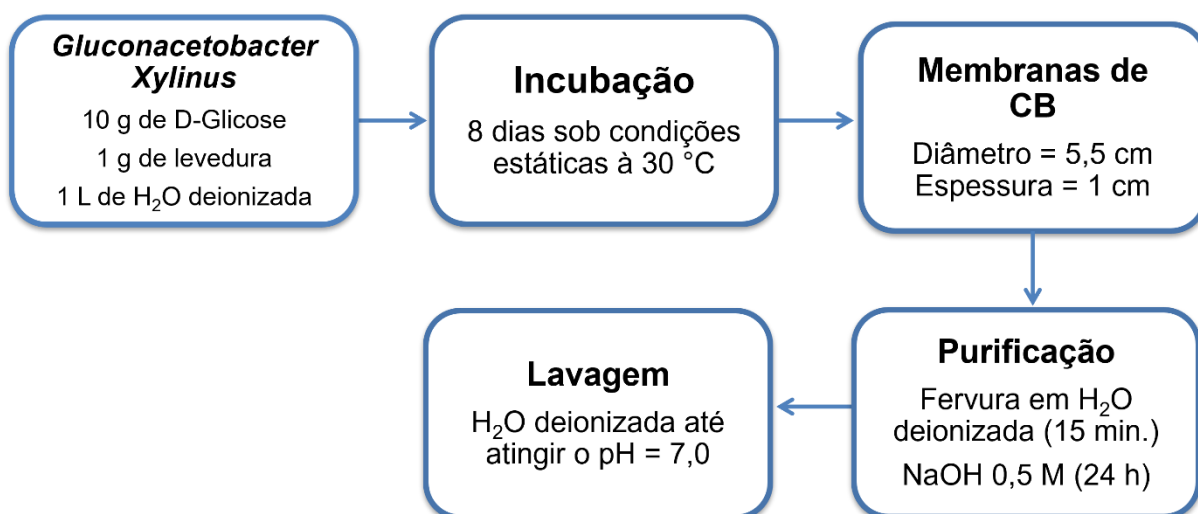
Os grupos hidroxila (-OH) presentes nessa estrutura desempenham um papel importante nas propriedades físico-químicas da celulose. Cada molécula de glicose possui três -OH livres, concedendo a esse biopolímero um caráter predominante hidrofílico. As ligações de hidrogênio (LH) intramoleculares, que ocorrem entre os grupos -OH da mesma molécula, são responsáveis pela rigidez da cadeia; enquanto que as LH intermoleculares, que ocorrem entre os grupos -OH de cadeias adjacentes, são responsáveis pela formação da fibra vegetal. Além disso, as LH tornam a celulose um composto higroscópico [47]–[49].

Embora a celulose vegetal tenha propriedades interessantes, ela está agrupada com outros biopolímeros, como hemicelulose e lignina [50], [51].

3.6.2 Celulose bacteriana

A celulose bacteriana (CB), ou biocelulose, é livre de lignina e hemicelulose e foi identificada pela primeira vez em 1886 durante a fermentação do vinagre [52]. Sua biossíntese ocorre por meio de bactérias dos gêneros: *Gluconacetobacter*, *Rhizobium*, *Sarcina*, *Agrobacterium* e *Alcaligenes* em meios de cultura como frutose, glicose, sacarose e xilose [53], [54]. A Figura 12 ilustra o processo de produção da CB com base na literatura [55].

Figura 12: Processo de obtenção de celulose bacteriana.



Fonte: Próprio autor.

Apesar de possuir a mesma estrutura e fórmula química que a celulose vegetal, as dimensões das fibras e a organização estrutural são diferentes [56], [57] o que confere a esse biopolímero propriedades distintas e únicas (Tabela 2).

Tabela 2: Comparativo entre as propriedades da celulose vegetal e celulose bacteriana.

Propriedades	CV	CB
Largura da fibra	1,4 - 4,0 x 10 ⁻² mm	70 - 80 nm
Cristalinidade	56 - 65 %	65 - 79 %
Módulo de Young	5,5 - 12,6 GPa	15 - 30 GPa
Conteúdo de água	60 %	98,5 %

Fonte: Próprio autor.

Devido a essas propriedades a CB possui um campo de aplicação em diversas áreas, incluindo materiais biomédicos, indústria têxtil, comunicação, alimentos, indústria de papel e eletrônicos [58], [59] e cosméticos (Tabela 3).

Tabela 3: Aplicações da celulose bacteriana em cosméticos.

Aplicação	Ref.
Máscara facial de hidratação	[60]
Película composta CB/k-carragenina para liberação de agentes ativos	[61]
Compósito BC/CMC para emulsão Pickering de cremes	[62]
Membranas para hidratação da pele	[63]
Hidrogel para liberação de retinol	[64]

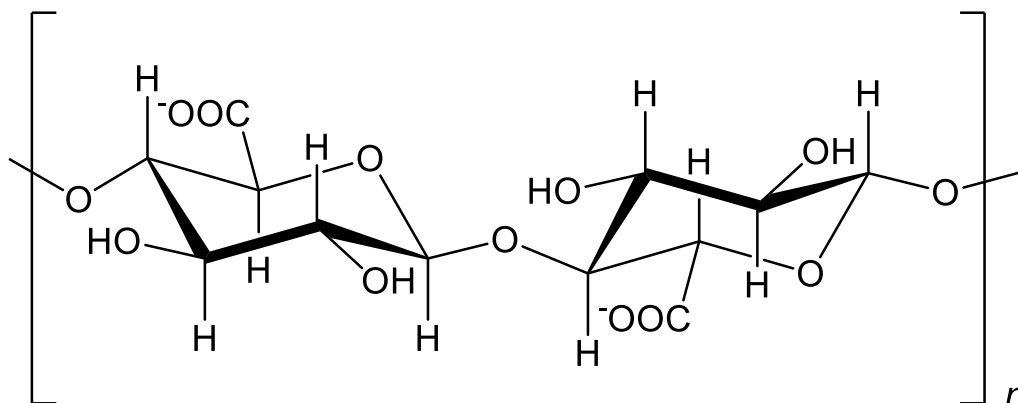
Fonte: Próprio autor.

Com o intuito de melhorar as propriedades da CB e consequentemente expandir seu campo de aplicação, as pesquisas nessas áreas têm se concentrado em nanoestruturas, como as nanofibras, que são fibras longas e finas, com elevada área superficial, vários µm de comprimento e diâmetro em escala nanométrica [65], [66].

Os métodos mecânicos foram os primeiros a serem empregados na desintegração da CB para a produção de nanofibras, porém, a alta demanda de energia exigida nesse processo tornou o método inviável. Com isso, o desenvolvimento de métodos químicos, como a oxidação mediada por 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinoxil (TEMPO), têm se mostrado promissor para a obtenção de

nanofibras de celulose bacteriana (NFCB) [67], [68]. Além disso, nesse processo de oxidação, a hidroxila do C6 é substituída por ácido carboxílico (Figura 13), tornando-a propícia para a funcionalização com outras estruturas.

Figura 13: Estrutura da celulose oxidada via TEMPO.



Fonte: Próprio autor.

3.7 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais (OEs) são compostos naturais, hidrofóbicos e voláteis, extraídos dos brotos, flores, folhas, caules, galhos, sementes, frutas ou raízes, de plantas aromáticas que geralmente são localizadas em países temperados a quente. A composição dos OEs é caracterizada por diferentes compostos bioativos, como fenóis, terpenos e terpenóides, em concentrações razoavelmente altas (20-70%) em comparação com outros componentes presentes em pequenas concentrações [69]–[71].

Cada composto orgânico presente nos OEs é responsável por diferentes ações terapêuticas. No tratamento da acne, são desejáveis óleos que possuem ação anti-inflamatória, cicatrizante, antioxidante e antimicrobiana [72].

Na literatura, é possível encontrar trabalhos científicos que utilizam os OEs para o tratamento da acne (Tabela 4).

Tabela 4: Óleos essenciais utilizados no tratamento da acne.

Óleo essencial	Ref.
Jasmim e Jojoba	[73]
Cítrico da casca de Blanco	[74]
Hortelã-pimenta	[75]
Ocimum	[76]
Melaleuca	[77]
Cravo	[78]
Gengibre	[79]

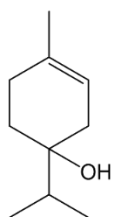
Fonte: Próprio autor.

Dentre os óleos citados, o óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) (OEM), conhecido como tea tree, é amplamente utilizado pela população em geral sem orientação dermatológica, o que incentiva pesquisas que atestem a sua eficácia e segurança [80].

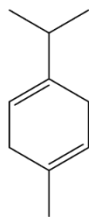
O OEM é obtido por destilação a vapor das folhas e ramos da planta nativa australiana *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). Esse óleo contém cerca de 100 componentes, sendo o Terpinen-4-ol; Gamma terpinene; Alpha terpinene; Alpha terpineol; Terpinolene; Alfa pineno; Para cimeno e Cineol, os componentes majoritários (Figura 14). O terpinen-4-ol é o componente mais abundante e responsável pela ação antimicrobiana e anti-inflamatória [81]–[83].

Figura 14: Estruturas químicas dos compostos bioativos majoritários nos óleos essenciais de melaleuca.

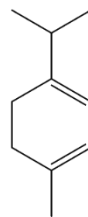
Terpinen-4-ol



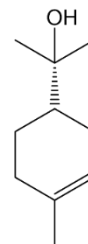
Gamma terpinene



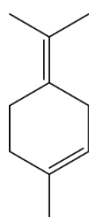
Alpha terpinene



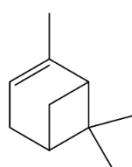
Alpha terpineol



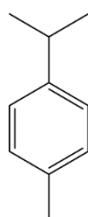
Terpinolene



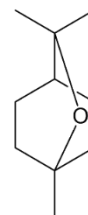
Alfa pineno



Para cimeno



Cineol



Fonte: Próprio autor.

CAPÍTULO IV: OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

- Desenvolver e caracterizar filmes biodegradáveis a base de alginato, óleo essencial e resíduo de celulose bacteriana para potencial aplicação cosmética.

4.2 Objetivos específicos

- Avaliar as propriedades antimicrobianas e concentração de óleo essencial para ser incorporada na matriz polimérica;
- Otimizar o processo de reticulação dos filmes de alginato de sódio;
- Utilizar resíduo de celulose bacteriana para produzir nanofibras;
- Avaliar a melhor forma de incorporação das nanofibras nos filmes e
- Desenvolver filmes nanocompósitos e caracterizar por técnicas físico-químicas.

**CAPÍTULO V: PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS DOS
ÓLEOS ESSENCIAIS E PREPARO E CARACTERIZAÇÕES
DAS NANOEMULSÕES**

5.1 MATERIAL

Bactérias Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) e *Cutibacterium acnes* (ATCC 6919) Meios de cultura: Brain Heart Infusion (BHI); Trypticase Soy Agar (TSA) e Trypticase Soy Broth (TSB). Digliconato de Clorexidina (CHX) como controle positivo. Óleos Essenciais de Gengibre Fresco (OEG) (*Zingiber officinale* – CAS 8007-08-7) e Melaleuca (OEM) (*Melaleuca alternifolia* – CAS 68647-73-4) e tensoativo não-iônico - Tween 80 (CAS 9005-65-6; Labsynth, Diadema, SP – Brasil). Os óleos foram adquiridos da Ferquima Ind. e Com. Ltda. (Vargem Grande Paulista, SP - Brasil) e a caracterização foi realizada pela empresa, conforme laudo técnico enviado (Tabela 5 e Tabela 6).

Tabela 5 – Caracterização do Óleo Essencial de Gengibre Fresco.

Itens controlados	Resultados	Especificações
Aparência	Líquido Límpido	Líquido Límpido
Cor	Amarelo	Amarelo a Marrom
Impurezas	Isento	Isento
Odor	Típico - Especiaria	Típico - Especiaria
Densidade (20°C)	0,884	0,870 – 0,885
Índice de Refração (20°C)	1,492	1,485 – 1,495
Rotação Ótica	- 33,60°	[- 52°; - 25°]
Origem	Costa do Marfim	
Extração	Destilação a vapor da raiz fresca	
Principais componentes (aproximadamente)	Alfa zingiberene = 30% Betasesquifelandrene = 12%	

Fonte: Laudo técnico - Ferquima Ind. e Com. Ltda. Lote: 103.

Tabela 6 - Caracterização do óleo essencial de melaleuca.

Itens controlados	Resultados	Especificações
Aparência	Líquido Límpido	Líquido Límpido
Cor	Amarelo Palha	Incolor a Amarelo Claro
Impurezas	Isento	Isento
Odor	Característico	Característico
Densidade (20°C)	0,8905	0,885 – 0,906
Índice de Refração (20°C)	1,4754	1,470 – 1,482
Rotação Ótica	+ 8,70°	[+5°; +15°]
Origem	Austrália	
Extração	Destilação a vapor das folhas	
Principais componentes (aproximadamente)	Terpinen-4-ol = 42% Gamma terpinene = 21% Alpha terpinene = 10% Alpha terpineol = 4% Terpinolene = 3% Alfa pineno = 3% Para cimeno = 3% Cineol = 1%	

Fonte: Laudo técnico - Ferquima Ind. e Com. Ltda. Lote: 206.

5.2 MÉTODOS

5.2.1 Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Foi utilizado o método de microdiluição em caldo para análise da CIM e CBM dos óleos essenciais dos óleos essenciais de gengibre (OEG) e melaleuca (OEM). O protocolo experimental dividiu-se em 5 etapas e foi realizado em triplicata:

i. Meios de cultura e diluição dos óleos:

Brain Heart Infusion (BHI) para *S. aureus* e *S. epidermidis*; Trypticase Soy Agar (TSA) e Trypticase Soy Broth (TSB) para *C. acnes*. A diluição dos óleos nos meios de cultura foi realizada utilizando tween 80 obtendo uma concentração final de 10%.

ii. Primeiro dia:

- Repique dos microrganismos em ágar BHI (*S. aureus* e *S. epidermidis*) ou TSA (*C. acnes*) e
- Incubação a 37 °C por 24h, em aerobiose (*S. aureus* e *S. epidermidis*) ou anaerobiose (*C. acnes*).

iii. Segundo dia:

- Preparo das suspensões de microrganismos utilizando a escala McFarland (10^5 cells/mL);
- Preparo das soluções contendo os óleos essenciais em meio de cultura;
- Preparo da solução aquosa do controle do veículo (Tween 80) e meio de cultura) e
- Preparo das placas de 96 poços: A coluna 1 recebeu 100 μ L da solução contendo OEG ou OEM ou o controle do veículo. Os demais poços receberam 50 μ L dos respectivos meios de cultura. Em seguida, foi realizada a diluição seriada entre os poços da coluna 1 até a coluna 10. Após a diluição seriada, adicionou-se 20 μ L de cada inóculo poços. A coluna 11 não participou da diluição seriada e recebeu apenas os inóculos, controle negativo. A coluna 12 recebeu apenas as soluções contendo os óleos ou a solução do controle do veículo, controle de esterilidade do meio. Foi utilizado clorexidina 0,12% como controle positivo, e em seguida, as placas foram incubadas por 24h a 37°C em aerobiose (*S. aureus* e *S. epidermidis*) ou anaerobiose (*C. acnes*).

iv. Terceiro dia: Em placas de ágar BHI (*S. aureus* e *S. epidermidis*) ou TSA (*C. acnes*) foi pipetado 5 μ L de cada poço. As placas foram incubadas a 37 °C por 24h, em aerobiose (*S. aureus* e *S. epidermidis*) ou anaerobiose (*C. acnes*).

v. Quarto dia: Leitura dos resultados, onde CIM é a concentração na qual há diferença visual de crescimento em relação ao controle de crescimento e CBM é a concentração na qual não há crescimento microbiano.

5.2.2 Preparo das Nanoemulsões de Óleo Essencial de Melaleuca

As nanoemulsões (O/A) foram preparadas de acordo com a literatura [84] com algumas modificações: 1,0 ou 2,5% m/V de OEM e 0,75 m/V de Tween 80 foram homogeneizados em um dispersor Ultra Turrax® T25 (IKA, Alemanha) à 15.000 ou 20.000 RPM durante 5 minutos. As amostras foram descritas como: NE1,0/15; NE1,0/20; NE2,5/15 e NE2,5/20 (Tabela 7) e acondicionadas em vidros de âmbar sob refrigeração para posterior análise e uso.

Tabela 7: Parâmetros de preparo das nanoemulsões de óleo essencial de melaleuca.

Código das Nanoemulsões	Concentração de OEM (% m/V)	Concentração de T80 (% m/V)	Rotação Ultra-Turrax (RPM)
NE1,0/15	1,0	0,75	15.000
NE1,0/20	1,0	0,75	20.000
NE2,5/15	2,5	0,75	15.000
NE2,5/20	2,5	0,75	20.000

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2.3 Tamanho médio e Índice de polidispersividade (PDI)

As medidas de tamanho médio das partículas presentes nas nanoemulsões NE15/1% e NE20/1,0%, bem como o índice de polidispersividade, foram analisados através da técnica de Espalhamento Dinâmico da Luz (DLS, Dynamic Light Scattering). As análises foram realizadas em triplicata à 25°C no equipamento Zetasizer Nano Series (Malvern Instruments Inc. USA).

5.2.4 Potencial Hidrogeniônico (pH)

Para avaliar a estabilidade das nanoemulsões, utilizou-se um pHmetro de bancada (PG 2000, GEAKA) equipado com eletrodo combinado blindado com ponte salina (GEPH04BNC SC04). O sistema foi previamente calibrado com soluções tampões 4,0 e 7,0. As amostras foram armazenadas em ambiente refrigerado e ao abrigo da luz. As leituras foram realizadas em temperatura de 25°C.

5.2.5 Análise Estatística

Os resultados experimentais foram avaliados por meio da análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, com um nível de significância de 5%, utilizando o software SISVAR®.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos óleos essenciais

Os resultados da CIM e CBM dos óleos essenciais de gengibre e melaleuca, bem como do controle positivo (CHX), para as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Cutibacterium acnes* e *Staphylococcus epidermidis*, estão apresentados nas Tabela 8 e Tabela 9, respectivamente.

Tabela 8 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do Óleo Essencial de Melaleuca (OEM); Óleo Essencial de Gengibre (OEG) e Digluconato de Clorexidina (CHX) para a bactéria *Staphylococcus aureus*.

Amostras	CIM		CBM	
	%	mg/mL	%	mg/mL
OEM	2,5	22,5	5	45
OEG	> 10	> 88	> 10	> 88
CHX	0,004	0,040	0,004	0,040

Fonte: Próprio autor.

Tabela 9 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do Óleo Essencial de Melaleuca (OEM); Óleo Essencial de Gengibre (OEG) e Digluconato de Clorexidina (CHX) para a bactéria *Cutibacterium acnes*.

Amostras	CIM		CBM	
	%	mg/mL	%	mg/mL
OEM	2,5	22,5	5	45
OEG	> 10	> 88	> 10	> 88
CHX	0,002	0,020	0,004	0,040

Fonte: Próprio autor.

Tabela 10 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do Óleo Essencial de Melaleuca (OEM); Óleo Essencial de Gengibre (OEG) e Digluconato de Clorexidina (CHX) para a bactéria *Staphylococcus epidermidis*.

Amostras	CIM		CBM	
	%	mg/mL	%	mg/mL
OEM	0,625	5,62	1,25	11,25
OEG	5	44	10	88
CHX	0,0005	0,004	0,001	0,009

Fonte: Próprio autor.

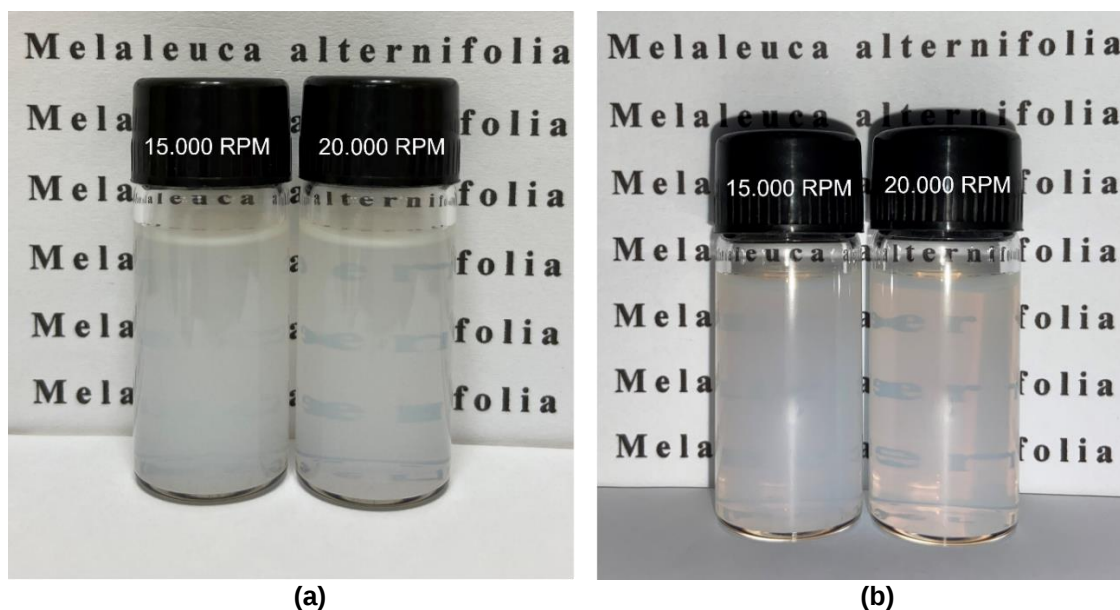
Para todos os microrganismos testados, observou-se que a CBM foi 2 vezes maior que a CIM. Além disso, os valores de CIM para a *S. aureus* e *C. acnes* reduziram 74,43% com o uso do OEM em relação ao OEG; já para a *S. epidermidis*, essa redução foi de 87,23%. Tal resultado é devido aos diferentes componentes dos óleos essenciais testados. O OEG é constituído majoritariamente por alfa zingiberene (30%), enquanto o OEM por terpinen-4-ol (42%).

Dentre os óleos e bactérias analisadas, a atividade antimicrobiana do OEM contra *S. epidermidis* obteve os resultados mais promissores. Em aplicações que visam atividade antimicrobiana do material desenvolvido, valores de CIM e CBM baixos, são interessantes. Diante disso, pelo OEM possui maior atividade antimicrobiana que o OEG para as bactérias de interesse desse estudo, selecionou-se o mesmo para prosseguir os estudos com nanoemulsões (O/A).

5.3.2 Tamanho Médio e Índice de Polidispersividade (PDI) das Nanoemulsões de Óleo Essencial de Melaleuca

As nanoemulsões de óleo essencial de melaleuca produzidas em diferentes rotações (15.000 ou 20.000 RPM), não apresentaram formação de precipitado e separação de fases após a preparação (Figura 15).

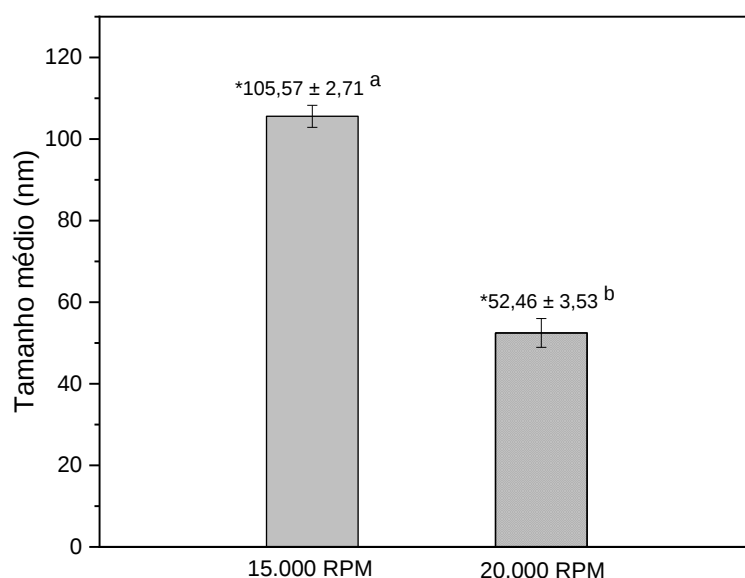
Figura 15 – Fotografia digital do aspecto visual das Nanoemulsões de Óleo Essencial de Melaleuca preparadas a 15.000 e 20.000 RPM: **(a)** sem flash e **(b)** com flash.



Fonte: Próprio autor.

Na fotografia digital, é possível observar que a NE preparada à 20.000 RPM apresentou aspecto visual mais translúcido que a NE preparada a 15.000 RPM, sendo um indicativo de que, altas rotações produzem partículas menores. Tal observação foi comprovada através da análise do tamanho médio (Figura 16), onde o aumento da rotação do Ultra Turrax® reduziu 50,31% o tamanho da NE15. Isso ocorre, pois, altas energias mecânica criam forças de deformação que superam a pressão de Laplace e quebram as gotículas de óleo em gotas menores [85], [86]. Além disso, ressalta-se, que o tamanho médio da NE20 preparada nesse estudo foi inferior a resultados reportados na literatura utilizando o mesmo óleo e surfactante [27-30], onde os autores obtiveram tamanhos médios de 293,2; 70,67; 253,1 e 161,8 nm, respectivamente.

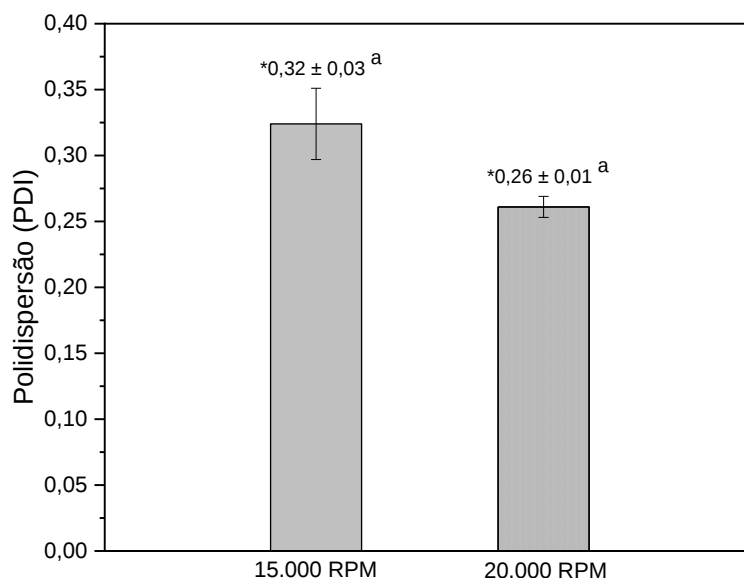
Figura 16 - Tamanho médio (nm) de Nanoemulsões de Óleo Essencial de Melaleuca (NOEM) preparadas a 15.000 e 20.000 RPM. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.



Fonte: Próprio autor.

Apesar das diferentes rotações empregadas nesse sistema influenciarem significativamente o tamanho das partículas, tal processo não influenciou a polidispersividade dos sistemas (Figura 17). Ambas NE apresentaram baixa PDI, indicando que o sistema apresenta tamanho médio homogêneo. Esses valores estão de acordo com a literatura [27-30].

Figura 17: Polidispersão (PDI) de Nanoemulsões de Óleo Essencial de Melaleuca (NOEM) preparadas a 15.000 e 20.000 RPM. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.



Fonte: Próprio autor.

5.3.3 Potencial Hidrogeniônico (pH)

O pH é um parâmetro físico-químico primordial em formulações cosméticas e indica a estabilidade das nanoemulsões. Os valores obtidos para as NEs preparadas estão descritos na Tabela 11. Observa-se que os sistemas apresentaram pH próximo à pele e não sofreram variação após 30 dias. Esses resultados indicam que as NEs são estáveis, pois quando há alterações de valor, há indícios de reações químicas indesejáveis ou crescimento bacteriano, comprometendo a qualidade do produto final [91], [92].

Tabela 11 - Potencial Hidrogeniônico (pH) Nanoemulsões de Óleo Essencial de Melaleuca (NOEM) preparadas a 15.000 e 20.000 RPM.

Nanoemulsões	pH	
	1° dia	30° dia
NE1,0/15	6,25	6,26
NE1,0/20	6,34	6,40

Fonte: Próprio autor.

Diante do que foi discutido nesse capítulo, conclui-se que as NEs produzidas apresentaram tamanho médio dentro da faixa nanométrica, baixo índice de PDI e boa estabilidade físico-química. Objetivando uma aplicação dérmica com atividade antimicrobiana, selecionou-se a nanoemulsão com menor tamanho médio (NE20), pois sabe-se que tamanhos menores afetam diretamente as propriedades do material, como maior permeação de ativos [93] e maior atividade antimicrobiana [94]. Além disso, partículas menores têm maior área de superfície, resultando em melhor dispersão na matriz polimérica [95]–[97].

CAPÍTULO VI: PREPARO E CARACTERIZAÇÕES DE NANOFIBRAS DE CELULOSE BACTERIANA

6.1 MATERIAL

Celulose Bacteriana (CB) (Resíduo de CB resultantes das operações de corte de filmes usados para produção comercial de curativos Nexfill®; Seven Indústria de Produtos Biotecnológicos Ltda). 2,2,6,6-tetramethylpiperidine1-oxyl - TEMPO ($C_9H_{18}NO$) (MM = 156,25 g/mol; CAS 2564-83-2; Sigma-Aldrich). Brometo de sódio (NaBr) (MM = 102,89; CAS 7647-15-6; Dinâmica). Hipoclorito de sódio 11 % (NaClO) (MM = 74,50; CAS 7681-52-9; Dinâmica). Hidróxido de sódio (NaOH) (MM = 40 g/mol; CAS 1310-73-2; Cinética).

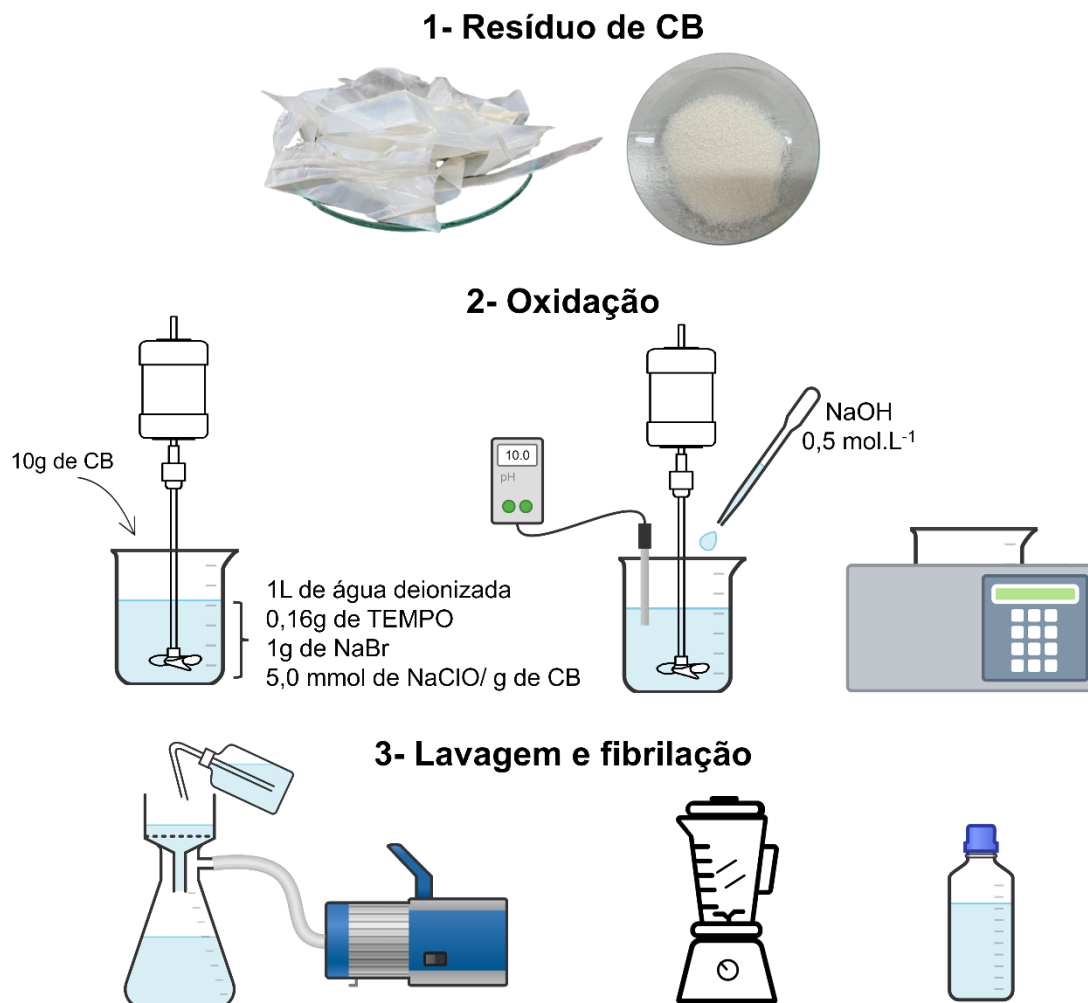
Os reagentes foram utilizados como recebidos, sem qualquer purificação. Em todos os protocolos experimentais foi utilizada água deionizada (99% de pureza e condutividade elétrica $< 5 \mu m/cm^2$ - Osmose Reversa ORBC-10A BFilters).

6.2 MÉTODOS

6.2.1 Oxidação mediada por TEMPO

A oxidação do resíduo de CB ocorreu conforme descrito na literatura [54], [98] com algumas modificações (Figura 18): 10g de resíduo de CB foram trituradas e imersas em 1L de solução aquosa contendo 0,16 g de 2,2,6,6-tetramethylpiperidine 1-oxyl e 1g de NaBr. A oxidação iniciou-se com a adição de NaClO (5,0 mmol/g de CB seca). Após o NaClO ser consumido, o pH do sistema foi mantido em 10,0 pela adição de uma solução de NaOH 0,5 mol.L⁻¹. O sistema permaneceu em agitação mecânica a 1.000 RPM e 25 °C durante 2 horas. Ao término da reação de oxidação, a suspensão foi sonicada durante 10 minutos em um ultrassom de banho (Unique Ultracleaner 1400); filtrada e lavada com água deionizada até atingir pH 7,0. Em seguida, o sólido remanescente foi fibrilado em um liquidificador (Power L-22, Mondial) durante 7 ciclos de 2 minutos. O material obtido foi descrito como NFCB e armazenado em recipiente de vidro sob refrigeração para posterior análise e uso.

Figura 18: Processo de obtenção de Nanofibras de Celulose Bacteriana via Oxidação Mediada por TEMPO.



Fonte: Elaborado pelo autor.

6.2.2 Rendimento

O rendimento do isolamento de nanofibras de celulose bacteriana pelo método de oxidação mediada por TEMPO foi calculado baseado na literatura [99] de acordo com a Equação 1:

$$R (\%) = \left(\frac{mf}{mi} \right) \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

onde:

$R (\%)$ = porcentagem de rendimento;

mf = massa de NFCB após secagem em estufa a 100°C até peso constante e

m_i = massa seca de resíduo de CB que foi utilizada no processo de oxidação.

O procedimento foi realizado em triplicata.

6.2.3 Teor de Água

O teor de água presente nas amostras de NFCB foi determinado de acordo com a literatura [100], utilizando a Equação 2:

$$\text{Teor de água (\%)} = \left(\frac{m_i - m_f}{m_i} \right) \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

onde:

m_i = massa de NFCB em suspensão e

m_f = massa final de NFCB após secagem em estufa a 100°C até peso constante.

