



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
FACULDADE DE ENGENHARIA  
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

VIVIANE GUIMARÃES ANDRADE PIRES

INCORPORAÇÃO DE NANOEMULSÕES DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE MELALEUCA,  
COPAÍBA E LIMÃO EM FILMES DE ALGINATO DE SÓDIO PARA UTILIZAÇÃO  
COMO CURATIVO

Ilha Solteira  
2016

VIVIANE GUIMARÃES ANDRADE PIRES

INCORPORAÇÃO DE NANOEMULSÕES DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE MELALEUCA, COPAÍBA E  
LIMÃO EM FILMES DE ALGINATO DE SÓDIO PARA UTILIZAÇÃO COMO CURATIVO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Faculdade de Engenharia do Campus de Ilha Solteira – SP, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Área de concentração: Química dos materiais

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> MARCIA R. DE MOURA AOUADA  
Orientadora

Ilha Solteira  
2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

P667i Pires, Viviane Guimarães Andrade .  
Incorporação de nanoemulsões de óleos essenciais de melaleuca, copaíba e limão em filmes de alginato de sódio para utilização como curativo / Viviane Guimarães Andrade Pires. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2016  
79 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Química dos Materiais, 2016

Orientador: Márcia Regina de Moura Aouada  
Inclui bibliografia

1. Alginato de sódio. 2. Óleo de melaleuca. 3. Óleo de limão.  
4. Óleo de copaíba. 5. Nanoemulsões. 6. Curativos.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:** Incorporação de nanoemulsões de óleos essenciais de mela copaíba e limão em filmes de alginato de sódio para utilização curativos

**AUTORA: VIVIANE GUIMARÃES ANDRADE PIRES**

**ORIENTADORA: MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA MATERIAIS, área: QUÍMICA DOS MATERIAIS, pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA  
Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira



Prof. Dr. JOSE ANTONIO MALMONGE  
Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira



Dr. LUIZ HENRIQUE CAPPARELLI MATTOSO  
Embrapa Instrumentação / CNPDIA/EMBRAPA - SÃO CARLOS - SP

Ilha Solteira, 25 de fevereiro de 2016

#### DEDICO

Este trabalho aos meus amados pais, Paulo Guimarães Pires e Marli J. Andrade de S. Pires, que me deram a vida e me educaram, sendo que, tudo que sou hoje devo a eles. Ao meu querido irmão Daniel Guimarães A. Pires e aos meus familiares, cada um contribuindo de alguma forma.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus.

Por ter sido a luz da minha vida. E nas horas das aflições e angústias tem sido meu socorro bem presente.

Aos meus amados pais Paulo Guimarães Pires e Marli J. Andrade de S. Pires.  
Por toda a sabedoria compartilhada, por terem apoiado meus sonhos, tido fé em mim e pelo amor que me deram ao longo de toda a vida.

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Marcia R. de Moura Aouada.  
Pela orientação, incentivo e confiança depositada em mim para a execução deste trabalho. Sou muito grata.

Ao meu irmão Daniel Guimarães A. Pires e cunhada Sabrina de Freitas.  
Pelo carinho e companheirismos a mim dedicados.

À todos os professores, alunos e colegas do Departamento de Física e Química da UNESP de Ilha Solteira.  
Por toda a ajuda e conhecimento compartilhado.

Agradecer em especial aos Professores Dr<sup>o</sup> Malmonge e Dr<sup>o</sup> Chico.  
Por terem aberto as portas de seu laboratório durante a execução desse mestrado. Sou muito grata.

Ao Professor Dr<sup>o</sup> Joca.  
Pois sempre estive disposto a ajudar-me com a técnica de FTIR ao longo desse trabalho.

Ao Professor Dr<sup>o</sup> Fauze.  
Pela ajuda, atenção e incentivo a mim prestados em vários momentos.

Ao Departamento de Física e Química da UNESP de Ilha Solteira.  
Pela infra-estrutura, pelo apoio e pela oportunidade da realização desse Mestrado.

À EMBRAPA.  
Pelo apoio durante toda a pesquisa e aos amigos da EMBRAPA Juh e Marcos.  
Pela amizade e por todo auxílio e atenção a mim concedidos.

À Família Negresco, Nádia, Renan e Ana Caroline.  
Pela nossa amizade, união e cumplicidade desde o início, por terem sido meus companheiros de república, de estudos e de risadas. Não teria sido a mesma coisa sem vocês.

Às minhas amigas, Aline, Francielly, Elaynne, Camila, Karol, Talita e Rozilene.  
Pela amizade, companheirismo na fé e por terem me acolhido em todos os momentos.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

“Não repreendas o escarnecedor, para que te não aborreça: repreende o sábio e amar-te-á.”

“Dá instrução ao sábio e, ele se fará mais sábio: ensina ao justo, e ele crescerá em entendimento.”

Provérbios, cap. 9, verso 8 e 9, Bíblia Sagrada.

## RESUMO

Filmes compostos por uma matriz de alginato de sódio incorporados com nanoemulsões do óleo de limão, copaíba e melaleuca foram produzidos e caracterizados neste trabalho. Para isso, foram obtidas partículas de nanoemulsão com tamanhos que variaram entre 67 – 277 nm. Os filmes foram produzidos com o auxílio de um planejamento fatorial  $2^3$ , onde houve a variação no tamanho de partícula de nanoemulsão, na concentração de alginato (2% m/v e 3% m/v) e na temperatura de secagem (temperatura ambiente e 45 °C). Depois de obtidos, os filmes passaram por uma avaliação subjetiva, sendo classificados segundo sua homogeneidade, continuidade e manuseabilidade, tornando possível, escolher as melhores condições de filmes a serem caracterizados. Através da análise de permeabilidade de vapor de água (WVP) verificou-se que os filmes de alginato de sódio incorporados com nanoemulsões do óleo de limão, copaíba e melaleuca tornaram mais permeáveis ao vapor de água do que o filme controle de alginato de sódio. Isso ocorreu, por causa da forte interação das nanoemulsões com a matriz de alginato causadas pelas ligações de hidrogênio. Nas análises de TG e DSC foi possível comprovar essas interações, pela análise da temperatura de degradação ( $T_d$ ) e da temperatura de pico endotérmico (TPE) dos filmes, onde foi possível observar a estabilidade térmica dos filmes após a incorporação das nanoemulsões. A análise mecânica mostrou a influência da presença de nanoemulsões e do seu tamanho de partícula nos valores de tensão, porcentagem de alongação e no módulo de elasticidade dos filmes. Através das imagens produzidas por MEV foi possível observar as diferentes morfologias dos filmes quando incorporado diferentes partícula de nanoemulsões.

**Palavras-chave** – Alginato de sódio. Óleo de melaleuca Óleo de copaíba. Óleo de limão. Nanoemulsões. Curativos.

## ABSTRACT

Were produced and characterized in this work films consisted of by a matrix of sodium alginate where nanoemulsions of oils of lemon, copaiba and tea tree were incorporated. Were produced nanoemulsion particles with sizes between 67 – 277 nm. The films were produced using a factorial planning  $2^3$ , where there was a variation in the size of the nanoemulsion particles, alginate concentration (2% m/v e 3% m/v) and drying temperature (room temperature and 45 °C). The films had a subjective evaluation and were classified according to their homogeneity, continuity and manageability. With this was possible to choose the best conditions for the production of the films which were able to be characterized. Water Vapor Permeability (WVP) analysis show that the films of sodium alginate incorporated with nanoemulsions of oils of lemon, copaiba and tea tree were more permeable to water vapor than the sodium alginate control films due to strong interaction to the nanoemulsions with alginate matrix caused by hydrogen bonds. TG and DSC analysis showed these interactions, through the degradation temperature ( $T_d$ ) and the endothermic peak temperature (TPE) of the films, where it was possible to observe the thermal stability of the films after the incorporation of nanoemulsions. Mechanical analysis showed the influence of nanoemulsions and its particle size in the tensile stress value, percentage elongation and elastic modulus of the films. The images produced by SEM showed the different morphologies of the films when incorporated with different particle nanoemulsions.

**Keywords** – Sodium alginate. Melaleuca oil. Copaiba oil. Lemon oil. Nanoemulsions. Dressing.

## LISTA DE FIGURAS

|                    |                                                                                                                                                                                                  |    |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1 -</b>  | Esquema representativo dos monossacarídeos presentes no alginato de sódio e dos blocos formados. ....                                                                                            | 3  |
| <b>Figura 2 -</b>  | Alguns dos terpenos presentes no óleo de limão. ....                                                                                                                                             | 8  |
| <b>Figura 3 -</b>  | Diterpenos presentes no óleo-resina de copaíba. ....                                                                                                                                             | 9  |
| <b>Figura 4 -</b>  | Sesquiterpenos presentes no óleo-resina de copaíba.....                                                                                                                                          | 9  |
| <b>Figura 5 -</b>  | Terpenos presentes no óleo de melaleuca.....                                                                                                                                                     | 11 |
| <b>Figura 6 -</b>  | Desenho representativo de uma emulsão .....                                                                                                                                                      | 12 |
| <b>Figura 7 -</b>  | Desenho representativo relacionando emulsão e nanoemulsão .....                                                                                                                                  | 13 |
| <b>Figura 8 -</b>  | Desenho representativo da pele: epiderme, derme e hipoderme.....                                                                                                                                 | 14 |
| <b>Figura 9 -</b>  | Solução de óleo essencial, Tween e água sendo agitada no Turrax.....                                                                                                                             | 18 |
| <b>Figura 10 -</b> | Esquema de secagem dos filmes secos em temperatura ambiente.....                                                                                                                                 | 20 |
| <b>Figura 11 -</b> | Placas de Teflon <sup>®</sup> utilizadas na análise de WVP .....                                                                                                                                 | 21 |
| <b>Figura 12 -</b> | Desenho representativo da análise de ATR .....                                                                                                                                                   | 23 |
| <b>Figura 13 -</b> | Valores de tamanho médio das nanoemulsões dos óleos em relação a velocidade de agitação. A barra de erros indica o desvio padrão. ....                                                           | 25 |
| <b>Figura 14 -</b> | Fotografia digital das nanoemulsões produzidas com menor rotação (12000 rpm) e maior rotação (15000 rpm) .....                                                                                   | 26 |
| <b>Figura 15 -</b> | Valores de WVP para os filmes controle de alginato de sódio e para os FASL, FASM e FASC. São apresentados os valores médios e a barra de erros indica o desvio padrão.....                       | 29 |
| <b>Figura 16 -</b> | Interações das nanoemulsões com a matriz de alginato de sódio através de ligações de hidrogênio formadas pelos grupos hidroxilas e carboxilatos presentes nos filmes.....                        | 30 |
| <b>Figura 17 -</b> | Desenho representativo das interações hidrófilo-hidrófobo das nanoemulsões de OE com a matriz de alginato: (a) partículas de nanoemulsões menores e (b) partículas de nanoemulsões maiores ..... | 31 |
| <b>Figura 18 -</b> | Desenho representativo do efeito da porcentagem de alginato no valor de WVP: Proporção de NaAlg/ OE (a) 3:1 e (b) 2:1.....                                                                       | 32 |
| <b>Figura 19 -</b> | Curvas de TG/DTG para o filme de alginato de sódio.....                                                                                                                                          | 33 |
| <b>Figura 20 -</b> | Curvas de TG/DTG para os FASM: (a) Filme controle de alginato de sódio, (b) 2%MN<, (c) 3%MN> e (d) 3%MN<.....                                                                                    | 35 |

|                                                                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 21</b> – Desenho representativo da interação das nanoemulsões do óleo melaleuca com a matriz de alginato de sódio. Proporção NaAlg/OE de 2:1. .... | 36 |
| <b>Figura 22</b> – Curvas de TG/DTG para os FASL: (a) Filme controle de alginato de sódio, (b) 2%LN>, (c) 3%LN< e (d) 2%LN< .....                            | 37 |
| <b>Figura 23</b> – Curvas de TG/DTG para os FASC: (a) 2%CN>, (b) Filme controle de alginato de sódio, (c) 2%CN< e (d) 3%CN< .....                            | 39 |
| <b>Figura 24</b> – Fluxograma dos tipos de águas que interagem com os filmes.....                                                                            | 40 |
| <b>Figura 25</b> – Curva de DSC para os FASM: (a) 3%MN>, (b) 2%MN<, (c) 3%MN<, (d) Filme controle NaAlg 3 % m/v e (e) Filme controle NaAlg 2% m/v .....      | 42 |
| <b>Figura 26</b> – Curva de DSC para os FASL: (a) 2%LN>, (b) 3%LN<, (c) 2%LN<, (d) Filme controle NaAlg 3 % m/v e (e) Filme controle NaAlg 2% m/v.....       | 43 |
| <b>Figura 27</b> – Curva de DSC para os FASC: (a) 3%CN<, (b) 2%CN<, (c) 2%CN>, (d) Filme controle NaAlg 3 % m/v e (e) Filme controle NaAlg 2% m/v.....       | 43 |
| <b>Figura 28</b> – Micrografia do filme controle de alginato de sódio .....                                                                                  | 44 |
| <b>Figura 29</b> – Micrografia dos FASM: (a) 3%MN> e (b) 3%MN< .....                                                                                         | 45 |
| <b>Figura 30</b> – Micrografia dos FASL: (a) 2%LN> e (b) 2%LN< .....                                                                                         | 46 |
| <b>Figura 31</b> – Micrografia dos FASC: (a) 2%CN> e (b) 3%CN<.....                                                                                          | 47 |
| <b>Figura 32</b> – Espectro do filme de alginato de sódio .....                                                                                              | 48 |
| <b>Figura 33</b> – Espectros a) óleo essencial de limão b) Filme alginato de sódio, c) 3%LN<, d) 2%LN<, e) 2%LN> .....                                       | 49 |
| <b>Figura 34</b> – Espectros a) óleo essencial de melaleuca b) Filme alginato de sódio, c) 3%MN<, d) 2%MN<, e) 3%MN> .....                                   | 51 |
| <b>Figura 35</b> – Espectros a) óleo de copaíba, b) Filme alginato de sódio, c) 3%CN<, d) 2%CN<, e) 2%CN> .....                                              | 52 |
| <b>Figura 36</b> – Valores médios de tensão dos FASM, FASC, FASL e dos filmes controle de alginato de sódio. A barra de erros indica o desvio padrão. ....   | 53 |

## LISTA DE TABELAS

|                    |                                                                                                                                             |    |
|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1 -</b>  | Hidrocarbonetos presentes nos OEs .....                                                                                                     | 6  |
| <b>Tabela 2 -</b>  | Compostos voláteis presentes nos OEC .....                                                                                                  | 7  |
| <b>Tabela 3 -</b>  | Soluções de óleo essencial e Tween 80 em água .....                                                                                         | 19 |
| <b>Tabela 4 -</b>  | Velocidade de rotação e tempo utilizado na preparação das nanoemulsões.....                                                                 | 19 |
| <b>Tabela 5 -</b>  | Planejamento fatorial 2 <sup>3</sup> para aquisição dos filmes.....                                                                         | 27 |
| <b>Tabela 6 -</b>  | Avaliação subjetiva FASC.....                                                                                                               | 27 |
| <b>Tabela 7 -</b>  | Avaliação subjetiva dos FASL.....                                                                                                           | 28 |
| <b>Tabela 8 -</b>  | Avaliação subjetiva dos FASM .....                                                                                                          | 28 |
| <b>Tabela 9 -</b>  | Espessuras das amostras de filmes utilizadas na análise de WVP .....                                                                        | 29 |
| <b>Tabela 10 -</b> | Temperatura de degradação do filme controle de alginato de sódio e dos FASM.....                                                            | 34 |
| <b>Tabela 11 -</b> | Temperatura de degradação do filme controle de alginato de sódio e dos FASL .....                                                           | 38 |
| <b>Tabela 12 -</b> | Temperatura de degradação do filme controle de alginato de sódio e dos FASC.....                                                            | 40 |
| <b>Tabela 13 -</b> | TPE dos filmes controle de alginato de 2% e 3% (m/v) e FASL, FASC e FASM. ....                                                              | 41 |
| <b>Tabela 14 –</b> | Picos correspondentes aos principais compostos do óleo de limão .....                                                                       | 49 |
| <b>Tabela 15 -</b> | Picos correspondentes aos principais compostos do óleo de melaleuca .....                                                                   | 50 |
| <b>Tabela 16 -</b> | Picos correspondentes aos principais compostos do óleo de copaíba .....                                                                     | 51 |
| <b>Tabela 17 –</b> | Influência da incorporação e do tamanho de partícula de nanoemulsão na % de alongação e no módulo de elasticidade do FASM, FASL e FASC..... | 55 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                 |                                                                                                                        |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>NaAlg</b>    | Alginato de sódio                                                                                                      |
| <b>OE</b>       | Óleo Essencial                                                                                                         |
| <b>OEC</b>      | Óleo Essencial Cítrico                                                                                                 |
| <b>WVP</b>      | Inglês (Water Vapor Permeability)<br>Permeabilidade ao Vapor de Água                                                   |
| <b>WVTR</b>     | Inglês (Water Vapor Transmission Rate)<br>Velocidade de Transmissão de Vapor de Água                                   |
| <b>RH</b>       | Umidade Relativa                                                                                                       |
| <b>MEV</b>      | Microscopia Eletrônica de Varredura                                                                                    |
| <b>TG</b>       | Termogravimetria                                                                                                       |
| <b>DSC</b>      | Calorimetria Exploratória Diferencial                                                                                  |
| <b>TPE</b>      | Temperatura de Pico Endotérmico                                                                                        |
| <b>ATR</b>      | Refletância Total Atenuada                                                                                             |
| <b>FI-IT</b>    | Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier                                                            |
| <b>Td</b>       | Temperatura de Degradação                                                                                              |
| <b>T.E.</b>     | Temperatura de Ebulição                                                                                                |
| <b>FASM</b>     | Filme de alginato de sódio incorporado com nanoemulsão do óleo essencial de melaleuca                                  |
| <b>FASL</b>     | Filme de alginato de sódio incorporado com nanoemulsão do óleo essencial de limão                                      |
| <b>FASC</b>     | Filme de alginato de sódio incorporado com nanoemulsão do óleo de copaíba                                              |
| <b>2%MN&gt;</b> | Filme com concentração de 2% de alginato de sódio e maiores tamanhos de partículas de nanoemulsão do óleo de melaleuca |
| <b>3%MN&lt;</b> | Filme com concentração de 3% de alginato de sódio e menores tamanhos de partículas de nanoemulsão do óleo de melaleuca |
| <b>3%MN&lt;</b> | Filme com concentração de 3% de alginato de sódio e menores tamanhos de                                                |