O procedimento foi realizado em quadruplicata.

6.2.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

O aspecto morfológico e tamanho das NFCBs obtidas foram analisados por meio da técnica de MET. Uma solução diluída de NFCB foi depositada em grades de malha de cobre ultrafino de carbono em temperatura e umidade ambiente. Em seguida, a amostra foi alocada em um porta amostras de um microscópio eletrônico de transmissão (TECNAI G2F20 – FEG) operado a 200 kV. As imagens foram obtidas no modo convencional em campo claro (bright field).

6.2.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A técnica de MEV foi empregada para analisar o aspecto morfológico das NFCBs produzidas, bem como o estado de agregação do material após o processo de oxidação. Com o intuito de preservar a estrutura do material, a suspensão de NFCB foi liofilizada a -55 °C durante 24 horas. Em seguida, alocada em um porta amostras de alumínio e recoberta com uma fina camada de ouro. Para a análise da CB, foram utilizadas amostras na forma de filmes (recortes de CB). A análise foi realizada em um

microscópio eletrônico de varredura (ZEISS, EVO/LS15) com tensão de aceleração de 10,0 kV.

6.2.6 Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

A técnica de FT-IR com ATR foi empregada para analisar qualitativamente a inserção de grupos funcionais provenientes da oxidação mediada por TEMPO. Amostras de CB e NFCB, na forma de filmes, foram alocadas em um porta amostras de um espectrômetro (Agilent Cary 630) e submetidas a 128 varreduras na faixa de 4000 a 650 cm^{-1} e resolução de 4 cm^{-1} para a obtenção dos espectros.

6.2.7 Difração de Raios-X (DRX)

A estrutura cristalina e semicristalina das amostras de CB e NFCB foi determinada a partir da técnica DRX. Amostras de CB e NFCB, na forma de filmes, foram alocadas em um porta amostras de vidro no difratômetro Shimadzu-XRD-600. Os parâmetros de análise empregados foram: fonte de raios-X de $\text{Cu}\alpha$; $\lambda = 0,154 \text{ nm}$; voltagem = 30 kV; corrente 40 mA; intervalo angular 2θ de 4 a 60° e velocidade de varredura $2^\circ/\text{min}$. O índice de cristalinidade das amostras foi determinado com base na literatura [101] utilizando a equação de Segal [102] (Equação 3):

$$CrI = \frac{(I_{200} - I_{am})}{I_{200}} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

onde:

CrI = índice de cristalinidade relativo;

I_{200} = intensidade máxima (em unidades arbitrárias) do pico referente ao plano (200)

e

I_{am} = intensidade de difração nas mesmas unidades em $2\theta = 18^\circ$.

6.2.8 Propriedades Térmicas

As análises Termogravimétrica (TG) e Termogravimétrica Diferencial (DTG) foram realizadas em um analisador térmico (TA Instruments SDT Q600 V20.9 Build 20). As amostras, na forma de filme e com massa aproximada de 8 mg, foram alocadas em um porta amostra de alumínio e aquecidas de 28,3 até 800°C (10°C/min). A vazão de nitrogênio durante os ensaios foi de 100 mL/min. As curvas termogravimétricas foram calculadas utilizando o software Advantage/Universal Analysis (UA) da TA Instruments.

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.3.1 Rendimento (R) e Teor de Água

O rendimento do processo de oxidação do resíduo de CB para produzir NFCB, bem como o teor de água do material resultante, estão descritos na Tabela 12.

Tabela 12 - Rendimento do processo de oxidação mediado por TEMPO e teor de água das nanofibras de celulose bacteriana produzidas.

Amostra	Rendimento (%)	Teor de Água (%)
NFCB	82,68 ± 2,40	98,84 ± 0,07

Fonte: Próprio autor.

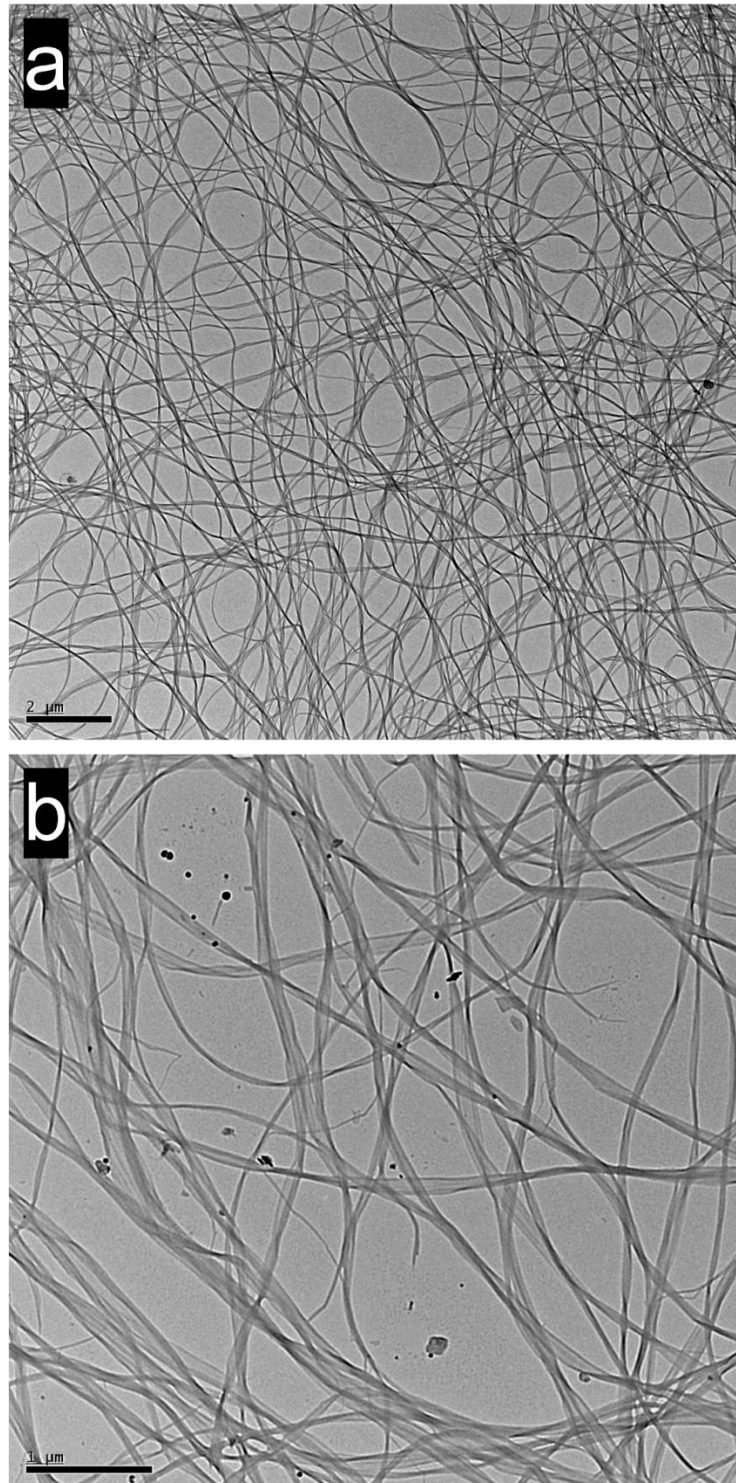
Nota-se que o processo de oxidação teve alto rendimento, havendo perda de apenas 17,32% durante os processos de: oxidação; sonicação; filtragem; lavagem; fibrilação e secagem. Os resultados estão de acordo com a literatura para processos de oxidação com 5,0 mmol de NaClO, onde os autores obtiveram rendimentos de 89% [99] e 74% [103].

O alto teor de água das NFCB produzidas indica a forte característica hidrofílica inerente do material. Os resultados foram utilizados para calcular a massa de NFCB utilizada como base seca no preparo dos filmes nanocompósitos.

6.3.2 Análise morfológica e tamanho médio das nanofibras de celulose bacteriana produzidas

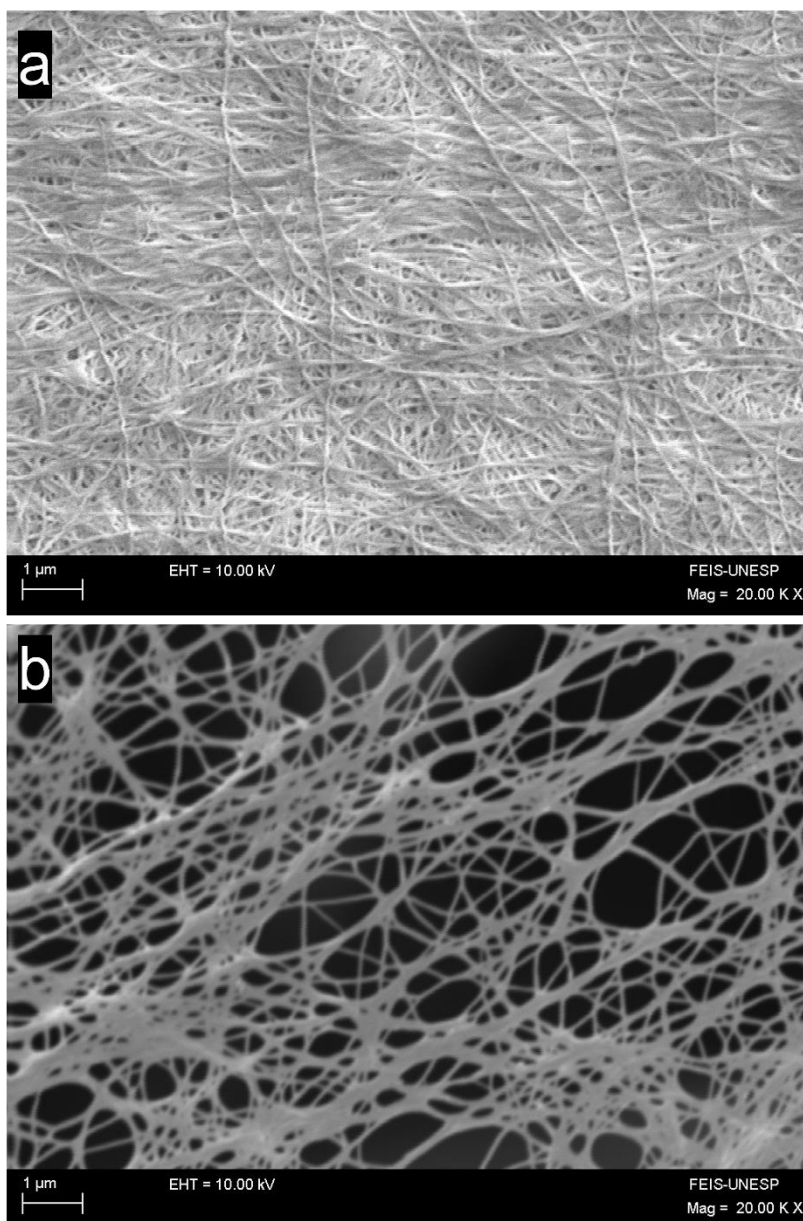
As micrografias obtidas via MET e MEV, Figura 19 e Figura 20, respectivamente, demonstram que as NFCB produzidas apresentam características de fibras emaranhadas, longas e finas semelhantes às reportadas na literatura [104]–[109].

Figura 19: Micrografia Eletrônica de Transmissão de Nanofibras de Celulose Bacteriana (NFCB) obtidas via oxidação mediada por TEMPO. Barra de escala de **(a)** 2 μm e **(b)** 1 μm .



Fonte: Próprio autor.

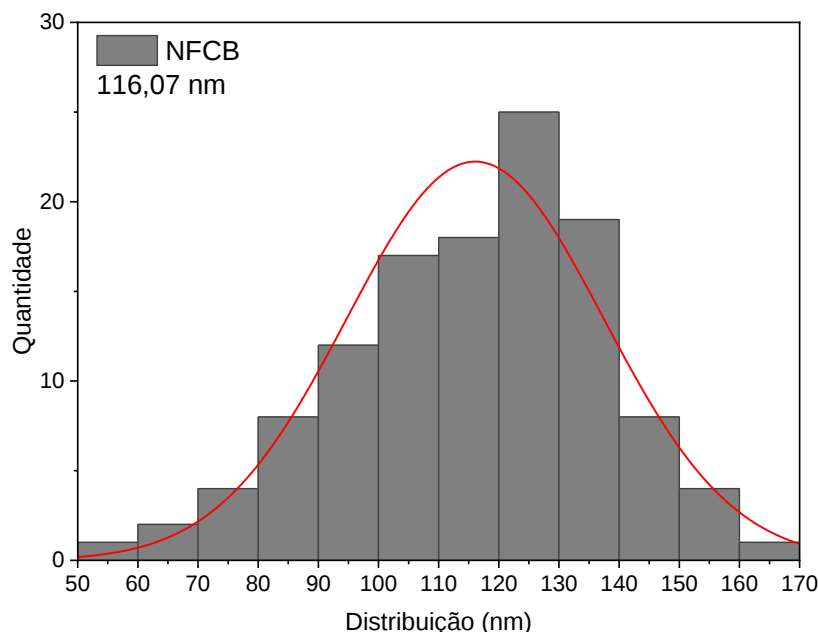
Figura 20 - Micrografias Eletrônicas de Varredura com aumento de 20.000x para as amostras de: **(a)** Resíduo de Celulose Bacteriana e **(b)** Nanofibras de Celulose Bacteriana obtidas via oxidação mediada por TEMPO.



Fonte: Próprio autor.

Ao comparar a micrografia do resíduo de CB e NFCB (Figura 20), é possível observar que a oxidação mediada por TEMPO não alterou a morfologia do material; porém, o processo de sonicação contribuiu para a obtenção de fibrilas mais dispersas, pois quebram as cadeias no meio amorfo devido ao fenômeno de cavitação produzido pela absorção de energia ultrassônica [49], [106]. Além disso, após a oxidação, a unidade de anidroglicose é clivada e a celulose é quebrada em nanofibrilas menores [110]. O diâmetro médio das NFCB foi de 116,07 nm (Figura 21).

Figura 21: Tamanho médio e distribuição de tamanho das nanofibras de celulose bacteriana.



Fonte: Próprio autor.

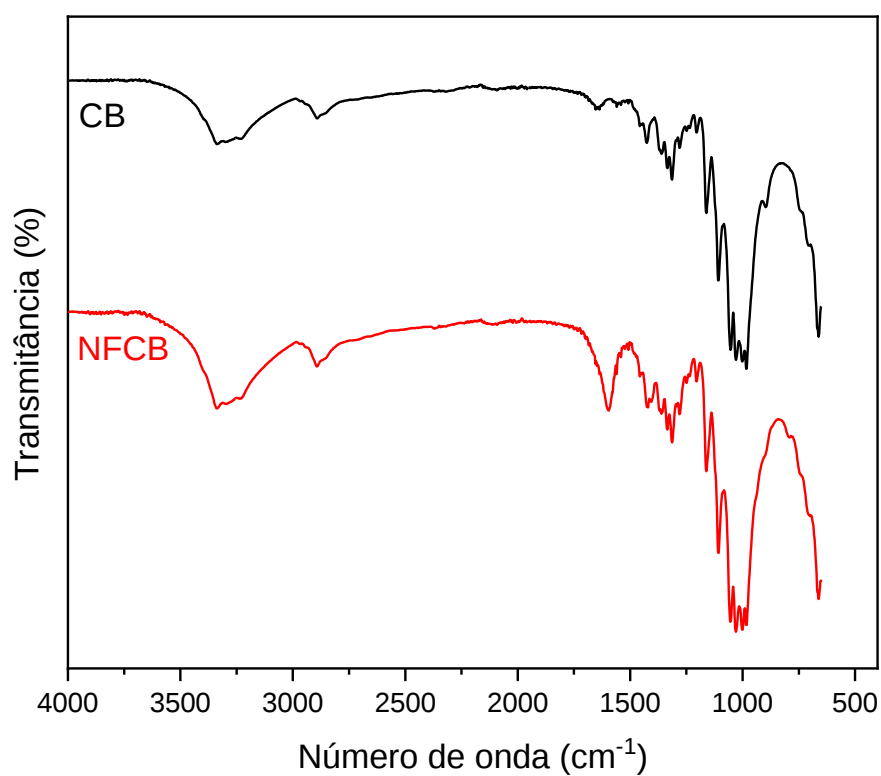
6.3.4 Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

Na Figura 22 está apresentado o espectro da CB e NFCB. Para ambos espectros, observa-se bandas características da estrutura da celulose, como em 3324 cm^{-1} que se atribui ao estiramento da ligação O – H; em 1030 e 1160 cm^{-1} refere-se ao alongamento C – O e C – O – C, respectivamente. A banda em 2895 cm^{-1} refere-se ao alongamento alifático da ligação C – H e em 1370 e 1046 cm^{-1} atribui-se a deformação angular C – CH₃ e ao estiramento da ligação C – OH, respectivamente [111], [112].

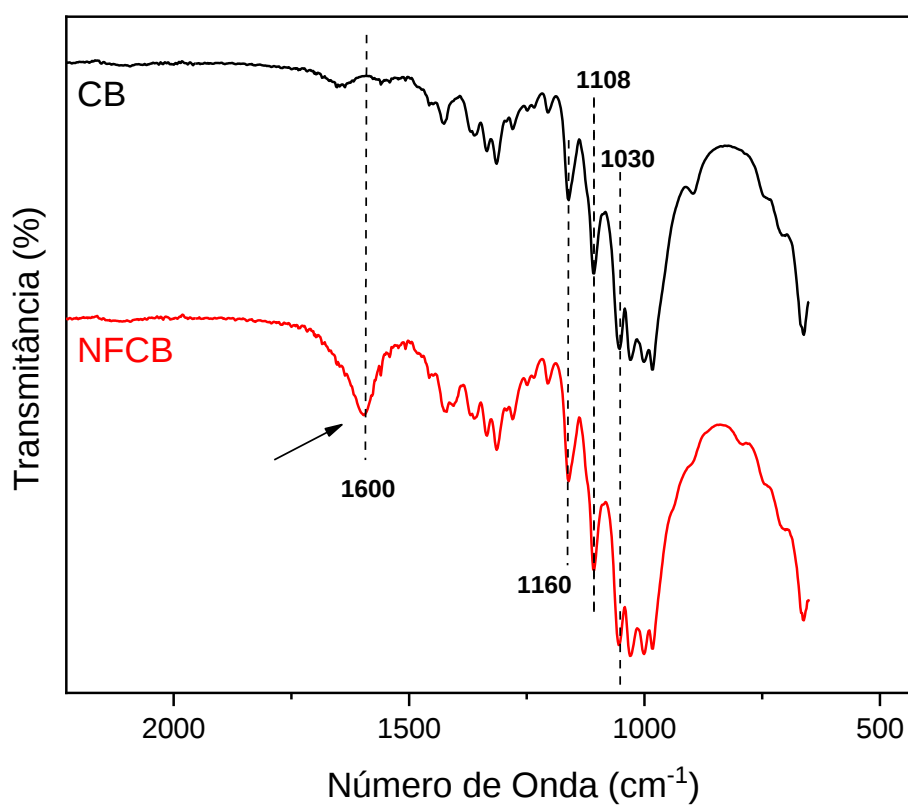
É importante destacar que o processo de oxidação realizado na CB pode ser validado por esta técnica, principalmente, levando em consideração dois fatores:

- I. pelo aparecimento de uma banda em 1600 cm^{-1} (Figura 22 b) referente ao grupamento carboxilato (COO⁻) observado no espectro da NFCB e, que não consta no espectro da CB e
- II. pela inexistência de bandas de aldeídos na região de $1720 - 1740\text{ cm}^{-1}$. Este fato é um indicativo que o processo de oxidação ocorreu de forma eficiente, ou seja, os grupamentos de aldeído (HC=O) se passaram a carboxilato (-COO⁻) que é visivelmente observado em 1600 cm^{-1} [99], [112].

Figura 22 - Espectros vibracionais na região do infravermelho para amostras de CB e NFCB com varredura de: **(a)** 4000 - 655 cm^{-1} e **(b)** 2232-655 cm^{-1} .



(a)



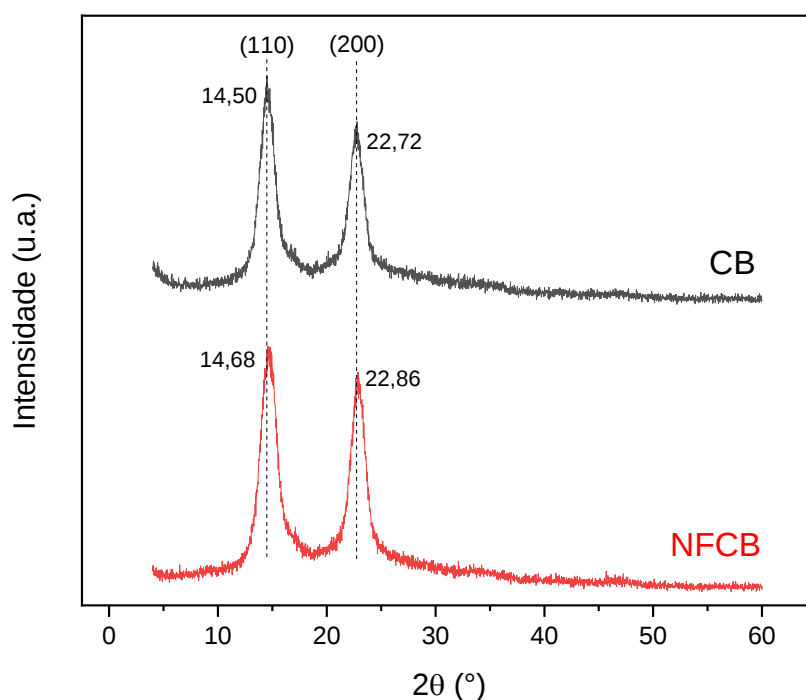
(b)

Fonte: Próprio autor.

6.3.5 Difração de Raios-X (DRX)

Os padrões de DRX obtidos para a amostra de CB e NFCB estão demonstrados na Figura 23 e confirmam a estrutura semicristalina dos materiais. Para a amostra de CB, é possível identificar picos em $14,50^\circ$ e $22,72^\circ$, referentes aos planos (110) e (200) dos cristais de celulose I [113]. O difratograma obtido para a NFCB também apresenta os picos referentes aos planos citados; esses, em $14,68^\circ$ e $22,86^\circ$, respectivamente. Esse ligeiro deslocamento, pode indicar a introdução de grupos carboxilatos na superfície dos cristais de celulose I [114], resultado que corrobora com os espectros de FT-IR apresentados anteriormente.

Figura 23 - Difratogramas de Raios-X para as amostras de Celulose Bacteriana (CB) e Nanofibras de Celulose Bacteriana (NFCB).



Fonte: Próprio autor.

O índice de cristalinidade das amostras também foi calculado (Tabela 13) e demonstrou que ambos materiais apresentam cristalinidade elevada. Além disso, os resultados mostram que a oxidação mediada por TEMPO não altera a estrutura cristalina da CB; indicando que os grupos carboxilatos não são formados dentro dos cristalitos de celulose I, e estão presentes nas superfícies cristalinas e regiões amorfas [110], [114].

Tabela 13: Índice de cristalinidade para as amostras de Celulose Bacteriana (CB) e Nanofibras de Celulose Bacteriana (NFCB)

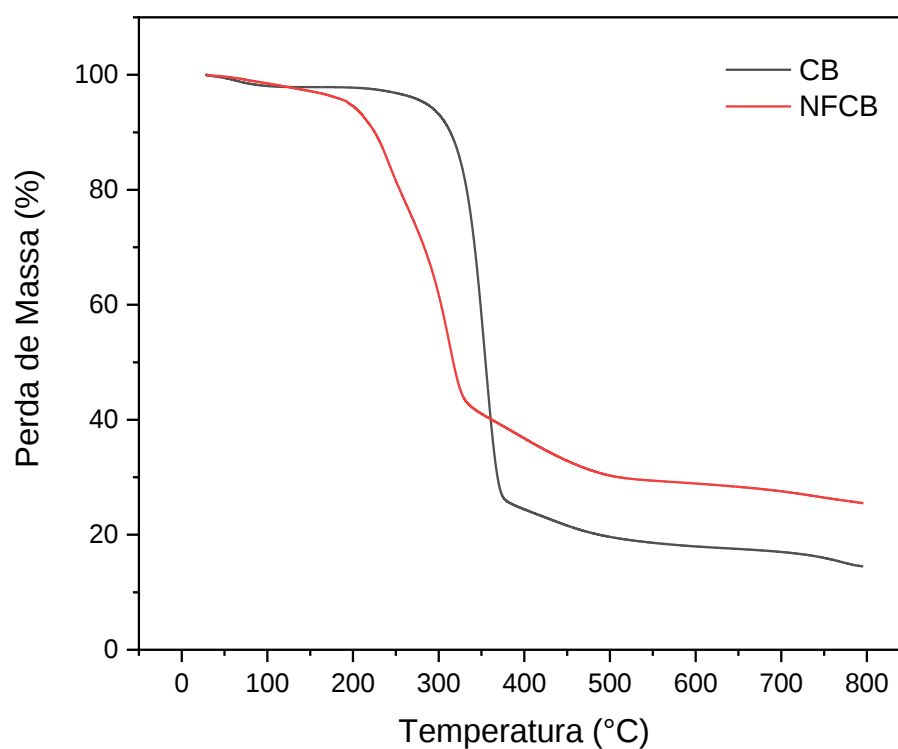
Amostras	Índice de Cristalinidade (%)
CB	89,52
NFCB	88,15

Fonte: Próprio autor.

6.3.6 Propriedades Térmicas

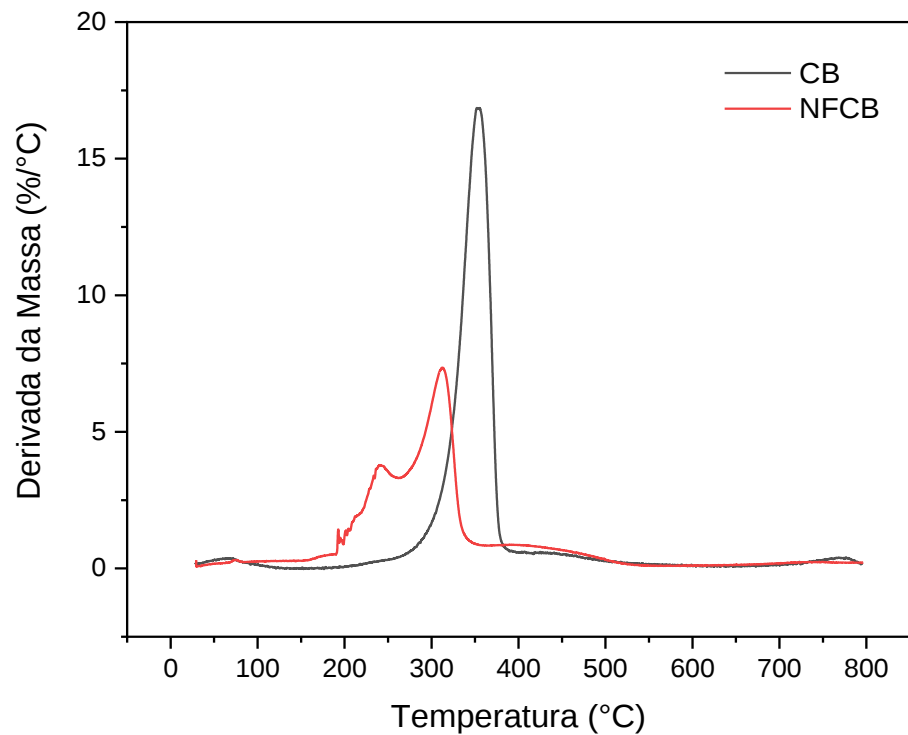
As curvas termogravimétricas para a perda de massa e derivada da massa das amostras de CB e NFCB, estão ilustradas nas Figura 24 e Figura 25, respectivamente.

Figura 24: Curvas termogravimétricas para a Perda de Massa (%) da Celulose Bacteriana (CB) e Nanofibras de Celulose Bacteriana (NFCB).

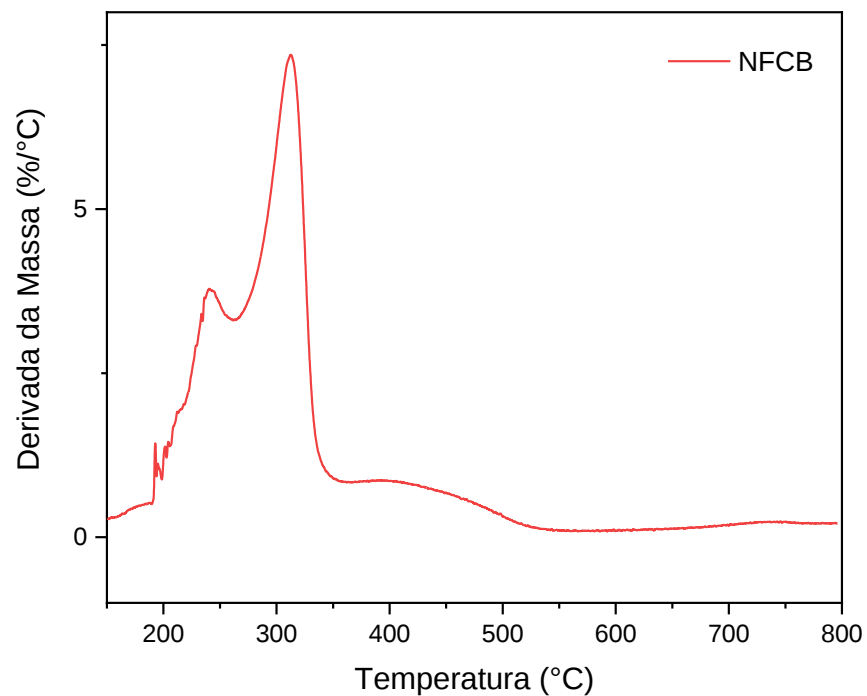


Fonte: Próprio autor.

Figura 25 - Curvas termogravimétricas para: **(a)** Derivada da Massa (%) da Celulose Bacteriana (CB) e Nanofibras de Celulose Bacteriana (NFCB) e **(b)**: ampliação da curva para a NFCB.



(a)



(b)

Fonte: Próprio autor.

Na Figura 24 observamos que ambas amostras apresentam evento térmico na região de 50 a 100 °C. Esse evento não corresponde à degradação dos materiais e

está relacionado a evaporação de água residual devido à elevada hidrofiliabilidade da celulose [115].

Na Figura 25 (a), podemos identificar 1 pico exotérmico para a CB e 3 picos exotérmicos para a NFCB. Esses picos indicam os eventos térmicos de degradação que ocorreram na amostra durante o seu aquecimento e são importantes para analisar as alterações estruturais provocadas por variações de temperatura. Além disso, nos permite identificar a Temperatura Inicial (T_i); Temperatura Máxima ($T_{máx.}$); Temperatura Final (T_f) e Perda de massa para cada evento de degradação (Tabela 14 e Tabela 15).

Tabela 14: Valores da Temperatura Inicial (T_i); Temperatura Máxima ($T_{máx.}$) e Temperatura Final (T_f) dos eventos térmicos de degradação da Celulose Bacteriana (CB) e Nanofibras de Celulose Bacteriana (NFCB).

Amostras	1° Evento			2° Evento			3° Evento		
	T_i (°C)	$T_{máx.}$ (°C)	T_f (°C)	T_i (°C)	$T_{máx.}$ (°C)	T_f (°C)	T_i (°C)	$T_{máx.}$ (°C)	T_f (°C)
CB	224,2	353,8	398,1	-	-	-	-	-	-
NFCB	186,4	239,5	262,7	262,7	313,2	361,1	361,1	422,9	543,3

Fonte: Próprio autor.

Tabela 15: Perda de Massa (%) nos eventos térmicos de degradação da Celulose Bacteriana (CB) e Nanofibras de Celulose Bacteriana (NFCB).

Amostras	1° Evento	2° Evento	3° Evento
	Perda de Massa (%)	Perda de Massa (%)	Perda de Massa (%)
CB	72,95	-	-
NFCB	18,46	37,17	10,61

Fonte: Próprio autor.

A CB teve início de degradação térmica em 224,2 °C com perda acentuada de massa (72,95 %). Esse resultado está de acordo com a literatura e relaciona-se à quebra das ligações glicosídicas da cadeia de CB [116].

Para a amostra de NFCB, a primeira perda de massa (18,46 %) ocorreu em 186,4 °C, indicando que a oxidação da CB diminuiu a estabilidade térmica em 16,86 %. Esse resultado comprova que a oxidação da CB diminui a estabilidade térmica do material como relatado na literatura [109], [117].

Apesar desse efeito, a NFCB do presente trabalho ainda apresenta boa estabilidade térmica. Resultados da literatura indicam início de degradação térmica da CB oxidada em 170 °C [118].

**CAPÍTULO VII: PREPARO DA MATRIZ POLIMÉRICA E
OTIMIZAÇÃO DE PROCESSOS PARA O
DESENVOLVIMENTO DE FILMES NANOCOMPÓSITOS**

7.1 MATERIAL

Alginato de Sódio (AS) (Mv: 85.000 g/mol; blocos M = 68%, blocos G= 32%; M/G = 2,1 [119]; Cromoline Química Fina). Cloreto de Cálcio Anidro (CaCl_2) (MM = 110,99 g/mol; CAS 10043-52-4; Vetec Química Fina). Cloreto de Manganês (MnCl_2) (MM = 125,84 g/mol; CAS 13446-34-9; Labsynth). Cloreto de Alumínio Hexahidratado ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (MM = 241,43 g/mol; CAS 7784-13-6; Neon).

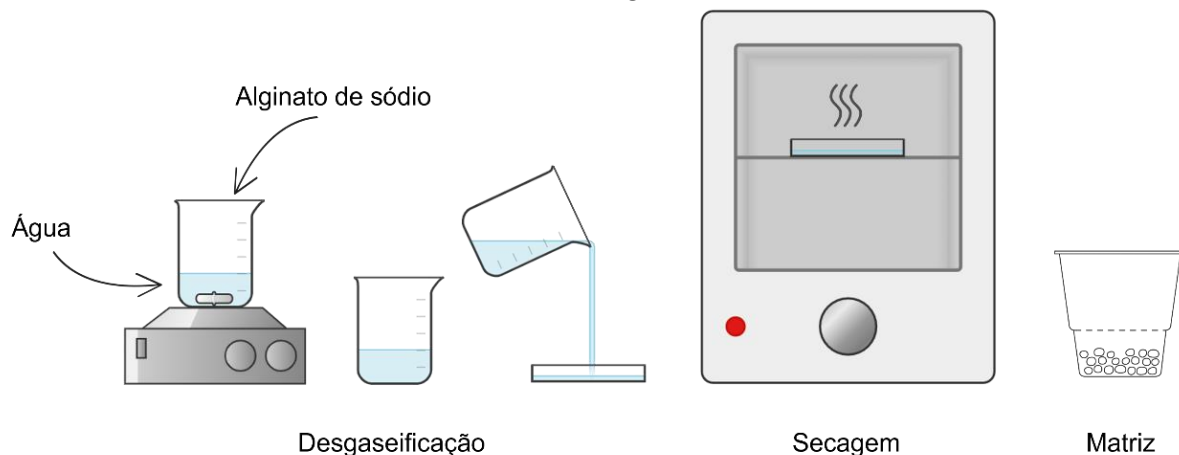
Os reagentes foram utilizados como recebidos, sem qualquer purificação. Em todos os protocolos experimentais foi utilizada água deionizada (99% de pureza e condutividade elétrica $< 5 \text{ } \mu\text{m/cm}^2$ - Osmose Reversa ORBC-10A BFilters).

7.2 MÉTODOS

7.2.1 Matriz polimérica

A matriz polimérica foi preparada pelo método de *casting* (Figura 26) baseado na literatura [84] com algumas modificações: 2% m/V de alginato de sódio foi dissolvido em água a 25°C em um agitador magnético a 1000 RPM (SP Labor SP-159, Brasil) durante 3h. Em seguida, a suspensão filmogênica (SF) foi deixada em repouso até a completa eliminação das bolhas de ar. Após a degaseificação, a SF foi vertida em uma placa de petri e levada à estufa (Quimis Q317M52, Brasil) a 40°C para secagem. O filme foi descrito como Matriz, retirado da placa de petri e acondicionado no dessecador com umidade relativa (UR) de 50% antes das caracterizações.

Figura 26: Processo de obtenção do filme de alginato de sódio pelo método de *casting*.

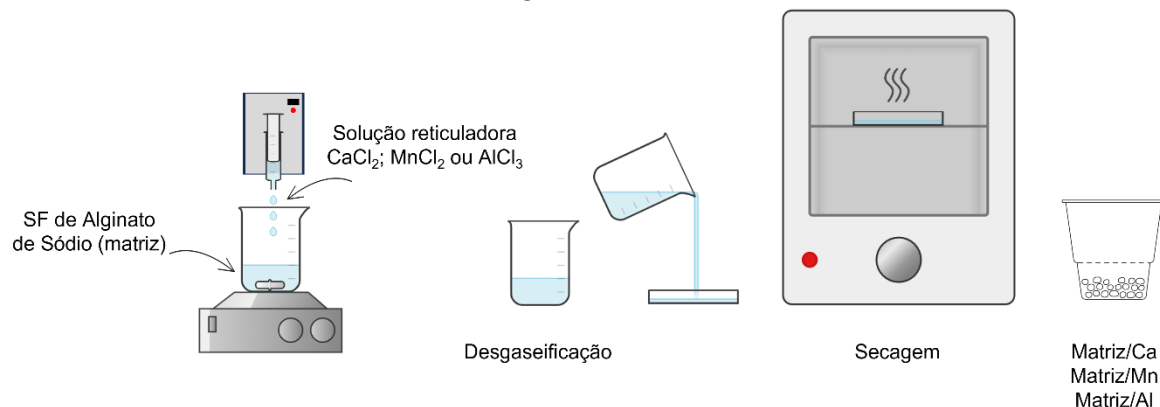


Fonte: Elaborado pelo autor.

7.2.2 Reticulação

Sabe-se que o alginato de sódio pode ser reticulado com íons bi e trivalentes; então, utilizou-se os íons Ca^{2+} ; Mn^{2+} e Al^{3+} nesse processo: (Figura 27): foram preparadas 3 soluções aquosas dos agentes reticuladores: CaCl_2 ; MnCl_2 e AlCl_3 com concentração de 1,0% m/V. O método de reticulação empregado foi o de reticulação ionotrópica em suspensão filmogênica, que consistiu em um gotejamento de 30 mL ($1,0 \text{ mL min}^{-1}$) da solução reticuladora (CaCl_2 ; MnCl_2 ou AlCl_3) na suspensão filmogênica desgaseificada e sob agitação magnética. O gotejamento foi realizado através de uma bomba de infusão (NE-1000 Syringe Pump, New Era Pump Systems Inc., Estados Unidos). Ao término do gotejamento das soluções reticuladoras, as SF permaneceram em agitação durante 30 minutos e posteriormente foram submetidas à secagem e acondicionamento nas mesmas condições da matriz (Figura 26). Os filmes obtidos foram descritos como: Matriz/Ca; Matiz/Mn e Matriz/Al.

Figura 27: Processo de reticulação física com os íons Ca^{2+} ; Mn^{2+} e Al^{3+} para o filme de alginato de sódio.

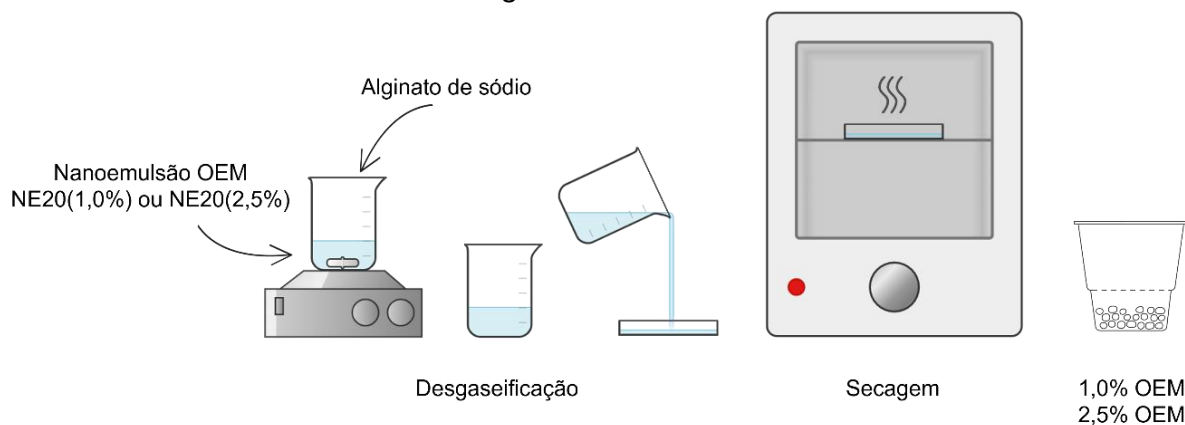


Fonte: Elaborado pelo autor.

7.2.3 Incorporação da Nanoemulsão de Óleo Essencial de Melaleuca (NEOEM)

Para o preparo dos filmes contendo óleo essencial de melaleuca, utilizou-se o mesmo protocolo empregado no preparo da matriz de alginato, substituindo-se a água pelas nanoemulsões preparadas a 20.000 RPM com 1,0 ou 2,5% m/V de OEM (Figura 28). Os filmes foram descritos como 1,0% OEM e 2,5% OEM.

Figura 28: Incorporação do óleo essencial de melaleuca na matriz polimérica de alginato de sódio.



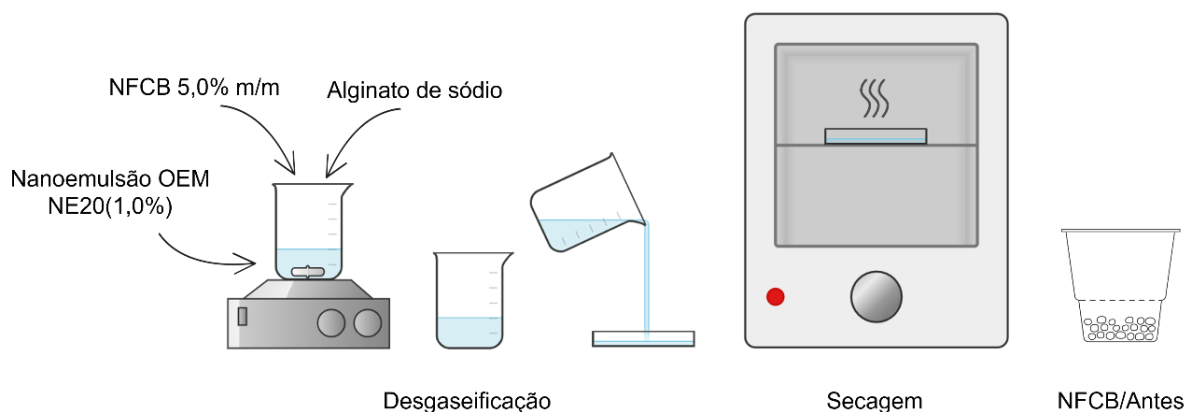
Fonte: Elaborado pelo autor.

7.2.4 Incorporação das Nanofibras de Celulose Bacteriana

O método de incorporação das NFCBs foi testado no filme contendo 1,0% de OEM. 5,0% m/m de suspensão de NFCB (em base seca) foi adicionada antes (Figura

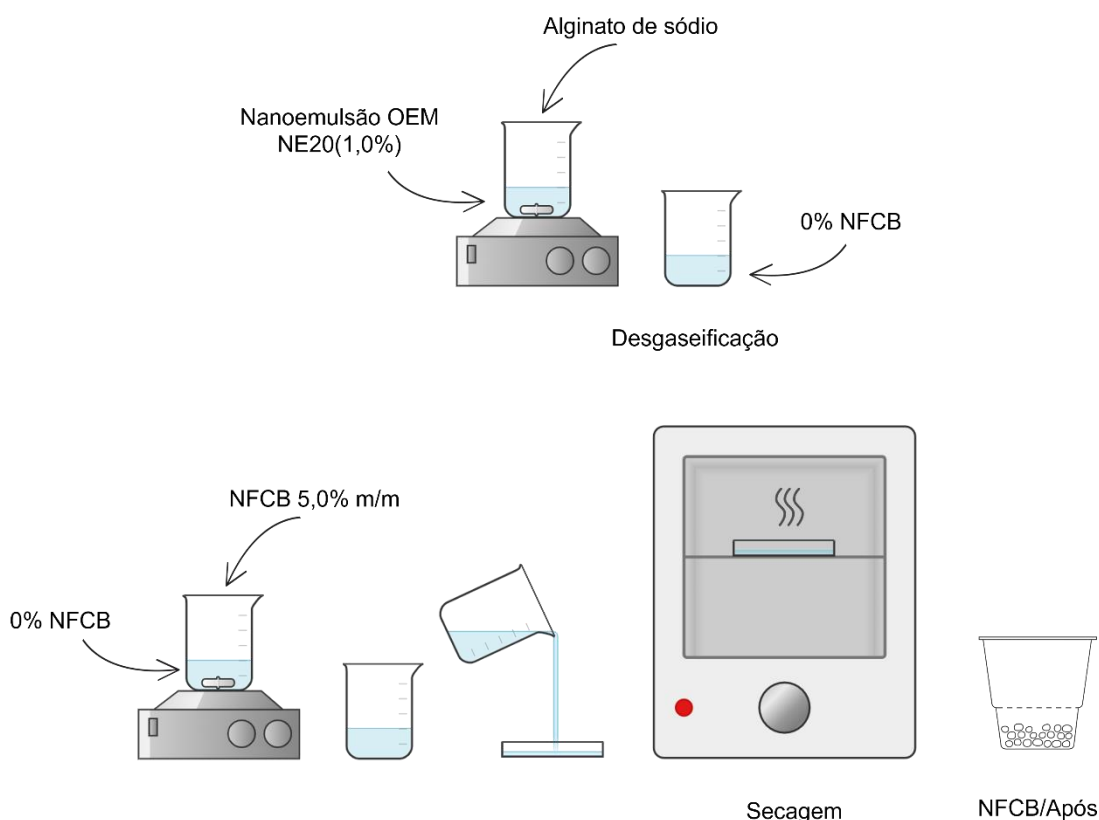
29) ou após (Figura 30) a desgaseificação da SF contendo alginato de sódio e óleo essencial. Após a incorporação das NFCB, os filmes foram reticulados com MnCl_2 . As etapas de secagem e acondicionamento seguiram o protocolo empregado na matriz. Os filmes foram descritos como: NFCB/Antes e NFCB/Depois.

Figura 29: Método de incorporação da NFCB antes da desgaseificação da suspensão filmogênica contendo alginato de sódio e óleo essencial de melaleuca.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 30: Método de incorporação da NFCB após a desgaseificação da suspensão filmogênica contendo alginato de sódio e óleo essencial de melaleuca.



Fonte: Elaborado pelo autor.

7.2.5 Análise Subjetiva e aspecto visual

A análise subjetiva foi realizada conforme a literatura [120], onde verificou-se as características dos filmes quanto a continuidade (ausência de rupturas ou fraturas após a secagem); homogeneidade (ausência de partículas insolúveis, bolhas de ar ou zonas de opacidade) e manuseabilidade (possibilidade de ser manuseado sem riscos de ruptura). As fotografias digitais para registrar o aspecto visual dos filmes foram obtidas nas mesmas condições de luz e ambiente, e não passaram por nenhum tratamento digital (Câmera de 12 MP, Abertura $f/2.2$ - Iphone 11).

7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.3.1 Reticulação

O aspecto visual dos filmes reticulados está registrado na Figura 31. Ao analisar as imagens, é possível identificar nitidamente que os filmes reticulados com CaCl_2 e AlCl_3 não são homogêneos e apresentam partículas gelificadas de alginato de sódio na superfície. Essa gelificação não foi observada no filme reticulado com MnCl_2 , que apresentou aspecto visual homogêneo e opaco (característica marcante da reticulação dos filmes de alginato).

Figura 31: Aspecto visual dos filmes de alginato reticulados com: **(a)** CaCl_2 ; **(b)** MnCl_2 e **(c)** AlCl_3 .



Fonte: Próprio autor.

Quando o AS reage com íons Ca^{2+} , forma-se uma rede tridimensional conhecida como “egg-box”, onde cada íon de cálcio liga-se com dois grupamentos COO^- do AS. Apesar do Mn também ser um íon divalente, seu raio iônico (0,67 Å) é menor que o cálcio (0,99 Å); portanto, sua interação é mais fraca, e o Mn^{2+} ocupa menos interstícios dos blocos G ou M do alginato, não permitindo que a solução filmogênica de AS gelifique instantaneamente [121]–[123].

Ao comparar o Al^{3+} com Mn^{2+} , a diferença está no estado de oxidação do Al, que permite que cada Al se ligue a 3 grupamentos COO^- do AS, formando estruturas não planares com maior seletividade ao AS [121]–[123].

Além disso, há relatos na literatura [124] de íons Mn^{2+} que se ligam preferencialmente na parte externa dos blocos M do alginato; mas também podem se ligar entre os segmentos de blocos G e entre a estrutura côncava formada quando há

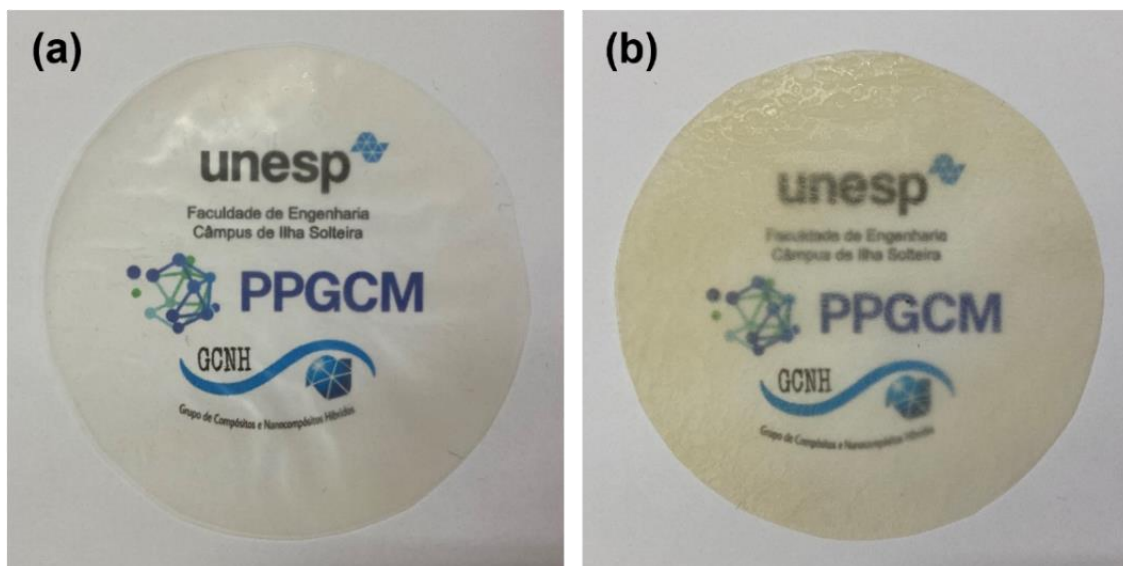
pares alternados de segmentos M e G. Isso mostra que o Mn^{2+} é seletivo e versátil na reticulação do AS.

Diante dos resultados obtidos nessa sessão, e considerando que a homogeneidade dos filmes poliméricos é característica essencial para seu desenvolvimento, caracterização e aplicação, selecionou-se o reticulador $MnCl_2$ para prosseguir com os estudos.

7.3.2 Incorporação da nanoemulsão

O aspecto visual dos filmes de alginato incorporados com nanoemulsão de óleo essencial de melaleuca em diferentes concentrações, está ilustrado na Figura 32. A concentração de 1,0% baseou-se em trabalhos anteriores do grupo de pesquisa [84] que utilizou nanoemulsão de óleo essencial de melaleuca em matriz de alginato de sódio. A concentração de 2,5% foi utilizada devido ao valor da CIM do OEM (Tabela 8 Tabela 9).

Figura 32: Aspecto visual dos filmes com nanoemulsão contendo: **(a)** 1,0 e **(b)** 2,5 % m/V de óleo essencial de melaleuca.



Fonte: Próprio autor.

Após a secagem dos filmes, os mesmos foram retirados da placa de petri e armazenados para posterior análise. Durante esse procedimento, foi possível identificar uma quantidade considerável de óleo essencial na placa que continha o

filme com 2,5% de óleo, sendo um indicativo de que a concentração utilizada, foi além do necessário para interagir com a matriz de alginato (2,0%).

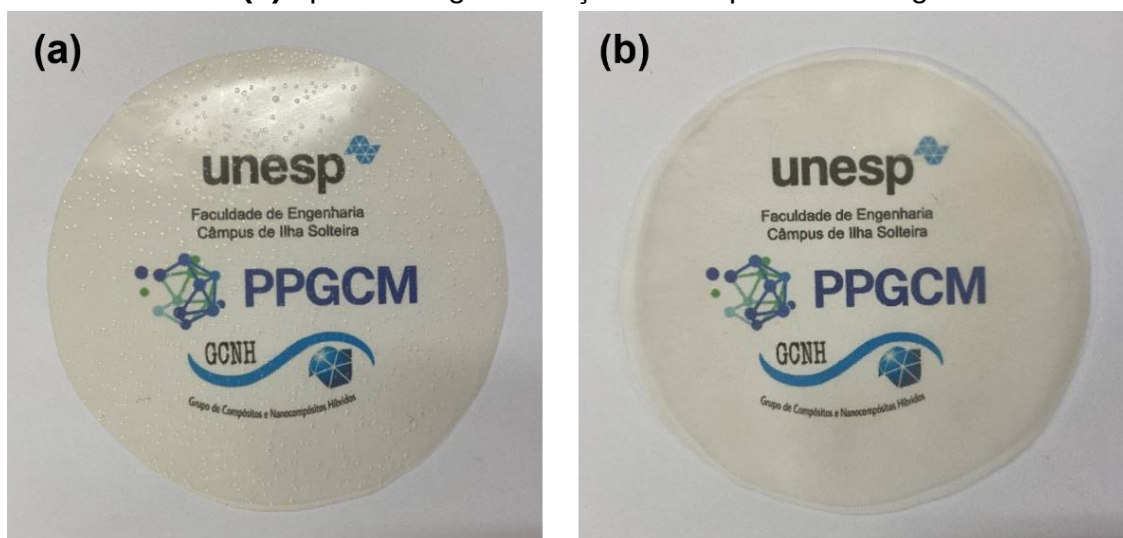
Na Figura 32 (a), observa-se que o filme com menor concentração de OEM apresenta superfície mais lisa quando comparada ao filme com 2,5% OEM, e consequentemente maior concentração de Tween 80, que apresentou superfície mais rugosa (Figura 32 (b)). Além disso, foi possível identificar visualmente que, maior concentração de OEM na matriz, confere menor transparência ao filme.

Apesar da abordagem proposta não ter sido eficiente para incorporar OEM em concentração próxima a CIM (visando aplicação antimicrobiana), nesta sessão, reitera-se a discussão do Capítulo V sobre tamanho de nanoemulsão e atividade antimicrobiana: o filme com 1% OEM mostra-se promissor por conter nanoemulsão com tamanho médio de $52,46 \pm 3,53$.

7.3.3 Incorporação das nanofibras de celulose bacteriana

A Figura 33 ilustra o aspecto visual dos filmes após a incorporação de nanofibras de celulose bacteriana.

Figura 33: Aspecto visual dos filmes de alginato de sódio e nanoemulsão de óleo essencial de melaleuca incorporados com nanofibras de celulose bacteriana: **(a)** antes e **(b)** após a degaseificação da suspensão filmogênica.



Fonte: Próprio autor.

É possível identificar que, quando a NFCB é incorporada antes da degaseificação, o filme apresenta bolhas em toda superfície (Figura 33 (a)). Isso

ocorre devido a alta viscosidade das NFCB, que confere maior viscosidade à suspensão filmogênica. A elaboração de filmes poliméricos requer materiais sem bolhas, pois elas interferem nas análises realizadas. Para isso, faz-se necessário deixar a suspensão filmogênica em repouso para a completa eliminação das bolhas. Esse procedimento foi realizado e as bolhas não foram eliminadas do sistema. Diante disso, a suspensão passou por processo de desgaseificação em bomba e ultrassom de banho e, mesmo assim, não houve a eliminação das mesmas.

Ao incorporar a NFCB após a desgaseificação (Figura 33 (b)), o filme produzido não apresentou bolhas que pudessem ser identificadas visualmente. Esse resultado comprova que o método proposto foi eficiente no preparo de filmes homogêneos.

7.3.4 Análise subjetiva do processo de otimização dos filmes

Após os processos de otimização dos filmes para a escolha do reticulador, concentração de óleo essencial e método de incorporação das nanofibras de celulose bacteriana; os filmes foram submetidos a análise subjetiva (Tabela 16). No geral, o parâmetro de homogeneidade foi o mais afetado, seguido por continuidade e manuseabilidade.

Tabela 16: Análise subjetiva do processo de otimização dos filmes.

Filmes	Continuidade	Homogeneidade	Manuseabilidade
Matriz/Ca	●●	●	●●
Matriz/Mn	●●●	●●●	●●●
Matriz/Al	●●	●	●●
1,0% OEM	●●●	●●●	●●●
2,5% OEM	●●●	●	●●
NFCB/Antes	●●●	●	●●●
NFCB/Após	●●●	●●●	●●●

● (deficiente) ●● (bom) ●●● (excelente).

Fonte: Próprio autor.

Os filmes reticulados com CaCl_2 e AlCl_3 mostraram-se deficientes nos três parâmetros analisados. Para o filme com nanoemulsão contendo 2,5% de OEM, o parâmetro homogeneidade e manuseabilidade foi afetado. Já para o filme onde houve

a incorporação das nanofibras antes da desgaseificação, a diferença foi na homogeneidade.

Os filmes Matriz/Mn, 1,0% OEM e NFCB/Após foram os que apresentaram a melhor avaliação nos parâmetros analisados e, portanto, foram selecionados para o preparo dos filmes nanocompósitos.

CAPÍTULO VIII: PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES NANOCOMPÓSITOS

8.1 MATERIAL

Óleo Essencial de Melaleuca (OEM) (*Melaleuca alternifolia* – CAS 68647-73-4) (Ferquima Ind. e Com. Ltda.). Tween 80 (CAS 9005-65-6; Labsynth). Alginato de Sódio (AS) (Mv: 85.000 g/mol; blocos M = 68%, blocos G= 32%; M/G = 2,1 [119]; Cromoline Química Fina). Cloreto de Cálcio Anidro (CaCl_2) (MM = 110,99 g/mol; CAS 10043-52-4; Vetec Química Fina). Cloreto de Manganês (MnCl_2) (MM = 125,84 g/mol; CAS 13446-34-9; Labsynth). Cloreto de Alumínio Hexahidratado ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (MM = 241,43 g/mol; CAS 7784-13-6; Neon). Fosfato de Sódio Monobásico (NaH_2PO_4) (MM = 119,98 g/mol; CAS 7558-80-7); Fosfato de Sódio Bibásico (Na_2HPO_4) (MM = 141,96 g/mol; CAS 7558-79-4) e Ácido Fosfórico (H_3PO_4) (MM = 98,00 g/mol; CAS 7664-38-2) adquiridos da Êxodo Científica. Substrato comercial para plantas (Carolina Soil).

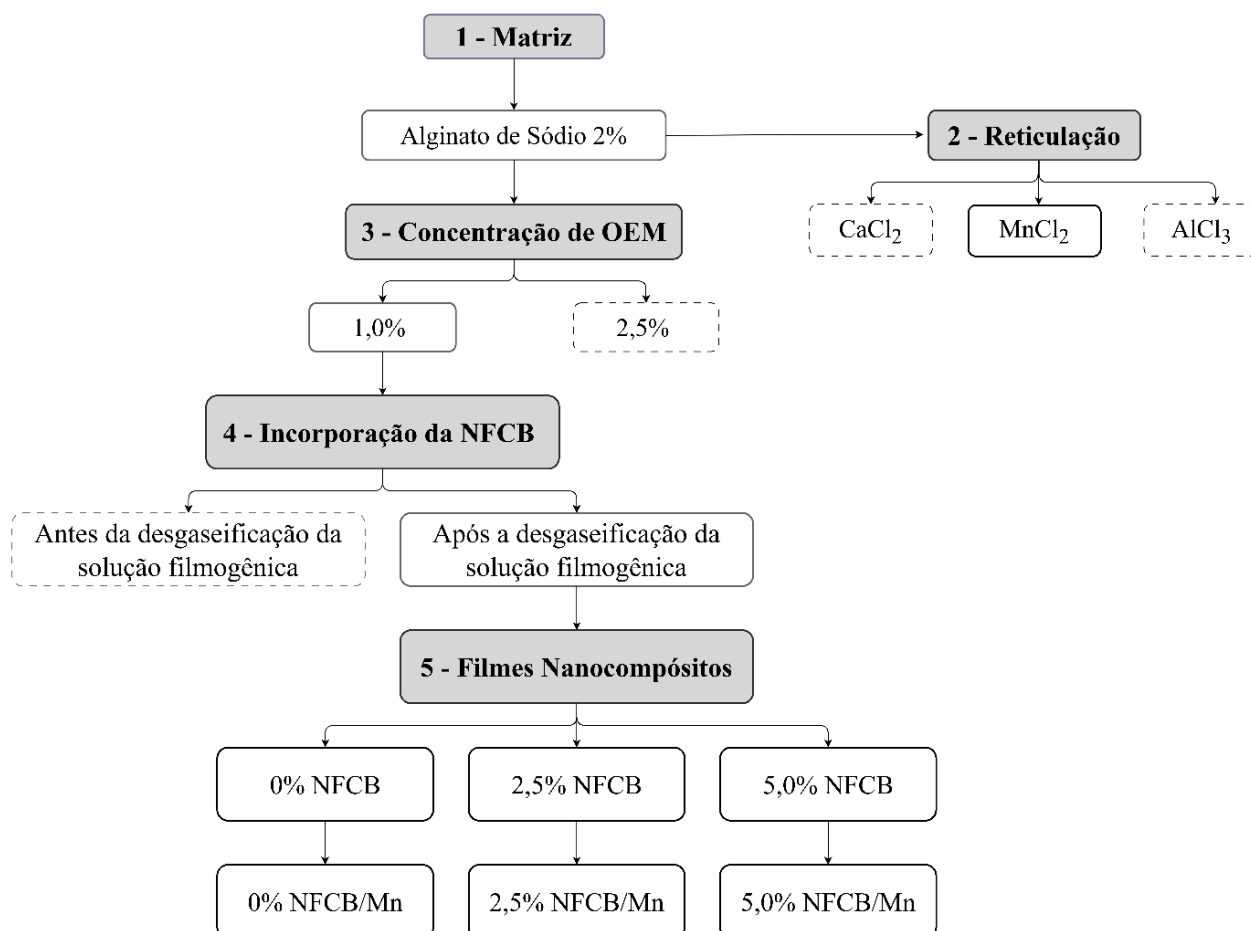
Os reagentes foram utilizados como recebidos, sem qualquer purificação. Em todos os protocolos experimentais foi utilizada água deionizada (99% de pureza e condutividade elétrica $< 5 \text{ um/cm}^2$ - Osmose Reversa ORBC-10A BFilters).

8.2 MÉTODOS

8.2.1 Preparo dos filmes nanocompósitos

Os filmes nanocompósitos foram obtidos seguindo as melhores condições experimentais descritas no Capítulo VII e exemplificadas na Figura 34. Foram obtidos 08 filmes (Tabela 17) descritos como: Matriz; Matriz/Mn; 0% NFCB; 0% NFCB/Mn; 2,5 NFCB; 2,5% NFCB/Mn; 5,0% NFCB e 5,0% NFCB/Mn. Para os filmes reticulados, a adição da solução de MnCl_2 1,0% m/V ocorreu como etapa final à formação das suspensões filmogênicas.

Figura 34: Processo de otimização para o desenvolvimento dos filmes nanocompósitos.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 17: Composição dos filmes nanocompósitos obtidos.

Código	AS (m/V)	OEM (m/V)	T80 (m/V)	NFCB (m/m)	MnCl ₂ (m/V)
Matriz	2,0%	-	-	-	-
Matriz/Mn	2,0%	-	-	-	1,0%
0% NFCB	2,0%	1,0%	0,75%	-	-
0% NFCB/Mn	2,0%	1,0%	0,75%	-	1,0%
2,5% NFCB	2,0%	1,0%	0,75%	2,5%	-
2,5% NFCB/Mn	2,0%	1,0%	0,75%	2,5%	1,0%
5,0% NFCB	2,0%	1,0%	0,75%	5,0%	-
5,0% NFCB/Mn	2,0%	1,0%	0,75%	5,0%	1,0%

Fonte: Elaborado pelo autor.

8.2.2 Espessura dos filmes

As espessuras dos filmes foram obtidas em um micrômetro digital com precisão de 0,001 mm (No. 7326, Mitutoyo Manufacturing, Japan). As medidas foram realizadas em cinco pontos aleatórios ao longo de cada amostra de filme.

8.2.3 Potencial Hidrogeniônico (pH)

O pH das SF foram aferidos em um pHmetro de bancada (PG 2000, GEAKA) equipado com eletrodo combinado blindado com ponte salina (GEPH04BNC SC04). O sistema foi previamente calibrado com soluções tampões pH 4,0 e 7,0. As leituras foram realizadas em temperatura de 25°C.

8.2.4 Viscosidade

A viscosidade das SF é um parâmetro importante na obtenção de filmes pelo método de “*casting*”, pois pode promover superfícies irregulares, facilitar incorporação de bolhas de ar e influenciar o tempo de secagem. Para determinar a viscosidade das SF e avaliar a influência da incorporação de NFCB, utilizou-se viscosímetro de laboratório (DVNXLVTJG, Brookfield Ametek).

8.2.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia, superficial e interna, dos filmes foi analisada em um microscópio eletrônico de varredura (ZEISS, EVO/LS15) com tensão de aceleração de 10,0 kV. Para a análise morfológica interna, os filmes foram crio-fraturados em nitrogênio líquido. Todas as amostras foram fixadas em um porta amostra de alumínio com auxílio de uma fita de carbono dupla face (Ted Pella Inc., Redding, EUA) e revestidas com uma fina camada de liga de ouro / paládio por pulverização catódica em um Metalizador “Sputter Coater” (Quorum Q150T E).

8.2.6 Propriedades Mecânicas

O comportamento mecânico foi avaliado em ensaios de solicitação mecânica sob tração, obtendo-se curvas de Tensão (σ) *versus* Deformação (ϵ) para determinar a resistência à tração na ruptura, alongação na ruptura e módulo elástico (módulo de Young) dos filmes. Os corpos de prova ($n = 15$) foram cortados na forma de gravata com dimensões de 22 x 05 mm, conforme a ASTM 1708-18 [125]; acondicionados a 25°C e 50% de UR por 48h e carregados em uma máquina universal de ensaios (Instron Corp, Canton-MA, EUA) operando com célula de carga de 50 N e taxa de estiramento de 10 mm.min⁻¹.

8.2.7 Permeabilidade ao Vapor de Água (WVP)

A permeabilidade ao vapor de água, WVP do inglês Water Vapor Permeability, é definida pela ASTM E96-16 [126] como “a taxa de tempo de transmissão de vapor de água através da área unitária de material plano de espessura unitária induzida pela diferença de pressão de vapor unitária entre duas superfícies específicas, sob condições específicas de temperatura e umidade.”

Essa propriedade foi determinada de acordo com a literatura [127] baseada no método ASTM E96 [126]. Os filmes foram cortados em amostras circulares com 6 cm de diâmetro, e a espessura foi aferida em 5 pontos aleatórios com o auxílio de um micrômetro digital (Mitutoyo, Japão) com resolução de 0,001 mm e faixa de medida de 0 a 25 mm. Para a montagem do sistema, adicionou-se 6 mL de água deionizada na parte interna de células de teflon ($n= 7$) e fixou-se as amostras sobre essas células com graxa de silicone nas bordas. O sistema foi fechado fixando a parte superior das células sobre os filmes com o auxílio de 4 parafusos. Em seguida, cada célula foi pesada em balança analítica (0h) e alocada em estufa (Quimis Q317M52, Brasil) a 25 $\pm$ 5 °C e UR de 50 $\pm$ 5% para as pesagens posteriores (1, 2, 23, 24 e 25h).

8.2.8 Ângulo de contato com a água

A determinação do ângulo de contato (θ), medida quantitativa da molhabilidade superficial de um sólido (filme) por um líquido (água), foi realizada em um medidor de ângulo de contato (DME-211, KYOWA). Para a análise, foi empregado o método

óptico de gota séssil (estático): uma gota ($6 \pm 2 \mu\text{L}$) de água deionizada foi depositada sobre a superfície dos filmes ($n = 3$) com o auxílio de uma seringa de precisão. O ângulo de contato foi registrado durante 20 segundos e correspondeu à média aritmética dos ângulos das extremidades esquerda e direita da gota.

8.2.9 Solubilidade em água

A solubilidade em água foi determinada com base na literatura [128], [129] com algumas modificações: os filmes foram cortados em amostras circulares com 5 cm de diâmetro ($n = 6$), secos em estufa a 40°C (Quimis Q317M52, Brasil) por 4h, acondicionados em dessecador com sílica por 1h e pesados em balança analítica para determinar a massa inicial (m_i). Em seguida, foram imersos em 100 mL de água destilada e submetidos a agitação a 20 RPM por 1h (Mesa Agitadora Shaker Orbital Digital, SP-108/DT, SP Labor, Brasil). Após a agitação, as amostras foram filtradas em papel de filtro qualitativo previamente pesados (80 g/m^2 , 3 micras, Nalgon) e secas em estufa a 40°C até 3 pesagens consecutivas com massa constante. Após a secagem, os filmes foram mantidos em dessecador com sílica gel antes da pesagem final (massa final, m_f). A solubilidade foi determinada de acordo com a Equação 4:

$$\text{Solubilidade em água (\%)} = \left(\frac{m_i - m_f}{m_i} \right) \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

8.2.10 Liberação do óleo essencial de melaleuca e Eficiência de Encapsulação

Para investigar o potencial uso dos filmes como filme cosmético para liberação de óleo essencial de melaleuca, utilizou-se o espectrofotômetro UV-visível (UV-2600, Shimadzu) para investigar a eficiência de encapsulação (EE) e quantificar o óleo liberado em condições controladas de pH e temperatura. Os ensaios foram realizados com base em trabalhos do grupo de pesquisa [130]–[132], com algumas modificações.