partículas de nanoemulsão do óleo de melaleuca

- 2%CN>** Filme com concentração de 2% de alginato de sódio e maiores tamanhos de partículas de nanoemulsão do óleo de copaíba
- 3%CN<** Filme com concentração de 3% de alginato de sódio e menores tamanhos de partículas de nanoemulsão do óleo de copaíba
- 2%CN<** Filme com concentração de 2% de alginato de sódio e menores tamanhos de partículas de nanoemulsão do óleo de copaíba
- 2%LN>** Filme com concentração de 2% de alginato de sódio e maiores tamanhos de partículas de nanoemulsão do óleo de limão
- 3%LN<** Filme com concentração de 3% de alginato de sódio e menores tamanhos de partículas de nanoemulsão do óleo de limão
- 2%LN<** Filme com concentração de 2% de alginato de sódio e menores tamanhos de partículas de nanoemulsão do óleo de limão

## SUMÁRIO

|          |                                                           |           |
|----------|-----------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO .....</b>                                   | <b>1</b>  |
| <b>2</b> | <b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>                         | <b>3</b>  |
| 2.1      | ALGINATO DE SÓDIO .....                                   | 3         |
| 2.1.1    | <b>Polissacarídeos.....</b>                               | <b>4</b>  |
| 2.1.2    | <b>Produção comercial.....</b>                            | <b>5</b>  |
| 2.2      | ÓLEOS ESSENCIAIS.....                                     | 5         |
| 2.2.1    | <b>Composição.....</b>                                    | <b>6</b>  |
| 2.3      | ÓLEO DE LIMÃO: ASPECTOS GERAIS.....                       | 7         |
| 2.4      | ÓLEOS DE COPAÍBA: ASPECTOS GERAIS .....                   | 9         |
| 2.5      | ÓLEO DE MELALEUCA: ASPECTOS GERAIS.....                   | 10        |
| 2.6      | NANOEMULSÕES .....                                        | 12        |
| 2.7      | PELE: LESÃO, FERIDA, CICATRIZAÇÃO E CURATIVO.....         | 14        |
| <b>3</b> | <b>OBJETIVO.....</b>                                      | <b>17</b> |
| 3.1      | OBJETIVO GERAL.....                                       | 17        |
| 3.2      | OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....                               | 17        |
| <b>4</b> | <b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>                          | <b>18</b> |
| 4.1      | MATERIAIS.....                                            | 18        |
| 4.2      | MÉTODOS .....                                             | 18        |
| 4.2.1    | <b>Preparação das nanoemulsões .....</b>                  | <b>18</b> |
| 4.2.2    | <b>Tamanho médio das partículas nas nanoemulsões.....</b> | <b>19</b> |
| 4.2.3    | <b>Preparação dos filmes .....</b>                        | <b>19</b> |
| 4.2.4    | <b>Determinação da espessura.....</b>                     | <b>20</b> |
| 4.2.5    | <b>Permeabilidade ao vapor de água (WVP) .....</b>        | <b>20</b> |
| 4.2.6    | <b>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....</b>    | <b>22</b> |

|         |                                                                                                                                      |    |
|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.2.7   | Propriedades térmicas.....                                                                                                           | 22 |
| 4.2.7.1 | <i>Análise Termogravimétrica (TG).....</i>                                                                                           | 22 |
| 4.2.7.2 | <i>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....</i>                                                                             | 22 |
| 4.2.8   | Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) adaptada com a Técnica de Refletância Total Atenuada (ATR) ..... | 23 |
| 5       | RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                                                                                                         | 25 |
| 5.1     | NANOEMULSÕES .....                                                                                                                   | 25 |
| 5.2     | PREPARAÇÕES DOS FILMES DE ALGINATO DE SÓDIO INCORPORADOS COM NANOEMULSÕES DE ÓLEO DE MELALEUCA, LIMÃO E COPAÍBA26                    |    |
| 5.3     | CARACTERIZAÇÕES DOS FILMES.....                                                                                                      | 29 |
| 5.3.1   | Análise de permeabilidade á vapor de água (WVP).....                                                                                 | 29 |
| 5.3.2   | Análise Termogravimétrica (TG) .....                                                                                                 | 33 |
| 5.3.2.1 | <i>TG do filme controle de Alginato de sódio.....</i>                                                                                | 33 |
| 5.3.2.2 | <i>TG e DTG das amostras de FASM .....</i>                                                                                           | 34 |
| 5.3.2.3 | <i>TG e DTG das amostras FASL .....</i>                                                                                              | 37 |
| 5.3.2.4 | <i>TG e DTG das amostras FASC.....</i>                                                                                               | 38 |
| 5.3.3   | Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....                                                                                     | 40 |
| 5.3.4   | Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....                                                                                      | 44 |
| 5.3.4.1 | <i>Micrografias dos FASM .....</i>                                                                                                   | 44 |
| 5.3.4.2 | <i>Micrografias dos FASL .....</i>                                                                                                   | 46 |
| 5.3.4.3 | <i>Micrografias dos FASC .....</i>                                                                                                   | 47 |
| 5.3.5   | Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) adaptada com a Técnica de Refletância Total Atenuada (ATR) ..... | 48 |
| 5.3.5.1 | <i>ATR do filme controle de alginato de sódio .....</i>                                                                              | 48 |
| 5.3.5.2 | <i>ATR dos FASL .....</i>                                                                                                            | 49 |
| 5.3.5.3 | <i>ATR dos filmes incorporados com nanoemulsão do óleo de melaleuca .....</i>                                                        | 50 |
| 5.3.5.4 | <i>ATR dos filmes incorporados com nanoemulsão do óleo de copaíba .....</i>                                                          | 51 |
| 5.3.6   | Propriedades mecânicas.....                                                                                                          | 53 |

|          |                          |           |
|----------|--------------------------|-----------|
| <b>6</b> | <b>CONCLUSÃO .....</b>   | <b>56</b> |
| <b>7</b> | <b>REFERÊNCIAS .....</b> | <b>58</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

A pele, o maior órgão do corpo, é responsável pela proteção dos órgãos internos, servindo como uma barreira contra os micro-organismos através de seu pH e de outras substâncias como o suor. Agentes físicos e químicos podem lesionar a pele provocando uma ferida, que precisará se cicatrizar para que a mesma volte à sua função natural, porém, se de alguma forma o processo de cicatrização for interrompido ou retardado, micro-organismos poderão atacá-la resultando em infecções, entre outros problemas<sup>1-3</sup>.

Para que a ferida se cicatrize, ela precisará de um ambiente propício, ou seja, limpo, com ausência de fungos e bactérias. Entretanto, muitas vezes, isso não ocorrerá naturalmente, sendo necessária a utilização de curativos que cubram o local lesionado e auxiliem na cicatrização<sup>4</sup>.

O alginato de sódio (NaAlg) é um polímero natural que vem sendo amplamente estudado na área de curativos<sup>5</sup>. O NaAlg é um copolímero aniônico de cadeias químicas lineares, formado por unidades monoméricas de ácidos 1,4-β-D-manurônicos (M) e 1,4-α-L-gulurônicos (G) que se distribuem em blocos ao longo de suas cadeias. Esse polissacarídeo é extraído da parede celular de algas marinhas marrons na forma do ácido algínico, que através de processos químicos resultam no alginato de sódio<sup>5,6</sup>.

Apesar de ser muito utilizado como curativo para feridas, revestimento e aditivos nas áreas médicas, farmacêuticas e alimentícias, o alginato não possui atividades antimicrobianas, atua apenas como uma barreira seletiva, que mantém o controle da umidade, realiza trocas gasosas com o ambiente, entre outros<sup>6</sup>.

A atividade antimicrobiana necessária para a pele ferida fica por conta dos materiais ativos, como por exemplo, óleos essenciais. Os óleos essenciais são materiais oleosos em temperatura ambiente e de odor agradável, obtidos através da extração de plantas e até animais, por técnicas de destilação e muito utilizados nas indústrias farmacêuticas e cosméticas<sup>7</sup>.

O óleo de limão (*Citrus limon L.*) é um óleo essencial extraído do limoeiro, produtor do limão. Este óleo é claro e volátil, apresentando os seguintes componentes: limoneno, linalol, γ-terpineno, citral (neral e geranial), entre outros. Sua composição, rica em monoterpenos, é a responsável por suas características bioativas (bactericida, fungicida, etc.)<sup>8</sup>.

Outros óleos essenciais interessantes são os óleos de copaíba e melaleuca. O óleo de copaíba é extraído do tronco da árvore de copaíba, possui cor amarelada e apresenta princípios ativos inibidores de bactérias e fungos, incluindo ação anti-inflamatória<sup>9-11</sup>.

A árvore de melaleuca, conhecida também como árvore do chá, é encontrada em climas tropicais e subtropicais, centralizados na Austrália, Indonésia e Ilhas do Oceano Índico<sup>12</sup>. Dela é extraído o óleo de melaleuca, rico em monoterpenos, sendo que, o mais abundante é o terpinen-4-ol (40% do óleo)<sup>13,14</sup>. Este óleo, devido à suas propriedades antimicrobianas, é muito utilizado em tratamentos de doenças ou lesões superficiais presentes na pele<sup>13,14</sup>.

Para que possam ser utilizados como princípios bioativos nos curativos, os óleos essenciais precisam ser incorporados nos mesmos. Devido à sua característica hidrofóbica, a incorporação dos óleos é dificultada, sendo assim, a aplicação na forma de nanoemulsões é uma boa alternativa para sua incorporação em uma matriz polimérica<sup>15,16</sup>. As nanoemulsões são emulsões em escala nanométrica, formadas por duas fases imiscíveis unidas por um surfactante (tenso-ativo), como é o caso do óleo e da água. Um material utilizado na forma de nanoemulsões tem suas propriedades físicas e químicas melhoradas, além de suas atividades biológicas aumentadas, devido a uma melhor distribuição das partículas de nanoemulsão na superfície<sup>15,17,8</sup>.

Na literatura, não são encontrados estudos sobre filmes de alginato de sódio incorporados com nanoemulsões dos óleos limão, copaíba e melaleuca para aplicação como curativos. Entretanto, existem diversos estudos sobre a utilização de alginatos como curativos, inclusive como transportador de fármacos<sup>5</sup>.

Liakos et al.<sup>18</sup>, estudaram a encapsulação de óleos essenciais de elicriso itálico, camomila azul, canela, lavanda, árvore do chá (melaleuca), hortelã-pimenta, eucalipto, capim-limão e limão em filmes de alginato como curativos, entretanto, os óleos não foram incorporados na forma de nanoemulsão, como realizado neste trabalho.

Sendo assim, apesar dos estudos encontrados na literatura sobre a utilização do NaAlg como proteção da pele ferida, há a necessidade de mais pesquisas voltadas para a incorporação do NaAlg com materiais ativos naturais, como é o caso dos óleos essenciais, atendendo às necessidades bioativas que um ferimento precisa para se cicatrizar. Os óleos essenciais podem atuar como um complemento bioativo para o NaAlg, pois além de biocidas possuem aroma agradável, o que é bom em diversos aspectos para o indivíduo ferido. Sendo que, a incorporação dos óleos na matriz de NaAlg na forma de nanoemulsões potencializa ainda mais seus efeitos, sendo um diferencial neste trabalho.

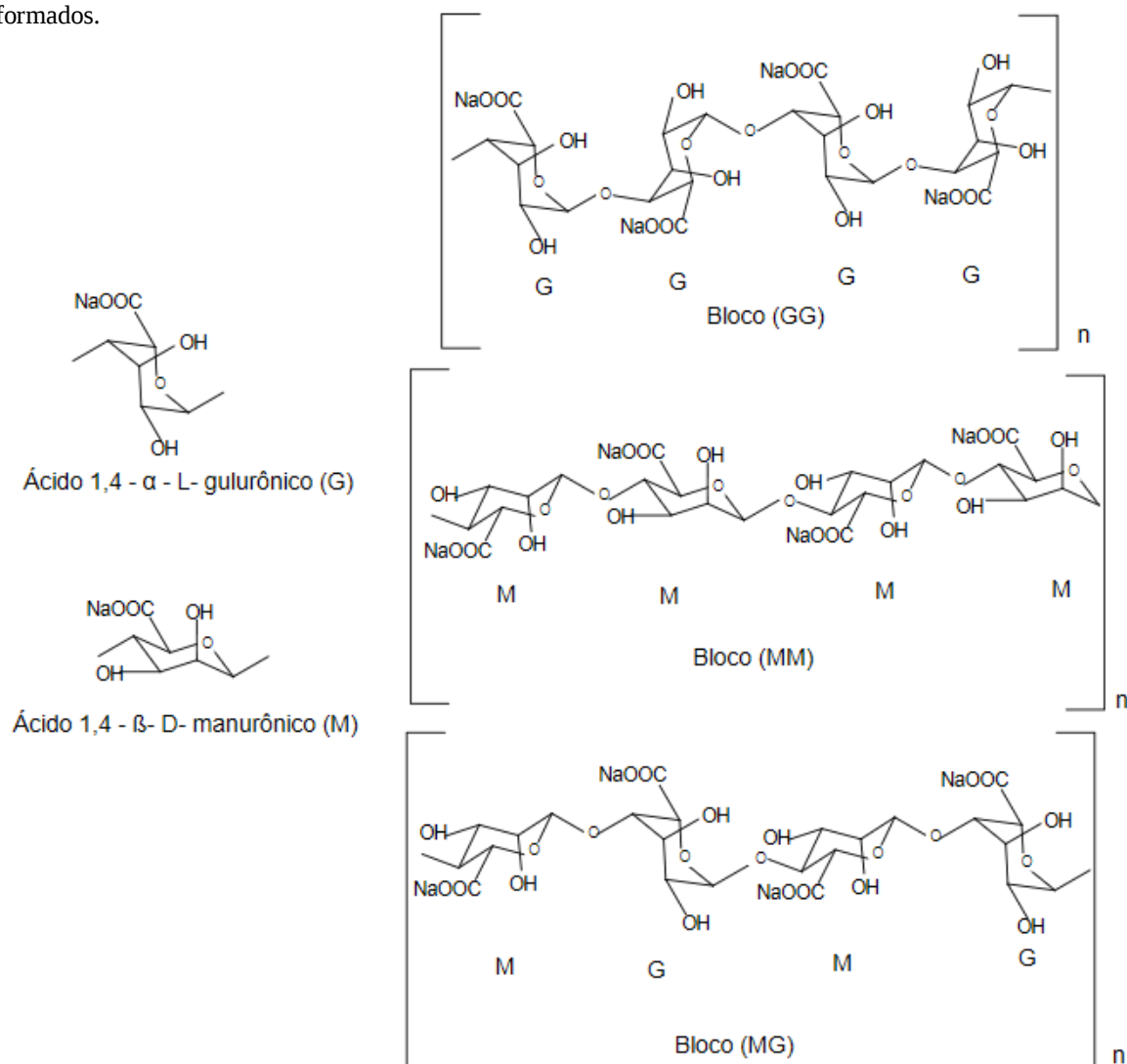
## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 ALGINATO DE SÓDIO

Dentre os vários polímeros naturais, o alginato de sódio é um polissacarídeo extraído de algas marinhas marrons (castanhas) na forma de ácido algínico, o qual através de reações com uma base forte (hidróxido de sódio) forma o sal de alginato de sódio<sup>19</sup>.