Os filmes foram cortados em amostras circulares com 3,5 cm de diâmetro e imersos em meio de liberação estático contendo tampão fosfato com $\text{pH} = 5,5$ a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ para a leitura das alíquotas em tempos pré-determinados. Após as leituras, as alíquotas foram adicionadas novamente ao meio de liberação para que o volume do

sistema não sofresse alteração. Para determinar as concentrações de OEM obtidas no Uv-vis (C_t); eficiência de encapsulação (EE); capacidade de liberação e % liberada na solução, foram empregadas as Equações 5 a 8, respectivamente. Os cálculos foram realizados com base na curva de calibração obtida previamente (coeficiente linear = $-0,00886 \pm 0,0034$; coeficiente angular = $5,22171 \pm 0,0835$ e $R^2 = 0,99821$).

$$C_t = \frac{Abs \pm b}{a} \quad \text{Equação 5}$$

onde: C_t é a concentração de óleo essencial de melaleuca obtida no tempo “t”; Abs é a absorbância medida no UV-vis; b e a são os coeficientes linear e angular, respectivamente.

$$EE (\%) = \frac{C_f}{C_i} \times 100 \quad \text{Equação 6}$$

onde: C_f é a concentração final desse óleo no meio de liberação e C_i é a concentração de óleo essencial de melaleuca adicionada nos filmes [133].

$$Quantidade\ Liberada\ (mg.g^{-1}) = \frac{(C_t - C_0) \times V}{m} \quad \text{Equação 7}$$

onde: C_t é a concentração de óleo essencial de melaleuca obtida no tempo “t” no meio de liberação; C_0 é a concentração inicial de óleo essencial de melaleuca no meio de liberação; V é o volume do meio de liberação e m é a massa de filme utilizada na análise.

$$Quantidade\ liberada\ (\%) = \frac{C_t}{C_{m\acute{a}x.}} \times 100 \quad \text{Equação 8}$$

onde: C_t é a concentração de óleo essencial de melaleuca obtida no tempo “t” no meio de liberação e $C_{m\acute{a}x.}$ é a concentração máxima de óleo essencial de melaleuca obtida nos ensaios de liberação.

8.2.11 Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Amostras de filmes foram alocadas em um porta amostras de um espectrômetro (Agilent Cary 630) e submetidas a 128 varreduras na faixa de 4000 a 650 cm^{-1} e resolução de 4 cm^{-1} para a obtenção dos espectros.

8.2.12 Biodegradação

Para avaliar a biodegradação em solo dos filmes desenvolvidos e a influência da adição de NFCB e reticulação nesse processo, selecionou-se os filmes: 0% NFCB; 0% NFCB/Mn; 5,0% NFCB e 5,0% NFCB/Mn.

O substrato para plantas comercial utilizado possuía turfa, vermiculita, resíduo orgânico agroindustrial Classe A (casca de arroz torrefada) e calcário. A caracterização foi realizada pela indústria e descrita no rótulo (Tabela 18).

Tabela 18 - Caracterização do substrato comercial para plantas.

Itens controlados	Resultados
pH	5,5 $\pm$ 1
Condutividade elétrica (mS.cm^{-1})	1,0 (até 50% para mais)
Umidade máxima (% m/m)	60 (até 10% para mais)
Densidade seca (kg.m^3)	130 $\pm$ 20%
Capacidade de retenção de água (% m/m)	300 (até 10% para menos)

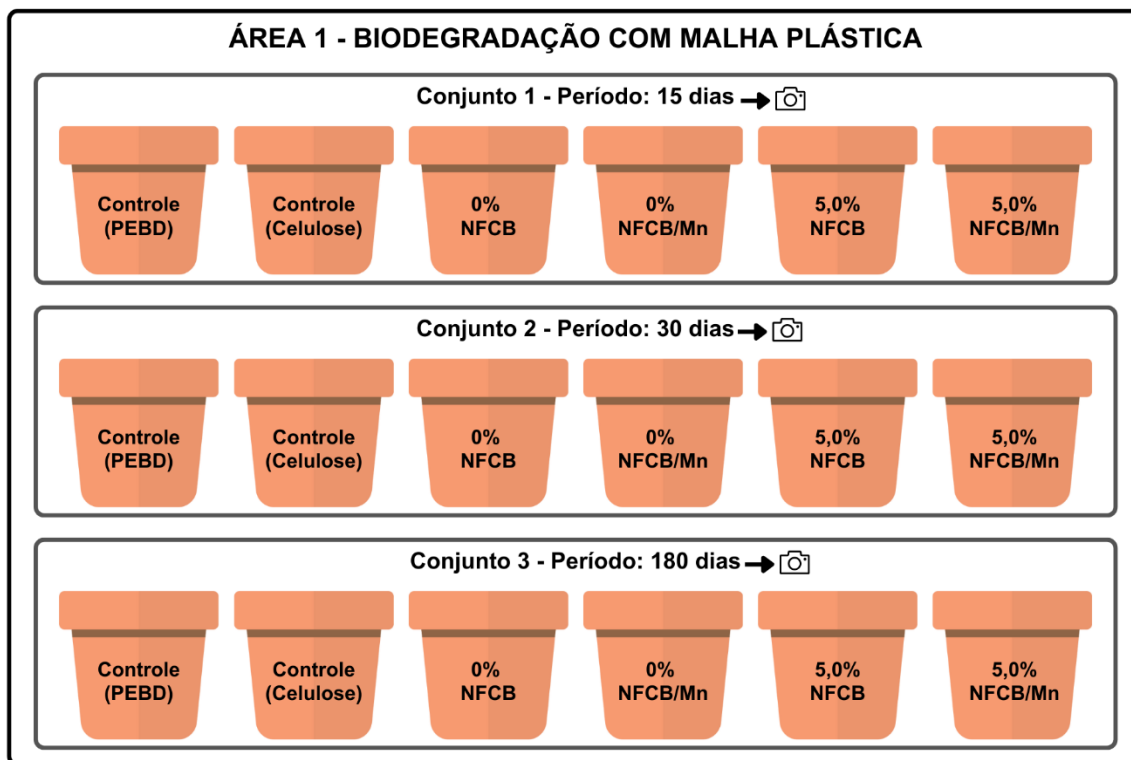
Fonte: Carolina Soil.

O substrato foi preparado conforme recomendação do fabricante, sendo descompactado antes da abertura da embalagem e adicionado 5 litros de água para cada 8 kg de substrato.

De acordo com a metodologia descrita na literatura [134], as amostras de filme com 25 mm^2 foram dispostas em uma malha plástica, em triplicata, e posteriormente enterradas no substrato a uma profundidade de aproximadamente 20 mm em um recipiente de polipropileno com 14 cm de diâmetro interno. O ensaio de biodegradação ocorreu em temperatura ambiente e 25 mL de água deionizada foi adicionada duas

vezes por semana para manter a umidade. Filmes comerciais de polietileno de baixa densidade (PEBD) e celulose foram testados como controle (Figura 35).

Figura 35: Organização do experimento de biodegradação da área 1: biodegradação com malha plástica.

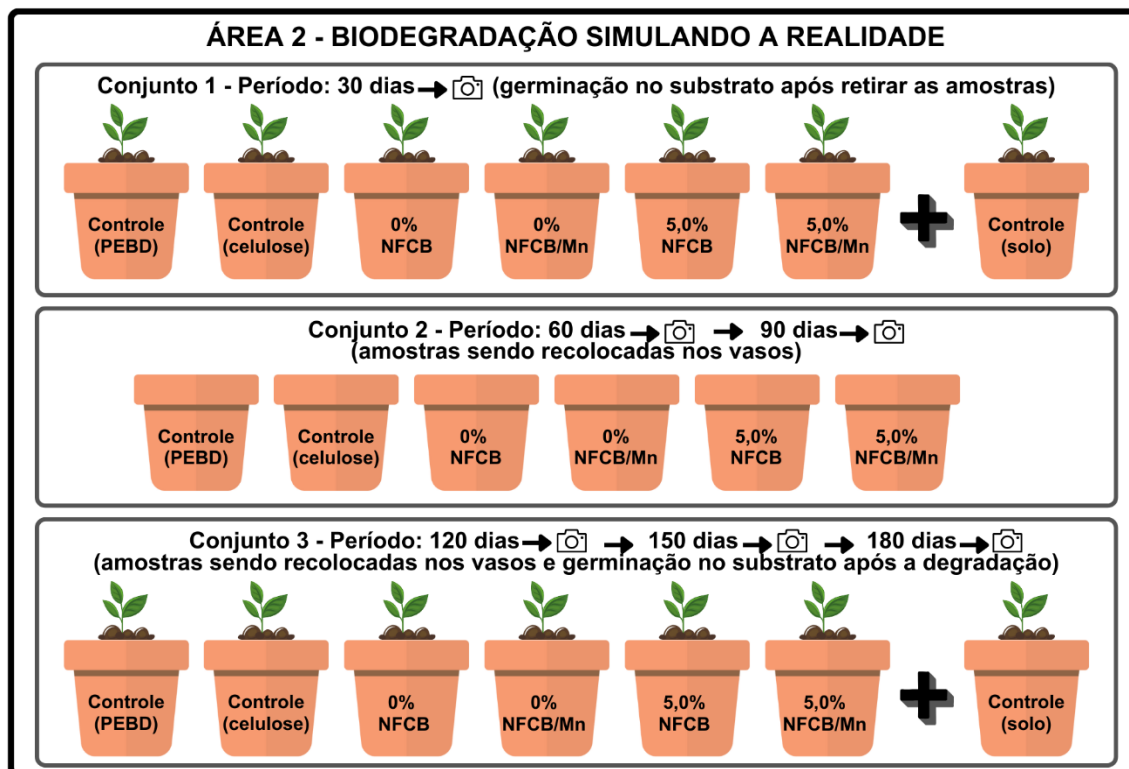


Fonte: Próprio autor.

O experimento com malha plástica foi preparado para possibilitar a retirada das amostras do substrato com maior facilidade, pois as análises de biodegradação por perda de massa dos bioplásticos, são difíceis de serem realizadas [135], portanto, as amostras foram cuidadosamente retiradas do substrato após 15, 30 e 180 dias para avaliação do processo de desintegração realizado por inspeção visual. Para a análise visual (em triplicata), foi realizado fotomicrografias em um Stereo Microscópio Óptico (Stemi 508, Zeiss), além de fotografias com uma câmera digital (Coolpix P510, Nikon).

O experimento também foi reproduzido sem a malha plástica para simular o tempo real de biodegradação (Figura 36), uma vez que esse suporte para as amostras pode interferir no tempo de biodegradação.

Figura 36: Organização do experimento de biodegradação da área 2: biodegradação sem malha plástica simulando a realidade.



Fonte: Próprio autor.

Dessa forma, os materiais foram retirados do substrato em intervalos de 30 dias até completar 180 dias, conforme indicado pela NBR 15448-2 [136].

Após a retirada dos materiais em cada intervalo de tempo, foi realizada a análise visual (fotografias) para acompanhar o processo de biodegradação que deve ocorrer em até 180 dias [136]. Também foram determinadas as massas iniciais e finais (quando possível) das amostras para determinar a perda de massa ao final dos períodos de cada conjunto.

Foi realizada a avaliação de toxicidade do substrato para o crescimento de plantas após a degradação dos filmes no período de 30 e 180 dias. O experimento foi realizado de acordo com a literatura [137] com algumas modificações: 7 sementes de feijão comum preto *Phaseolus vulgaris* (L.) foram plantadas por recipiente, sendo utilizado como controle o substrato para plantas que não foi exposto às amostras durante o experimento de biodegradação. As sementes foram regadas com água deionizada periodicamente. Após 10 dias, foram limpas e avaliadas pelos parâmetros de germinação (%), crescimento (cm) e biomassa total (g).

8.2.13 Análise Estatística

Os resultados experimentais foram avaliados por meio da análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, com um nível de significância de 5%, utilizando o software SISVAR®.

8.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

8.3.1 Potencial Hidrogeniônico (pH)

O pH da pele humana é levemente ácido, com valores de pH de 4 a 6, que podem ser afetados por fatores como idade, genética e doenças de pele. A avaliação do pH de produtos cosméticos é importante, pois o uso de cosméticos com faixa de pH muito diferentes da pele pode acarretar danos e diminuir a eficácia do produto [138]. Na Tabela 19 estão demonstrados os dados de pH das SF dos filmes nanocompósitos.

Tabela 19: Potencial Hidrogeniônico das suspensões filmogênicas dos filmes nanocompósitos.

Amostras	pH
Matriz	6,06
Matriz/Mn	5,71
0% NFCB	6,26
0% NFCB/Mn	5,94
2,5% NFCB	6,85
2,5% NFCB/Mn	6,21
5,0% NFCB	7,06
5,0% NFCB/Mn	6,46

Fonte: Próprio autor.

É possível identificar que a adição da nanoemulsão de óleo essencial de melaleuca e nanofibras de celulose bacteriana aumentaram sutilmente os valores de pH, enquanto a reticulação com $MnCl_2$, diminuiu. Com exceção da SF com 5,0% NFCB, todas as SF desenvolvidas apresentam pH próximos à pele. Além disso, a adição de $MnCl_2$ pode ser promissora para o tratamento da acne, visto que alguns trabalhos relatam melhora nas lesões causadas por acne em pacientes que usam sabonete levemente ácido versus alcalino [139], [140].

8.3.2 Viscosidade

A influência da adição de NFCB na viscosidade das SF está apresentada na Tabela 20, onde é possível identificar que a adição de NFCB aumentou significativamente a viscosidade da SF 0% NFCB. Esse resultado comprova a discussão apresentada no item 7.3.3 sobre a relação entre viscosidade e características dos filmes poliméricos obtidos.

Tabela 20: Viscosidade aparente das suspensões filmogênicas sem e com NFCB.

Amostras	Viscosidade (cP)	Torque (%)	Velocidade (RPM)	Temperatura (°C)
0% NFCB	1.411 ± 17,14	82,3	70	27,7
2,5% NFCB	2.262 ± 30,00	75,4	40	23,3
5,0% NFCB	5.458 ± 80,00	68,2	15	23,9

Fonte: Próprio autor.

8.3.3 Aspecto visual dos filmes nanocompósitos

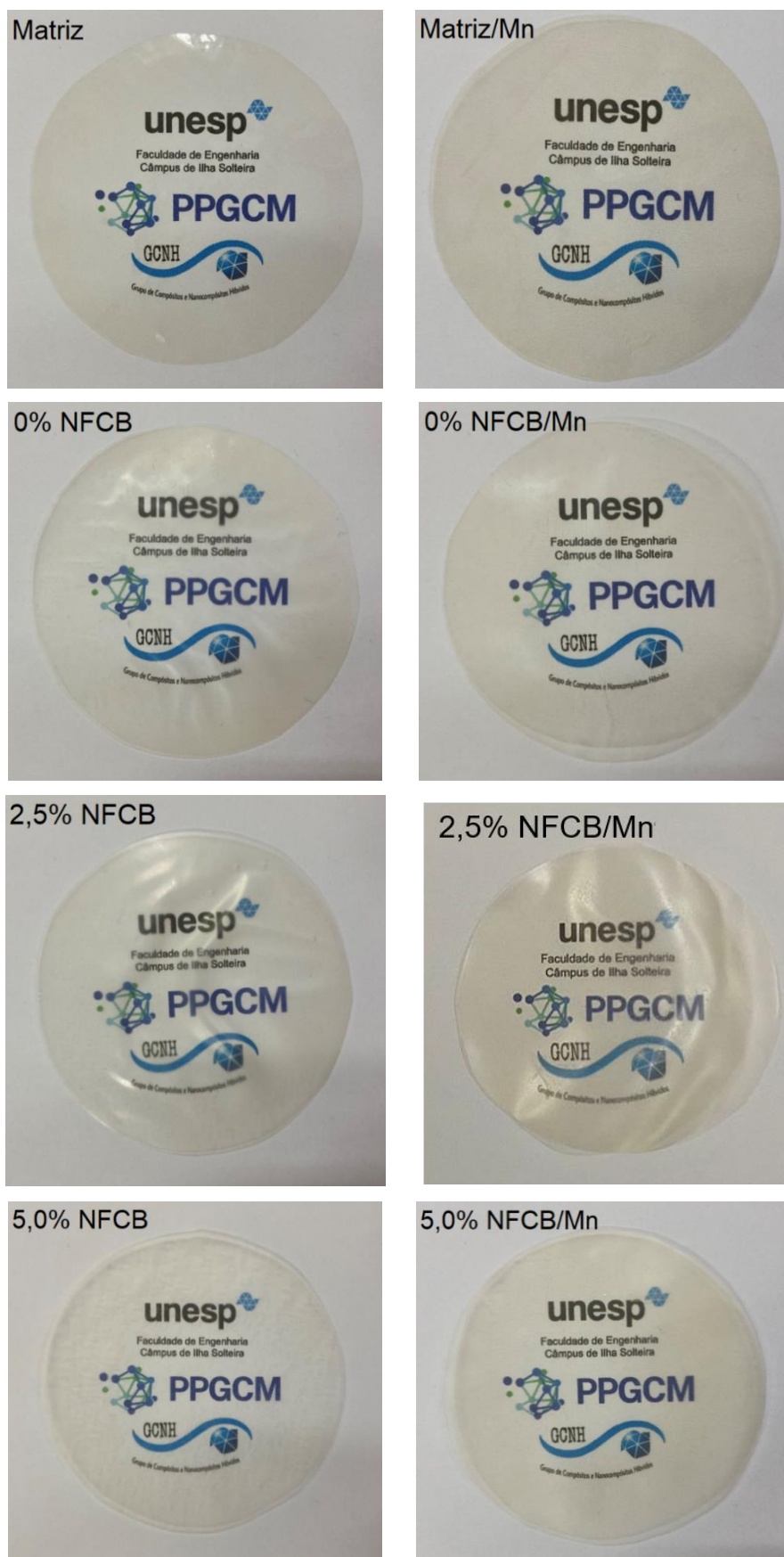
A Figura 37 ilustra o aspecto visual dos filmes nanocompósitos desenvolvidos. O filme Matriz (contendo apenas alginato de sódio) foi o que apresentou maior transparência visual e, quando reticulado, apresentou característica levemente opaca (assim como os outros filmes que também foram reticulados). Além disso, destaca-se que os filmes que continham apenas alginato (Matriz ou Matriz/Mn), foram os mais difíceis de serem retirados da placa de petri após a secagem sem que sofresse rupturas.

Já com a adição de nanoemulsão de óleo essencial de melaleuca nos filmes, os mesmos foram retirados sem esforços da placa. Isso indica que o óleo essencial também pode atuar como plastificante na elaboração de filmes poliméricos.

Os filmes contendo NFCB demoraram mais para secar devido a viscosidade da SF. Com isso, durante esse processo, algumas regiões secaram primeiro, o que ocasionou a entrada de ar e formação de algumas superfícies não planas.

De modo geral, os filmes desenvolvidos apresentaram características que atendiam aos requisitos para serem submetidos aos ensaios de caracterização que serão discutidos a seguir.

Figura 37: Aspecto visual dos filmes nanocompósitos.



Fonte: Próprio autor.

8.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As Figura 38 a Figura 41 ilustram as micrografias eletrônicas de varredura obtidas para a superfície dos filmes nanocompósitos. Nas Figura 42Figura 43, estão ilustradas as seções transversais dos filmes.

É possível identificar que os filmes de alginato de sódio sem a incorporação da nanoemulsão e nanofibras (Matriz e Matriz/Mn), possuem a superfície mais lisa e homogênea, com seção transversal mais compacta e sem poros, quando comparado aos outros filmes.

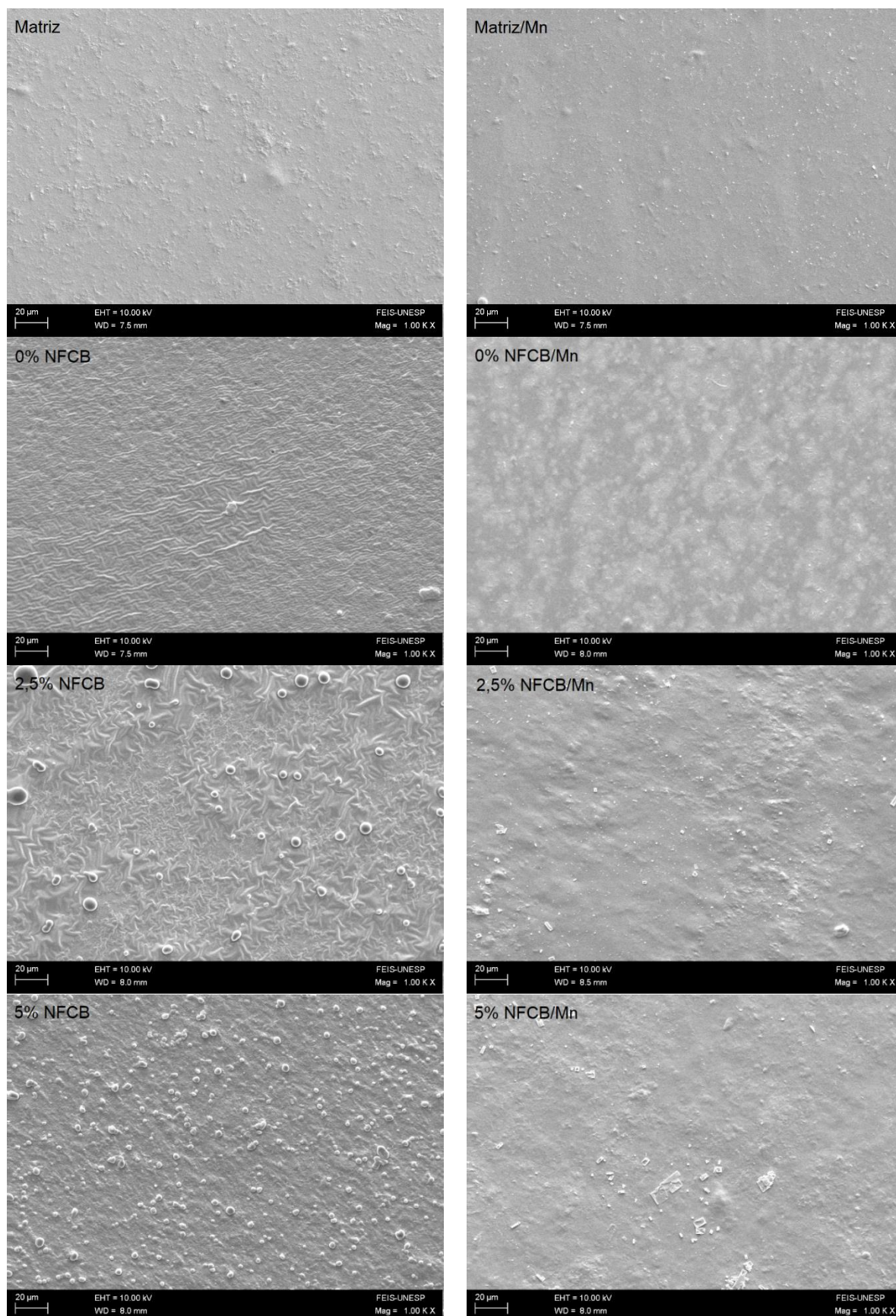
A adição da nanoemulsão provocou o aumento da rugosidade superficial dos filmes e deixou a estrutura interna com poros provenientes de gotículas de óleo que evaporaram durante a secagem. Os mesmos efeitos também foram observados em outros trabalhos com filmes de alginato incorporados com nanoemulsões O/A [84], [141]–[145]. Além disso, ressalta-se que essas mudanças microestruturais nos filmes 0% NFCB e 0% NFCB/Mn estão presentes ao longo de toda matriz polimérica, demonstrando que as nanoemulsões foram incorporadas de forma homogênea.

Para os filmes contendo nanofibras de celulose bacteriana (2,5% NFCB e 5,0% NFCB), observa-se uma estrutura mais heterogênea com alguns aglomerados que aumentam com a concentração de NFCB adicionada. Esse mesmo efeito foi observado em outros estudos com nanofibras de celulose em filmes de alginato de sódio [146], [147].

Na Figura 38, a superfície dos filmes 2,5% NFCB e 5,0% NFCB a princípio possui pequenas bolhas de ar que não saíram após a desgaseificação das SF e não puderam ser identificadas visualmente. No entanto, para os filmes reticulados (2,5% NFCB/Mn e 5,0% NFCB/Mn), não foi observado o mesmo comportamento. Isso ocorre devido a diminuição da viscosidade quando 30 mL de solução aquosa de MnCl_2 são adicionadas às SF. Como discutido anteriormente (seção 7.3.3), SF com alta viscosidade são propensas a formar filmes com bolhas.

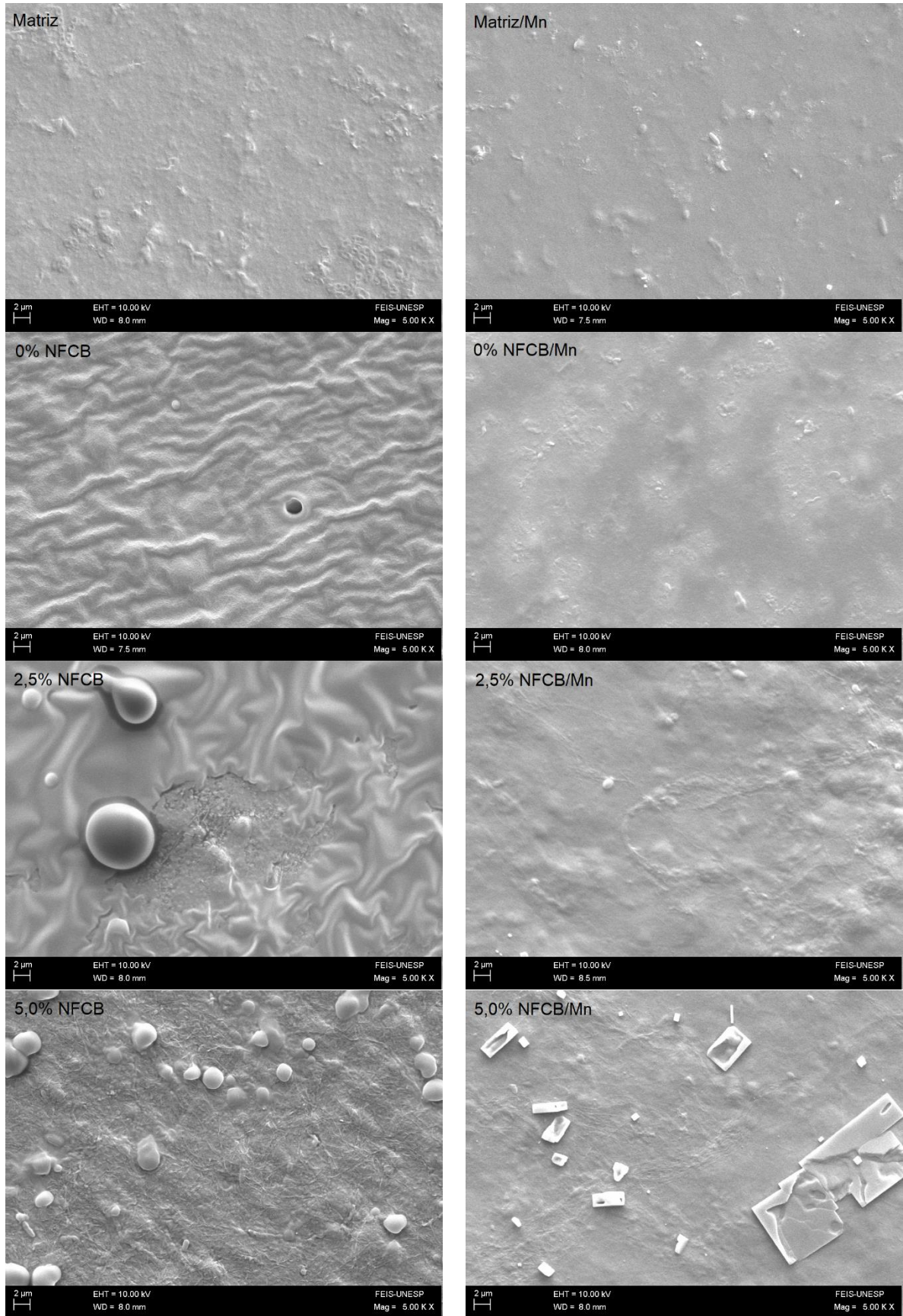
Nas Figura 40Figura 41, é possível identificar que as NFCB incorporadas nos filmes sem reticulação estão presentes em regiões mais superficiais quando comparadas aos filmes reticulados. Esse efeito pode estar relacionado à mudança de conformação da estrutura diante do reticulador. Além disso, observa-se pequenos cristais de MnCl_2 em regiões pontuais da superfície do filme 5% NFCB/Mn.

Figura 38: Micrografias Eletrônicas de Varredura da superfície dos filmes com aumento de 1.000x.



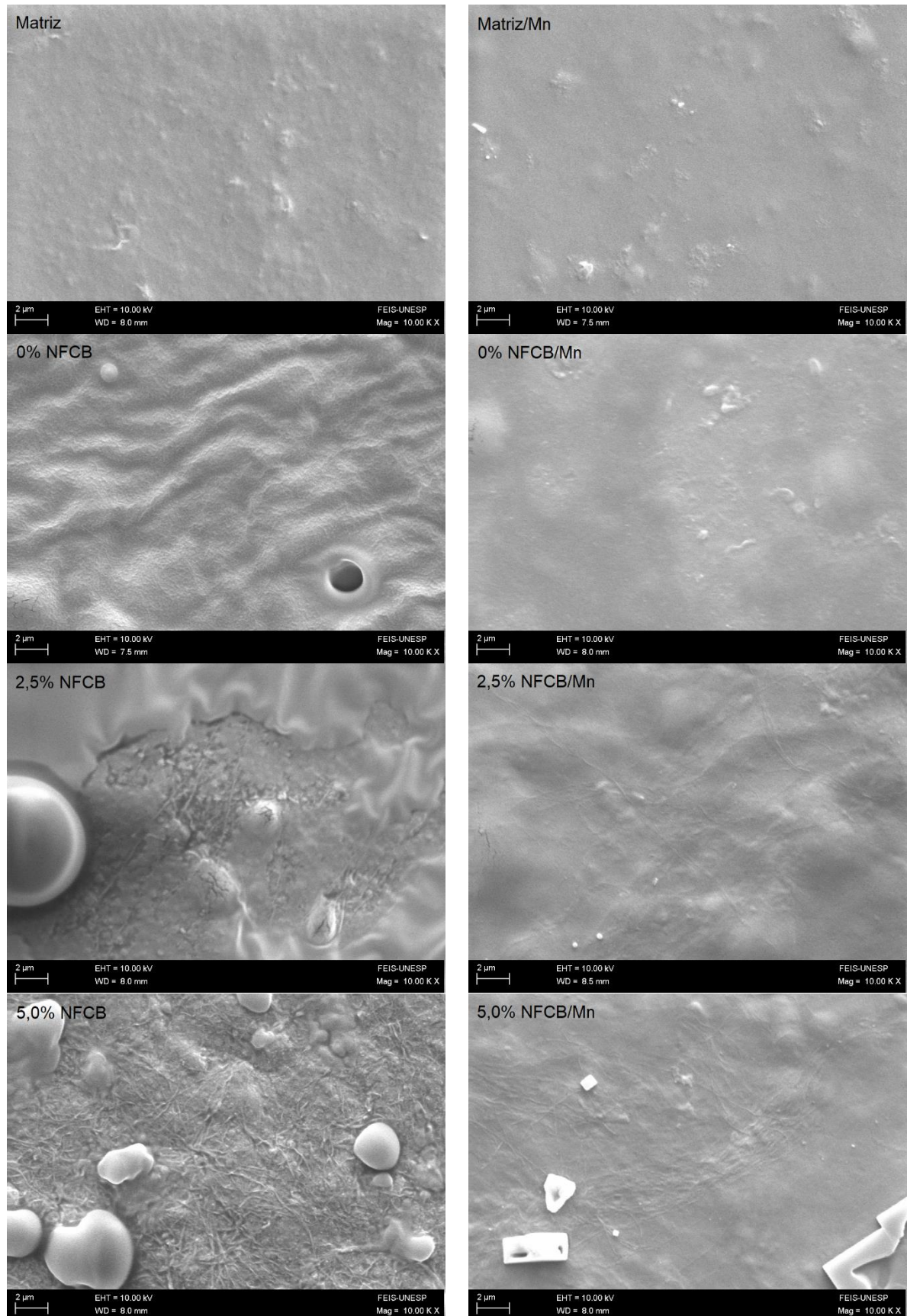
Fonte: Próprio autor.

Figura 39: Micrografias Eletrônicas de Varredura da superfície dos filmes com aumento de 5.000x.



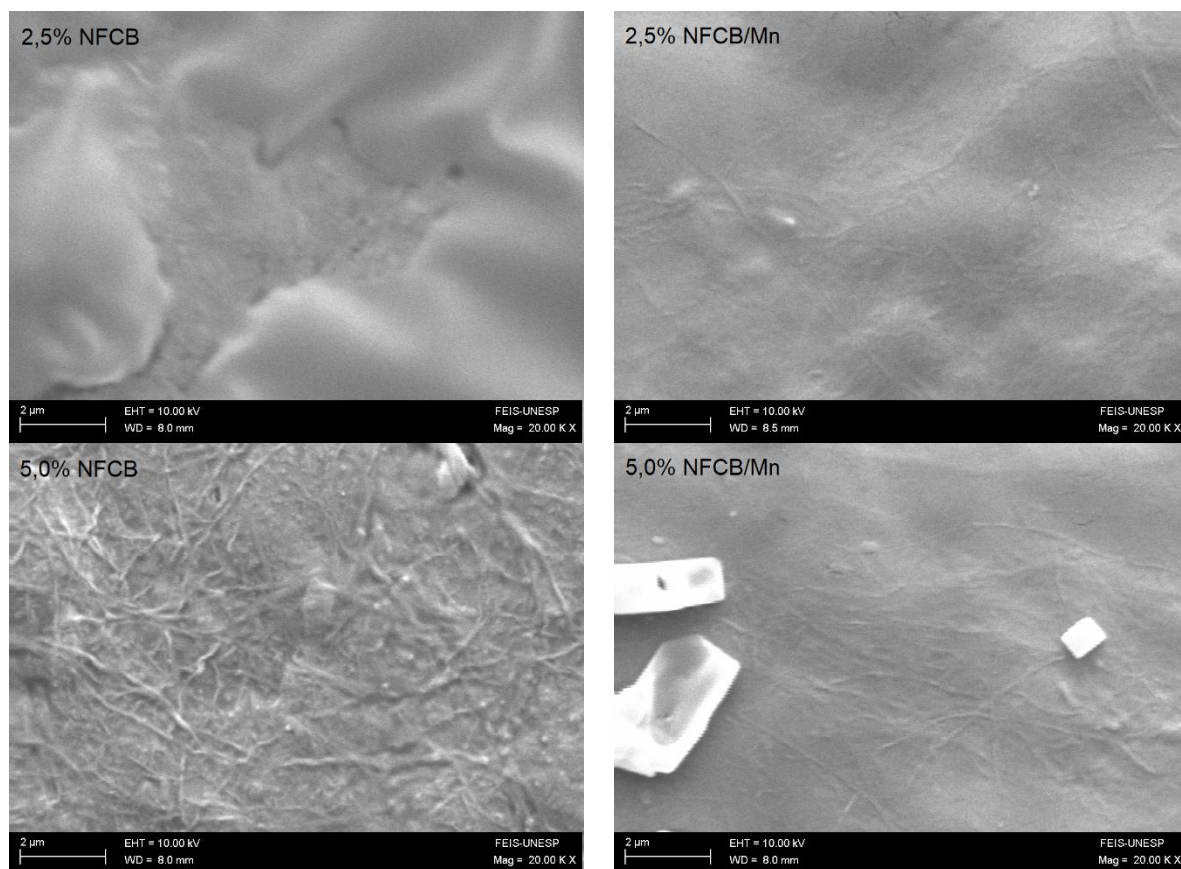
Fonte: Próprio autor.

Figura 40: Micrografias Eletrônicas de Varredura da superfície dos filmes com aumento de 10.000x.



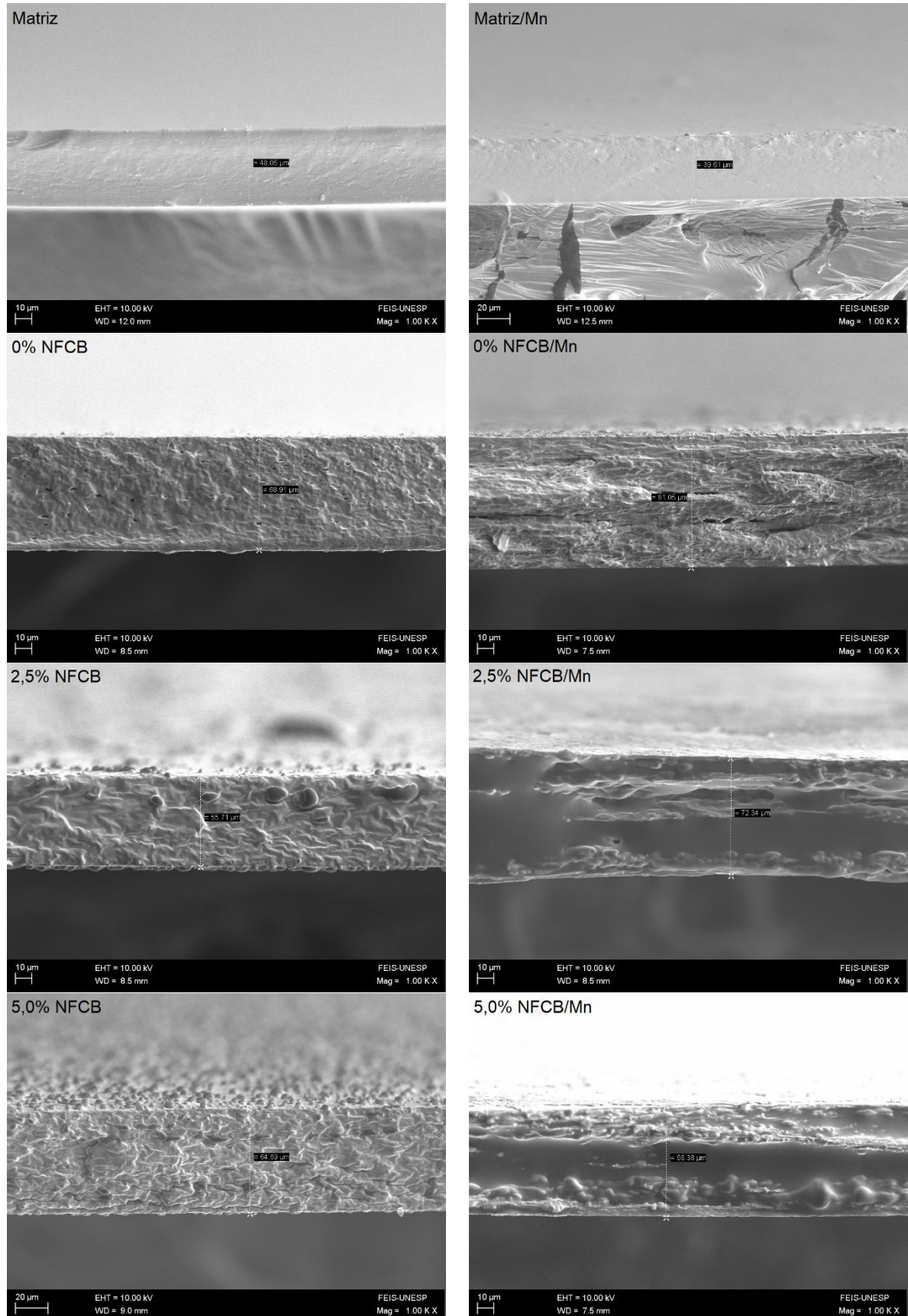
Fonte: Próprio autor.

Figura 41: Micrografias Eletrônicas de Varredura da superfície dos filmes com aumento de 20.000x.



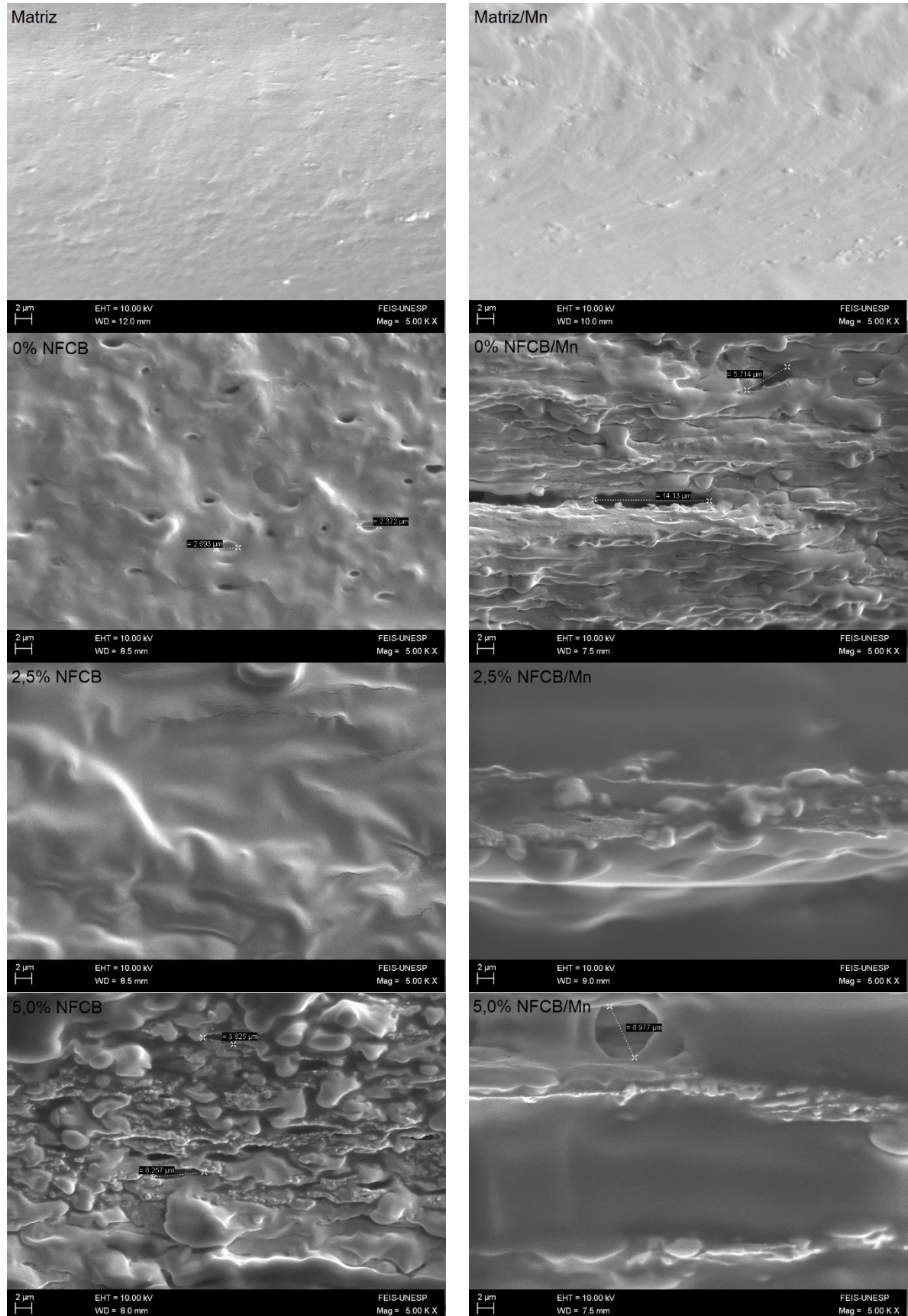
Fonte: Próprio autor.

Figura 42: Micrografias Eletrônicas de Varredura da fratura dos filmes com aumento de 1.000x.



Fonte: Próprio autor.

Figura 43: Micrografias Eletrônicas de Varredura da fratura dos filmes com aumento de 5.000x.

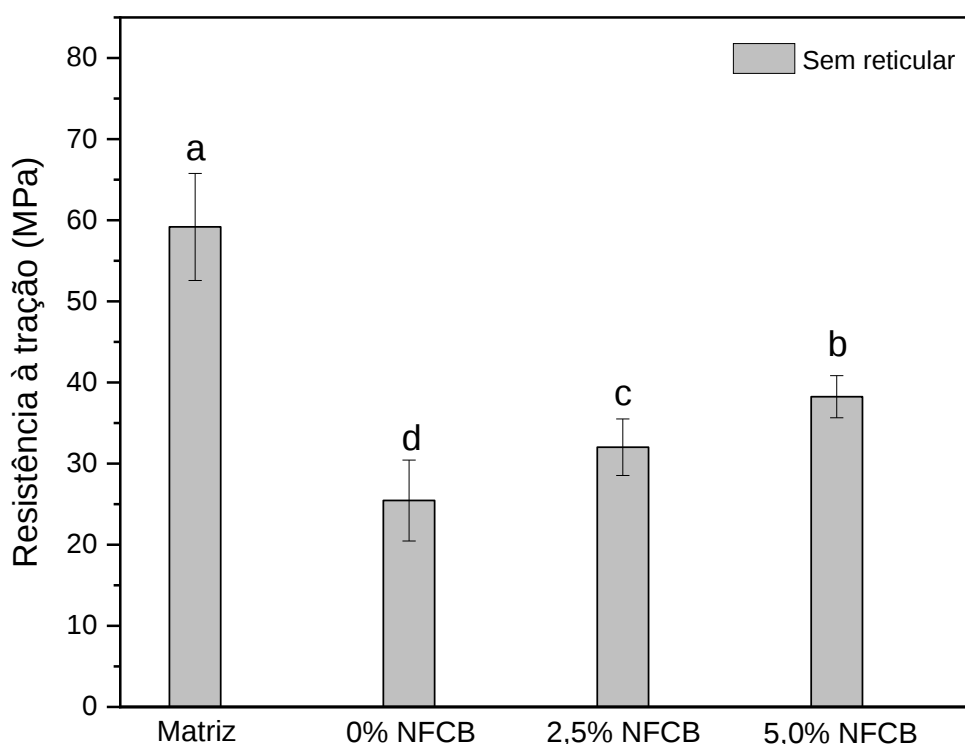


Fonte: Próprio autor.

8.3.5 Propriedades Mecânicas

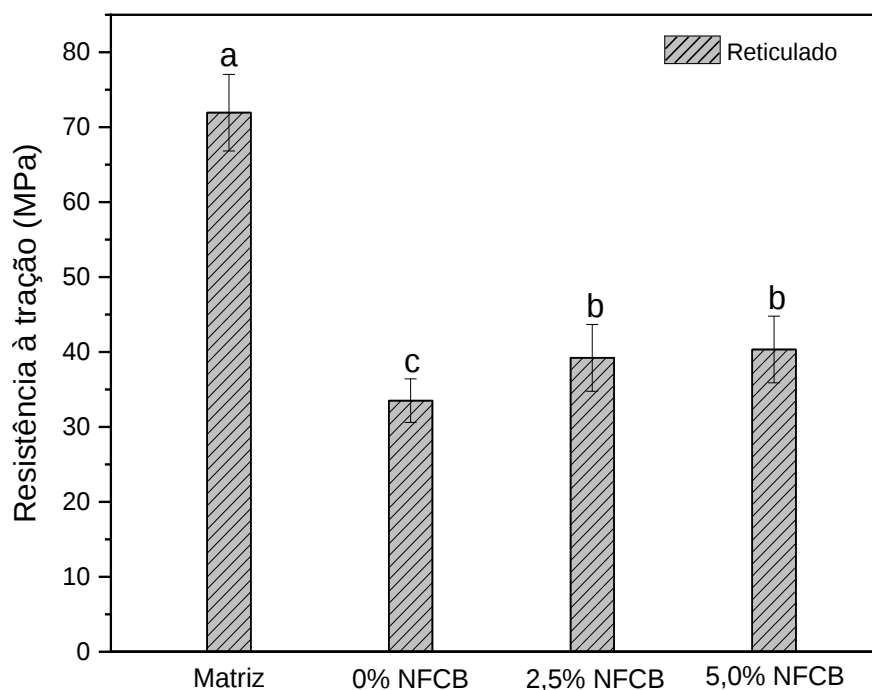
A influência da adição da nanoemulsão e nanofibras na resistência à tração dos filmes, está demonstrada nas Figura 44 e Figura 45, e a influência do reticulador, na Figura 46.

Figura 44: Resistência à tração dos filmes sem reticular. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.



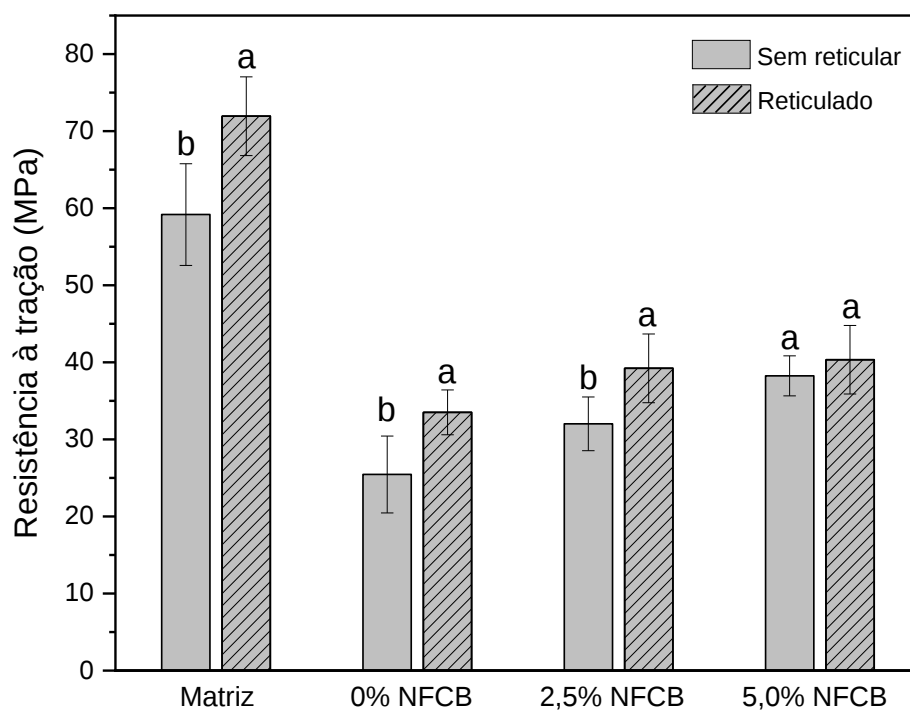
Fonte: Próprio autor.

Figura 45: Resistência à tração dos filmes reticulados. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.



Fonte: Próprio autor.

Figura 46: Resistência à tração dos filmes nanocompósitos. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.



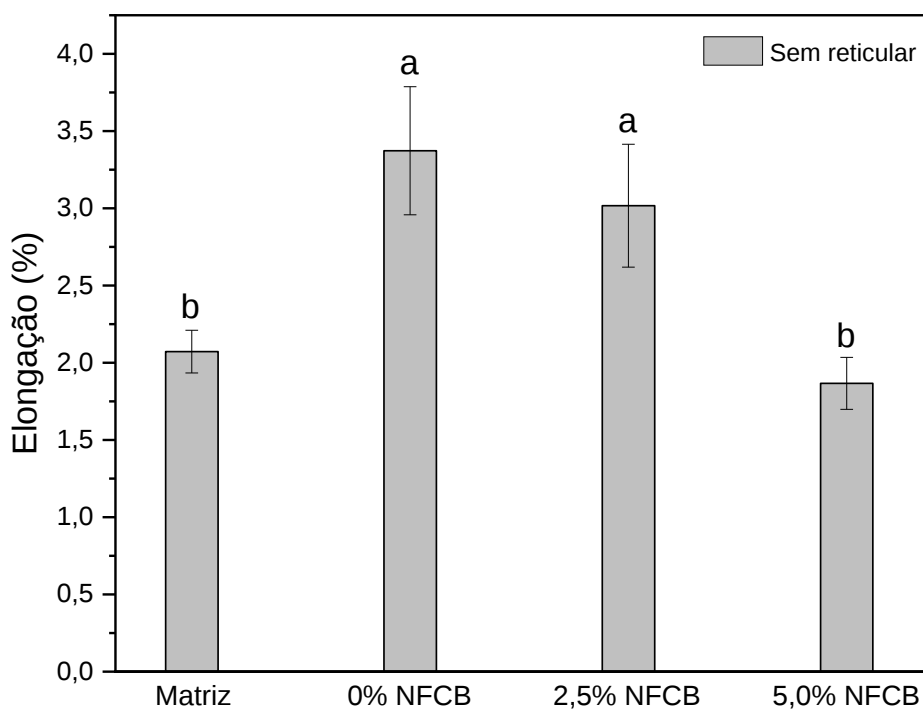
Fonte: Próprio autor.

No sistema sem reticular (Figura 44) a incorporação da nanoemulsão diminuiu 56,98% a resistência à tração da matriz; enquanto que, a adição de 2,5 e 5,0% de NFCB aumentou 25,82 e 50,29%, respectivamente, a resistência à tração do filme sem nanofibras (0% NFCB). O mesmo efeito foi observado no sistema reticulado (Figura 45): a nanoemulsão diminuiu 53,42%, e a adição de 2,5 e 5,0% de NFCB aumentou 17,04 e 20,35%, respectivamente.

Esse efeito foi menos pronunciado no sistema reticulado devido a influência do reticulador nas propriedades mecânicas dos filmes (Figura 46). A reticulação com MnCl_2 aumentou 21,60, 31,66 e 22,48% a resistência à tração dos filmes: Matriz, 0% NFCB e 2,5% NFCB, respectivamente. Essa diferença não foi significativa entre os filmes 5,0% NFCB e 5,0% NFCB/Mn. Como discutido anteriormente na MEV, o filme 5,0% NFCB/Mn apresentou alguns cristais de MnCl_2 que não incorporaram de maneira homogênea no filme, o que pode ter resultado nos valores obtidos.

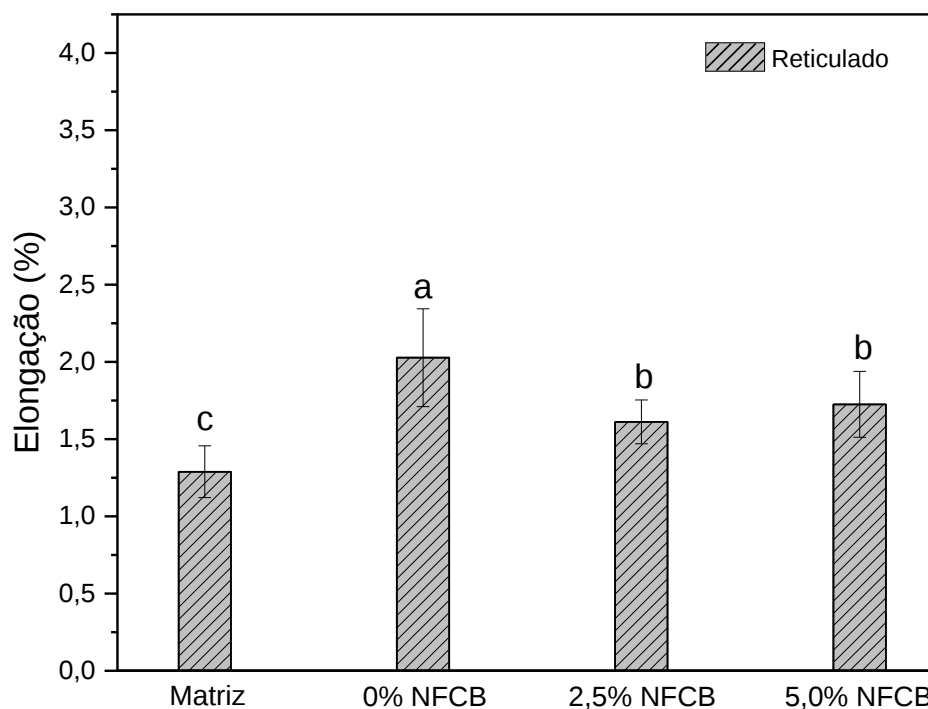
As Figura 47 a Figura 49 mostram os valores de elongação obtidos.

Figura 47: Elongação dos filmes sem reticular. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.



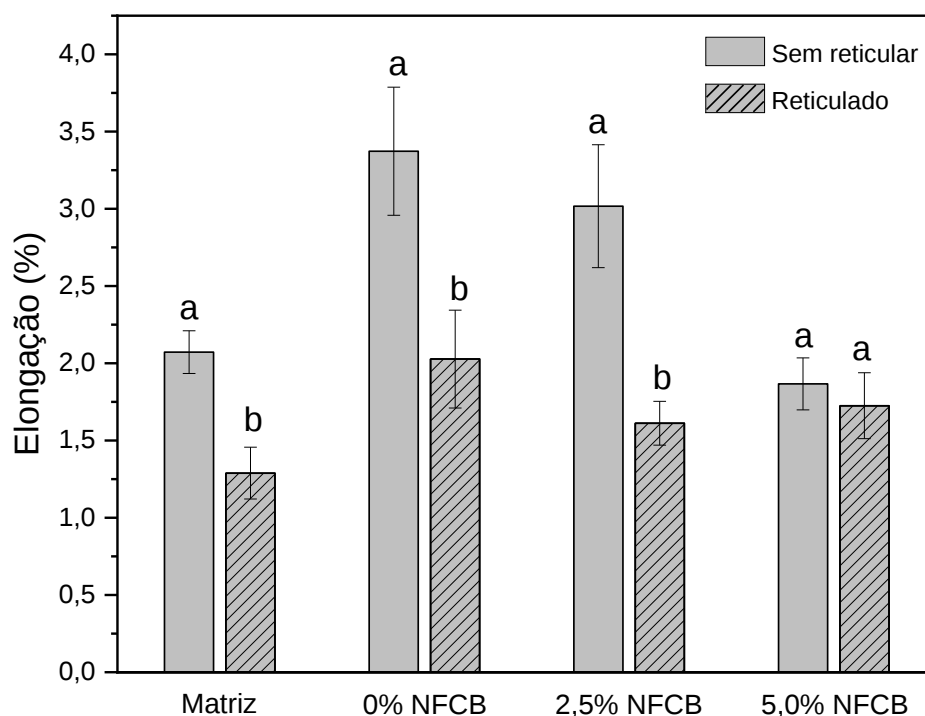
Fonte: Próprio autor.

Figura 48: Elongação dos filmes reticulados. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.



Fonte: Próprio autor.

Figura 49: Elongação dos filmes nanocompósitos. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.



Fonte: Próprio autor.

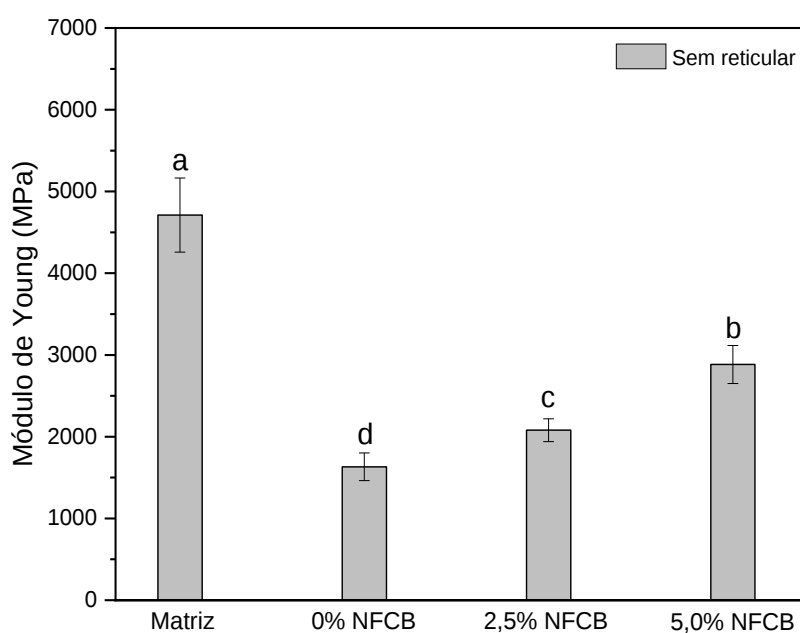
Para o sistema sem reticulação (Figura 47), a adição de nanoemulsão aumentou 62,80%, e a adição de 2,5 e 5,0% de NFCB diminuiu 10,38 e 44,51%, respectivamente, a elongação do filme sem NFCB. O mesmo comportamento foi observado no sistema reticulado (Figura 48) e as diferenças observadas foram de 57,36, 20,68 e 15,27%, respectivamente.

O efeito da reticulação pode ser observado na (Figura 49). Os filmes Matriz, 0% NFCB e 2,5% NFCB diminuíram 37,68; 39,76 e 46,68%, respectivamente, os valores dessa propriedade. Isso ocorre pois a reticulação aproxima as cadeias poliméricas e dificulta o escoamento das mesmas [24].

Em relação ao módulo de Young, ou módulo de elasticidade, observa-se que a adição de nanoemulsão no sistema sem reticular (Figura 50) e reticulado (Figura 51), diminuiu 65,37 e 60,00%, respectivamente, o módulo da matriz. Em contrapartida, a adição de 2,5 e 5,0% de NFCB aumentou 27,48 e 76,73%, respectivamente, os valores para o filme 0% NFCB (Figura 50) e 40,43 e 43,23%, respectivamente, o módulo do filme 0% NFCB/Mn (Figura 51).

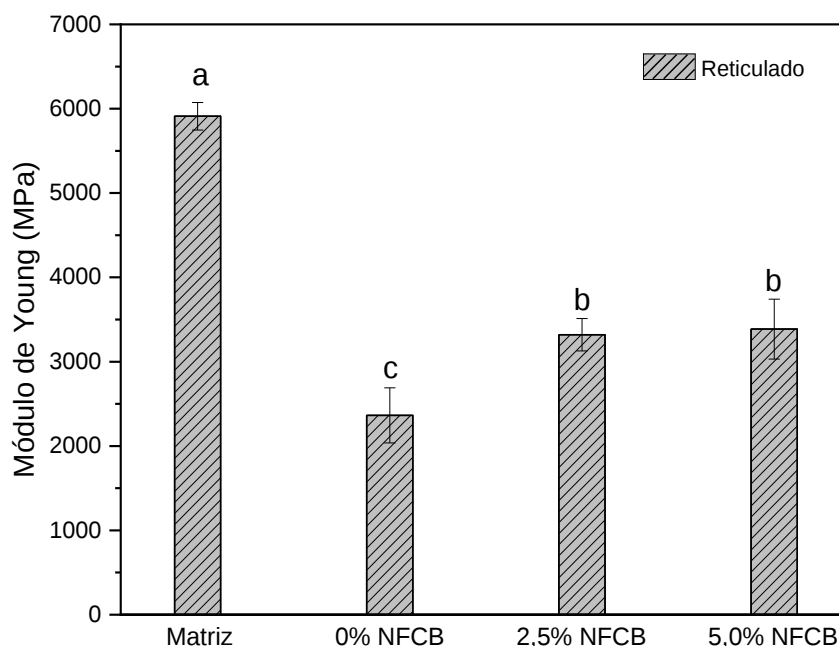
Na Figura 52, observa-se que a reticulação aumentou 25,45; 44,90; 59,62 e 17,43% o módulo de Young dos filmes Matriz; 0% NFCB; 2,5% NFCB e 5,0% NFCB, respectivamente.

Figura 50: Módulo de Young dos filmes sem reticular. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.



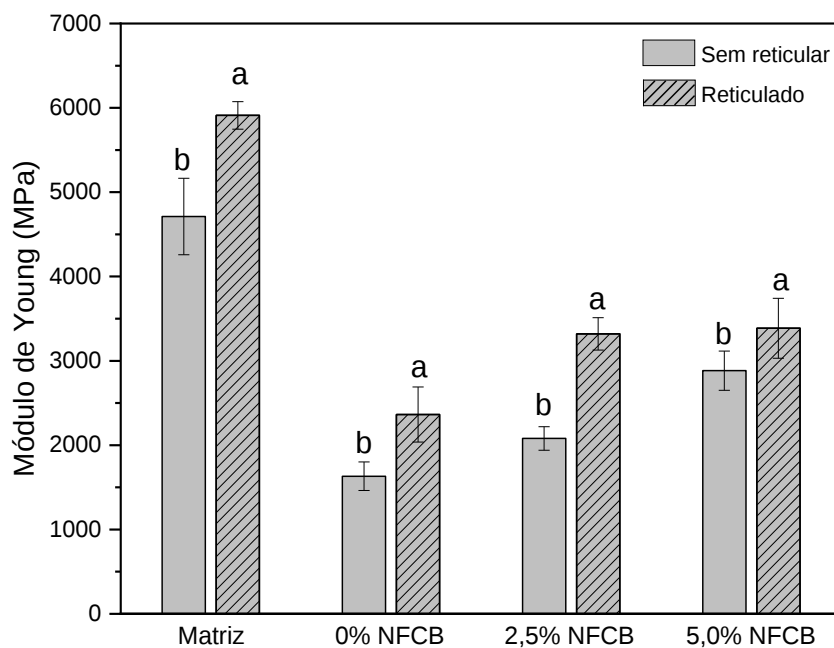
Fonte: Próprio autor.

Figura 51: Módulo de Young dos filmes reticulados. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.



Fonte: Próprio autor.

Figura 52: Módulo de Young dos filmes nanocompósitos. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.



Fonte: Próprio autor.

A análise geral das propriedades mecânicas permitiu observar que:

- I. a adição de nanoemulsão diminui a resistência à tração, aumentou a elongação e diminuiu o módulo de Young da matriz de alginato, pois diminui a interação cadeia-cadeia e aumenta a interação cadeia-nanoemulsão. Esse efeito também foi observado na literatura [148]–[150] e indica que, a nanoemulsão tem capacidade de atuar como um plastificante, conferindo maior facilidade de processamento e manuseabilidade do material obtido [24].
- II. a adição de nanofibras aumentou a resistência à tração, diminuiu a elongação e aumentou o módulo de Young do filme 0% NFCB. Como discutido anteriormente na DRX, as NFCB apresentam alta cristalinidade, conferindo esse efeito.
- III. a reticulação aumentou a resistência à tração, diminuiu a elongação e aumentou o módulo de Young dos filmes.
- IV. a formulação de um nanocompósito contendo nanoemulsão e nanofibras, contribuiu positivamente para obter filmes menos rígidos que a matriz polimérica de alginato de sódio.

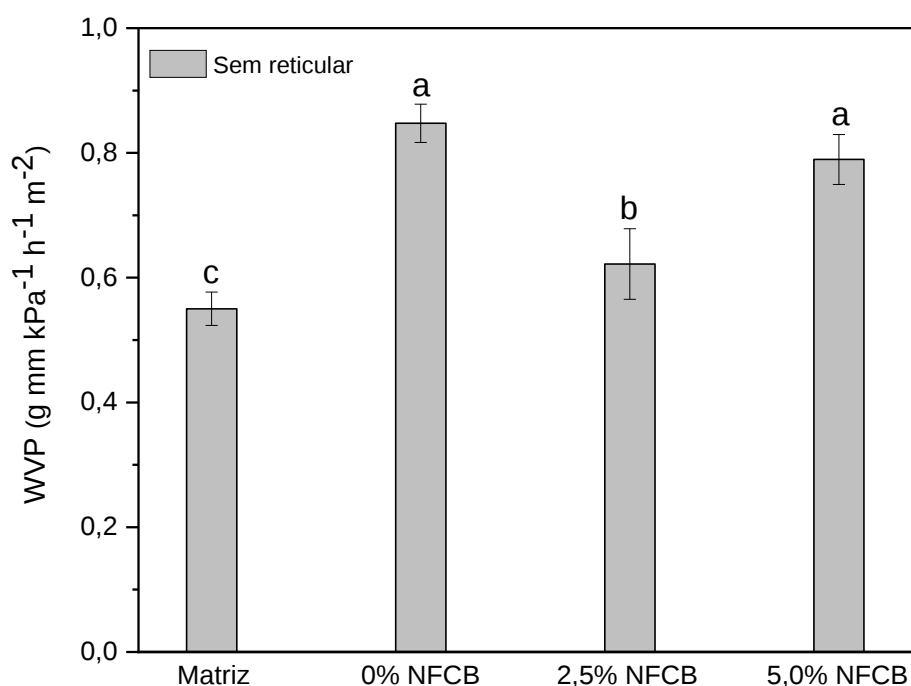
8.3.6 Permeabilidade ao Vapor de Água (WVP)

Nas Figura 53 e Figura 54 observa-se a influência da nanoemulsão e NFCB nos sistemas sem e com reticulação, respectivamente.

A adição de nanoemulsão aumentou 52,62 e 57,98% a WVP dos filmes Matriz e Matriz/Mn, respectivamente. Isso ocorre pois, as nanoemulsões possuem uma região hidrofóbica e outra hidrofílica e, quando os filmes passam pelo processo de secagem, a região hidrofílica deixa de interagir com a água e começa a interagir com a cadeia de alginato através de ligações de hidrogênio, fazendo com que as moléculas de água não encontrem “obstáculos” para permear através da matriz polimérica [84]. Além disso, como discutido na MEV, a adição de nanoemulsão provocou o aparecimento de poros na matriz, contribuindo assim para maior WVP. A adição de nanoemulsão mostrou que o filme desenvolvido é promissor para a aplicação em curativos, pois pode controlar a perda de água da ferida e manter o ambiente úmido durante o processo de cicatrização [151].