O alginato de sódio é um copolímero que possui cadeia química aniônica linear, formada por unidades monossacarídeas dos ácidos 1,4- $\beta$ -D-manurônicos (M) e 1,4- $\alpha$ -L-gulurônicos (G) que se organizam na forma de blocos<sup>20,21</sup>. A Figura 1 mostra essas unidades monossacarídeas presentes no alginato de sódio e como elas se organizam nas cadeias químicas de alginato.

**Figura 1** - Esquema representativo dos monossacarídeos presentes no alginato de sódio e dos blocos formados.



Fonte: Próprio autor

A proporção de ácidos 1,4-β-D-manurônicos (M) e 1,4-α-L-gulurônicos (G) presentes no alginato influencia diretamente os filmes e géis resultantes, isto é, quando a quantidade dos ácidos 1,4-α-L-gulurônico é maior que a dos ácidos 1,4-β-D-manurônicos, os filmes ou géis tem como característica serem mais rígidos. Porém, se o ácido 1,4-β-D-manurônico estiver presente em maior quantidade no alginato, os filmes e os géis resultantes serão mais elásticos<sup>22</sup>.

O alginato de sódio é considerado um biopolímero por apresentar características biocompatíveis e não tóxicas, porém ele não apresenta propriedades ativas, sendo assim ele é muito utilizado pelas indústrias como aditivo alimentício, cosmético, farmacêutico, além de aplicações como agente estabilizante para materiais dentários, curativos, medicina regenerativa, entre outros<sup>22</sup>.

Os polímeros naturais, como o alginato, tem sido amplamente utilizados em aplicações como curativos. Segundo Momoh et al.<sup>5</sup>, que desenvolveu e caracterizou curativos de alginato para entrega de proteínas na pele lesionada, a utilização de curativos de alginato potencializa a entrega de proteína terapêutica na ferida, ocasionando uma melhora na cicatrização.

### **2.1.1 Polissacarídeos**

Os polissacarídeos são formados por várias unidades de monossacarídeos em arranjos lineares. Na natureza, estima-se que 90 % de toda massa de carboidratos esteja na forma de polissacarídeos, os quais, cientificamente são denominados glicanos<sup>23</sup>. Os polissacarídeos podem ser encontrados, também, em paredes celulares de algas marinhas, sendo específicos para cada espécie de algas e desempenha papéis fundamentais e complexos, como por exemplo, armazenamento de energia<sup>24</sup>.

Polissacarídeos podem ser classificados como homoglicanos e heteroglicanos. Quando formado por unidades monoméricas iguais, ou seja, quando suas unidades glicosídicas forem do mesmo tipo, serão denominados homoglicanos. Porém, se sua formação for composta por duas ou mais unidades monossacarídicas diferentes, ele será um heteroglicano. Quando o polissacarídeo for heteroglicano e possuir duas unidades glicosídicas ele será um di-heteroglicano, se possuir três unidades será um tri-heteroglicano e assim por diante, dependendo da quantidade de glicosídeos<sup>23</sup>.

### 2.1.2 Produção comercial

Os alginatos foram descobertos por um farmacêutico britânico chamado E. C. Stanford na década de 1880 e sua produção industrial teve início em 1929. Os alginatos mais comerciáveis são os sais alcalinos e alcalinos terrosos de ácido algínico, sendo o alginato de sódio o mais encontrado<sup>25, 26, 27</sup>.

Há cerca de três décadas a Europa, EUA e Japão eram responsáveis por quase toda extração de alginatos, porém na década de 1980 surgiram novos produtores na China, que começaram com pequenas produções locais, mas que na década de 1990 já competiam no mercado ocidental de alginato<sup>27</sup>.

A produção de algas marinhas em escala comercial tem crescido consideravelmente dentro do comércio mundial. Atualmente, as algas tem sido responsáveis pela produção de 46% da biomassa da agricultura marinha mundial. Tendo diversas aplicações, inclusive no comércio alimentício<sup>25</sup>.

### 2.2 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais (OE) são líquidos oleosos em temperatura ambiente de aroma agradável. São materiais ativos extraídos das plantas (raízes, caules, cascas, folhas, flores e frutos) e em alguns casos de animais. Usam-se técnicas de destilação, prensagem a frio, maceração, entre outras, para sua extração. Apresentam aroma e, muitas vezes, sabor agradável e distinto, tornando-os muito utilizados por indústrias aromatizantes e de perfume<sup>7</sup>.

Devido à sua atividade biocida (bactericida, antiviral, fungicida) comprovada, os OEs se tornaram alvo de diversas pesquisas, como a de Mayaud et al.<sup>28</sup>, que investigou as atividades microbianas de 13 tipos diferentes de OE contra 65 cepas de bactérias, e concluiu que houve eficácia nas atividades dos OEs contra as bactérias, estando, essa atividade, relacionada com a composição química dos mesmos.

Os OEs, devido ao seu aroma agradável, são utilizados como agentes terapêuticos alternativos. A aromoterapia é uma terapia alternativa e complementar da medicina convencional, que utiliza os OEs como agentes terapêuticos no tratamento de diversas doenças.

Devido à comprovação de suas propriedades antissépticas e de sua permeabilidade na pele, os OEs, através de seus compostos voláteis, são utilizados por inalação, aplicação ou

banhos na aromaterapia, onde através do aroma emanado dos óleos é possível ajudar a mente e o corpo de uma pessoa<sup>29</sup>.

Essas propriedades fazem com que os OEs sejam usados, também, em outras áreas tais como: conservantes de alimentos, neste caso sua aplicação pode ser na forma de filmes comestíveis; na área farmacêutica; encapsulados em pomadas; cremes; xaropes; supositórios; aerossóis e sprays e, inclusive, na área médica em tratamentos de doenças infecciosas e quimioterapia<sup>30-33</sup>.

### 2.2.1 Composição

A composição química dos OEs é muito importante na sua atuação como biocidas. Isman et al.<sup>34</sup>, em um estudo sobre a efetividade do óleo de alecrim e de seus constituintes analisados separadamente, constatou que a efetividade da combinação dos compostos químicos em tal OE foi mais eficiente contra as larvas de lepidópteros do que quando esses compostos eram individualizados. Assim, foi mostrado que, muitas vezes, a biocidade do óleo é resultado do efeito combinado de seus componentes químicos, sendo essa combinação, característica para cada óleo.

Os OEs apresentam uma composição complexa, em alguns casos chegam a conter mais de 100 componentes, sendo poucos os que possuem algum componente dominante. Cada componente tem suas características e funções no óleo sendo responsáveis pelo aroma e sabor, podendo atuar de forma combinada ou anulando um ao outro<sup>34-36</sup>. Os componentes químicos presentes nos óleos podem ser assim classificados:

#### I. Terpenos: hidrocarbonetos ( $C_5H_8$ )<sub>n</sub>, mostrados na Tabela 1

**Tabela 1** - Hidrocarbonetos presentes nos OEs

| Valor de n | Quantidade de Carbono | Nomenclatura   |
|------------|-----------------------|----------------|
| 2          | C <sub>10</sub>       | Monoterpenos   |
| 3          | C <sub>15</sub>       | Sesquiterpenos |
| 4          | C <sub>20</sub>       | Diterpenos     |
| 6          | C <sub>30</sub>       | Triterpenos    |

Fonte: Próprio autor

## II. Derivados oxigenados dos hidrocarbonetos.

Os compostos hidrocarbonetos oxigenados derivados do terpeno são os alcoóis, aldeídos, cetonas, ácidos, ésteres, entre outros. Os quais são responsáveis pelos sabores e aromas dos óleos.

## III. Compostos aromáticos (benzenos)

Muito abundante nos OEs, se apresentam em funções oxigenadas dos terpenos.

### 2.3 ÓLEO DE LIMÃO: ASPECTOS GERAIS

Os óleos essenciais cítricos (OEC) são óleos extraídos de plantas pertencentes ao gênero *Citrus*, e são considerados uns dos óleos mais populares devido à sua grande produção. Eles são responsáveis pela maior parte da demanda comercial devido a sua variedade de sabores e fragrâncias características<sup>37</sup>.

A variedade de compostos presentes nos OEC é ampla, tendo em torno de 20 a 60 componentes, dos quais 85-99% são compostos voláteis<sup>36</sup>. Alguns dos compostos voláteis presentes nos OEC são mostrados na Tabela 2.

**Tabela 2** - Compostos voláteis presentes nos OEC

| Terpenos            |          | Alguns compostos presentes nos OEC                                                              |
|---------------------|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Monoterpenos        |          | Limoneno, $\gamma$ -terpineno, $\alpha$ -pineno, $\alpha$ -terpineno, terpinoleno, entre outros |
| Sesquiterpenos      |          | Valenceno, $\beta$ -elemeno, $\beta$ -cariofileno, $\beta$ -copaeno, entre outros.              |
| Terpenos oxigenados | Alcoóis  | linalol, $\alpha$ -terpineol, entre outros                                                      |
|                     | Aldeídos | citronelal, geranial, entre outros                                                              |
|                     | Cetonas  | 3-heptanona, carvone, entre outros                                                              |

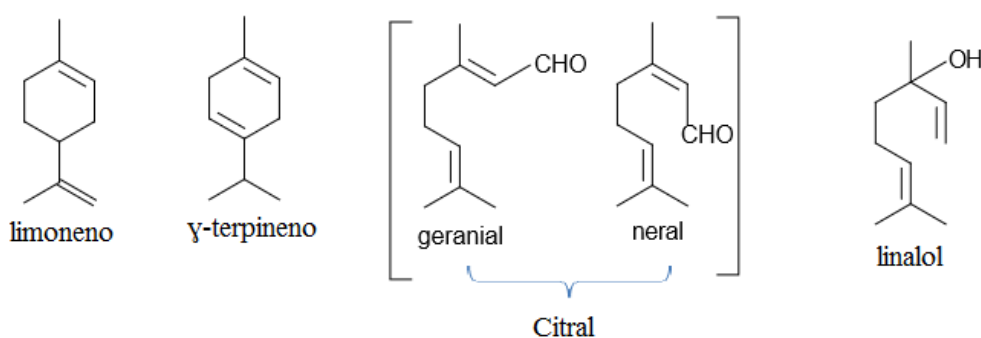
Fonte: Adaptada de Ruiz et al.<sup>36</sup>

O óleo de limão (*Citrus limon L.*) é extraído do limoeiro, uma árvore nativa da Ásia, pertencente à família das *Rutaceae*, a qual produz em estação própria uma fruta conhecida como limão. O limão é considerado uma das principais frutas dentro do gênero *Citrus*, atrás apenas das laranjas e tangerinas. O óleo de limão é um composto volátil de cor clara, que

apresenta em sua composição: limoneno, linalol,  $\gamma$ -terpineno, citral (neral e geranial), entre outros<sup>8</sup>.

Os monoterpenos (terpenos) presentes nos óleos de limão são responsáveis pela maior parte de suas características bioativas contra fungos, insetos e bactérias, como é o caso das bactérias *P. vulgaris*, *S. aureus*, causadoras de infecções em nosso corpo<sup>8</sup>. A bioatividade contra insetos foi evidenciada por Campolo et al.<sup>38</sup>, onde o óleo de limão teve efeito tóxico, apresentando atividade fumigante, contra o besouro de farinha (*T. confusum*). A Figura 2 mostra alguns terpenos que estão presentes no óleo essencial de limão.

**Figura 2** – Alguns dos terpenos presentes no óleo de limão.



Fonte: Próprio autor

Ying et al.<sup>39</sup> testou os efeitos anticárie do óleo de limão contra bactérias cariogênicas orais, como a *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), concluindo que o óleo de limão apresenta forte inibição contra o crescimento e adesão das bactérias nos testes realizados na superfície de vidro e na superfície esmaltada contendo saliva.

Além das propriedades bioativas do óleo essencial de limão, ficou comprovada em estudos, sua eficácia na aromaterapia contra os sintomas de náusea e vômitos em mulheres durante a gravidez. Kia et al.<sup>40</sup> realizou um ensaio clínico em 100 mulheres gestantes com náuseas e vômitos, tratadas através de inalação, com óleo essencial de limão assim que sentiam náuseas. Consequentemente foi concluído que o aroma do óleo é eficaz em reduzir esses sintomas.

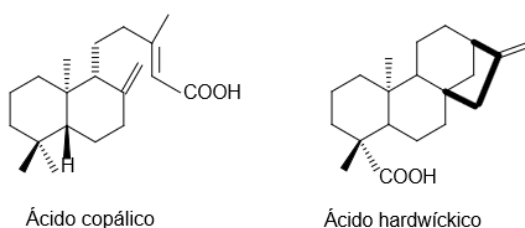
Liakos et al.<sup>18</sup> estudaram a encapsulação do óleo de limão em filmes de alginato de sódio para potencial aplicação como curativo e observaram que o óleo de limão foi eficaz na inibição das bactérias *E. coli* e *C. albicans*.

## 2.4 ÓLEOS DE COPAÍBA: ASPECTOS GERAIS

As copaibeiras são árvores do gênero *Copaífera*, da família das Fabaceae, as quais possuem 72 espécies comuns na América latina e África Ocidental. Dentre as 72 espécies de copaíbas, 20 espécies, são encontradas no Brasil, principalmente no Amazonas e Pará. Vivendo cerca de 400 anos, as copaibeiras, atingem a altura de 25 a 40 metros e apresentam em sua árvore cascas aromáticas, folhagens densas, frutos e flores<sup>41,42</sup>.

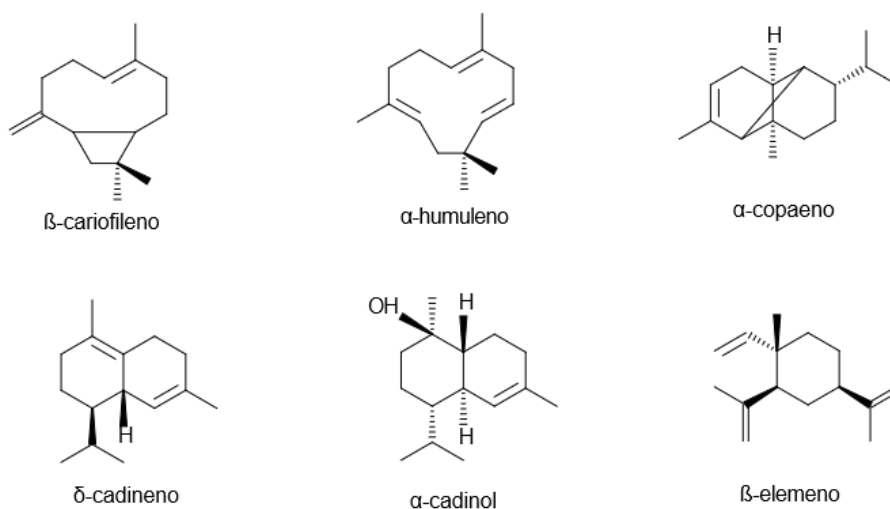
Além da madeira de boa qualidade, a copaíba possui um óleo-resina, o qual é extraído de seu tronco. A extração direta do tronco é utilizada por ser menos agressiva a árvore e não causar seu desmatamento. O óleo-resina de copaíba é um líquido transparente que varia da coloração amarela a marrom, composto por uma parte resinosa (diterpenos), não volátil (55 a 60% do óleo), utilizada como bálsamo, e também pelo óleo essencial (volátil) que é composto por sesquiterpenos (oxigenados e hidrocarbonetos)<sup>9</sup>. Alguns dos diterpenos e sesquiterpenos presentes no óleo-resina de copaíba são mostrados nas Figuras 3 e 4.

**Figura 3** – Diterpenos presentes no óleo-resina de copaíba.



Fonte: Próprio autor

**Figura 4** – Sesquiterpenos presentes no óleo-resina de copaíba



Fonte: Próprio autor

O óleo-resina de copaíba apresenta diversas propriedades bioativas. Pieri et al.<sup>10</sup> analisou o efeito de inibição do óleo-resina de copaíba, dividindo-a em resina e parte volátil (óleo essencial), contra 20 bactérias isoladas da placa dentárias de cães. Em tal trabalho, identificou-se que o óleo resina foi eficiente na inibição contra as bactérias, e que a parte volátil do óleo foi a que inibiu a maior quantidade de bactérias (17 das isoladas), quando comparada a parte resinosa não volátil (8 bactérias inibidas) e ao óleo-resina intacto (16 bactérias inibidas).

Morelli et al.<sup>11</sup>, investigou as propriedades do óleo-resina de copaíba incorporado em filmes de poli (ácido láctico) e folhas de papel com potencial aplicação como bioembalagens e observou a efetividade do óleo contra a bactéria gram-positiva *Bacillus subtilis*, a qual teve sua proliferação inibida em todos os filmes testados.

O óleo-resina de copaíba apresenta, além da atividade antimicrobiana, atividade anti-inflamatória e por isso é utilizado em cremes para várias partes do corpo, inclusive contra infecção vaginal<sup>43</sup>, uma vez que, estudos mostram que o óleo-resina de copaíba não causa problemas para a mãe nem para o feto durante a gravidez quando aplicado<sup>44</sup>.

Svetlichny et al.<sup>45</sup>, desenvolveu nanopartículas contendo óleo essencial de copaíba, testou sua atividade bioativa *in vitro* contra duas leveduras (*Cândida krusei* e *C. parapsilosis*) e contra fungos patogênicos da pele humana (*Trichophyton rubrum* e *Microsporum canis*) e concluiu que houve a bioatividade do óleo contra os agentes testados, a qual foi melhorada com a nanoencapsulação do mesmo.

Santos et al.<sup>46</sup> estudou a incorporação de óleos essenciais (dentre estes o óleo de copaíba) em filmes de quitosana para utilização como revestimentos em filés de tilápia e observou que o revestimento do peixes com os filmes melhorou a qualidade do pescado e prolongou sua vida útil nas prateleiras.

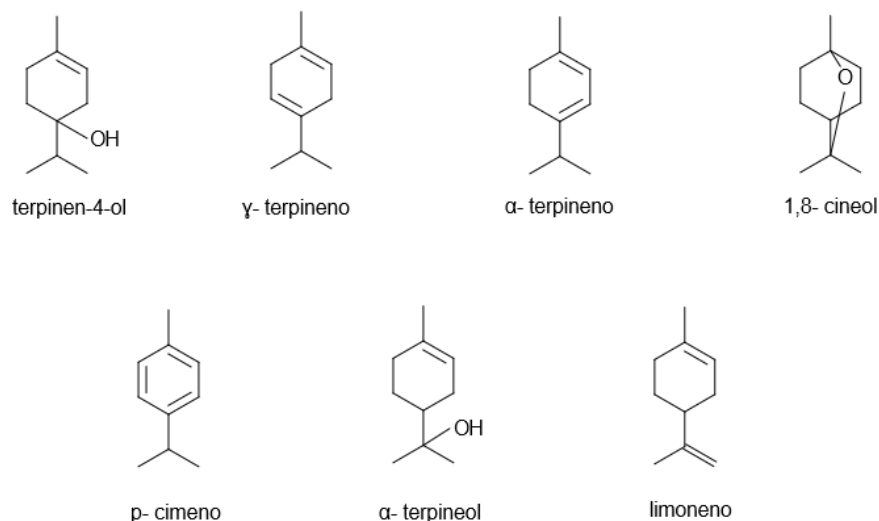
## 2.5 ÓLEO DE MELALEUCA: ASPECTOS GERAIS

A *Melaleuca* é um dos gêneros da família das Myrtaceae, que comporta 130 gêneros e mais de 3000 espécies distribuídas pelo mundo, encontradas principalmente em climas tropicais e subtropicais. O gênero *Melaleuca* é constituído de 230 espécies, centralizadas na Austrália, Indonésia e Ilhas do Oceano Índico<sup>12</sup>.

Além da *Melaleuca alternifolia*, que é umas das principais produtoras de óleo essencial, outras espécies de *Melaleuca*, também são fontes de óleo de melaleuca, sendo estas: *M. linariifolia*, *M. dissitiflora*, *M. uncinata*, *M. cajuputi* e *M. quenervia*<sup>12</sup>.

Da árvore de melaleuca, conhecida também como árvore do chá, é extraído um óleo essencial rico em monoterpenos, como mostra a Figura 5. O óleo de melaleuca contém em sua composição cerca de 100 componentes, sendo que, um de seus compostos mais abundantes é o terpinen-4-ol, o qual representa 40% do óleo<sup>13, 14</sup>.

**Figura 5** – Terpenos presentes no óleo de melaleuca



Fonte: Próprio autor

O óleo de melaleuca não é considerado tóxico, a não ser quando aplicado ou ingerido em quantidades muito altas. Porém, quando administrado de forma correta e moderada este óleo pode ser utilizado em diversos tratamentos, incluindo candidíase oral e acne, devido à sua atividade antimicrobiana<sup>13, 14</sup>.

Hammer et al.<sup>13</sup>, realizou uma revisão de evidências clínicas do uso do óleo de melaleuca em produtos de tratamento contra a acne e concluiu que, esses produtos foram efetivos na redução da acne na pele de paciente com lesões leves e moderadas. E que a eficácia desses produtos está relacionada à atividade antimicrobiana e anti-inflamatória do óleo.

Alguns dos componentes presentes no óleo de malaleuca (terpinen-4-ol, terpinoleno, α-terpineno e α-terpineol) mostraram fortes atividades inibidoras contra a *Propionibacterium acnes* e *Staphylococcus aureus* (bactérias responsáveis pela inflamação da pele e produção de acne). Sendo que, o terpinen-4-ol é um dos maiores responsáveis pela eficácia antibacteriana do óleo de melaleuca, além de não causar irritação significativa da pele<sup>47</sup>.

O óleo de melaleuca também se mostrou inibidor contra as bactérias *E. coli* e *C. albicans*, quando encapsulado em filmes de alginato de sódio<sup>18</sup>.

Dentro os diversos tratamentos realizados na pele por esse óleo, há estudos da utilização do óleo de melaleuca no tratamento de verrugas presentes nas mãos de pacientes pediátricos. O estudo realizado mostrou que o óleo de melaleuca foi de grande sucesso contra a verruga, atuando também na reepitelização da pele <sup>48</sup>.

Há relatos na literatura de tratamentos diretos com óleo de melaleuca contra células cancerígenas. A porcentagem de óleo analisada em um estudo realizado por Ireland et al. <sup>49</sup>, mostrou-se diretamente e seletivamente citotóxica para as células tumorais em camundongos com tumores subcutâneos.

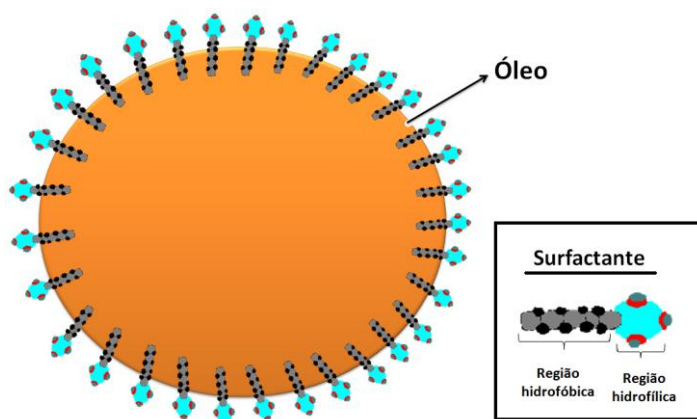
O óleo de melaleuca é utilizado também contra infecções bacterianas, virais, fúngicas, por protozoários, dermatite, seborreia, gengivite crônica, cicatrização de feridas, além de sua eficiência no tratamento contra piolhos <sup>50, 51</sup>.

## 2.6 NANOEMULSÕES

A emulsão, mostrada na Figura 6, é um sistema formado por duas fases imiscíveis unidas por um surfactante (tenso-ativo). Uma emulsão é considerada óleo/água (O/A) quando uma fase de óleo é dispersa em uma fase contínua de água e água/óleo (A/O) quando uma fase de água é dispersa em uma fase contínua de óleo <sup>15</sup>.

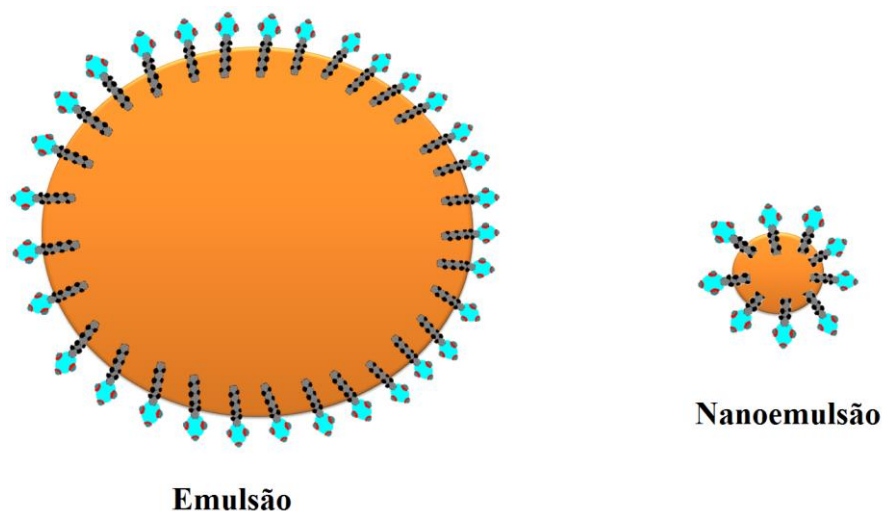
As nanoemulsões são sistemas de emulsão de O/A ou A/O com tamanho de partículas em escalas nanométricas, ou seja, partículas que são bem menores que as partículas presentes no sistema das emulsões. A Figura 7, mostra de forma ilustrativa a diferença entre a emulsão e a nanoemulsão.

**Figura 6** – Desenho representativo de uma emulsão



Fonte: Próprio autor

**Figura 7** – Desenho representativo relacionando emulsão e nanoemulsão



Fonte: Próprio autor

Devido à sua ampla utilização na literatura as nanoemulsões apresentam diversas terminologias, podendo ser encontradas em alguns artigos como: miniemulsão, emulsões-ultrafinas, entre outros<sup>15</sup>.

De acordo com o tamanho de partícula de nanoemulsão, ela poderá ser dividida em dois grupos: sendo transparente e translúcida quando apresentar tamanho entre 50-200 nm e opalescentes com tamanho superior a 500 nm. Quanto menor o tamanho da partícula de nanoemulsão melhor será sua distribuição em determinada área e melhor será sua estabilidade, fazendo com que a nanoemulsão seja eficiente no transporte de fármacos ativos, melhorando as propriedades físicas, químicas e biológicas do material em que forem aplicadas<sup>15, 16</sup>.

As nanoemulsões não se formam espontaneamente, sendo assim, necessária a utilização de dispositivos mecânicos que forneçam energia para sua formação, tais como os equipamentos de alta rotação, alta pressão e os ultrassônicos, que promovem o cisalhamento das gotículas de óleo<sup>52, 53</sup>.

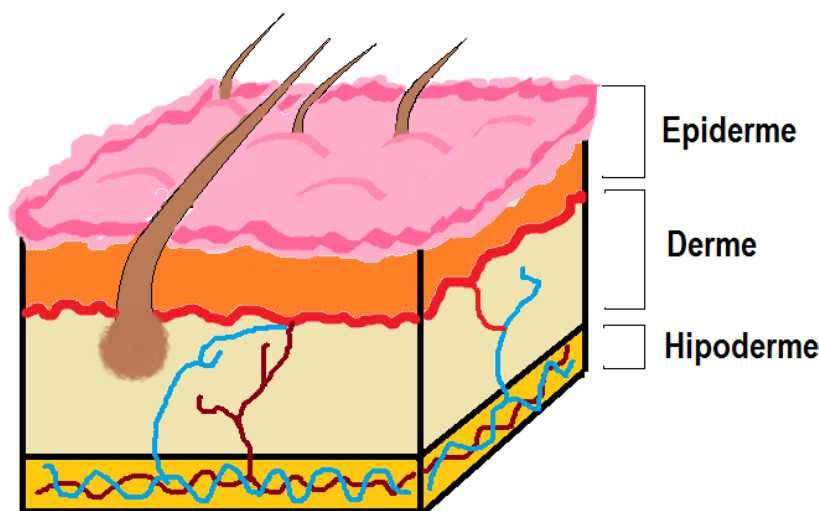
A eficiência da aplicação de drogas em forma de nanoemulsão tem sido relatada em diversos estudos. Maté et al.<sup>53</sup> investigou a melhora do efeito antimicrobiano do *D*-limoneno contra a *Listeria monocytogenes* utilizando tratamento térmico e concluiu que, quando comparado com a aplicação direta de *D*-limoneno, as nanoemulsões de *D*-limoneno reduziram 100 vezes a resistência ao calor da *L. monocytogenes*. Isso mostra que a utilização de nanoemulsão pode reduzir a intensidade de tratamento térmico em alimento.

Nanoemulsões contendo óleos essenciais foram produzidas por Trujillo et al.<sup>54</sup>. Estas potencializaram as atividades contra a bactéria *Escherichia coli*, quando comparada as emulsões e tornaram evidente sua vantagem em sistema de distribuição de aromatizantes e conservantes em indústrias alimentícias.

## 2.7 PELE: LESÃO, FERIDA, CICATRIZAÇÃO E CURATIVO

A pele é o maior órgão humano, atuando como uma interface entre nossos demais órgãos internos e o ambiente externo, protegendo-os de: influências químicas, biológicas, mecânicas e térmicas. A divisão da pele se dá em três camadas principais: epiderme, derme e hipoderme<sup>1</sup>, como mostrado no desenho representativo da Figura 8.

**Figura 8** – Desenho representativo da pele: epiderme, derme e hipoderme



Fonte: Próprio autor

Na hipoderme fica o tecido conjuntivo subcutâneo, gordura e vasos sanguíneos. Já a epiderme (10-100  $\mu\text{m}$ ) é composta por queratinócitos (atuam como barreira mecânica), melanócitos (responsáveis pelo pigmento da pele), células de Langerhans (antígenos) e células de Merkel (sensibilidade tátil). A derme, mais espessa que a epiderme, é composta por vasos sanguíneos que transportam nutrientes, resíduos, entre outros, dentro da pele<sup>1</sup>.

Além de ser um regulador homeostático, controlando a perda de calor e de água, a pele intacta possui um pH que juntamente com o suor são responsáveis pela sua proteção contra os micro-organismos presentes na mesma, no entanto, a pele pode ser, em algumas ocasiões, muito frágil e sofrer algum tipo de lesão ou trauma. A consequência de uma pele lesionada é a

ferida, que depois de realizada, faz com que a pele comece a passar por reações complexas a fim de restaurar sua integridade natural<sup>2</sup>.

A ferida pode ser classificada de duas formas: normal (espessura parcial afetada) e crônica (espessura total afetada). A ferida normal afeta a camada exterior da pele (epiderme), não é profunda, podendo atingir de maneira superficial a derme. Possui como característica a ocorrência de vermelhidão, inflamação, dor, pouco sangramento e causa danos mínimos, podendo ser curada em pouco tempo e apresentando anatomia final e funcionalidade resultantes satisfatórias<sup>2</sup>.

Por outro lado, uma ferida crônica pode afetar e destruir as três camadas da pele, correndo o risco de atingir músculos e ossos. Quando ocorre uma lesão crônica, a cicatrização e regeneração da pele não ocorrem de maneira ordenada, parando o processo de cicatrização no estágio de inflamação, resultando em uma má ou nenhuma cicatrização, além de dificultar a reepitalização da pele<sup>2</sup>.

A cicatrização de uma ferida inicia-se com a inflamação do trauma, onde nos primeiros 10 minutos há um aumento da circulação sanguínea, acarretando vermelhidão, edema, aumento de temperatura na região e dor. A circulação sanguínea facilita a mobilização das células circulatórias, enquanto o sangramento protege a lesão e limpa o ferimento preenchendo-o<sup>3</sup>.

Após a coagulação do sangue, os glóbulos brancos presentes no sangue começam a migrar para a ferida com o intuito de combater os micro-organismos presentes nas mesmas. Em seguida ocorre a produção das células endoteliais, causando a angiogênese e a infiltração dos macrófagos, formando o tecido de granulação, seguida pela formação do tecido cicatricial, formado com colágeno e fracamente vascularizado, que após um tempo resultará na pele cicatrizada<sup>3</sup>.

Os curativos têm como finalidade cobrir a área lesionada da pele, atuando temporariamente como se fossem uma pele intacta, protegendo o interior da pele contra os micro-organismos e contra os fatores de risco externos, para que a ferida não venha infeccionar, não cicatrizando. O curativo ideal tem que proteger a ferida, manter um ambiente favorável para cicatrização e permitir que a pele respire; não pode ser tóxico e tem que possuir características bioativas (antimicrobianas)<sup>4</sup>.

Como observado nesta revisão bibliográfica, encontra-se na literatura diversos estudos sobre a aplicação do alginato de sódio como curativos, assim como, estudos sobre as diversas atividades bioativas dos óleos essenciais de limão, copaíba e melaleuca. Entretanto, não se

encontra nenhum estudo realizado com filmes de alginato de sódio incorporado com nanoemulsões dos óleos de melaleuca, limão e copaíba para uma potencial aplicação como curativo.