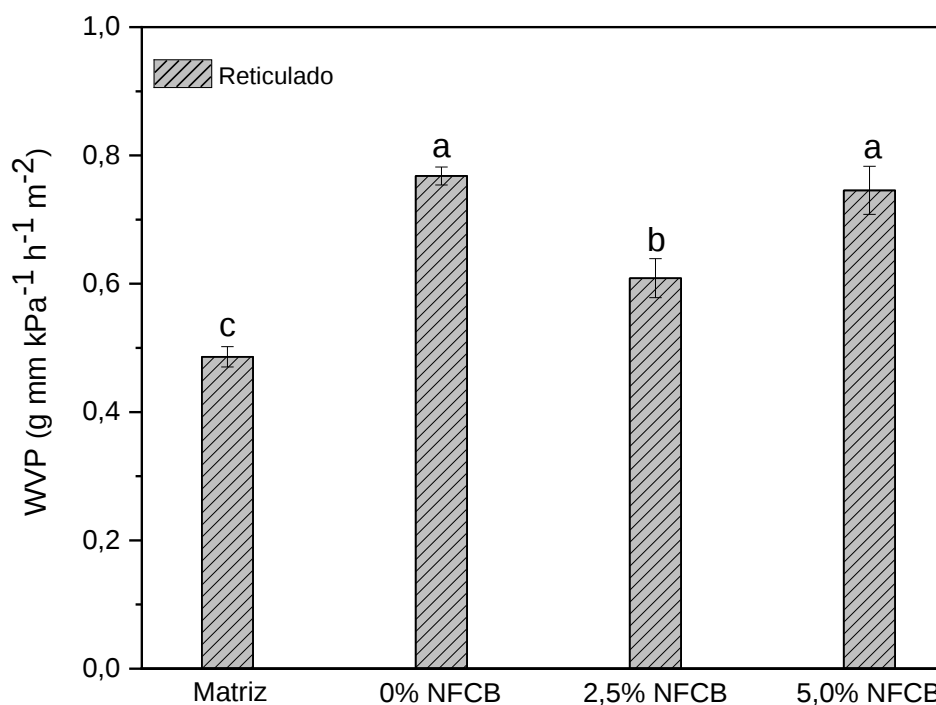
Ao incorporar 2,5% de NFCB, foi possível observar que a WVP dos filmes 0% NFCB e 0% NFCB/Mn diminuiu 25,94 e 20,75%, respectivamente, devido a boa dispersão das fibras na matriz, o que impede a difusão das moléculas de vapor água. No entanto, com a incorporação de 5,0% de nanofibras os valores obtidos para os filmes 2,5% NFCB e 2,5% NFCB/Mn aumentaram 26,95 e 22,49%, respectivamente; indicando que, altas concentrações de nanofibras se aglomeram na estrutura dos filmes, como discutido na MEV, e leva a uma difusão mais rápida do vapor de água através do filme.

Figura 53: WVP dos filmes sem reticular. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.



Fonte: Próprio autor.

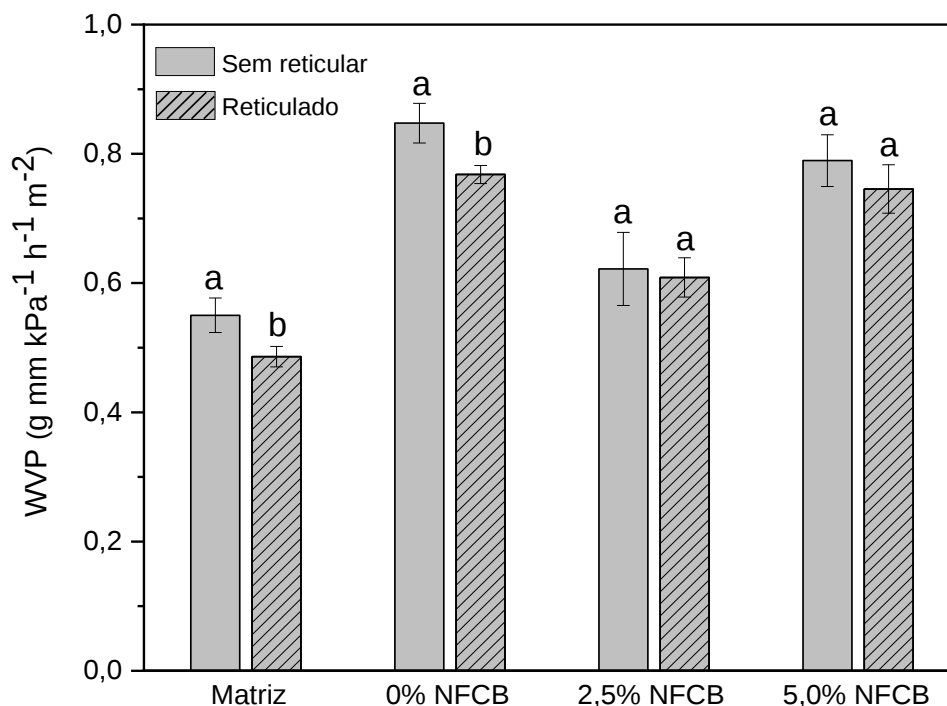
Figura 54: WVP dos filmes reticulados. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.



Fonte: Próprio autor.

O efeito do reticulador nas propriedades de barreira dos filmes pode ser analisado na Figura 55. Identifica-se que a WVP dos filmes Matriz e 0% NFCB diminuiu 11,63 e 8,52%, respectivamente, pois a reticulação diminui os espaços vazios, aproxima as cadeias, facilita interação intermolecular e dificulta a difusibilidade da água. Para os filmes 2,5% NFCB e 5,0% NFCB há uma tendência de diminuição sem diferença significativa devido a dificuldade do MnCl_2 se solubilizar por completo nas soluções filmogênicas mais viscosas.

Figura 55: WVP dos filmes nanocompósitos. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.

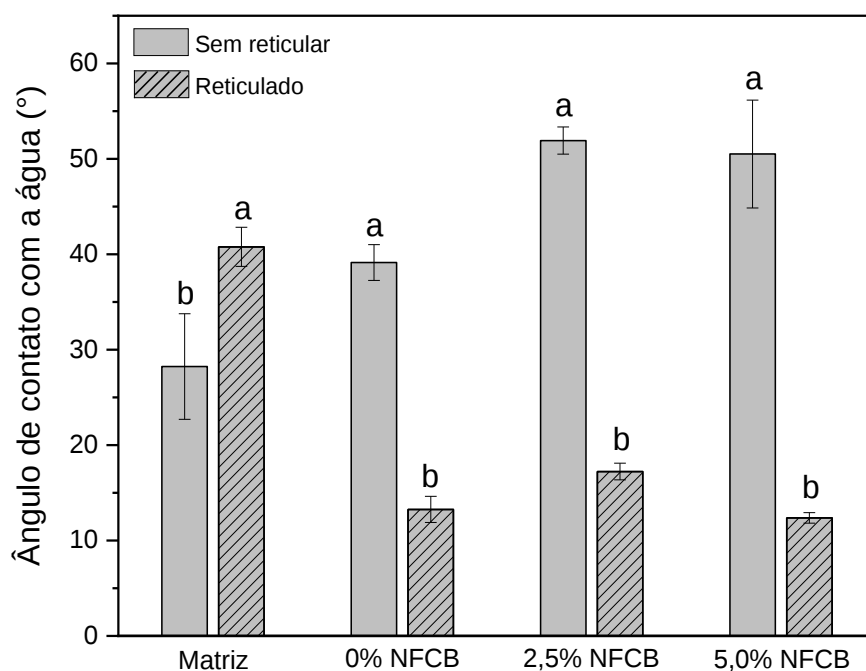


Fonte: Próprio autor.

8.3.7 Ângulo de contato com a água

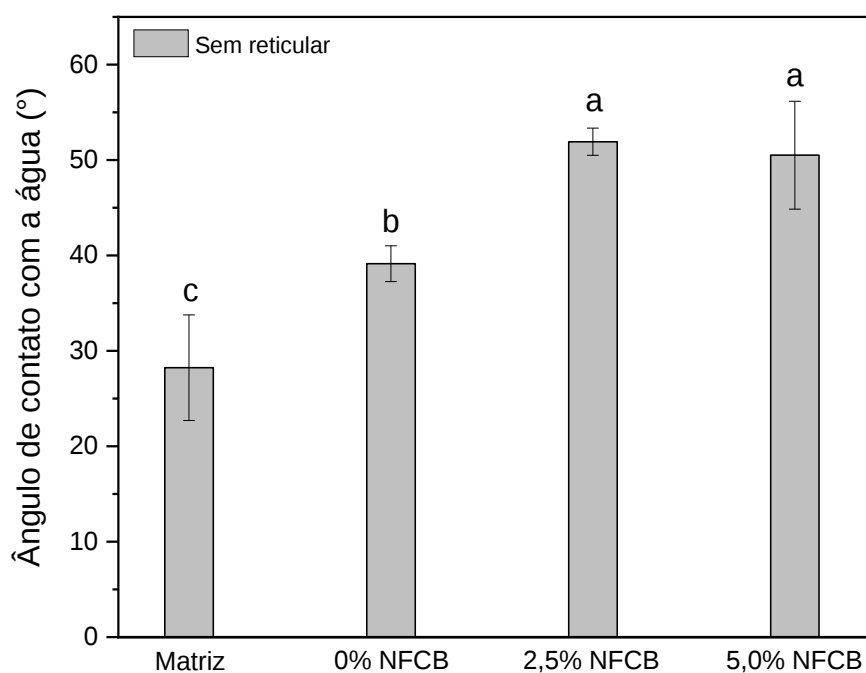
Na Figura 56 observa-se a influência da reticulação nos filmes desenvolvidos. Para a matriz, a adição do MnCl_2 aumentou 41,92% o ângulo de contato, indicando que o filme reticulado diminuiu a hidrofiliabilidade da superfície: o processo de reticulação promove a interação entre o Mn^{2+} e os grupamentos COO^- da cadeia de alginato; essa reticulação faz com que os carboxilatos não estejam livres para interagir com as moléculas de água, aumentando o ângulo de contato. Porém, quando os filmes são formulados com nanoemulsão ou nanofibras, há uma mudança nos resultados, o que dificulta a observação do processo de reticulação. No entanto, demonstram que a nanoemulsão e nanofibras, deixam a superfície mais hidrofóbica no sistema sem reticular (Figura 57).

Figura 56: Ângulo de contato com a água dos filmes nanocompósitos. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.



Fonte: Próprio autor.

Figura 57: Ângulo de contato dos filmes sem reticular. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.



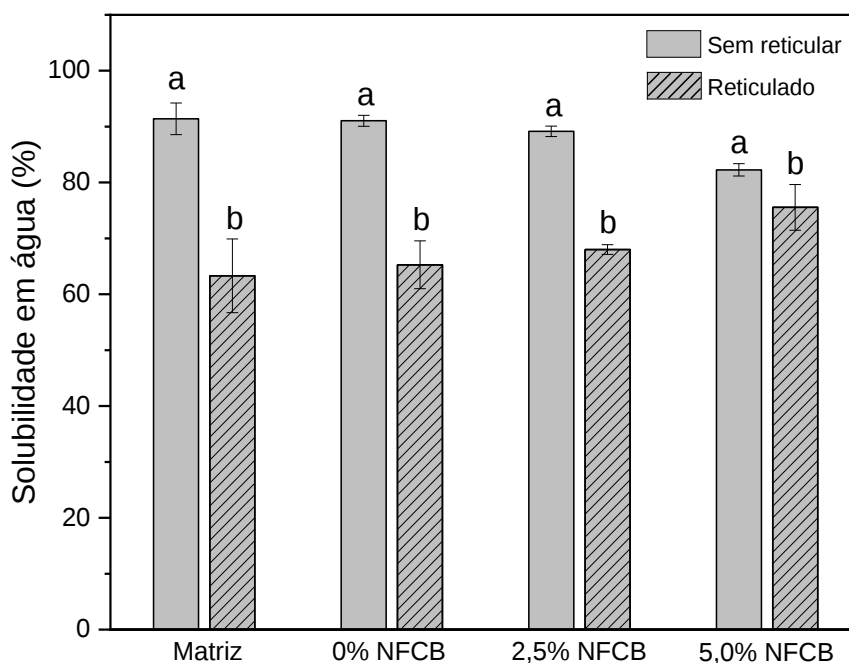
Fonte: Próprio autor.

A análise do ângulo de contato é muito sensível e qualquer modificação na superfície pode interferir nos resultados obtidos. Como discutido anteriormente na MEV, a superfície dos filmes reticulados apresentou alguns cristais que não incorporaram de forma homogênea ao longo da matriz polimérica. Além disso, ressalta-se que a análise foi realizada na superfície que foi seca em contato com o ar.

8.3.8 Solubilidade em água

O efeito da reticulação na solubilidade em água dos filmes está apresentado na Figura 58. Nos filmes não reticulados, os grupamentos carboxilatos do alginato estão livres para interagir com as moléculas de água e solubilizar. Com a adição de $MnCl_2$ como agente reticulador, a solubilidade dos filmes Matriz; 0% NFCB; 2,5% NFCB e 5,0% NFCB, diminuiu 30,75; 28,31; 23,73 e 8,14%, respectivamente. Nesse caso, a interação matriz-reticulador é mais efetiva do que matriz-água.

Figura 58: Solubilidade em água dos filmes nanocompósitos. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.

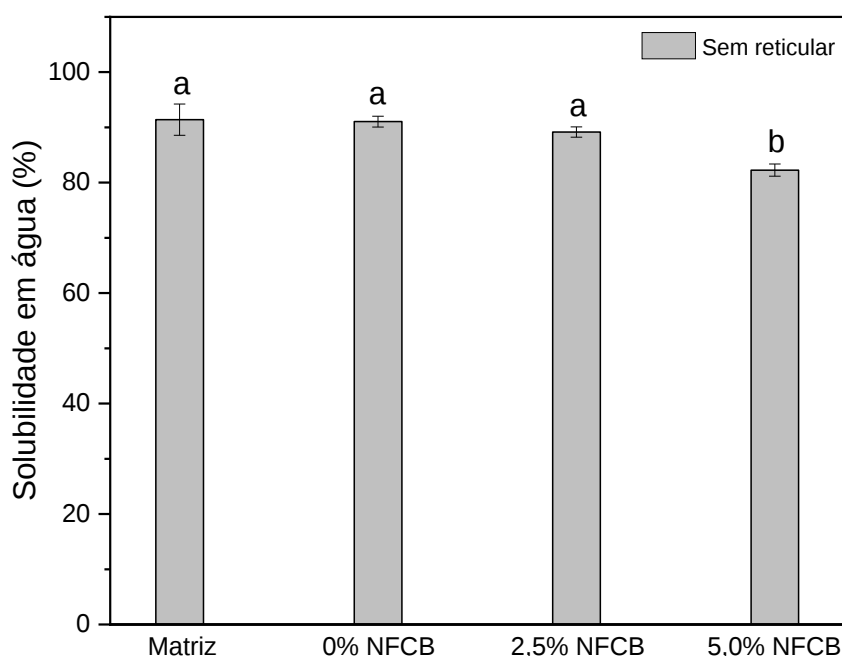


Fonte: Próprio autor.

A adição de óleo essencial e 2,5% de nanofibras não alterou a solubilidade dos filmes (Figura 59 e Figura 60). Porém, no sistema sem reticulação (Figura 59), a

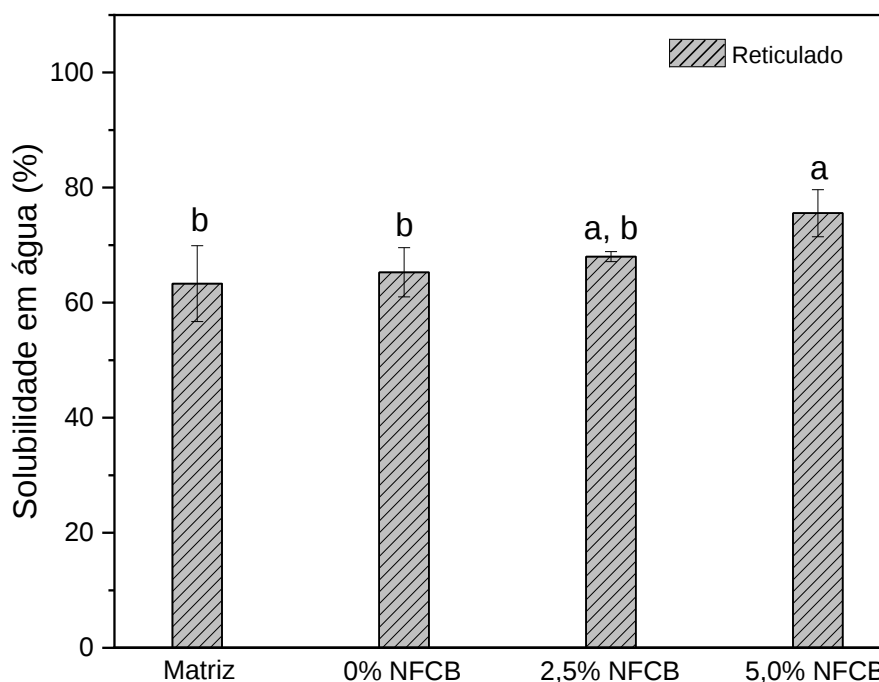
adição de 5,0% de nanofibras diminuiu 7,74% a solubilidade do filme 2,5% NFCB. Esse efeito pode estar relacionado a interação dipolo-dipolo entre a carboxila da NFCB e o hidrogênio da hidroxila do alginato, diminuindo assim a solubilidade. Além disso, acredita-se que a carboxila da NFCB pode interagir de forma não direcional com o reticulador; indicando que a oxidação mediada por TEMPO (grupos COO^- na hidroxila do C6 da celulose), melhorou a interação matriz-NFCB a partir da interação com o Mn^{2+} .

Figura 59: Solubilidade em água dos filmes sem reticular. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.



Fonte: Próprio autor.

Figura 60: Solubilidade em água dos filmes reticulados. *Médias, com seus respectivos valores de desvios padrões, seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si seguindo o teste de Tukey com nível de confiança de 95%.



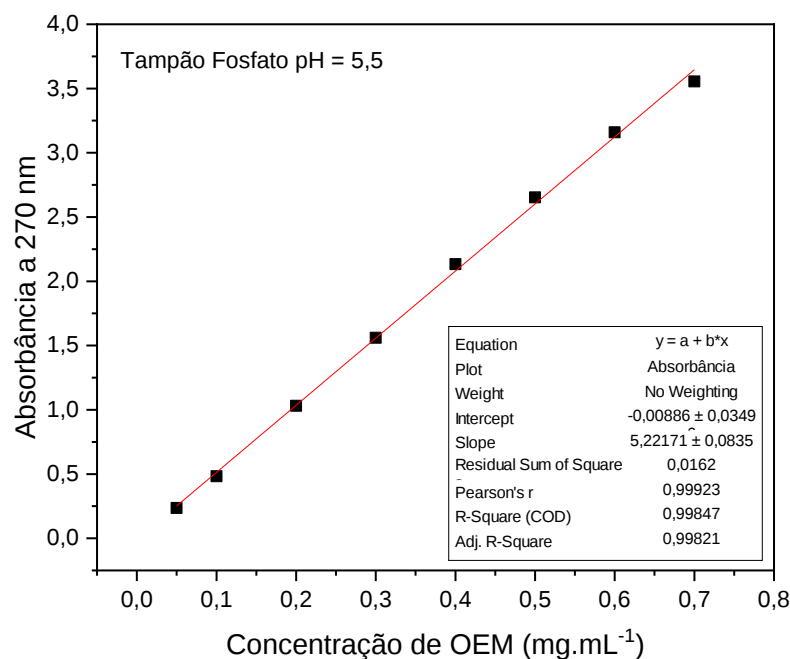
Fonte: Próprio autor.

8.3.9 Liberação de óleo essencial de melaleuca

A técnica de espectroscopia no UV-vis permitiu construir uma curva de calibração (Figura 61) para quantificar a concentração (Figura 62) e porcentagem liberada (Figura 63) de óleo essencial de melaleuca mediante condições controladas de pH, temperatura e meio de liberação.

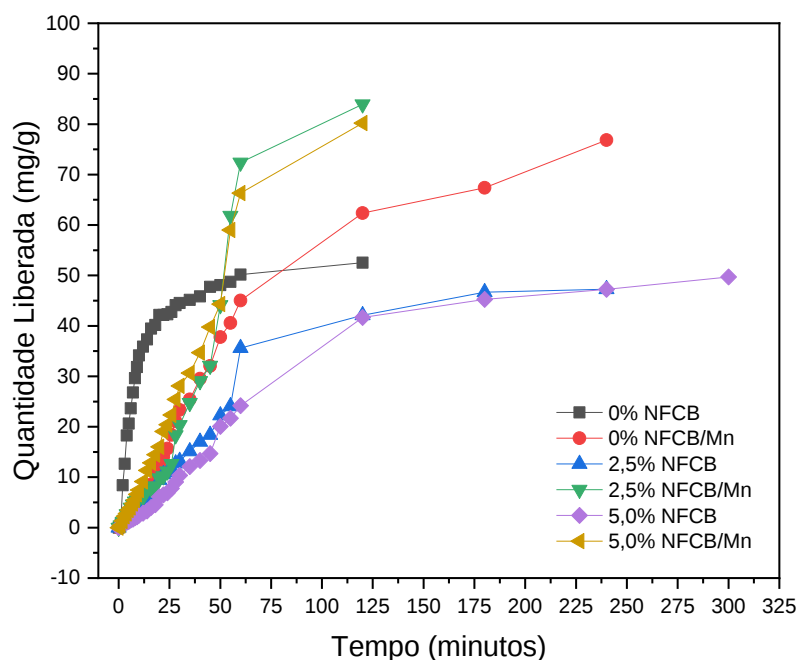
Na Figura 62 observa-se que a quantidade máxima de OEM liberada por grama de filme segue a ordem: 2,5% NFCB/Mn > 5,0% NFCB/Mn > 0% NFCB/Mn > 0% NFCB > 2,5% NFCB > 5,0% NFCB. Esse resultado indica que o processo de reticulação combinado com a adição de NFCB aprisionou mais óleo no filme no momento da produção e secagem para posterior liberação. Também é possível observar que nos primeiros 50 minutos, o filme que mais liberou óleo foi o 0% NFCB. Isso ocorre pois, quando esse filme entra em contato com o meio de liberação, se solubiliza rapidamente, liberando maior quantidade de óleo.

Figura 61: Curva de calibração do óleo essencial de melaleuca utilizando tampão fosfato pH = 5,5.



Fonte: Próprio autor.

Figura 62: Quantidade liberada de óleo essencial de melaleuca dos filmes nanocompósitos. Tempo: 0 a 300 minutos.

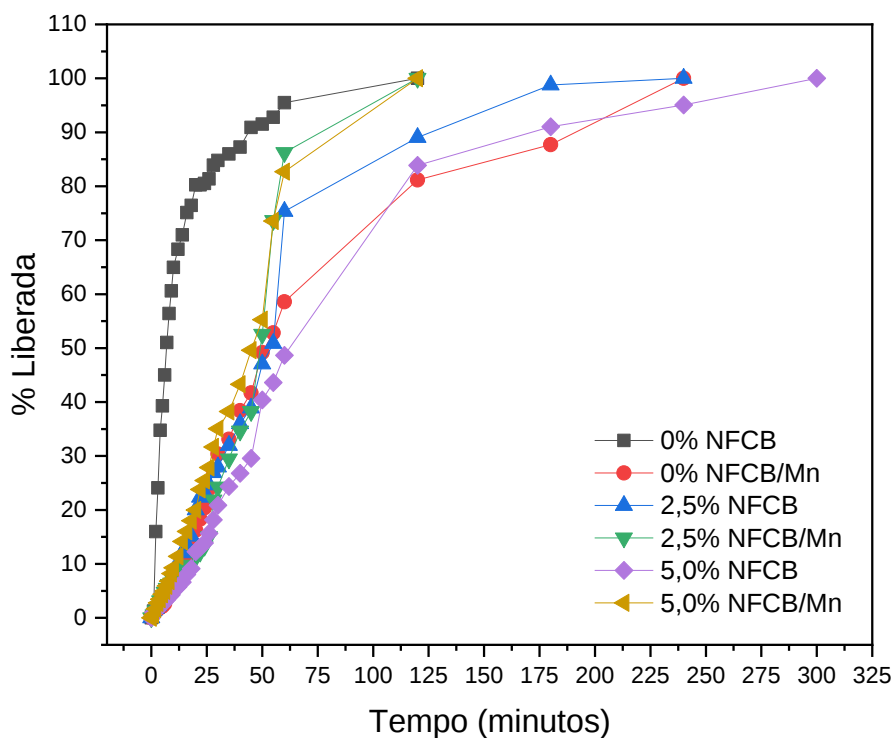


Fonte: Próprio autor.

Em relação a porcentagem de OEM liberada em função do tempo (Figura 63), o tempo necessário para liberar 100% do OEM presente em cada filme foi de 120 a

300 minutos e seguiu a ordem: 0% NFCB = 2,5% NFCB = 5,0% NFCB > 0% NFCB/Mn = 2,5% NFCB > 5,0% NFCB.

Figura 63: Porcentagem liberada de óleo essencial de melaleuca dos filmes nanocompósitos. Tempo: 0 a 300 minutos.



Fonte: Próprio autor.

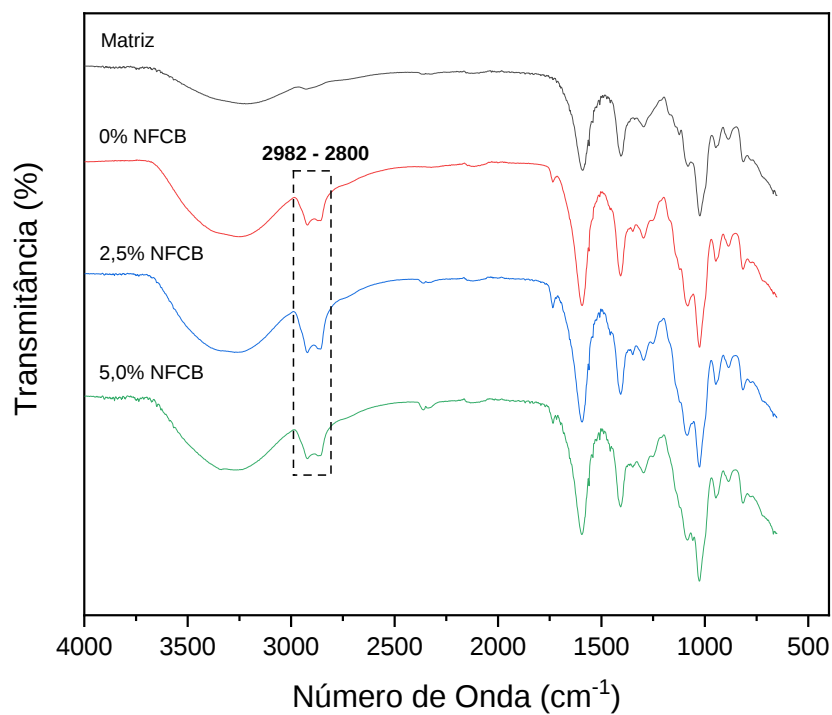
8.3.10 Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Na Figura 64 estão apresentados os espectros de FTIR para os filmes sem reticular. Para a Matriz, observa-se em 3000 a 3600 cm^{-1} uma banda larga referente ao alongamento de hidroxilas; em 1590 e 1406 cm^{-1} 2 picos evidentes atribuído ao movimento simétrico e assimétrico dos grupos carboxilatos (COO^-) das unidades ácidos α -L-gulurônicos e β -D-manurônicos. Em 1296 cm^{-1} o pico observado refere-se à deformação axial da ligação C – O do carboxilato e os picos em 1088 e 1025 cm^{-1} referem-se ao estiramento de grupamentos carbonílicos (C – OH). Além disso, os picos observados em 946 e 886 cm^{-1} são atribuídos aos grupamentos etéricos (C – O – C) presente na estrutura do alginato [152]–[154].

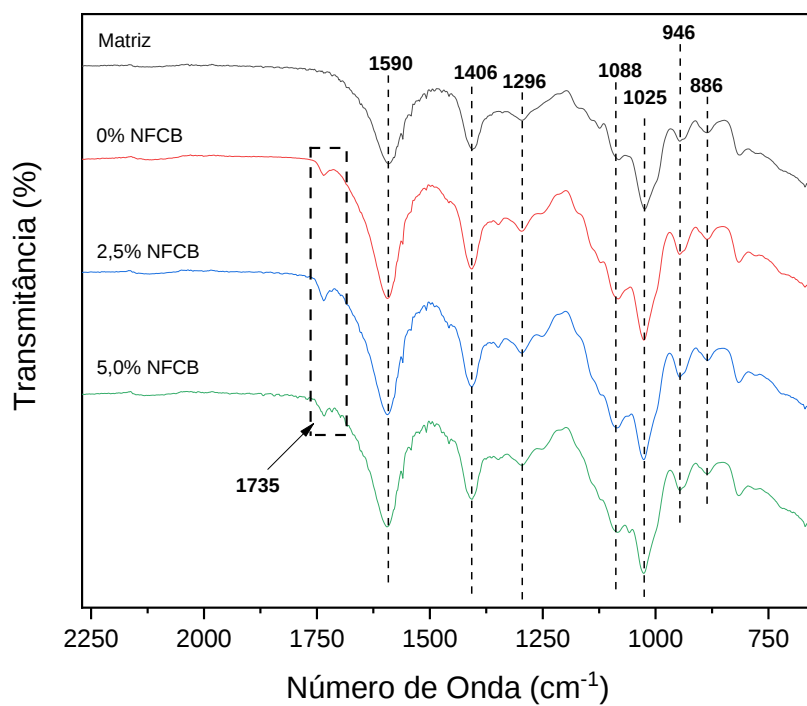
Em relação ao espectro da NFCB pura os picos/bandas espectroscópicas já foram identificados anteriormente (Figura 22). Para os filmes 0% NFCB, 2,5% NFCB e 5,0% NFCB, os espectros são similares à matriz. Deste modo, a identificação das bandas destes espectros permanece as mesmas descritas para o alginato. No entanto, é importante ressaltar que entre $2800 - 2982\text{ cm}^{-1}$, existem bandas mais evidentes que referem-se ao estiramento simétrico e assimétrico das ligações C – H do grupo alquil presente na estrutura do óleo essencial de melaleuca. Além disso, um novo pico discreto em 1735 cm^{-1} (Figura 64 (b)) pode se referir ao grupamento carbonila (C = O) e/ou as ligações C = C presentes nos principais compostos ativos do óleo e responsáveis pelas atividades inseticidas, antimicrobianas e antioxidantes. Esse comportamento demonstra que, provavelmente, ocorreu a incorporação do óleo essencial na matriz do filme [155], [156].

Para os filmes reticulados (Figura 65), os espectros apresentam picos nos mesmos números de onda dos filmes não reticulados. Portanto, mesmo que haja interação entre as carboxilas do alginato e da celulose com o reticulador Mn^{2+} , essas não são suficientemente fortes para alterar o número de onda desses picos característicos e serem detectados via FTIR.

Figura 64: Espectros de FTIR dos filmes nanocompósitos sem reticular: **(a)** 4000 a 650 cm^{-1} e **(b)** 2.270 a 650 cm^{-1} .



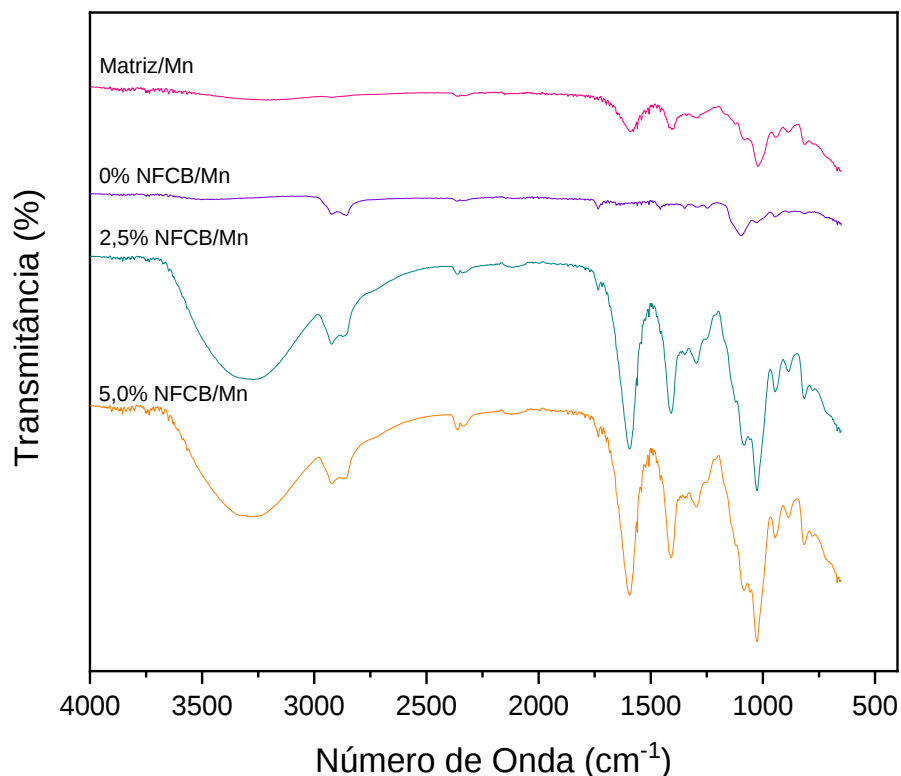
(a)



(b)

Fonte: Próprio autor.

Figura 65: Espectros de FTIR dos filmes nanocompósitos reticulados.



8.3.11 Biodegradação

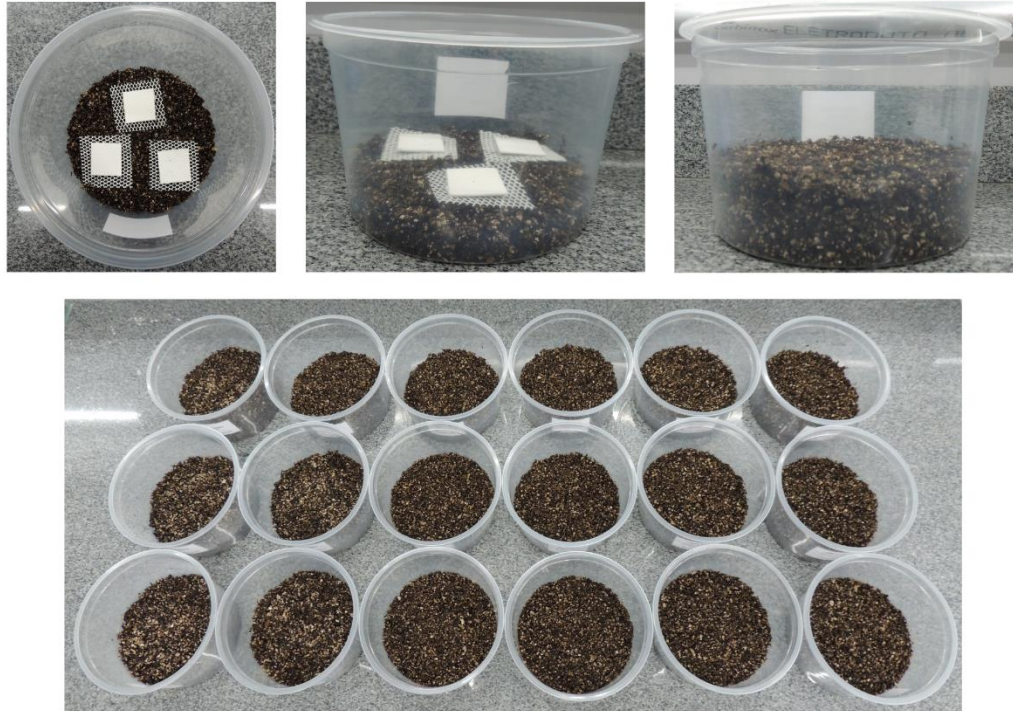
O experimento de biodegradação foi realizado com e sem malha plástica. As amostras de PEBD; Celulose; 0% NFCB; 0% NFCB/Mn; 5,0% NFCB e 5,0% NFCB/Mn foram dispostas conforme ilustra as Figura 66 e Figura 67.