Sendo assim, devido a grande carência deste tipo de trabalho nesta área, os autores deste trabalho propuseram a produção e caracterização de filmes de alginato de sódio incorporados com as nanoemulsões dos óleos essenciais de limão, copaíba e melaleuca, a fim de estudar os efeitos das partículas de nanoemulsão nos filmes.

### 3 OBJETIVO

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como objetivo a produção de filmes de alginato de sódio incorporados com nanoemulsões de óleo de limão, melaleuca e copaíba visando uma futura aplicação como curativo. Pretendendo estudar as interações que ocorrem entre as partículas de nanoemulsões e a matriz de alginato e como isso pode influenciar nas propriedades dos filmes.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Avaliar a influência da velocidade de rotação na produção de nanoemulsão, a fim de descobrir a melhor forma da produção de partícula de nanoemulsão.
- ❖ Caracterizar as nanoemulsões quanto ao seu tamanho.
- ❖ Determinar as melhores condições de produção dos filmes e classificar os melhores quanto à sua homogeneidade, continuidade e manuseabilidade.
- ❖ Caracterizar os melhores filmes quanto à interação entre as nanoemulsões e a matriz de alginato e quanto às suas propriedades térmicas, mecânicas e de barreira.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAIS

- ✓ Alginato de sódio; o alginato utilizado foi da Cromoline (Diadema – SP)
- ✓ Tenso-ativo Tween 80; Oxiteno (São Paulo – SP)
- ✓ Óleo essencial de limão siciliano; Ferquima (Vargem Grande Paulista – SP)
- ✓ Óleo essencial de melaleuca; Ferquima (Vargem Grande Paulista – SP)
- ✓ Óleo copaíba bálsamo; Ferquima (Vargem Grande Paulista – SP)

### 4.2 MÉTODOS

#### 4.2.1 Preparação das nanoemulsões

Foram produzidas soluções contendo óleos essenciais de melaleuca, limão, copaíba e Tween 80 em água. Estas foram agitadas em um homogeneizador Ultra-Turrax (Marconi-MA102), como mostrado na Figura 9.

**Figura 9** – Solução de óleo essencial, Tween e água sendo agitada no Turrax



Fonte: Próprio autor

As concentrações de óleo essencial e Tween 80 utilizadas são mostradas na Tabela 3. Sendo que, a solução que apresentou melhor aspecto visual, ou seja, ausência de separação de fases ou sedimentação foi a solução 2. A qual foi utilizada na produção dos filmes deste trabalho.

**Tabela 3** - Soluções de óleo essencial e Tween 80 em água

|                  | <b>Concentração óleo essencial (m/v)</b> | <b>Concentração Tween 80 (m/v)</b> |
|------------------|------------------------------------------|------------------------------------|
| <b>Solução 1</b> | 2%                                       | 1,5 %                              |
| <b>Solução 2</b> | 1%                                       | 0,75 %                             |

Fonte: Próprio autor

As soluções foram agitadas utilizando a velocidade de rotação e o tempo mostrados na Tabela 4. As suspensões obtidas foram avaliadas visualmente quanto a presença de sedimentados ou não, opalescência e homogeneidade da solução e separação ou não de fase após período de repouso.

**Tabela 4** - Velocidade de rotação e tempo utilizado na preparação das nanoemulsões

|                   | <b>Velocidade de rotação (rpm)</b> | <b>Tempo (min)</b> |
|-------------------|------------------------------------|--------------------|
| <b>Agitação 1</b> | 12000                              | 3 a 5 minutos      |
| <b>Agitação 2</b> | 15000                              | 3 a 5 minutos      |

Fonte: Próprio autor

#### 4.2.2 Tamanho médio das partículas nas nanoemulsões

Através da técnica de Espalhamento Dinâmico da Luz (DLS, Dynamic Light Scattering), foram realizadas as medidas de tamanho médio das partículas presentes nas nanoemulsões. As medidas foram feitas no aparelho Zetasizer Nano Series (Malvern Instruments Inc. USA). As análises foram feitas em triplicata na temperatura de 25 °C.

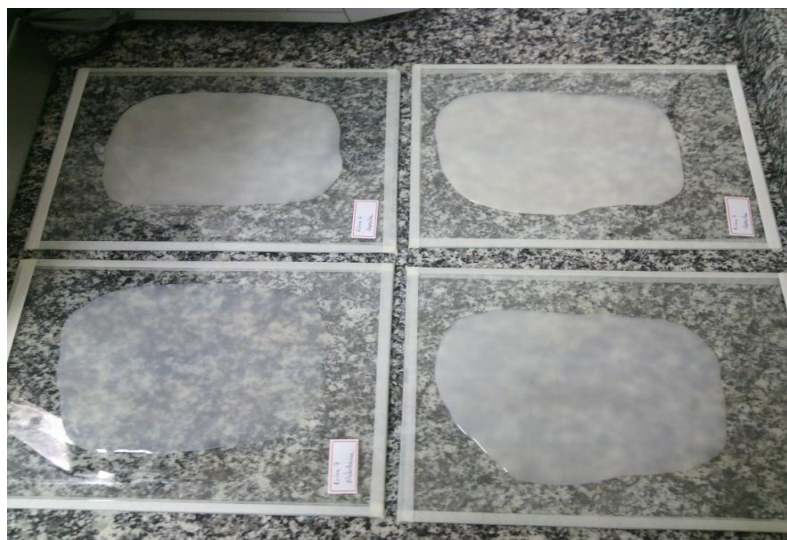
#### 4.2.3 Preparação dos filmes

Os filmes foram produzidos utilizando a técnica de *casting*, que consistiu na dissolução do alginato de sódio (em pó) nas nanoemulsões sob agitação, até sua completa dissolução. A solução polimérica foi deixada em repouso por 24 horas para eliminação de bolhas. A diferença do tipo de filme se deu pela variação da concentração de alginato (2% e

3% m/v), diferença na velocidade de rotação para o preparo das nanoemulsões (Tabela 4) e pela variação de temperatura na secagem (Temperatura ambiente ou estufa - 45 °C).

Após a eliminação das bolhas, as soluções poliméricas foram depositadas em um suporte de poliéster e colocadas em uma superfície plana para serem secas durante 24 horas, conforme mostra a Figura 10.

**Figura 10** – Esquema de secagem dos filmes secos em temperatura ambiente



Fonte: Próprio autor

#### 4.2.4 Determinação da espessura

As espessuras dos filmes foram obtidas através de um micrômetro digital (No. 7326, Mitutoyo Manufacturing, Japan). Foram realizadas 3 análises em três diferentes áreas do filme. O micrômetro utilizado apresentava precisão e 0,001 mm.

#### 4.2.5 Permeabilidade ao vapor de água (WVP)

Para as análises de WVP foi utilizado o método adaptado da norma ASTM E96-80<sup>55</sup>, como descrita na literatura por Mchugh et al<sup>56</sup>. Os filmes foram cortados na forma de um círculo com 5 cm de diâmetro e colocados em cima de placas de Teflon®, as quais comportavam 6 ml de água destilada. Uma segunda placa foi colocada por cima da primeira e ambas foram fixadas por parafusos, como mostra a Figura 11. As análises foram feitas em triplicata para todos os filmes.

**Figura 11-** Placas de Teflon<sup>®</sup> utilizadas na análise de WVP



Fonte: Próprio autor

As placas com os filmes foram colocadas em uma estufa com a temperatura controlada de  $25 \pm 1$  °C e  $40 \pm 3$  % de umidade. Foi utilizada sílica para o controle da umidade interna. Foram feitas pesagens periódicas das placas (hora em hora) e suas massas foram anotadas para utilização na determinação da WVP.

Através dos valores de WVTR (Velocidade de transmissão de vapor de água), foi determinado o valor de WVP para os filmes, utilizado as Equações de 1 a 3.

$$\text{Velocidade de transmissão de vapor de água (WVTR)} = \frac{\text{perda de massa do filme}}{\text{área do filme}} \quad (1)$$

$$\text{WVTR} = \frac{\text{mw.P.D.ln}[(P-p_2)/(P-p_1)]}{R.T.z} \quad (2)$$

$$\text{WVP} = \frac{\text{WVTR}}{(p_2-p_3)} y \quad (3)$$

Onde: mw é a massa molar da água (18 g/ mol), D é a difusividade do vapor de água pelo ar a 298 K ( $0,102 \text{ m}^2/\text{s}$ ), P é a pressão total (1 atm),  $p_1$  é a pressão de vapor a 298 K, R é a constante do gases ( $82,1 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ atm/ g mol K}$ ), z é a altura média que o gás inerte atinge,  $p_2$  (Pressão parcial de vapor da parte inferior do filme),  $p_3$  (Pressão parcial de vapor da parte superior do filme) e y (Espessura média dos filmes).

#### **4.2.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

As análises da morfologia dos filmes foram obtidas usando um microscópio eletrônico de varredura computadorizado da marca ZEISS modelo EVO LS15, da Unesp de Ilha solteira, com voltagem de 12 kV. Os filmes foram fixados em uma fita de carbono dupla face e metalizados por um *Sputter Coater* (metalizador) da marca Quorum, modelo Q150 T, durante um minuto e meio para que houvesse a deposição de uma fina camada de ouro sobre eles.

Para essa análise, as amostras foram colocadas em um dessecador de vidro com sílica em gel durante 24 horas, para eliminação da umidade presente no filme. Somente após esse período é que os filmes foram cortados para a análise.

#### **4.2.7 Propriedades térmicas**

A fim de analisar o comportamento térmico dos filmes incorporados com as nanoemulsões dos óleos em relação aos filmes controle de alginato puro, foram realizadas as análises de TG e DSC dos mesmos. Através dessas análises foi possível observar a variação da Temperatura de degradação (Td) e da Temperatura de pico endotérmico (TPE) quando incorporada as nanoemulsões na matriz de alginato.

O estudo da temperatura de degradação (Td) nos filmes, também é importante para avaliar a estabilidade térmica dos filmes de alginato de sódio incorporado com as nanoemulsões dos óleos.

##### **4.2.7.1 Análise Termogravimétrica (TG)**

As análises termogravimétricas foram realizadas no equipamento TGA Q-500. Uma massa entre 5 e 8 mg de amostra foi utilizada nessa análise, as quais foram colocadas em uma panela de platina e analisadas com a seguinte programação: rampa de aquecimento até 600 °C, razão de aquecimento de 10 °C/min para cada amostra e vazão de ar sintético de 60 mL/min.

##### **4.2.7.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)**

As análises de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) foram realizadas por um equipamento da TA Instruments Q 100, do modelo Standard Cell FC.

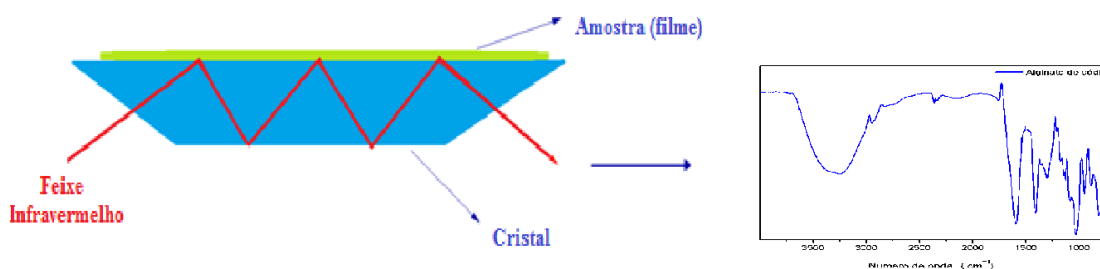
Foram utilizados de 5 a 8 mg de amostras nas análises, as quais foram colocadas em uma panela de alumínio, seladas e colocadas no equipamento para análise. A programação realizada foi: uma rampa de aquecimento de -70 a 210 °C, com razão de 10 °C/min e vazão 50 mL/min de gás nitrogênio.

#### 4.2.8 Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) adaptada com a Técnica de Refletância Total Atenuada (ATR)

Para analisar qualitativamente a incorporação das nanoemulsões dos óleos de limão, melaleuca e copaíba na matriz de alginato, foi realizada a análise de Refletância Total Atenuada (ATR) nas amostras (FASM, FASL e FASC), no filme controle de alginato de sódio e nos OE puros.

A análise de ATR foi feita através de um acessório colocado no equipamento de FT-IR, o qual é composto por um feixe de luz refletido internamente pela superfície do equipamento. Quando o filme ou o óleo é colocado na superfície refletora, a luz o penetra até a profundidade de alguns micrômetros, produzindo assim um espectro infravermelho, como mostra a Figura 12.

**Figura 12-** Desenho representativo da análise de ATR



Fonte: Próprio autor

Para a produção dos espectros de ATR dos filmes foram utilizados 128 varreduras de 4000 a 650  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 2  $\text{cm}^{-1}$ . Já para os óleos foram utilizadas 96 varreduras, com resolução de 2  $\text{cm}^{-1}$ . As análises foram feitas no espectrofotômetro NEXUS 670, Nicolet Instrument Corporation.

#### 4.2.9 Propriedades Mecânicas

Para a determinação da resistência mecânica dos filmes produzidos neste trabalho, foi realizada a análise de tensão x deformação, utilizando o teste de tração. Os filmes foram cortados em forma de gravata como especificado no método ASTM D882-97<sup>57</sup>: tendo 13 mm de largura e 100 mm de comprimento. Foram medidas as espessuras em três regiões diferentes de cada amostra. Em seguida, foram colocados em um dessecador com umidade controlada, na temperatura de  $25 \pm 1$  °C durante 24 horas antes do teste. Os testes foram realizados em temperatura ambiente, em um equipamento da marca Instron, modelo 3369. A velocidade de tracionamento utilizada foi de 10 mm/min.

A deformação ( $\epsilon$ ) dos filmes foi determinada pela Equação 4, onde L e  $L_0$  são os comprimentos de alongação do filme durante o experimento e o comprimento inicial do filme<sup>58</sup>, respectivamente.

$$\epsilon = \ln (L/L_0) \quad (4)$$

Através da medição da força necessária para se romper o filme, foi determinada a tensão ( $\sigma$ ). A qual foi calculada pela Equação 5, onde F é o valor da força de ruptura exercida e S é a área seccional do filme<sup>58</sup>.

$$\sigma = F/S \quad (5)$$

O módulo de elasticidade (E) foi calculado pela inclinação inicial da curva tensão-deformação obtida<sup>58</sup>.

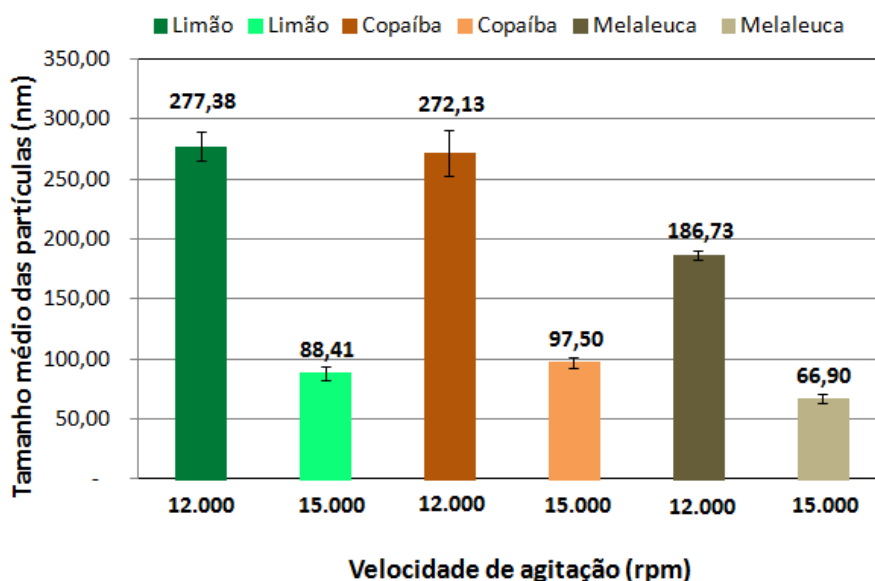
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 NANOEMULSÕES

Na Figura 13, é mostrado o tamanho médio das nanoemulsões de acordo com a velocidade de rotação. É possível observar que ocorreu uma variação no tamanho das partículas conforme foi aumentada a velocidade de rotação.

No caso das nanoemulsões com partículas menores, devido a alta velocidade de rotação, as moléculas de óleo colidem entre si, ocorrendo o cisalhamento das mesmas. Como resultado, há a formação de nanoemulsões com tamanhos menores de partículas. Já em rotações com menor velocidade, esse efeito tem menor intensidade, resultando em nanoemulsão com partículas maiores.

**Figura 13** - Valores de tamanho médio das nanoemulsões dos óleos em relação a velocidade de agitação. A barra de erros indica o desvio padrão.