Na Figura 68 é possível identificar que o filme 0% NFCB apresentou os primeiros sinais de fragmentação com 15 dias. Após 30 dias, 2 amostras desse filme tinham degradado por completo. A diferença para os demais filmes está relacionada à sua composição que não contém nanofibras e reticulador; o que facilita a quebra das ligações entre as cadeias poliméricas e ação enzimática.

Após 15 dias de biodegradação com malha plástica, os filmes foram retirados do substrato e analisados em microscópio óptico, onde foi possível identificar a presença de alguns microrganismos (Figura 69).

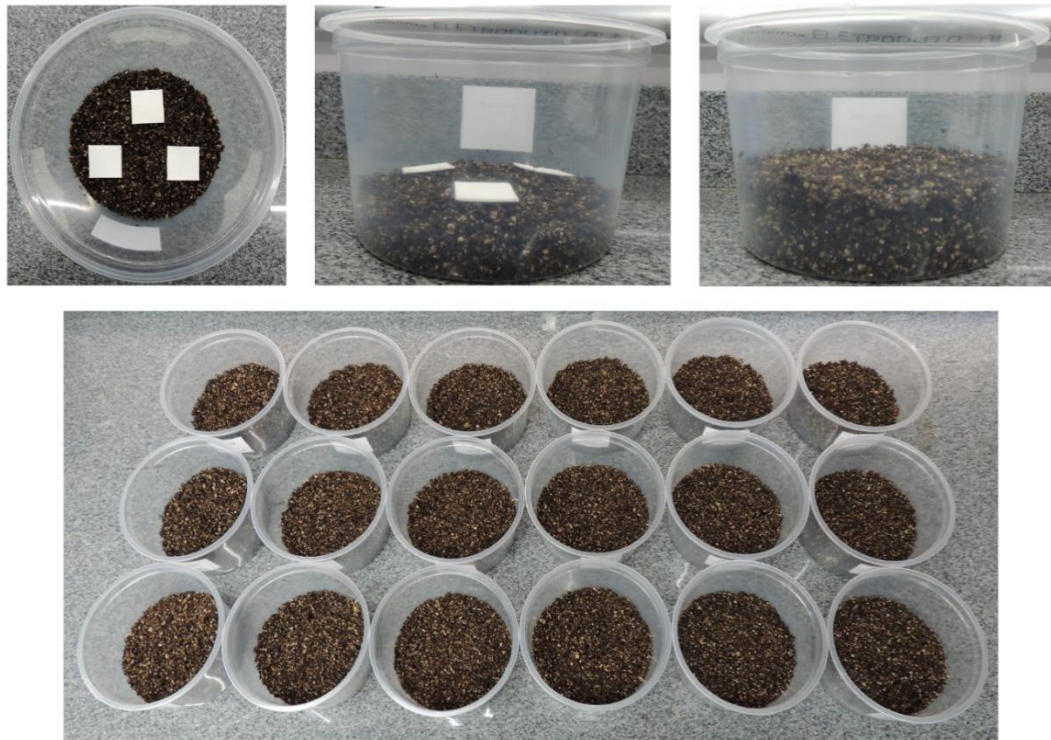
Na área sem malha plástica (simulando a biodegradação real) o filme 0% NFCB apresentou os primeiros sinais de fragmentação, sendo degradado por completo após 60 dias (Figura 70).

Figura 66: Disposição das amostras (em triplicata) e do sistema completo com malha plástica.



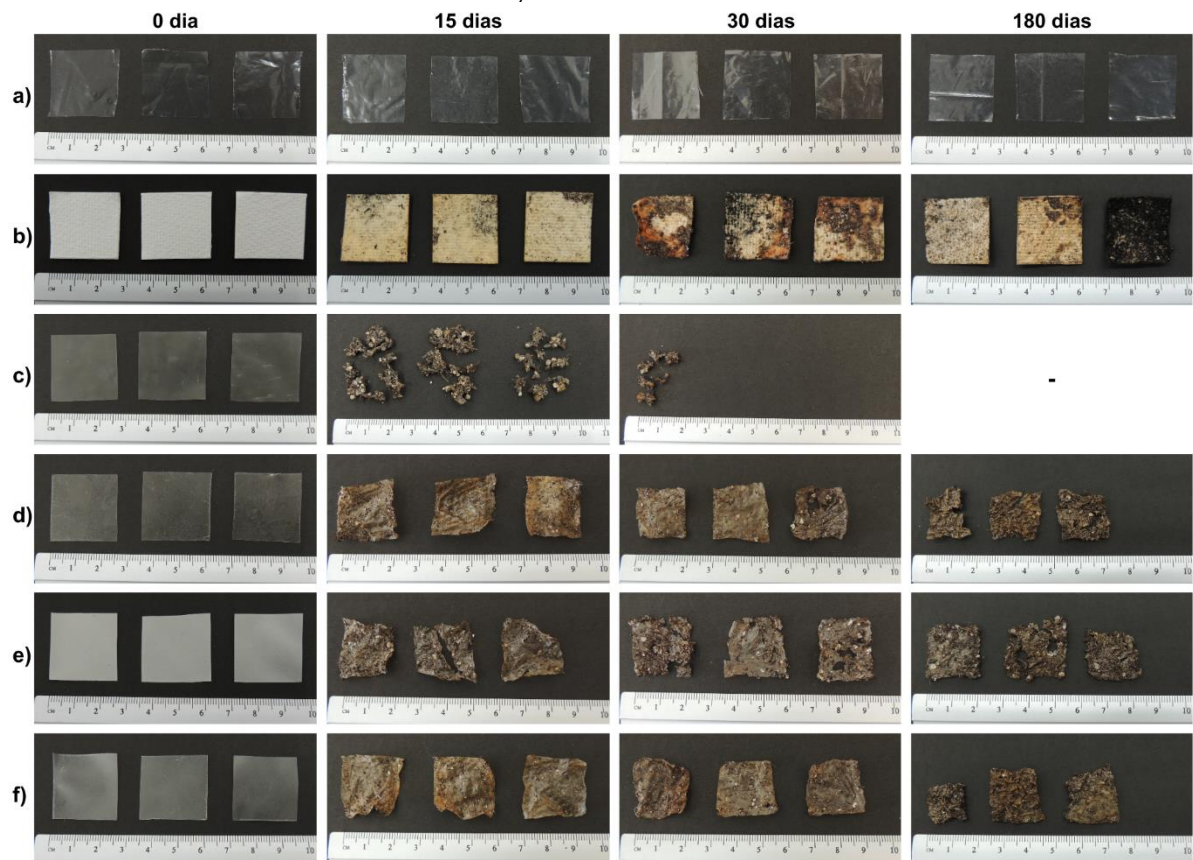
Fonte: Próprio autor.

Figura 67: Disposição das amostras (em triplicata) e do sistema completo sem malha plástica.



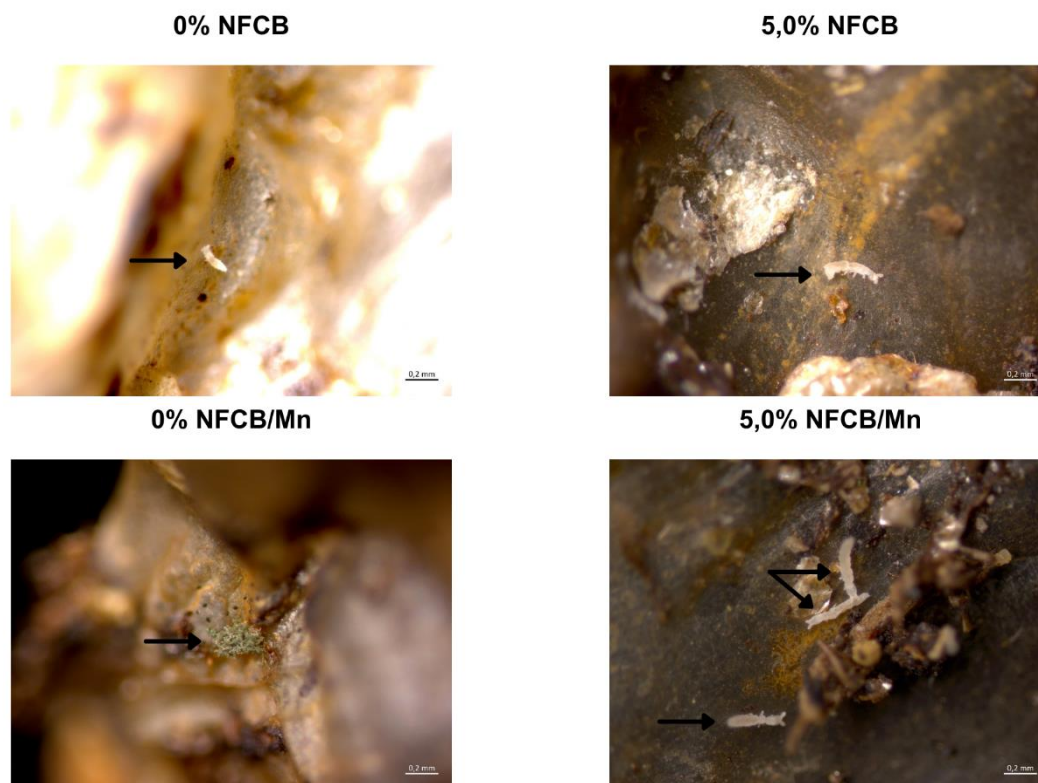
Fonte: Próprio autor.

Figura 68: Biodegradação com malha plástica no período de 0 a 180 dias para as amostras: **a)** PEBD; **b)** Celulose; **c)** 0% NFCB; **d)** 0% NFCB/Mn; **e)** 5,0% NFCB e **f)** 5,0% NFCB/Mn.



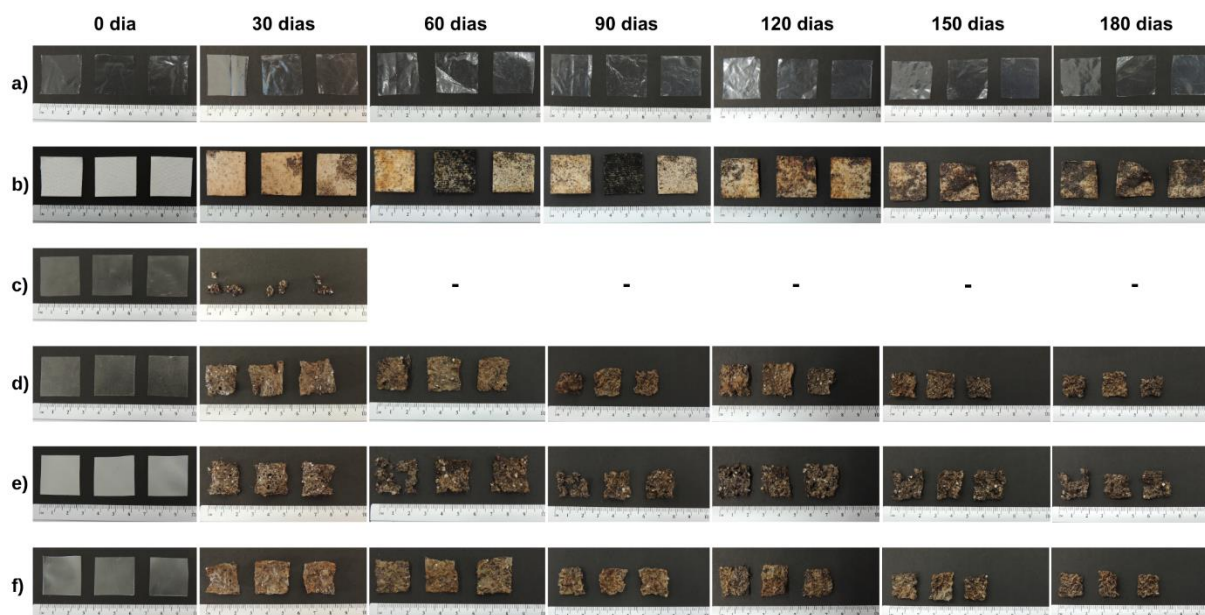
Fonte: Próprio autor.

Figura 69: Amostras após 15 dias de biodegradação em malha plástica, com aumento de 64x.



Fonte: Próprio autor.

Figura 70: Biodegradação sem malha plástica no período de 0 a 180 dias para as amostras: **a)** PEBD; **b)** Celulose; **c)** 0% NFCB; **d)** 0% NFCB/Mn; **e)** 5,0% NFCB e **f)** 5,0% NFCB/Mn.



Fonte: Próprio autor.

Durante o processo de biodegradação, os materiais podem liberar substâncias “tóxicas” que impedem a germinação de sementes e o crescimento de plantas, por exemplo. Esse possível efeito foi avaliado (Figura 71 a Figura 74) e indicou que os filmes analisados não liberam substâncias que impedem a germinação de sementes.

Figura 71: Disposição das sementes de feijão e do sistema completo no substrato em que as amostras foram degradadas durante 30 dias e germinação após 10 dias. Da esquerda para a direita: PEBD; Celulose; 0% NFCB; 0% NFCB/Mn; 5,0% NFCB; 5,0% NFCB/Mn e substrato controle.

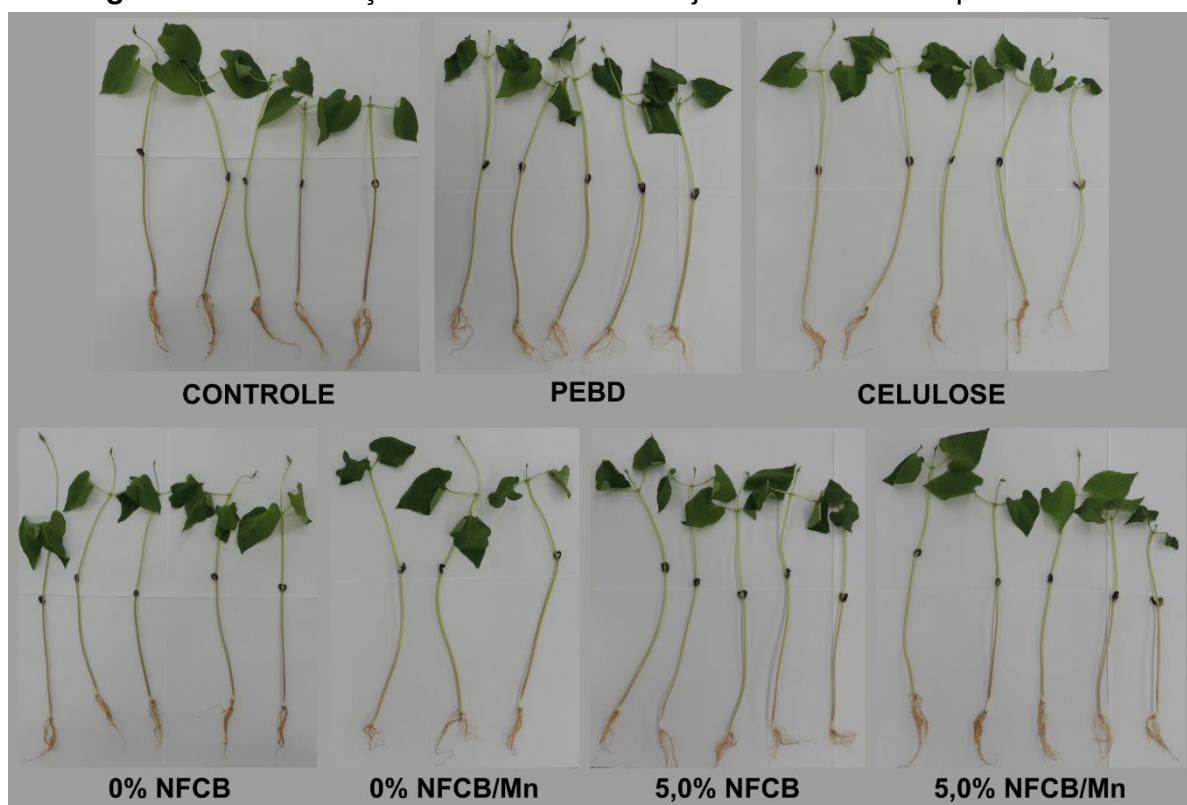


Germinação após 10 dias



Fonte: Próprio autor.

Figura 72: Germinação de sementes de feijão em substrato após 30 dias.



Fonte: Próprio autor.

Figura 73: Disposição das sementes de feijão e do sistema completo no substrato em que as amostras foram degradadas durante 180 dias e germinação após 10 dias. Da esquerda para a direita: PEBD; Celulose; 0% NFCB; 0% NFCB/Mn; 5,0% NFCB; 5,0% NFCB/Mn e substrato controle.

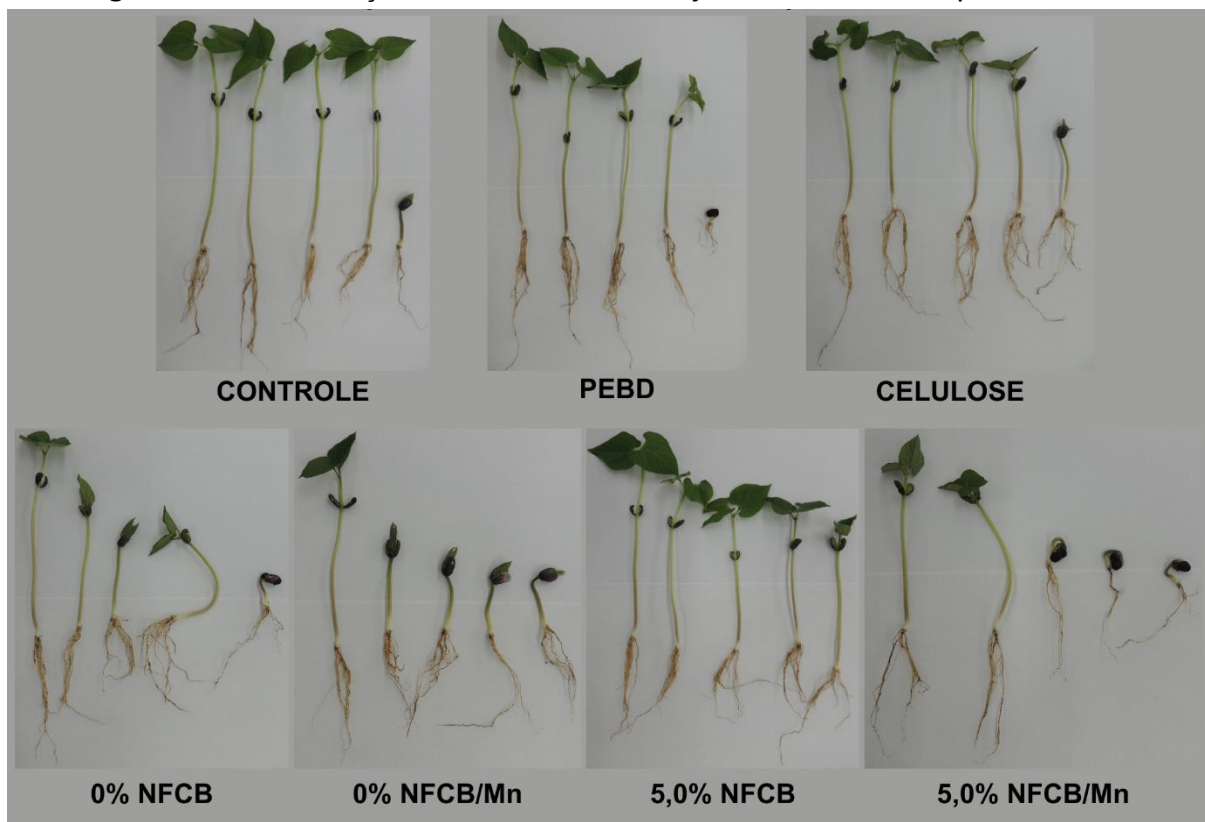


Germinação após 10 dias



Fonte: Próprio autor.

Figura 74: Germinação de sementes de feijão em substrato após 180 dias.



Fonte: Próprio autor.

8.3.12 Potencial aplicação cosmética

Os cosméticos, como definido pela ANVISA [23] são produtos utilizados em diversas partes do corpo humano, inclusive na pele. As formulações cosméticas podem incluir agentes ativos que são administrados via transdérmica. Para que um produto cosmético possa ser aplicado na pele como cosmético em filme; adesivo cosmético ou máscara facial, necessita de adesão à pele para que haja a liberação de ativos através da pele. O filme 5,0% NFCB/Mn foi disposto sob a pele úmida (Figura 75) e avaliado em aspectos sensoriais e adesão. Foi possível observar que o mesmo apresenta alta adesão à pele e flexibilidade durante a sua aplicação e após sua retirada (Figura 76).

O trabalho desenvolvido, apesar de não utilizar ensaios com pele para permeação cutânea, estudou a liberação dos compostos via UV-vis em condições ideais à pele com acne. Todos os filmes foram capazes de liberar óleo essencial em tempos propícios para tratamentos de “*skin care*”.

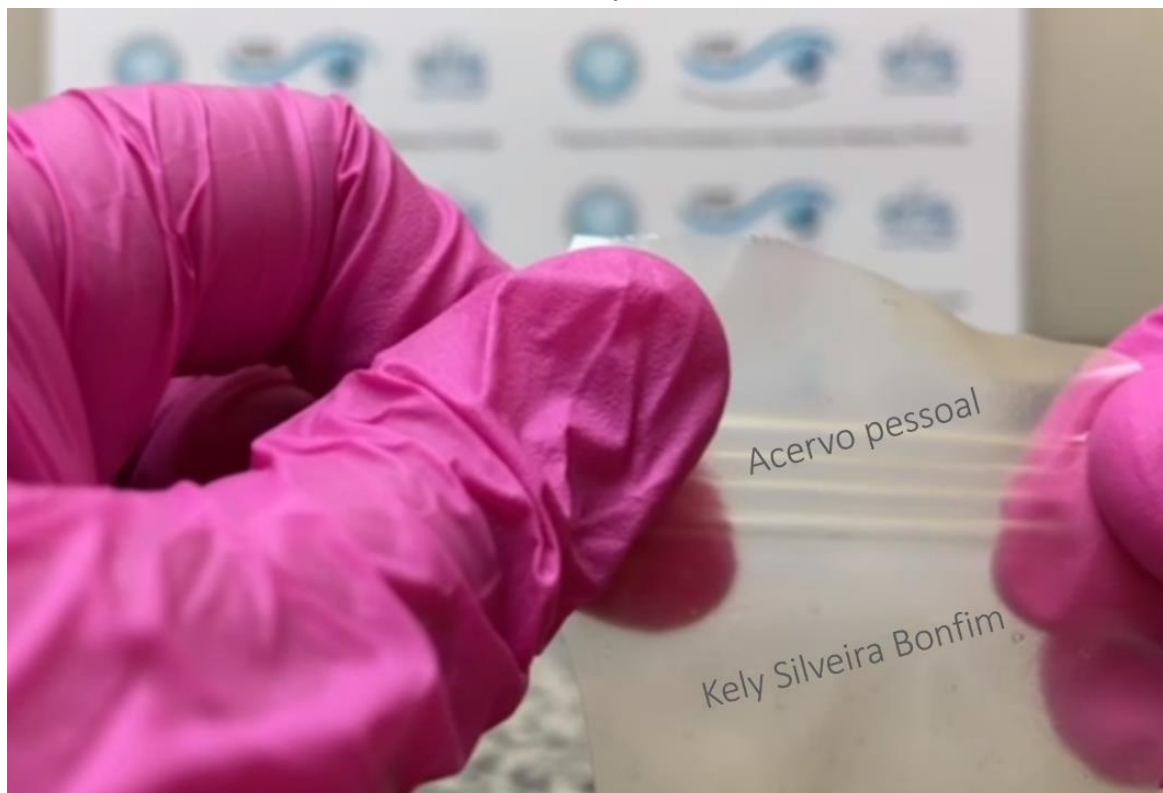
O alginato de sódio e celulose bacteriana são materiais difundidos na área cosmética (Tabela 1Tabela 3) e apresentam propriedades de absorção, o que pode favorecer a aplicação do material desenvolvido como curativo para absorção de secreções da acne, assim como o curativo para acne da Needs®; bem como em curativos em geral devido ao amplo espectro de propriedades do óleo essencial de melaleuca e versatilidade dos filmes obtidos.

Figura 75: Potencial aplicação cosmética: adesão à pele úmida e elasticidade do filme 5,0% NFCB/Mn.



Fonte: Próprio autor.

Figura 76: Potencial aplicação cosmética: elasticidade do filme 5,0% NFCB/Mn após contato com a pele úmida.



Fonte: Próprio autor.

CAPÍTULO IX: CONCLUSÃO

A análise de CIM e CBM indicou que a atividade antimicrobiana do óleo essencial de melaleuca contra *S. epidermidis* obteve os resultados mais promissores. As nanoemulsões preparadas apresentaram tamanho médio dentro da faixa nanométrica, baixo índice de PDI e boa estabilidade físico-química.

Os resultados de MET e MEV indicaram que as NFCB produzidas apresentam características de fibras emaranhadas, longas e finas; semelhantes às reportadas na literatura, com diâmetro médio de 116,07 nm. O FTIR confirmou a inserção dos grupos carboxílicos provenientes da oxidação. Além disso, a oxidação mediada por TEMPO não altera a estrutura cristalina da CB e, apesar de diminuir a estabilidade térmica, o material resultante ainda apresenta estabilidade térmica superior a alguns trabalhos da literatura.

O processo de otimização de parâmetros foi eficiente para o desenvolvimento de filmes nanocompósitos e mostrou que, a concentração de óleo essencial; tipo de reticulador; forma de incorporação das NFCB e viscosidade das SF, afetam diretamente a qualidade dos filmes obtidos.

As SF produzidas apresentaram pH próximo à pele e os filmes desenvolvidos apresentaram características que atendiam aos requisitos para serem submetidos aos ensaios de caracterização.

A técnica de MEV mostrou que a microestrutura dos filmes foi alterada após a adição de nanoemulsão, NFCB e reticulação.

As propriedades mecânicas dos filmes são satisfatórias para processos de produção, manuseabilidade e aplicabilidade.

Os resultados de WVP mostraram que adição de nanoemulsão é promissora para a aplicação em curativos.

A solubilidade em água dos filmes diminuiu após o processo de reticulação, no entanto, a adição de óleo essencial e 2,5% de nanofibras não alterou essa propriedade.

Todos os filmes produzidos liberaram OEM e, o processo de reticulação combinado com a adição de NFCB aprisionou mais óleo no filme no momento da produção e secagem para posterior liberação.

O FTIR confirmou a incorporação do óleo essencial na matriz do filme.

Os ensaios de biodegradação mostraram que o filme 0% NFCB degradou por completo após 60 dias e todos os filmes analisados são liberam substâncias que impedem a germinação de sementes.

Conclui-se que os objetivos propostos foram alcançados e os filmes desenvolvidos apresentam propriedades satisfatórias para a potencial aplicação na área cosmética. Além disso, são versáteis e promissores para a aplicação em outras áreas.

REFERÊNCIAS

- [1] Sociedade Brasileira de Cirurgia Dermatológica, “Acne O que é?” Accessed: Sep. 23, 2023. [Online]. Available: <https://www.sbcd.org.br/cirurgia-dermatologica/o-que-e-cirurgia-dermatologica/para-sua-pele/acne/>
- [2] H.-S. Hou *et al.*, “Extraction of essential oil from Citrus reticulate Blanco peel and its antibacterial activity against Cutibacterium acnes (formerly Propionibacterium acnes),” *Heliyon*, vol. 5, no. 12, p. e02947, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02947.
- [3] W. Poomanee, W. Chaiyana, M. Mueller, H. Viernstein, W. Khunkitti, and P. Leelapornpisid, “In-vitro investigation of anti-acne properties of Mangifera indica L. kernel extract and its mechanism of action against Propionibacterium acnes,” *Anaerobe*, vol. 52, pp. 64–74, Aug. 2018, doi: 10.1016/j.anaerobe.2018.05.004.
- [4] J. V. Schmitt, P. Y. Masuda, and H. A. Miot, “Acne in women: clinical patterns in different age-groups,” *An Bras Dermatol*, vol. 84, no. 4, pp. 349–354, Aug. 2009, doi: 10.1590/S0365-05962009000400005.
- [5] E. Bagatin *et al.*, “Acne vulgaris: prevalence and clinical forms in adolescents from São Paulo, Brazil,” *An Bras Dermatol*, vol. 89, no. 3, pp. 428–435, Jun. 2014, doi: 10.1590/abd1806-4841.20142100.
- [6] R. J. Hay *et al.*, “The Global Burden of Skin Disease in 2010: An Analysis of the Prevalence and Impact of Skin Conditions,” *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 134, no. 6, pp. 1527–1534, Jun. 2014, doi: 10.1038/jid.2013.446.
- [7] T. Vos *et al.*, “Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010,” *The Lancet*, vol. 380, no. 9859, pp. 2163–2196, Dec. 2012, doi: 10.1016/S0140-6736(12)61729-2.
- [8] C. J. Roman, A. S. Cifu, and S. L. Stein, “Clinical Guidelines for Management of Acne Vulgaris—Reply,” *JAMA*, vol. 317, no. 2, p. 213, Jan. 2017, doi: 10.1001/jama.2016.19280.
- [9] K. Bhate and H. C. Williams, “Epidemiology of acne vulgaris,” *British Journal of Dermatology*, vol. 168, no. 3, pp. 474–485, Mar. 2013, doi: 10.1111/bjd.12149.
- [10] R. Patel and P. Prabhu, “Nanocarriers as versatile delivery systems for effective management of acne,” *Int J Pharm*, vol. 579, p. 119140, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.119140.
- [11] F. Dall’oglio, A. Tedeschi, G. Fabbrocini, S. Veraldi, M. Picardo, and G. Micali, “Cosmetics for acne: indications and recommendations for an evidence-based approach,” *G Ital Dermatol Venereol*, vol. 150, no. 1, pp. 1–11, Feb. 2015.
- [12] H. C. Korting, C. Borelli, and C. Schöllmann, “Acne vulgaris,” *Der Hautarzt*, vol. 61, no. 2, pp. 126–131, Feb. 2010, doi: 10.1007/s00105-009-1832-z.

- [13] Market Research Report, “Cosmetics Market Size, Share and COVID 19 Impact Analysis.” Accessed: Sep. 23, 2023. [Online]. Available: <https://www.fortunebusinessinsights.com/cosmetics-market-102614>
- [14] Market Analysis Report, “Anti-acne Cosmetics Market Size.” Accessed: Sep. 23, 2023. [Online]. Available: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/anti-acne-cosmetics-market#:~:text=The%20global%20anti%20acne%20cosmetics%20market%20size%20was%20estimated%20at,USD%204.46%20billion%20in%202022.>
- [15] T. F. R. Alves *et al.*, “Applications of Natural, Semi-Synthetic, and Synthetic Polymers in Cosmetic Formulations,” *Cosmetics*, vol. 7, no. 4, p. 75, Sep. 2020, doi: 10.3390/cosmetics7040075.
- [16] J. Dias-Ferreira *et al.*, “Skin rejuvenation: Biopolymers applied to UV sunscreens and sheet masks,” in *Biopolymer Membranes and Films*, Elsevier, 2020, pp. 309–330. doi: 10.1016/B978-0-12-818134-8.00013-4.
- [17] R. P. Gawade, S. L. Chinke, and P. S. Alegaonkar, “Polymers in cosmetics,” in *Polymer Science and Innovative Applications*, Elsevier, 2020, pp. 545–565. doi: 10.1016/B978-0-12-816808-0.00017-2.
- [18] P. Severino, J. F. Fangueiro, M. V. Chaud, J. Cordeiro, A. M. Silva, and E. B. Souto, “Advances in nanobiomaterials for topical administrations: new galenic and cosmetic formulations,” in *Nanobiomaterials in Galenic Formulations and Cosmetics*, Elsevier, 2016, pp. 1–23. doi: 10.1016/B978-0-323-42868-2.00001-2.
- [19] R. Y. Lochhead, “The Role of Polymers in Cosmetics: Recent Trends,” 2007, pp. 3–56. doi: 10.1021/bk-2007-0961.ch001.
- [20] A. M. Sanfelice and M. D. C. T. Truiti, “Produtos em filme – Inovação na tecnologia de cosméticos,” *Acta Scientiarum. Health Science*, vol. 32, no. 1, Jan. 2010, doi: 10.4025/actascihealthsci.v32i1.6987.
- [21] European Union, “Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products,” *Official Journal of the European Union L*, vol. 342, 2009.
- [22] Food and Drug Administration, “Is It a Cosmetic, a Drug, or Both? (Or Is It Soap?).” Accessed: Sep. 23, 2023. [Online]. Available: <https://www.fda.gov/cosmetics/cosmetics-laws-regulations/it-cosmetic-drug-or-both-or-it-soap#Definecosmetic>
- [23] ANVISA, “RESOLUÇÃO - RDC Nº 752, DE 19 DE SETEMBRO DE 2022.” Accessed: Sep. 23, 2023. [Online]. Available: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-752-de-19-de-setembro-de-2022-430784222>
- [24] Sebastião Vicente Canevarolo Jr., *Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros*, 1st ed. São Carlos, 2002.
- [25] Raquel Mourato Silva, “Os critérios regulamentares destinados aos produtos cosméticos sustentáveis,” Faculdade de Farmácia de Lisboa, Lisboa, 2017.

- [26] J. P. G. L. Frias and R. Nash, "Microplastics: Finding a consensus on the definition," *Mar Pollut Bull*, vol. 138, pp. 145–147, Jan. 2019, doi: 10.1016/j.marpolbul.2018.11.022.
- [27] O. Missawi *et al.*, "Environmental microplastic accumulation exacerbates liver ischemia-reperfusion injury in rat: Protective effects of melatonin," *Science of The Total Environment*, vol. 860, p. 160155, Feb. 2023, doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.160155.
- [28] L. F. Amato-Lourenço, R. Carvalho-Oliveira, G. R. Júnior, L. dos Santos Galvão, R. A. Ando, and T. Mauad, "Presence of airborne microplastics in human lung tissue," *J Hazard Mater*, vol. 416, p. 126124, Aug. 2021, doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.126124.
- [29] Y. Yang *et al.*, "Detection of Various Microplastics in Patients Undergoing Cardiac Surgery," *Environ Sci Technol*, vol. 57, no. 30, pp. 10911–10918, Aug. 2023, doi: 10.1021/acs.est.2c07179.
- [30] M. F. M. Santana, L. G. Ascer, M. R. Custódio, F. T. Moreira, and A. Turra, "Microplastic contamination in natural mussel beds from a Brazilian urbanized coastal region: Rapid evaluation through bioassessment," *Mar Pollut Bull*, vol. 106, no. 1–2, pp. 183–189, May 2016, doi: 10.1016/j.marpolbul.2016.02.074.
- [31] M. Eriksen *et al.*, "Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea," *PLoS One*, vol. 9, no. 12, p. e111913, Dec. 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0111913.
- [32] C. Guerranti, T. Martellini, G. Perra, C. Scopetani, and A. Cincinelli, "Microplastics in cosmetics: Environmental issues and needs for global bans," *Environ Toxicol Pharmacol*, vol. 68, pp. 75–79, May 2019, doi: 10.1016/j.etap.2019.03.007.
- [33] M. J. Costa, A. M. Marques, L. M. Pastrana, J. A. Teixeira, S. M. Sillankorva, and M. A. Cerqueira, "Physicochemical properties of alginate-based films: Effect of ionic crosslinking and mannuronic and guluronic acid ratio," *Food Hydrocoll*, vol. 81, pp. 442–448, Aug. 2018, doi: 10.1016/j.foodhyd.2018.03.014.
- [34] C. Yadav and P. K. Maji, "Synergistic effect of cellulose nanofibres and bio-extracts for fabricating high strength sodium alginate based composite bio-sponges with antibacterial properties," *Carbohydr Polym*, vol. 203, pp. 396–408, Jan. 2019, doi: 10.1016/j.carbpol.2018.09.050.
- [35] G. A. Paula *et al.*, "Development and characterization of edible films from mixtures of κ -carrageenan, ι -carrageenan, and alginate," *Food Hydrocoll*, vol. 47, pp. 140–145, May 2015, doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.01.004.
- [36] B. Kolathupalayam Shanmugam, S. Rangaraj, K. Subramani, S. Srinivasan, W. K. Aicher, and R. Venkatachalam, "Biomimetic TiO₂-chitosan/sodium alginate blended nanocomposite scaffolds for tissue engineering applications," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 110, p. 110710, May 2020, doi: 10.1016/j.msec.2020.110710.

- [37] M. R. de Moura, F. Ahmad Aouada, S. L. Favaro, E. Radovanovic, A. Forti Rubira, and E. C. Muniz, "Release of BSA from porous matrices constituted of alginate–Ca²⁺ and PNIPAAm-interpenetrated networks," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 29, no. 8, pp. 2319–2325, Oct. 2009, doi: 10.1016/j.msec.2009.05.022.
- [38] N. Selvasudha, R. Goswami, M. Tamil Mani Subi, S. Rajesh, K. Kishore, and H. R. Vasanthi, "Seaweeds derived ulvan and alginate polysaccharides encapsulated microbeads–Alternate for plastic microbeads in exfoliating cosmetic products," *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, vol. 6, p. 100342, Dec. 2023, doi: 10.1016/j.carpta.2023.100342.
- [39] P.-S. Wu, C.-H. Lin, Y.-C. Kuo, and C.-C. Lin, "Preparation and Characterization of Organic/Inorganic Composite UV Filter Microcapsules by Sol-Gel Method," *Advances in Materials Science and Engineering*, vol. 2021, pp. 1–9, Dec. 2021, doi: 10.1155/2021/8580992.
- [40] Z. Chen *et al.*, "Fabrication and characterization of Pickering emulsions stabilized by desalted duck egg white nanogels and sodium alginate," *J Sci Food Agric*, vol. 102, no. 3, pp. 949–956, Feb. 2022, doi: 10.1002/jsfa.11427.
- [41] J. Kozłowska, B. Tyłkowski, N. Stachowiak, and W. Prus-Walendziak, "Controlling the Skin Barrier Quality through the Application of Polymeric Films Containing Microspheres with Encapsulated Plant Extract," *Processes*, vol. 8, no. 5, p. 530, Apr. 2020, doi: 10.3390/pr8050530.
- [42] Y. Zhang, J. Ma, and Q. Xu, "Polyelectrolyte complex from cationized casein and sodium alginate for fragrance controlled release," *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 178, pp. 439–444, Jun. 2019, doi: 10.1016/j.colsurfb.2019.03.017.
- [43] J. Kozłowska, W. Prus, and N. Stachowiak, "Microparticles based on natural and synthetic polymers for cosmetic applications," *Int J Biol Macromol*, vol. 129, pp. 952–956, May 2019, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.02.091.
- [44] W. Prus and J. Kozłowska, "The influence of new polymeric microbeads in peeling products on skin condition," *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, vol. 671, no. 1, pp. 140–147, Aug. 2018, doi: 10.1080/15421406.2018.1542096.
- [45] A. Dufresne, "Cellulose nanomaterial reinforced polymer nanocomposites," *Curr Opin Colloid Interface Sci*, vol. 29, pp. 1–8, May 2017, doi: 10.1016/j.cocis.2017.01.004.
- [46] Suhas, V. K. Gupta, P. J. M. Carrott, R. Singh, M. Chaudhary, and S. Kushwaha, "Cellulose: A review as natural, modified and activated carbon adsorbent," *Bioresour Technol*, vol. 216, pp. 1066–1076, Sep. 2016, doi: 10.1016/j.biortech.2016.05.106.
- [47] M. R. Moreira, "Natureza das interações celulose-água," Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009. doi: 10.11606/D.76.2009.tde-04032009-074227.
- [48] M. JOHN and S. THOMAS, "Biofibres and biocomposites," *Carbohydr Polym*, vol. 71, no. 3, pp. 343–364, Feb. 2008, doi: 10.1016/j.carbpol.2007.05.040.

- [49] C. Dalcin Zanon, "PRODUÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS: OBTENÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE DE FOLHAS DE BANANEIRA VIA OXIDAÇÃO CATALÍTICA," Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2016. doi: 10.47749/T/UNICAMP.2016.971491.
- [50] C. Gao, T. Yan, J. Du, F. He, H. Luo, and Y. Wan, "Introduction of broad spectrum antibacterial properties to bacterial cellulose nanofibers via immobilising ϵ -polylysine nanocoatings," *Food Hydrocoll*, vol. 36, pp. 204–211, May 2014, doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.09.015.
- [51] M. U. Islam, M. W. Ullah, S. Khan, N. Shah, and J. K. Park, "Strategies for cost-effective and enhanced production of bacterial cellulose," *Int J Biol Macromol*, vol. 102, pp. 1166–1173, Sep. 2017, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.04.110.
- [52] A. J. Brown, "XLIII.—On an acetic ferment which forms cellulose," *J. Chem. Soc., Trans.*, vol. 49, no. 0, pp. 432–439, 1886, doi: 10.1039/CT8864900432.
- [53] D. Zmejkoski *et al.*, "Bacterial cellulose-lignin composite hydrogel as a promising agent in chronic wound healing," *Int J Biol Macromol*, vol. 118, pp. 494–503, Oct. 2018, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.06.067.
- [54] R. M. Viana, N. M. S. M. Sá, M. O. Barros, M. de F. Borges, and H. M. C. Azeredo, "Nanofibrillated bacterial cellulose and pectin edible films added with fruit purees," *Carbohydr Polym*, vol. 196, pp. 27–32, Sep. 2018, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2018.05.017.
- [55] N. Sriplai, W. Mongkolthanaruk, S. J. Eichhorn, and S. Pinitsoontorn, "Magnetically responsive and flexible bacterial cellulose membranes," *Carbohydr Polym*, vol. 192, pp. 251–262, Jul. 2018, doi: 10.1016/j.carbpol.2018.03.072.
- [56] N. F. Vasconcelos *et al.*, "Bacterial cellulose nanocrystals produced under different hydrolysis conditions: Properties and morphological features," *Carbohydr Polym*, vol. 155, pp. 425–431, Jan. 2017, doi: 10.1016/j.carbpol.2016.08.090.
- [57] R. Du, F. Zhao, Q. Peng, Z. Zhou, and Y. Han, "Production and characterization of bacterial cellulose produced by *Gluconacetobacter xylinus* isolated from Chinese persimmon vinegar," *Carbohydr Polym*, vol. 194, pp. 200–207, Aug. 2018, doi: 10.1016/j.carbpol.2018.04.041.
- [58] A. F. Jozala *et al.*, "Bacterial nanocellulose production and application: a 10-year overview," *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 100, no. 5, pp. 2063–2072, Mar. 2016, doi: 10.1007/s00253-015-7243-4.
- [59] V. Revin, E. Liyaskina, M. Nazarkina, A. Bogatyreva, and M. Shchankin, "Cost-effective production of bacterial cellulose using acidic food industry by-products," *Brazilian Journal of Microbiology*, vol. 49, pp. 151–159, Nov. 2018, doi: 10.1016/j.bjm.2017.12.012.

- [60] P. Boonme, Amnuaikit, Chusuit, and Raknam, "Effects of a cellulose mask synthesized by a bacterium on facial skin characteristics and user satisfaction," *Medical Devices: Evidence and Research*, p. 77, Jun. 2011, doi: 10.2147/MDER.S20935.
- [61] Y. Numata, S. Yoshihara, and H. Kono, "In situ formation and post-formation treatment of bacterial cellulose/k-carrageenan composite pellicles," *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, vol. 2, p. 100059, Dec. 2021, doi: 10.1016/j.carpta.2021.100059.
- [62] D. Martins, C. Rocha, F. Dourado, and M. Gama, "Bacterial Cellulose-Carboxymethyl Cellulose (BC:CMC) dry formulation as stabilizer and texturizing agent for surfactant-free cosmetic formulations," *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, vol. 617, p. 126380, May 2021, doi: 10.1016/j.colsurfa.2021.126380.
- [63] G. Pacheco *et al.*, "Bacterial cellulose skin masks—Properties and sensory tests," *J Cosmet Dermatol*, vol. 17, no. 5, pp. 840–847, Oct. 2018, doi: 10.1111/jocd.12441.
- [64] Y. Numata, L. Mazzarino, and R. Borsali, "A slow-release system of bacterial cellulose gel and nanoparticles for hydrophobic active ingredients," *Int J Pharm*, vol. 486, no. 1–2, pp. 217–225, May 2015, doi: 10.1016/j.ijpharm.2015.03.068.
- [65] K.-Y. Lee, G. Buldum, A. Mantalaris, and A. Bismarck, "More Than Meets the Eye in Bacterial Cellulose: Biosynthesis, Bioprocessing, and Applications in Advanced Fiber Composites," *Macromol Biosci*, vol. 14, no. 1, pp. 10–32, Jan. 2014, doi: 10.1002/mabi.201300298.
- [66] H. M. C. Azeredo, M. F. Rosa, and L. H. C. Mattoso, "Nanocellulose in bio-based food packaging applications," *Ind Crops Prod*, vol. 97, pp. 664–671, Mar. 2017, doi: 10.1016/j.indcrop.2016.03.013.
- [67] Y. Jia, M. Zheng, Q. Xu, and C. Zhong, "Rheological behaviors of Pickering emulsions stabilized by TEMPO-oxidized bacterial cellulose," *Carbohydr Polym*, vol. 215, pp. 263–271, Jul. 2019, doi: 10.1016/j.carbpol.2019.03.073.
- [68] S. Elayaraja, K. Zagorsek, F. Li, and J. Xiang, "In situ synthesis of silver nanoparticles into TEMPO-mediated oxidized bacterial cellulose and their antivibriocidal activity against shrimp pathogens," *Carbohydr Polym*, vol. 166, pp. 329–337, Jun. 2017, doi: 10.1016/j.carbpol.2017.02.093.
- [69] A. Ahmad, I. L. Elisha, S. van Vuuren, and A. Viljoen, "Volatile phenolics: A comprehensive review of the anti-infective properties of an important class of essential oil constituents," *Phytochemistry*, vol. 190, p. 112864, Oct. 2021, doi: 10.1016/j.phytochem.2021.112864.
- [70] J. Liang *et al.*, "Essential oils: Chemical constituents, potential neuropharmacological effects and aromatherapy - A review," *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*, vol. 6, p. 100210, Mar. 2023, doi: 10.1016/j.prmcm.2022.100210.

- [71] F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, and M. Idaomar, "Biological effects of essential oils – A review," *Food and Chemical Toxicology*, vol. 46, no. 2, pp. 446–475, Feb. 2008, doi: 10.1016/j.fct.2007.09.106.
- [72] W. J. Winkelman, "Aromatherapy, botanicals, and essential oils in acne," *Clin Dermatol*, vol. 36, no. 3, pp. 299–305, May 2018, doi: 10.1016/j.clindermatol.2018.03.004.
- [73] N. M. Badawi, R. M. Yehia, C. Lamie, K. A. Abdelrahman, D. A. Attia, and D. A. Helal, "Tackling acne vulgaris by fabrication of tazarotene-loaded essential oil-based microemulsion: In vitro and in vivo evaluation," *Int J Pharm X*, vol. 5, p. 100185, Dec. 2023, doi: 10.1016/j.ijpx.2023.100185.
- [74] H.-S. Hou *et al.*, "Extraction of essential oil from Citrus reticulate Blanco peel and its antibacterial activity against Cutibacterium acnes (formerly Propionibacterium acnes)," *Heliyon*, vol. 5, no. 12, p. e02947, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02947.
- [75] M. E. El-Naggar, A. M. Abdelgawad, R. Abdel-Sattar, A. A. Gibriel, and B. A. Hemdan, "Potential antimicrobial and antibiofilm efficacy of essential oil nanoemulsion loaded polycaprolactone nanofibrous dermal patches," *Eur Polym J*, vol. 184, p. 111782, Feb. 2023, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2022.111782.
- [76] L. Orafidiya, "The effect of aloe vera gel on the anti-acne properties of the essential oil of Ocimum gratissimum Linn leaf – a preliminary clinical investigation," *International Journal of Aromatherapy*, vol. 14, no. 1, pp. 15–21, 2004, doi: 10.1016/j.ijat.2003.12.005.
- [77] B. Ghosh, D. Bhattacharya, and M. Mukhopadhyay, "A hydrogel sheet mask with tea tree essential oil entrapment and targeted dose delivery capability," *Mater Today Proc*, vol. 57, pp. 77–83, 2022, doi: 10.1016/j.matpr.2022.01.349.
- [78] K. S. Misar, S. B. Kulkarni, and W. B. Gurnule, "Formulation and evaluation of antiacne cream by using Clove oil," *Mater Today Proc*, vol. 29, pp. 1251–1258, 2020, doi: 10.1016/j.matpr.2020.06.106.
- [79] A. Miglani and R. K. Manchanda, "Evaluation of lappa arctium and zingiber officinale in treatment of acne vulgaris," *La Revue d'Homéopathie*, vol. 5, no. 2, p. 90, Jun. 2014, doi: 10.1016/j.revhom.2014.04.030.
- [80] B. O. Rieder, "Consumer exposure to certain ingredients of cosmetic products: The case for tea tree oil," *Food and Chemical Toxicology*, vol. 108, pp. 326–338, Oct. 2017, doi: 10.1016/j.fct.2017.08.012.
- [81] A. Calcabrini *et al.*, "Terpinen-4-ol, The Main Component of Melaleuca Alternifolia (Tea Tree) Oil Inhibits the In Vitro Growth of Human Melanoma Cells," *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 122, no. 2, pp. 349–360, Feb. 2004, doi: 10.1046/j.0022-202X.2004.22236.x.

- [82] K. A. Hammer, "Treatment of acne with tea tree oil (melaleuca) products: A review of efficacy, tolerability and potential modes of action," *Int J Antimicrob Agents*, vol. 45, no. 2, pp. 106–110, Feb. 2015, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2014.10.011.
- [83] N. Pazyar, R. Yaghoobi, N. Bagherani, and A. Kazerouni, "A review of applications of tea tree oil in dermatology," *Int J Dermatol*, vol. 52, no. 7, pp. 784–790, Jul. 2013, doi: 10.1111/j.1365-4632.2012.05654.x.
- [84] V. G. A. Pires and M. R. de Moura, "Preparação de novos filmes poliméricos contendo nanoemulsões do óleo de melaleuca, copaíba e limão para aplicação como biomaterial," *Quim Nova*, vol. 40, no. 1, pp. 1–5, 2017, doi: 10.21577/0100-4042.20160130.
- [85] P. Fernandez, V. André, J. Rieger, and A. Kühnle, "Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion," *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, vol. 251, no. 1–3, pp. 53–58, Dec. 2004, doi: 10.1016/j.colsurfa.2004.09.029.
- [86] C. G. Otoni *et al.*, "Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films," *Food Hydrocoll*, vol. 41, pp. 188–194, 2014, doi: 10.1016/j.foodhyd.2014.04.013.
- [87] H. Zhang, Y. Liu, B. Yuan, W. Wang, Y. Jin, and X. Wei, "Alkaline tea tree oil nanoemulsion nebulizers for the treatment of pneumonia induced by drug-resistant *Acinetobacter baumannii*," *J Drug Deliv Sci Technol*, vol. 79, Jan. 2023, doi: 10.1016/j.jddst.2022.104047.
- [88] N. E. M. Taktak, M. E. I. Badawy, O. M. Awad, and N. E. Abou El-Ela, "Nanoemulsions containing some plant essential oils as promising formulations against *Culex pipiens* (L.) larvae and their biochemical studies," *Pestic Biochem Physiol*, vol. 185, Jul. 2022, doi: 10.1016/j.pestbp.2022.105151.
- [89] S. Vaijayanthi, S. Ranjani, and S. Hemalatha, "Comparison of myconanoparticles and myconanoemulsion incorporated biomaterials in controlling multidrug-resistant bacterial pathogens," *J Environ Chem Eng*, vol. 11, no. 3, Jun. 2023, doi: 10.1016/j.jece.2023.109672.
- [90] S. M. Wei *et al.*, "Characterization of tea tree oil nanoemulsion and its acute and subchronic toxicity," *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 124, Aug. 2021, doi: 10.1016/j.yrtph.2021.104999.
- [91] A. S. PORTO, "DESENVOLVIMENTO DE NANOEMULSÃO O/A A BASE DE ÓLEO DE COPAÍBA, INCOPORADAS COM NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS DE ZINCO," Universidade de Brasília, Brasília, 2015.
- [92] P. A. da Rocha Filho, "Desenvolvimento de nanoemulsões à base de óleo de maracujá (*Passiflora edulis*) e óleo essencial de lavanda (*Lavandula officinalis*) e avaliação da atividade antiinflamatória tópica," Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

- [93] Y.-K. Oh *et al.*, "Skin permeation of retinol in Tween 20-based deformable liposomes: in-vitro evaluation in human skin and keratinocyte models," *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 58, no. 2, pp. 161–166, Feb. 2010, doi: 10.1211/jpp.58.2.0002.
- [94] R. Pathania, A. Najda, P. Chawla, R. Kaushik, and M. A. Khan, "Low-energy assisted sodium alginate stabilized Phyllanthus niruri extract nanoemulsion: Characterization, in vitro antioxidant and antimicrobial application," *Biotechnology Reports*, vol. 33, Mar. 2022, doi: 10.1016/j.btre.2022.e00711.
- [95] M. Gehrcke, T. de Bastos Brum, L. S. da Rosa, B. D. Ilha, F. Z. M. Soares, and L. Cruz, "Incorporation of nanocapsules into gellan gum films: A strategy to improve the stability and prolong the cutaneous release of silibinin," *Materials Science and Engineering C*, vol. 119, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.msec.2020.111624.
- [96] E. P. Pinto, R. P. Menezes, M. A. Pires, R. R. M. Zamora, R. S. Araújo, and T. M. de Souza, "Comparing the nanoscale topography and interface properties of chitosan films containing free and nano-encapsulated copaiba essential oil: An atomic force microscopy (AFM) and Fractal Geometry study," *Mater Today Commun*, vol. 35, Jun. 2023, doi: 10.1016/j.mtcomm.2023.105765.
- [97] R. Q. Assis, S. M. Lopes, T. M. H. Costa, S. H. Flôres, and A. de O. Rios, "Active biodegradable cassava starch films incorporated lycopene nanocapsules," *Ind Crops Prod*, vol. 109, pp. 818–827, Dec. 2017, doi: 10.1016/j.indcrop.2017.09.043.
- [98] T. Saito, S. Kimura, Y. Nishiyama, and A. Isogai, "Cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation of native cellulose," *Biomacromolecules*, vol. 8, no. 8, pp. 2485–2491, Aug. 2007, doi: 10.1021/BM0703970/ASSET/IMAGES/LARGE/BM0703970F00010.JPEG.
- [99] E. Nascimento, "FILMES NANOCOMPÓSITOS À BASE DE CELULOSE BACTERIANA E NANOCRISTAIS DE CELULOSE," UFC, Ceará, 2018.
- [100] M. R. Fischer, M. C. F. Garcia, A. L. Nogueira, L. M. Porto, A. L. dos S. Schneider, and A. P. T. Pezzin, "Biossíntese e caracterização de nanocelulose bacteriana para engenharia de tecidos," *Revista Materia*, vol. 22, 2017, doi: 10.1590/s1517-707620170005.0270.
- [101] L. R. Lima *et al.*, "NANOCRISTAIS DE CELULOSE A PARTIR DE CELULOSE BACTERIANA."
- [102] L. Segal, J. J. Creely, A. E. Martin, and C. M. Conrad, "An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer," 1952.
- [103] Nunes; Tiago F. G, "PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE NANOFIBRAS DE CELULOSE," Universidade de Coimbra, Coimbra, 2014.

- [104] Z. Liu, D. Lin, P. Lopez-Sanchez, and X. Yang, "Characterizations of bacterial cellulose nanofibers reinforced edible films based on konjac glucomannan," *Int J Biol Macromol*, vol. 145, pp. 634–645, Feb. 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.12.109.
- [105] X. Zhai, D. Lin, D. Liu, and X. Yang, "Emulsions stabilized by nanofibers from bacterial cellulose: New potential food-grade Pickering emulsions," *Food Research International*, vol. 103, pp. 12–20, Jan. 2018, doi: 10.1016/j.foodres.2017.10.030.
- [106] A. Isogai, T. Saito, and H. Fukuzumi, "TEMPO-oxidized cellulose nanofibers," *Nanoscale*, vol. 3, no. 1, pp. 71–85, Jan. 2011, doi: 10.1039/c0nr00583e.
- [107] Y. Chen, S. Chen, B. Wang, J. Yao, and H. Wang, "TEMPO-oxidized bacterial cellulose nanofibers-supported gold nanoparticles with superior catalytic properties," *Carbohydr Polym*, vol. 160, pp. 34–42, Mar. 2017, doi: 10.1016/j.carbpol.2016.12.020.
- [108] H. Luo *et al.*, "Characterization of TEMPO-oxidized bacterial cellulose scaffolds for tissue engineering applications," *Mater Chem Phys*, vol. 143, no. 1, pp. 373–379, Dec. 2013, doi: 10.1016/j.matchemphys.2013.09.012.
- [109] C. N. Wu *et al.*, "TEMPO-Oxidized Bacterial Cellulose Pellicle with Silver Nanoparticles for Wound Dressing," *Biomacromolecules*, vol. 19, no. 2, pp. 544–554, Feb. 2018, doi: 10.1021/acs.biomac.7b01660.
- [110] L. Li, Y. Chen, T. Yu, N. Wang, C. Wang, and H. Wang, "Preparation of polylactic acid/TEMPO-oxidized bacterial cellulose nanocomposites for 3D printing via Pickering emulsion approach," *Composites Communications*, vol. 16, pp. 162–167, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.coco.2019.10.004.
- [111] Y. N. Yang, K. Y. Lu, P. Wang, Y. C. Ho, M. L. Tsai, and F. L. Mi, "Development of bacterial cellulose/chitin multi-nanofibers based smart films containing natural active microspheres and nanoparticles formed in situ," *Carbohydr Polym*, vol. 228, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.carbpol.2019.115370.
- [112] N. Zhang, G. L. Zang, C. Shi, H. Q. Yu, and G. P. Sheng, "A novel adsorbent TEMPO-mediated oxidized cellulose nanofibrils modified with PEI: Preparation, characterization, and application for Cu(II) removal," *J Hazard Mater*, vol. 316, pp. 11–18, Oct. 2016, doi: 10.1016/j.jhazmat.2016.05.018.
- [113] J. Ye *et al.*, "Preparation of bacterial cellulose-based antibacterial membranes with prolonged release of drugs: Emphasis on the chemical structure of drugs," *Carbohydr Polym*, p. 121379, Sep. 2023, doi: 10.1016/j.carbpol.2023.121379.
- [114] T. Saito and A. Isogai, "TEMPO-mediated oxidation of native cellulose. The effect of oxidation conditions on chemical and crystal structures of the water-insoluble fractions," *Biomacromolecules*, vol. 5, no. 5, pp. 1983–1989, Sep. 2004, doi: 10.1021/BM0497769/ASSET/IMAGES/LARGE/BM0497769F00009.JPEG.

- [115] N. F. Vasconcelos *et al.*, “Papain immobilization on heterofunctional membrane bacterial cellulose as a potential strategy for the debridement of skin wounds,” *Int J Biol Macromol*, vol. 165, pp. 3065–3077, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.10.200.
- [116] T. Jayani, B. Sanjeev, S. Marimuthu, and S. Uthandi, “Bacterial Cellulose Nano Fiber (BCNF) as carrier support for the immobilization of probiotic, *Lactobacillus acidophilus* 016,” *Carbohydr Polym*, vol. 250, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116965.
- [117] H. Fukuzumi, T. Saito, Y. Okita, and A. Isogai, “Thermal stabilization of TEMPO-oxidized cellulose,” *Polym Degrad Stab*, vol. 95, no. 9, pp. 1502–1508, Sep. 2010, doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2010.06.015.
- [118] Y. Wen *et al.*, “Development of intelligent/active food packaging film based on TEMPO-oxidized bacterial cellulose containing thymol and anthocyanin-rich purple potato extract for shelf life extension of shrimp,” *Food Packag Shelf Life*, vol. 29, Sep. 2021, doi: 10.1016/j.fpsl.2021.100709.
- [119] R. da Silva Fernandes, F. N. Tanaka, M. R. de Moura, and F. A. Aouada, “Development of alginate/starch-based hydrogels crosslinked with different ions: Hydrophilic, kinetic and spectroscopic properties,” *Mater Today Commun*, vol. 21, p. 100636, Dec. 2019, doi: 10.1016/J.MTCOMM.2019.100636.
- [120] N. Gontard, “Films et enrobages comestibles : étude et amélioration des propriétés filmogènes du gluten.” Université des sciences et techniques du Languedoc, Montpellier, 1991.
- [121] R. S. Fernandes, M. R. De Moura, and F. A. Aouada, “Otimização da síntese de hidrogéis nanocompósitos intercalados para possível aplicação na área médica,” *Quim Nova*, vol. 40, no. 1, pp. 60–67, Jan. 2017, doi: 10.21577/0100-4042.20160150.
- [122] L. R. E. PACHECO, “OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA MATRIZ POLIMÉRICA A BASE DE ALGINATO COM DIFERENTES AGENTES RETICULANTES,” Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, CAMPOS DOS GOYTACAZES, 2016.
- [123] L. M. S. Valero, “ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES A BASE DE ALGINATO DE SÓDIO, RETICULADOS COM ÍONS BÁRIO (Ba²⁺), ESTRÔNCIO (Sr²⁺) OU ALUMÍNIO (Al³⁺),” Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.
- [124] N. Emmerichs, J. Wingender, H. C. Flemming, and C. Mayer, “Interaction between alginates and manganese cations: Identification of preferred cation binding sites,” *Int J Biol Macromol*, vol. 34, no. 1–2, pp. 73–79, 2004, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2004.03.004.
- [125] ASTM International, “Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics by Use of Microtensile Specimens,” 2018, pp. 1–5.
- [126] ASTM International, “Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials 1,” pp. 1–14, 2016, doi: 10.1520/E0096_E0096M-16.

- [127] T. H. Mchugh, F. L. Avena-Bustillos, and J. M. Krochta, "Hydrophilic Edible Films: Modified Procedure for Water Vapor Permeability and Explanation of Thickness Effects," 1993.
- [128] B. Cuq, N. Gontard, J. L. Cuq, and S. Guilbert, "Functional Properties of Myofibrillar Protein-based Biopackaging as Affected by Film Thickness," *J Food Sci*, vol. 61, no. 3, pp. 580–584, May 1996, doi: 10.1111/J.1365-2621.1996.TB13163.X.
- [129] J. F. Rubilar, R. M. S. Cruz, H. D. Silva, A. A. Vicente, I. Khmelinskii, and M. C. Vieira, "Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract," *J Food Eng*, vol. 115, no. 4, pp. 466–474, Apr. 2013, doi: 10.1016/J.JFOODENG.2012.07.009.
- [130] F. A. Aouada, Z. Pan, W. J. Orts, and L. H. C. Mattoso, "Removal of paraquat pesticide from aqueous solutions using a novel adsorbent material based on polyacrylamide and methylcellulose hydrogels," *J Appl Polym Sci*, vol. 114, no. 4, pp. 2139–2148, Nov. 2009, doi: 10.1002/app.30339.
- [131] F. C. Tanaka, C. R. F. Junior, R. S. Fernandes, M. R. de Moura, and F. A. Aouada, "Correlating pH and Swelling Degree Parameters to Understand the Sorption and Desorption Process of Diquat Herbicide from Nanocomposites Based on Polysaccharide and Clinoptilolite," *J Polym Environ*, vol. 29, no. 10, pp. 3389–3400, Oct. 2021, doi: 10.1007/S10924-021-02126-1/TABLES/4.
- [132] R. Da and S. Fernandes, "Desenvolvimento de hidrogéis bionanocompósitos ativos baseados em amido e alginato com potencial aplicação na agricultura e na biomedicina," Ilha Solteira, 2020.
- [133] M. Sathuvan, R. Thangam, K. L. Cheong, H. Kang, and Y. Liu, "κ-Carrageenan-essential oil loaded composite biomaterial film facilitates mechanosensing and tissue regenerative wound healing," *Int J Biol Macromol*, vol. 241, Jun. 2023, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.124490.
- [134] J. M. F. Pavoni, C. L. Luchese, and I. C. Tessaro, "Impact of acid type for chitosan dissolution on the characteristics and biodegradability of cornstarch/chitosan based films," *Int J Biol Macromol*, vol. 138, pp. 693–703, Oct. 2019, doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2019.07.089.
- [135] M. M. Abe, M. C. Branciforti, R. Nallin Montagnolli, M. A. Marin Morales, A. P. Jacobus, and M. Brienzo, "Production and assessment of the biodegradation and ecotoxicity of xylan- and starch-based bioplastics," *Chemosphere*, vol. 287, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.132290.
- [136] ABNT, "NBR15448-2 DE 01/2008 - Embalagens plásticas degradáveis e/ou de fontes renováveis - Parte 2: Biodegradação e compostagem - Requisitos e métodos de ensaio." 2008.
- [137] J. Harada, A. G. de Souza, J. R. N. de Macedo, and D. S. Rosa, "Soil culture: Influence of different natural fillers incorporated in biodegradable mulching film," *J Mol Liq*, vol. 273, pp. 33–36, Jan. 2019, doi: 10.1016/j.molliq.2018.09.109.

- [138] S. M. Ali and G. Yosipovitch, "Skin pH: From basic science to basic skin care," *Acta Dermato-Venereologica*, vol. 93, no. 3, pp. 261–267, Mar. 2013, doi: 10.2340/00015555-1531.
- [139] H. C. Korting and O. Braun-Falco, "The effect of detergents on skin pH and its consequences," *Clin Dermatol*, vol. 14, no. 1, pp. 23–27, Jan. 1996, doi: 10.1016/0738-081X(95)00104-N.
- [140] H. C. Korting, O. Braun-Falco, E. Ponce-Pöschl, W. Klövekorn, G. Schmötzer, and M. Arens-Corell, "The influence of the regular use of a soap or an acidic syndet bar on pre-acne," *Infection*, vol. 23, no. 2, pp. 89–93, Mar. 1995, doi: 10.1007/BF01833872.
- [141] Y. Han, M. Yu, and L. Wang, "Physical and antimicrobial properties of sodium alginate/carboxymethyl cellulose films incorporated with cinnamon essential oil," *Food Packag Shelf Life*, vol. 15, pp. 35–42, Mar. 2018, doi: 10.1016/j.fpsl.2017.11.001.
- [142] W. Lu *et al.*, "Development of antioxidant and antimicrobial bioactive films based on Oregano essential oil/mesoporous nano-silica/sodium alginate," *Food Packag Shelf Life*, vol. 29, Sep. 2021, doi: 10.1016/j.fpsl.2021.100691.
- [143] B. Zhang, Y. Liu, H. Peng, Y. Lin, and K. Cai, "Effects of ginger essential oil on physicochemical and structural properties of agar-sodium alginate bilayer film and its application to beef refrigeration," *Meat Sci*, vol. 198, Apr. 2023, doi: 10.1016/j.meatsci.2022.109051.
- [144] N. Mutlu, "Effects of grape seed oil nanoemulsion on physicochemical and antibacterial properties of gelatin-sodium alginate film blends," *Int J Biol Macromol*, vol. 237, May 2023, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.124207.
- [145] Z. Yang *et al.*, "Development and characterization of sodium alginate/tea tree essential oil nanoemulsion active film containing TiO₂ nanoparticles for banana packaging," *Int J Biol Macromol*, vol. 213, pp. 145–154, Jul. 2022, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.05.164.
- [146] B. Deepa *et al.*, "Nanofibrils vs nanocrystals bio-nanocomposites based on sodium alginate matrix: An improved-performance study," *Heliyon*, vol. 6, no. 2, p. e03266, Feb. 2020, doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e03266.
- [147] Q. Dai, X. Huang, R. Jia, Y. Fang, and Z. Qin, "Development of antibacterial film based on alginate fiber, and peanut red skin extract for food packaging," *J Food Eng*, vol. 330, Oct. 2022, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2022.111106.
- [148] J. Behjati and S. Yazdanpanah, "Nanoemulsion and emulsion vitamin D3 fortified edible film based on quince seed gum," *Carbohydr Polym*, vol. 262, Jun. 2021, doi: 10.1016/j.carbpol.2021.117948.
- [149] D. Shahrampour and S. M. A. Razavi, "Fabrication and characterization of novel biodegradable active films based on Eremurus luteus root gum incorporated with nanoemulsions of rosemary essential oil," *Prog Org Coat*, vol. 175, Feb. 2023, doi: 10.1016/j.porgcoat.2022.107360.

- [150] R. N. Zúñiga, O. Skurtys, F. Osorio, J. M. Aguilera, and F. Pedreschi, "Physical properties of emulsion-based hydroxypropyl methylcellulose films: Effect of their microstructure," *Carbohydr Polym*, vol. 90, no. 2, pp. 1147–1158, Oct. 2012, doi: 10.1016/j.carbpol.2012.06.066.
- [151] S. Güneş and F. Tihminlioğlu, "Hypericum perforatum incorporated chitosan films as potential bioactive wound dressing material," *Int J Biol Macromol*, vol. 102, pp. 933–943, Sep. 2017, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.04.080.
- [152] A. Olad, M. Pourkhiyabi, H. Gharekhani, and F. Doustdar, "Semi-IPN superabsorbent nanocomposite based on sodium alginate and montmorillonite: Reaction parameters and swelling characteristics," *Carbohydr Polym*, vol. 190, pp. 295–306, Jun. 2018, doi: 10.1016/j.carbpol.2018.02.088.
- [153] R. da Silva Fernandes, M. R. de Moura, G. M. Glenn, and F. A. Aouada, "Thermal, microstructural, and spectroscopic analysis of Ca²⁺ alginate/clay nanocomposite hydrogel beads," *J Mol Liq*, vol. 265, pp. 327–336, Sep. 2018, doi: 10.1016/j.molliq.2018.06.005.
- [154] H. Zhou *et al.*, "Effects of CaCl₂, HCl, acetic acid or citric acid on dynamic mechanical performances and physicochemical properties of sodium alginate edible films," *Food Packag Shelf Life*, vol. 34, p. 100935, Dec. 2022, doi: 10.1016/j.fpsl.2022.100935.
- [155] G. da S. Ferreira, D. J. da Silva, L. Zanata, A. G. Souza, R. R. Ferreira, and D. S. Rosa, "Antimicrobial cotton wipes functionalized with *Melaleuca alternifolia* Pickering emulsions stabilized with cellulose nanofibrils," *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, vol. 3, p. 100208, Jun. 2022, doi: 10.1016/j.carpta.2022.100208.
- [156] K. M. A. ASSIS, "Desenvolvimento e caracterização de microemulsões contendo o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*," Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2017. Accessed: Sep. 24, 2023. [Online]. Available: <http://tede.bc.uepb.edu.br/jspui/handle/tede/3164>