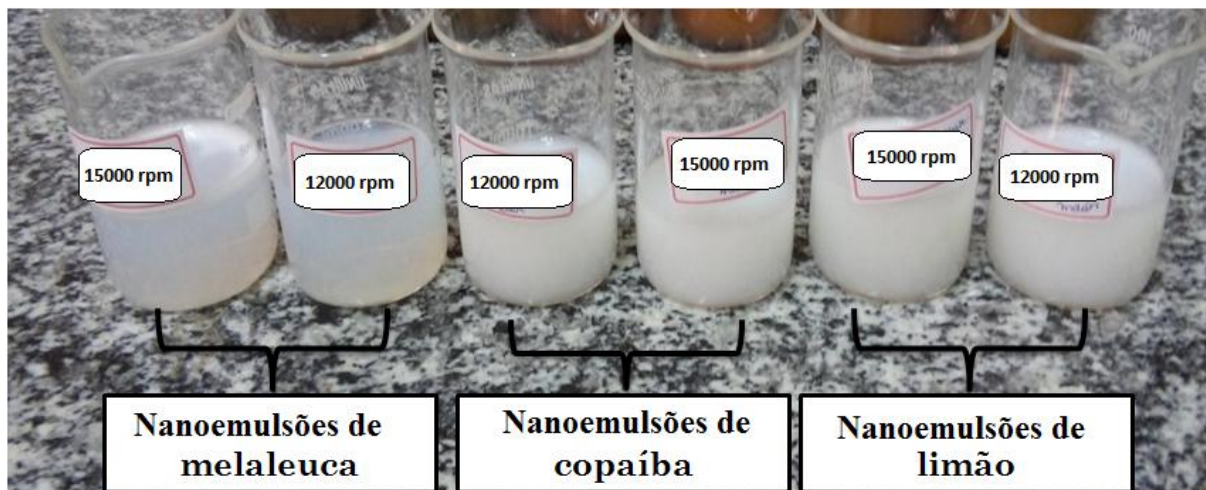


Fonte: Próprio autor

As nanoemulsões permaneceram estáveis após serem produzidas, mostrando-se eficientes as velocidades de rotações utilizadas na análise. Como podemos observar na Figura 14, que mostra a fotografia digital das nanoemulsões dos óleos com tamanho de partícula maior, não ocorreu a formação de precipitado e nem separação de fase após a preparação. A suspensão do óleo de melaleuca é bem mais translúcida que as suspensões dos demais óleos, isso acontece, pois quanto maior o tamanho da partícula de nanoemulsão mais opaca será a

suspensão, devido a dificuldade da passagem de luz na mesma, sendo assim é possível ter um indício da diferença de tamanho de partículas<sup>59</sup>.

**Figura 14** – Fotografia digital das nanoemulsões produzidas com menor rotação (12000 rpm) e maior rotação (15000 rpm)



Fonte: Próprio autor

## 5.2 PREPARAÇÕES DOS FILMES DE ALGINATO DE SÓDIO INCORPORADOS COM NANOEMULSÕES DE ÓLEO DE MELALEUCA, LIMÃO E COPAÍBA

Foi realizado um planejamento fatorial  $2^3$  para a produção dos filmes que, depois de prontos passaram por uma avaliação subjetiva para classificá-los segundo sua continuidade (ausência de fratura ou ruptura após secagem), homogeneidade (ausência de partículas visíveis a olho nu, opacidade) e manuseabilidade (manusear o filme sem riscos de ruptura)<sup>60</sup>.

O planejamento fatorial  $2^3$ , mostrado na Tabela 5, é composto por 2 níveis (+ e -) e 3 variáveis (A, B e C): onde a variável A representava a porcentagem de alginato (m/v), a B o tamanho da partícula de nanoemulsão (maiores ou menores, de acordo com a velocidade de rotação) e C a temperatura de secagem. O nível superior (+) representava maiores valores trabalhados e nível inferior (-) menores valores trabalhados.

Com o auxílio do planejamento fatorial foram produzidos 8 filmes para cada óleo essencial trabalhado (limão, copaíba e melaleuca), chegando ao total de 24 filmes. Depois de produzidos, estes foram avaliados subjetivamente e classificados como: excelente, bom ou deficiente.

**Tabela 5** - Planejamento fatorial  $2^3$  para aquisição dos filmes

| Variáveis | Nível inferior (-)                      | Nível superior (+)                      |
|-----------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|
| <b>A</b>  | Concentração de 2% (m/v) de alginato    | Concentração de 3% (m/v) de alginato    |
| <b>B</b>  | Tamanho: nanoemulsão menor (15.000 rpm) | Tamanho: nanoemulsão maior (12.000 rpm) |
| <b>C</b>  | Secagem em temperatura ambiente         | Secagem a 45 °C                         |

Fonte: Próprio autor

Foi possível observar no experimento de avaliação subjetiva, mostrados na Tabela 6, para os FASC, que começou a aparecer classificações como excelente para os resultados de continuidade, homogeneidade e manuseabilidade, a partir do experimento 6 (filme 6). Já os experimentos dos filmes de 1 a 5 apresentaram resultados mais deficientes. Dados semelhantes foram observados para os FASL, como mostrado na Tabela 7.

**Tabela 6** - Avaliação subjetiva FASC

| Filmes   | Variáveis |   |   | Avaliação subjetiva |               |                 |
|----------|-----------|---|---|---------------------|---------------|-----------------|
|          | A         | B | C | Continuidade        | Homogeneidade | Manuseabilidade |
| <b>1</b> | +         | + | + | ■                   | ●             | ●               |
| <b>2</b> | -         | + | + | ■                   | ■             | ■               |
| <b>3</b> | +         | - | + | ■                   | ●             | ■               |
| <b>4</b> | -         | - | + | ●                   | ■             | ■               |
| <b>5</b> | +         | + | - | ●                   | ■             | ●               |
| <b>6</b> | -         | + | - | ●                   | ♥             | ♥               |
| <b>7</b> | +         | - | - | ●                   | ♥             | ♥               |
| <b>8</b> | -         | - | - | ♥                   | ♥             | ♥               |

♥ excelente; ● boa; ■ deficiente.

Fonte: Próprio autor

Na Tabela 8 os melhores resultados (classificação excelente) são para os filmes 5, 7 e 8. Assim, com esses resultados foi possível classificar as condições ótimas para a produção dos melhores filmes. Sendo que, somente estes foram caracterizados.

**Tabela 7** - Avaliação subjetiva dos FASL

| Filmes | Variáveis |   |   | Avaliação subjetiva |               |                 |
|--------|-----------|---|---|---------------------|---------------|-----------------|
|        | A         | B | C | Continuidade        | Homogeneidade | Manuseabilidade |
| 1      | +         | + | + | ●                   | ■             | ●               |
| 2      | -         | + | + | ●                   | ●             | ●               |
| 3      | +         | - | + | ●                   | ●             | ♥               |
| 4      | -         | - | + | ●                   | ■             | ■               |
| 5      | +         | + | - | ●                   | ●             | ●               |
| 6      | -         | + | - | ♥                   | ●             | ♥               |
| 7      | +         | - | - | ●                   | ♥             | ♥               |
| 8      | -         | - | - | ♥                   | ♥             | ♥               |

♥ excelente; ● boa; ■ deficiente.

Fonte: Próprio autor

**Tabela 8** - Avaliação subjetiva dos FASM

| Filmes | Variáveis |   |   | Avaliação subjetiva |               |                 |
|--------|-----------|---|---|---------------------|---------------|-----------------|
|        | A         | B | C | Continuidade        | Homogeneidade | Manuseabilidade |
| 1      | +         | + | + | ●                   | ■             | ●               |
| 2      | -         | + | + | ●                   | ■             | ●               |
| 3      | +         | - | + | ●                   | ●             | ●               |
| 4      | -         | - | + | ●                   | ■             | ●               |
| 5      | +         | + | - | ●                   | ●             | ♥               |
| 6      | -         | + | - | ●                   | ●             | ●               |
| 7      | +         | - | - | ●                   | ●             | ♥               |
| 8      | -         | - | - | ♥                   | ♥             | ●               |

♥ excelente; ● boa; ■ deficiente.

Fonte: Próprio autor

### 5.3 CARACTERIZAÇÕES DOS FILMES

#### 5.3.1 Análise de permeabilidade á vapor de água (WVP)

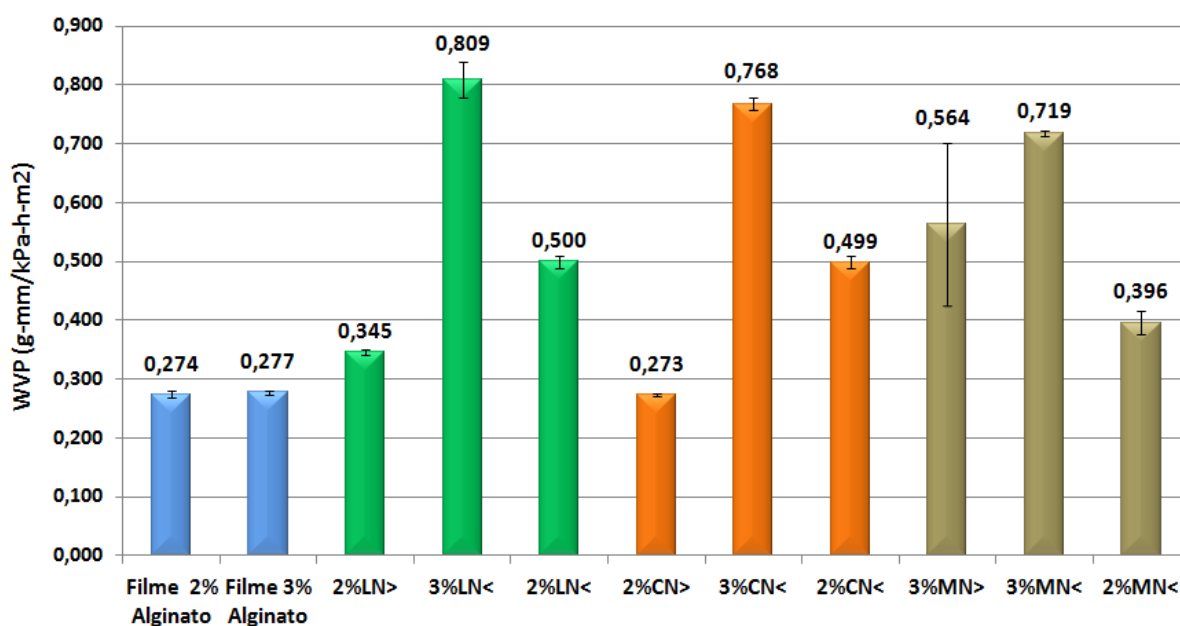
**Tabela 9** - Espessuras das amostras de filmes utilizadas na análise de WVP

| FASM              | Espessura (mm) | FASL  | Espessura (mm) | FASC  | Espessura (mm) |
|-------------------|----------------|-------|----------------|-------|----------------|
| 3%MN>             | 0,06 ± 0,01    | 3%LN> | –              | 3%CN> | –              |
| 2%MN>             | –              | 2%LN> | 0,04 ± 0,01    | 2%CN> | 0,03 ± 0       |
| 3%MN<             | 0,05 ± 0,01    | 3%LN< | 0,07 ± 0,02    | 3%CN< | 0,06 ± 0,01    |
| 2%MN<             | 0,03 ± 0,01    | 2%LN< | 0,04 ± 0,01    | 2%CN< | 0,04 ± 0,01    |
| Alginato 2% (m/v) | 0,02 ± 0,01    |       |                |       |                |
| Alginato 3% (m/v) | 0,03 ± 0,01    |       |                |       |                |

Fonte: Próprio autor

Como mostrado na Figura 15, ocorreu um aumento significativo no valor de permeabilidade de vapor de água (WVP) para os filmes de alginato de sódio incorporado com as nanoemulsões dos óleos em relação aos filmes controle de alginato de sódio.

**Figura 15** – Valores de WVP para os filmes controle de alginato de sódio e para os FASL, FASM e FASC. São apresentados os valores médios e a barra de erros indica o desvio padrão.



Fonte: Próprio autor

Dados semelhantes foram encontrados também na literatura para a incorporação de outros óleos com a presença de tenso-ativos, porém não incorporados na forma de

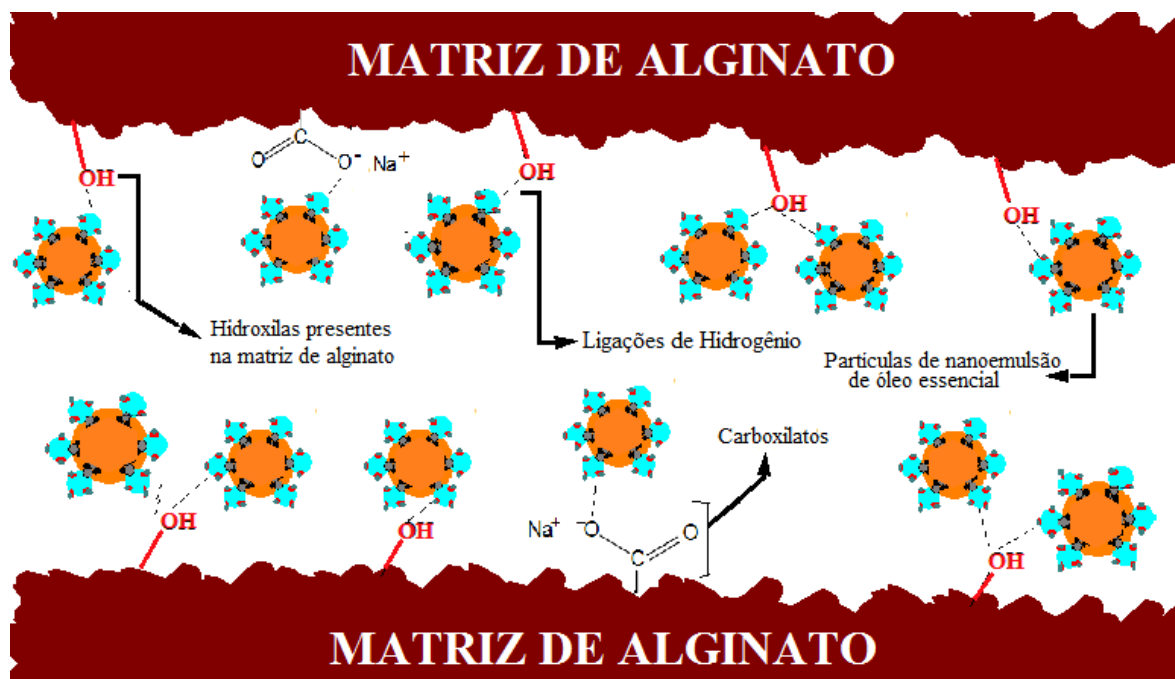
nanoemulsão, em uma matriz de alginato<sup>61</sup>. Kavooosi *et al.*<sup>62</sup>, em seu trabalho, produziu filmes de gelatina incorporados com óleo de Zataria e afirmou que valor de WVP depende da interação hidrófilo-hidrófobo presente no filme.

Os filmes com 3% de alginato e menores tamanhos de partículas de nanoemulsões tiveram maiores valores de WVP, isto pode estar relacionado com o tamanho das partículas de nanoemulsão e com a concentração de alginato presente no filme.

As partículas de nanoemulsões possuem uma parte hidrofóbica que interage com o óleo e uma parte hidrofílica que interage com a água durante sua formação. Depois dos filmes produzidos e secos a parte hidrofílica deixa de interagir com a água que evapora e passa a interagir com as cadeias de alginato através de ligações de hidrogênio<sup>63</sup>. Essa interação com o alginato ocorre mais abundantemente em filmes com nanoemulsões de partículas menores do que com nanoemulsões de partículas maiores, devido à sua melhor distribuição ao longo da matriz de alginato e a sua maior área de contato.

Como ilustrado na Figura 16, as partículas de nanoemulsões podem interagir tanto com as hidroxilas, quanto com os grupos carboxilatos presentes na matriz de alginato de sódio.

**Figura 16** – Interações das nanoemulsões com a matriz de alginato de sódio através de ligações de hidrogênio formadas pelos grupos hidroxilas e carboxilatos presentes nos filmes



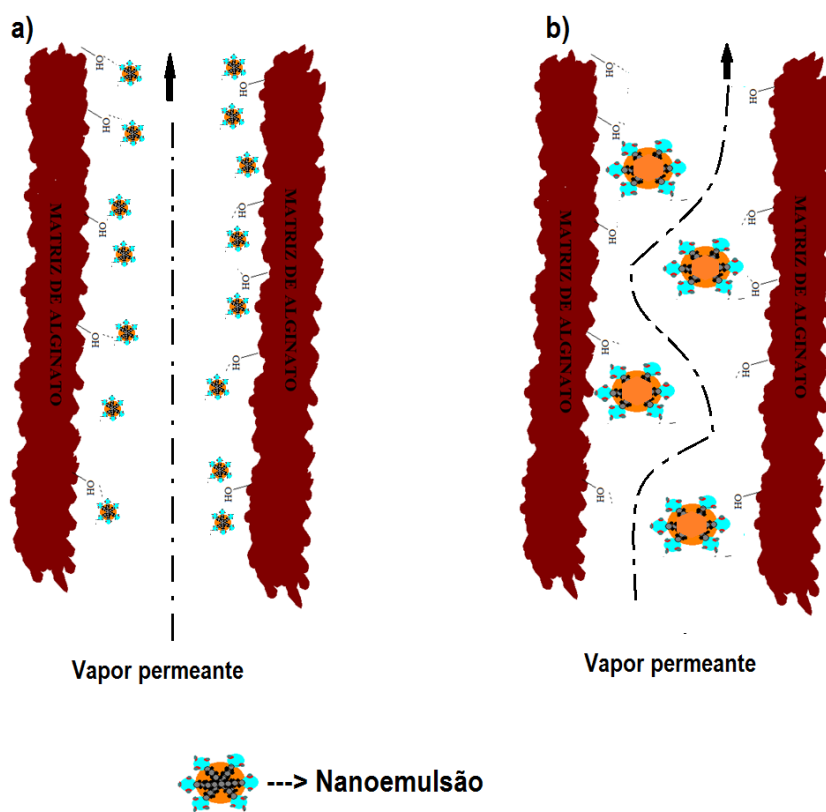
A maior probabilidade de formação de ligações de hidrogênio é com as hidroxilas, que estão em maior quantidade. Já os grupos carboxilatos são mais estáveis devido

às duas ligações presentes no carbono (O-Na e C=O), que dificulta as ligações de hidrogênio com as partículas de nanoemulsão.

As Figuras 17 e 18 ilustram como as interações que ocorrem entre as partículas de nanoemulsões e a matriz de alginato de sódio podem influenciar no aumento ou diminuição da WVP. Como dito anteriormente, as interações entre as partículas de nanoemulsões e a matriz de alginato de sódio ocorrem mais abundantemente em filmes incorporados com nanoemulsões de partículas menores, devido à sua melhor distribuição ao longo da matriz de alginato.

Na Figura 17 (a), devido ao menor tamanho e a maior quantidade de partículas de nanoemulsões presentes, há uma maior ocorrência de interações com a matriz de alginato na Figura 17 (a) do que na Figura 17 (b), fazendo com que as partículas de nanoemulsões “ignorem” a passagem de vapor de água pelo filme, e consequentemente aumente a WVP.

**Figura 17** – Desenho representativo das interações hidrófilo-hidrófobo das nanoemulsões de OE com a matriz de alginato: (a) partículas de nanoemulsões menores e (b) partículas de nanoemulsões maiores



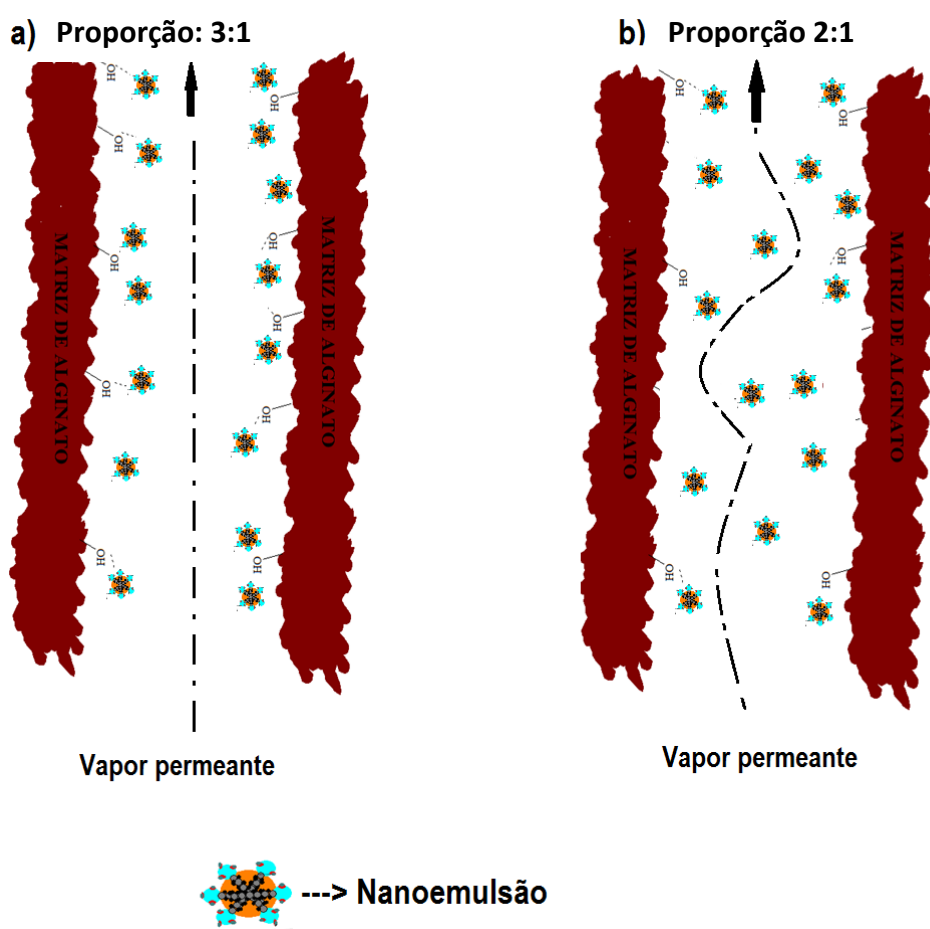
Fonte: Próprio autor

A diminuição da concentração de alginato na produção dos filmes também dificulta a passagem de vapor de água e diminui significativamente os valores de WVP. Isso ocorre, pois, uma matriz com menos grupamento polares, ou seja, menor concentração de alginato

pode não interagir com todas as partículas de nanoemulsões presentes nos filmes, fazendo com que elas dificultem a passagem de vapor de água, como mostra a Figura 18(b).

Entretanto, aumentando a concentração de alginato, aumenta-se também a quantidade de grupamentos polares, os quais interagem com as nanoemulsões que antes estavam livres. Essa interação faz com que os vapores de água passem livremente, aumentando os valores de WVP como pode ser visto na Figura 18 (a).

**Figura 18** – Desenho representativo do efeito da porcentagem de alginato no valor de WVP: Proporção de NaAlg/ OE (a) 3:1 e (b) 2:1



Fonte: Próprio autor

### 5.3.2 Análise Termogravimétrica (TG)

Como observado na análise de WVP e posteriormente na análise te ATR, as partículas de nanoemulsões interagem com a matriz de alginato de sódio devido às ligações de hidrogênio. Assim, sua  $T_d$  dependerá do efeito coletivo das interações desses materiais no filme, sendo diferentes das propriedades do alginato de sódio e dos óleos essenciais puros<sup>59</sup>.

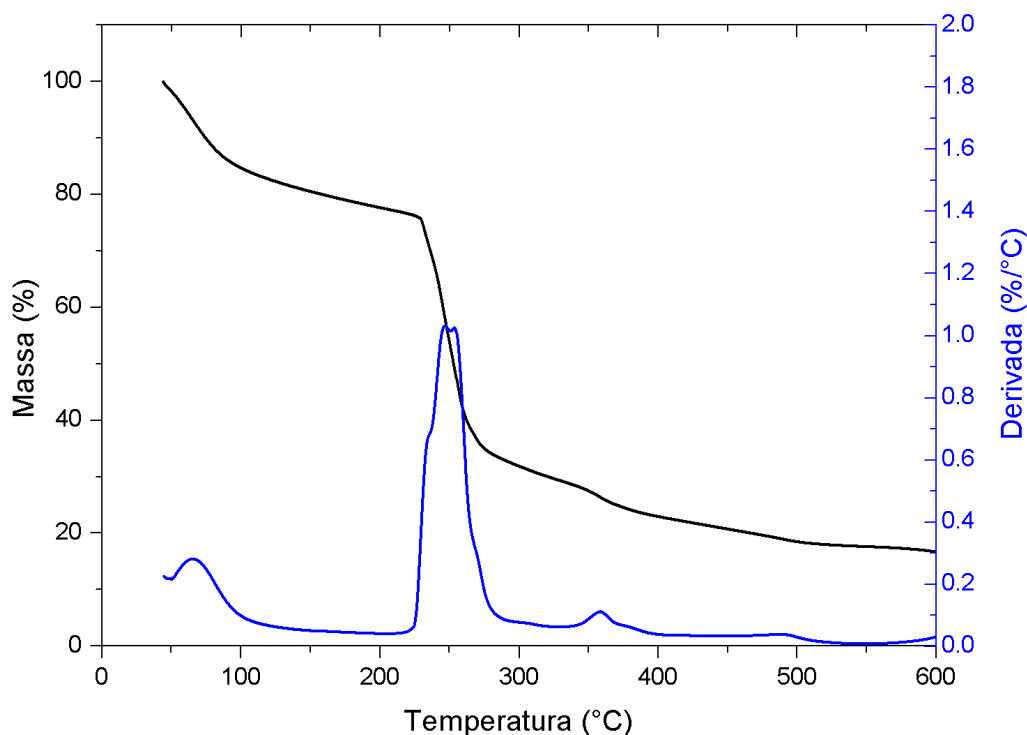
É de extrema importância conhecer a  $T_d$  dos filmes, pois se esses materiais forem produzidos em escala industrial poderão ser processados em temperatura elevada para diminuir o tempo de processamento e acelerar a produção. Sendo assim, é necessário conhecer a  $T_d$  das amostras para conhecer o limite de degradação dos mesmos.

Para isso, foi realizada a análise Termogravimétrica (TG) das amostras, ou seja, a variação da perda de massa das mesmas em função da temperatura. Assim como, a análise Termogravimétrica derivada (DTG), onde são obtidas curvas que correspondem à derivada primeira da curva de TG.

#### 5.3.2.1 TG do filme controle de Alginato de sódio

A Figura 19 mostra as curvas de TG/DTG em função da temperatura do filme controle de alginato de sódio.

**Figura 19** - Curvas de TG/DTG para o filme de alginato de sódio



Fonte: Próprio autor

Na Figura 19 é possível observar que o filme de alginato de sódio tem comportamento semelhante ao encontrado na literatura, isto é, até 100°C há desidratação da amostra. Isso ocorre devido ao elevado teor de umidade nos filmes de alginato, que está relacionado com as ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxilos da cadeia de alginato e as moléculas de água que não evaporaram com a secagem dos filmes<sup>64</sup>.

Após o processo de desidratação, acima de cerca de 220 °C inicia-se a decomposição da amostra, sendo tal temperatura a *Td*. Isso se deve a vários processos complexos, que começa com a desidratação de anéis sacarídeos e decomposição das cadeias poliméricas com a liberação de água, CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub><sup>65,66</sup>.

A decomposição da amostra é seguida por pequenos eventos térmicos de pouca definição nas curvas de TG/DTG até tornar-se um material carbonizado. O material carbonizado decompõe-se acima de 500 °C na forma de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, indo até aproximadamente 600 °C, onde 22% da massa inicial da amostra permanecer como resíduo<sup>65,66,67</sup>.

O resíduo formado pode estar relacionado com o sódio e com os materiais inorgânicos residuais das algas marinhas marrons, uma vez que o alginato é extraído de fontes naturais<sup>64</sup>.

### 5.3.2.2 TG e DTG das amostras de FASM

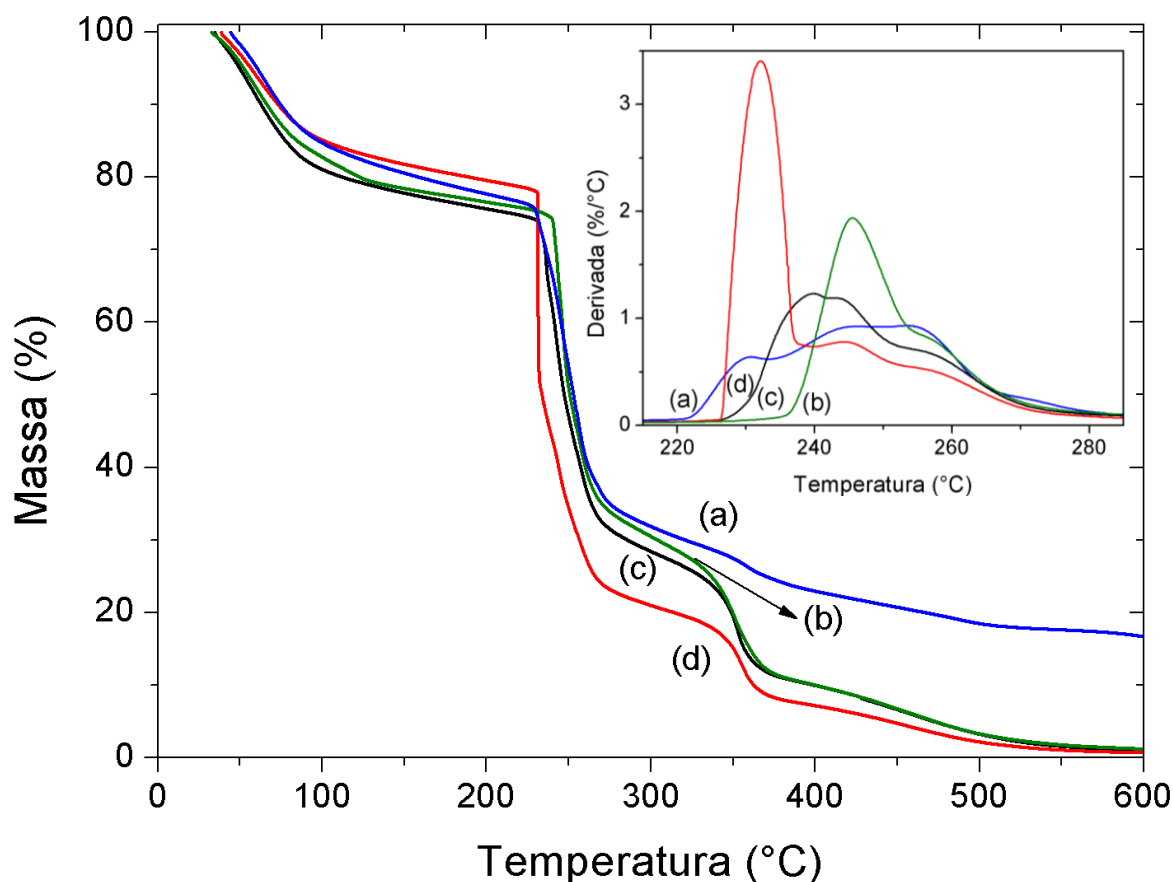
Na Figura 20, é possível observar as curvas de TG em função da temperatura para os FASM. Até aproximadamente 120°C houve a perda de água que ainda estava presente nos filmes, como também observado na curva de TG do filme controle de alginato e, em seguida, iniciou-se o processo de degradação.

Todos os FASM apresentaram uma *Td* maior que o filme controle de alginato, porém, degradaram mais rápido. Isso está relacionado com a forte interação entre a matriz de alginato de sódio e as nanoemulsões dos óleos presentes nos filmes de melaleuca. A Tabela 10 mostra as *Td* do filme controle de alginato de sódio e as dos FASM.

**Tabela 10** - Temperatura de degradação do filme controle de alginato de sódio e dos FASM

| Filmes                              | Tamanho médio de partícula de nanoemulsão (nm) | <i>Td</i> ( °C) |
|-------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------|
| Filme controle de Alginato de sódio | Sem nanoemulsão                                | 220             |
| FASM – 3%MN<                        | 67 ± 4                                         | 226             |
| FASM - 2%MN<                        | 67 ± 4                                         | 236             |
| FASM - 3%MN>                        | 187 ± 4                                        | 227             |

**Figura 20** – Curvas de TG/DTG para os FASM: (a) Filme controle de alginato de sódio, (b) 2%MN<, (c) 3%MN> e (d) 3%MN<



Fonte: Próprio autor

É possível observar na Figura 20 que o filme (d) decompõe-se primeiro que os demais. Isso pode estar relacionado com o tamanho de suas partículas de nanoemulsões que, pelo fato de serem menores, interagem com mais regiões da matriz de alginato, resultando em um filme com menor  $T_d$ .

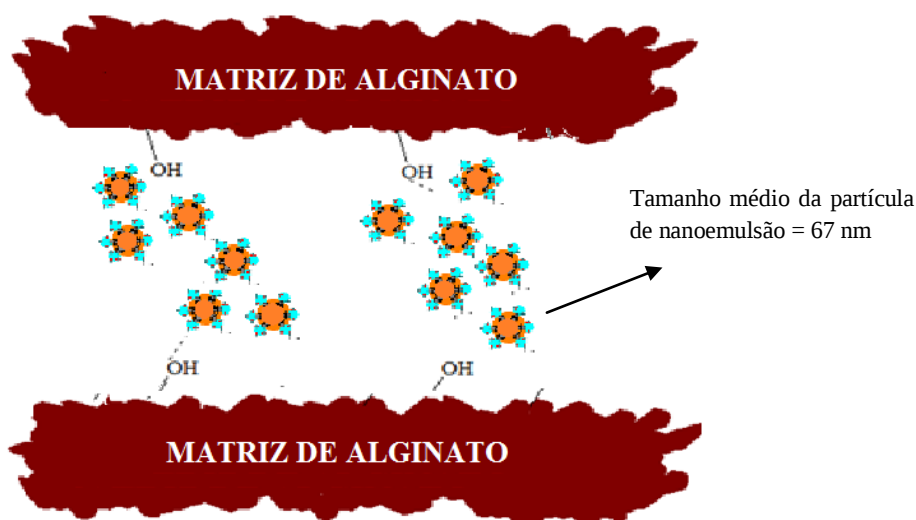
A  $T_d$  do filme (d) está próxima a  $T_d$  do filme (c), pois suas partículas de nanoemulsão, apesar de serem menores, podem ter se aglomerado, como observado na micrografia da análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da Figura 29 (b), o que influenciou em sua  $T_d$ .

Os aglomerados de nanoemulsões do filme (d) são menores que os do filme (c), e essa diferença de tamanho pode ter influenciado no processo de degradação do segundo evento térmico, pois o filme (d) degrada-se mais rápido que o (c) podendo ser um indício da melhor interação do (d) com a cadeia polimérica, devido ao seu menor tamanho de partícula.

Excepcionalmente na curva de TG dos FASM, o filme (b) com 3%MN<, apesar de ter o mesmo tamanho de partículas de nanoemulsão que o filmes (d), teve  $T_d$  maior. Isso pode estar relacionado com a menor concentração de alginato de sódio utilizada no filme (b), o que ocasionou a diminuição dos grupos hidroxilas presentes no mesmo.

Como as nanoemulsões do óleo de melaleuca foi uma das que mais interagiu com a matriz de alginato, a ausência de grupos hidroxilas fez com que as partículas de nanoemulsão interagissem entre si e, ainda, com as poucas hidroxilas presentes nas cadeias de alginato, formando aglomerados maiores que os presentes no filme (d), aumentando a interação em alguns pontos, amarrando as cadeias e aumentando sua  $T_d$ . Como exemplificado na Figura 21.

**Figura 21** - Desenho representativo da interação das nanoemulsões do óleo melaleuca com a matriz de alginato de sódio. Proporção NaAlg/OE de 2:1.



Fonte: Próprio autor

Na Figura 20, no intervalo entre 325 °C e 375 °C há um terceiro evento térmico com menor perda de massa em relação ao segundo evento, que pode estar relacionado à quebra e degradação de alguma parte da cadeia polimérica que não se decompôs no primeiro evento térmico<sup>65, 66</sup>.

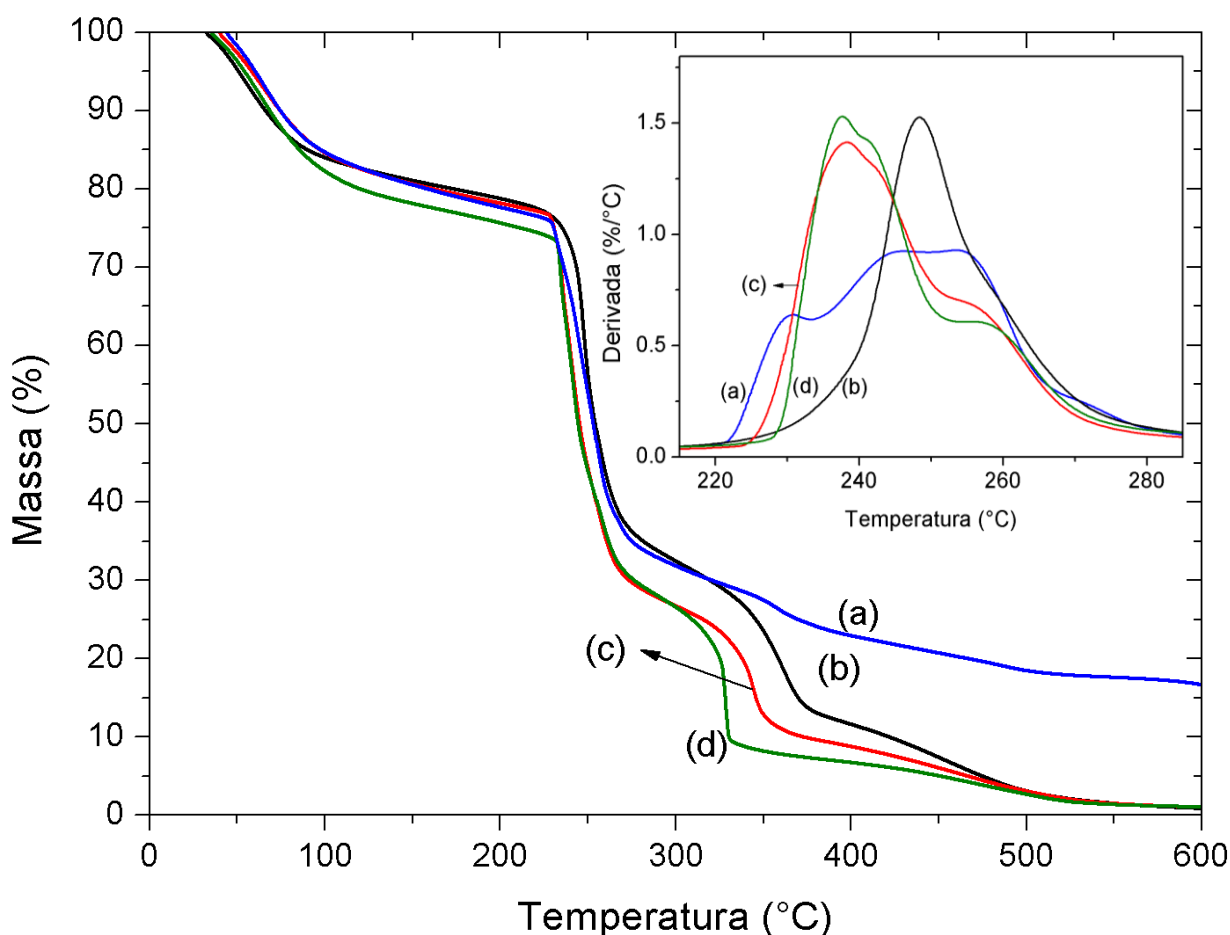
Esse evento foi maior nos FASM do que no filme controle de alginato. Isso pode estar ocorrendo, pois as nanoemulsões dos óleos podem ter aumentado a combustão na queima dos filmes com a liberação água, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, formando menos material carbonizado, o qual se decompôs na forma de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> em temperaturas menores<sup>65,66,67</sup>. Resultado na

decomposição completa dos FASM, sem nenhum material residual em aproximadamente 600 °C.

### 5.3.2.3 TG e DTG das amostras FASL

A Figura 22 mostra as curvas de TG dos FASL. Até aproximadamente 120 °C houve uma perda de massa referente à desidratação da amostra. Todos os FASL começaram a degradar-se depois do filme controle de alginato, porém os filmes (c) e (d) degradaram primeiro, devido ao menor tamanho das partículas de nanoemulsão, o que resultou em uma maior interação com a matriz de alginato de sódio.

**Figura 22** – Curvas de TG/DTG para os FASL: (a) Filme controle de alginato de sódio, (b) 2%LN>, (c) 3%LN< e (d) 2%LN<



Fonte: Próprio autor

Devido o tamanho das partículas de nanoemulsões do filme (b) ser maiores, ele demorou em chegar ao seu pico máximo de degradação. O maior tamanho de partículas causou uma menor distribuição das nanoemulsões e uma menor interação com a matriz de alginato, aumentando a interação entre as cadeias químicas de alginato de sódio, fazendo com que o filme (b) demorasse a degradar.

O termograma dos FASL apresentou, no intervalo entre 310 °C e 380 °C, um terceiro evento térmico com menor perda de massa em relação ao segundo evento, assim como os FASM. Essa perda pode estar relacionada com uma liberação água, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> nessas temperaturas<sup>64,65,66</sup>, diferente do filme controle de alginato de sódio que teve pouca perda de massa nessa região. Resultando na decomposição completa dos FASL, sem nenhum material residual em aproximadamente 600 °C.

A Tabela 11 mostra os valores de temperatura de degradação (Td) do filme controle de alginato de sódio e dos FASL.

**Tabela 11** - Temperatura de degradação do filme controle de alginato de sódio e dos FASL

| <b>Filmes</b>                              | <b>Tamanho médio de partícula<br/>de nanoemulsão (nm)</b> | <b>Td ( °C)</b> |
|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------|
| <b>Filme controle de Alginato de sódio</b> | Sem nanoemulsão                                           | 220             |
| <b>FASL – 3%MN&lt;</b>                     | 88 ± 5                                                    | 224             |
| <b>FASL - 2%MN&lt;</b>                     | 88 ± 5                                                    | 228             |
| <b>FASL - 2%MN&gt;</b>                     | 277 ± 12                                                  | 222             |

Fonte: Próprio autor

#### 5.3.2.4 TG e DTG das amostras FASC

A Figura 23 mostra as curvas de TG dos FASC. Nela é possível observar que os FASC apresentaram Td maiores que a do filme controle de alginato, com exceção do filme (a) que começou a degradar-se primeiro, tendo uma perda brusca de massa em aproximadamente 209 °C.

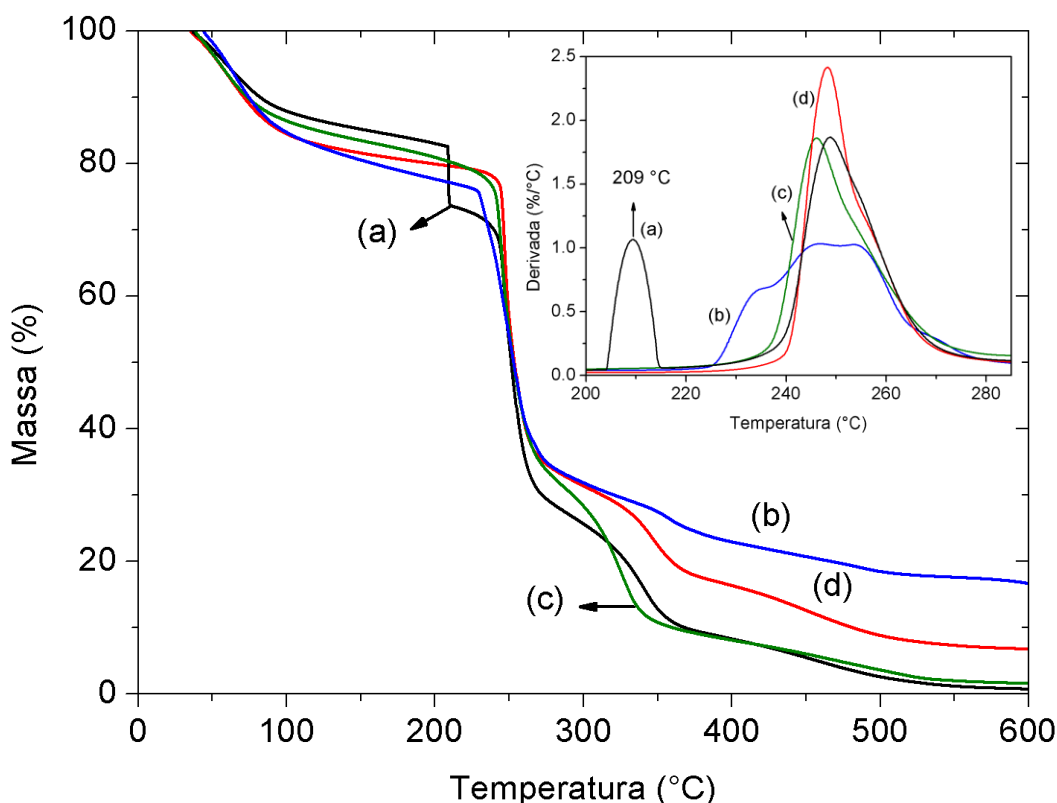
Por causa de sua composição, formada por uma parte volátil e uma parte resinosa<sup>9</sup>, o óleo de copaíba foi o que menos interagiu, na forma de nanoemulsão, com a matriz de alginato.

A perda brusca de massa do filme (a) em torno de 209 °C, pode estar relacionada a decomposição da parte resinosa do óleo de copaíba, que não interagiu totalmente com a matriz alginato. A falta de interação pode ter ocorrido devido à necessidade de usar-se mais tenso-ativo (Tween) durante a produção das nanoemulsões. A falta de Tween resultou na formação de aglomerados de óleo, os quais degradaram primeiro.

Na literatura, segundo Morelli *et al.*<sup>11</sup>, o termograma do óleo de copaíba apresenta dois picos de degradação com valores em aproximadamente 210°C e 290°C. O pico em 209 °C do filme (a) está próximo do valor do pico em 210 °C encontrado na literatura, o que pode ser mais um indício de que essa perda de massa é do óleo que não interagiu.

Isso pode ser observado também, nas micrografias da análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) presente neste trabalho.

**Figura 23** – Curvas de TG/DTG para os FASC: (a) 2%CN>, (b) Filme controle de alginato de sódio, (c) 2%CN< e (d) 3%CN<



Fonte: Próprio autor

Assim como nos FASM e FASL, os FASC apresentaram no intervalo entre 285 °C e 380 °C, um terceiro evento térmico, com maior perda de massa em relação ao filme controle de alginato de sódio. Que pode estar relacionado com a liberação água, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub><sup>65, 66, 67</sup>.

A Tabela 12 mostra os valores Td do filme controle de alginato de sódio e dos FASC.

**Tabela 12** - Temperatura de degradação do filme controle de alginato de sódio e dos FASC

| Filmes                              | Tamanho médio de partícula<br>de nanoemulsão (nm) | Td ( °C) |
|-------------------------------------|---------------------------------------------------|----------|
| Filme controle de Alginato de sódio | Sem nanoemulsão                                   | 220      |
| FASC – 3%MN<                        | 97 ± 4                                            | 230      |
| FASC - 2%MN<                        | 97 ± 4                                            | 223      |
| FASC - 2%MN>                        | 272 ± 19                                          | 209      |

Fonte: Próprio autor

### 5.3.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

O DSC é uma técnica de caracterização que mede a diferença no fluxo de calor de uma amostra e um material de referência enquanto estes passam por um aquecimento ou resfriamento controlado<sup>68</sup>.

A presença da TPE<sup>69</sup> e não das Tg dos filmes pode ter ocorrido devido à hidrofiliabilidade do polímero e de suas fortes interações com a água. As ligações de hidrogênio presentes no polissacarídeo (alginato) e nos demais reagentes utilizados nos filmes, podem ocasionar a formação de diferentes tipos de água durante sua produção<sup>70,71</sup>, como observada no fluxograma da Figura 24:

**Figura 24** – Fluxograma dos tipos de águas que interagem com os filmes



Fonte: Próprio autor

A água “livre” é um tipo de água que interage fracamente com o polímero, podendo ser removida do mesmo pelo processo de secagem, no caso dos filmes por “casting”. Apresenta temperatura de fusão/cristalização e entalpia não muito diferente da água comum<sup>70</sup>.

No caso das águas ligadas, existem dois tipos, a água congelável e a não congelável. A água não congelável está fortemente ligada à cadeia polimérica do material, participando da natureza térmica do polímero. A água congelável está presente nos defeitos do polímero, não

está tão ligada quanto a água não congelável, apresentando pontos de fusão e cristalização independentes<sup>70</sup>.

Na Tabela 13 estão apresentados os valores de TPE dos filmes controle de NaAlg e dos FASM, FASL e FASC. Nela, é possível observar que os valores de TPE aumentaram quando a concentração dos filmes controle de NaAlg passou de 2% para 3% (m/v).

Esse aumento é esperado, pois, ao adicionar-se uma maior quantidade de alginato na solução polimérica, aumenta-se a quantidade de grupamentos polares, aumentando a interação com a água presente através de forças secundárias, consequentemente, aumentando a TPE<sup>68</sup>. No entanto, quando incorporado as nanoemulsões nos filmes, a TPE diminui.

**Tabela 13** - TPE dos filmes controle de alginato de 2% e 3% (m/v) e FASL, FASC e FASM.

|                                            | FASM     |                  | FASL     |                  | FASC     |                  |
|--------------------------------------------|----------|------------------|----------|------------------|----------|------------------|
|                                            | TPE (°C) | $\Delta H$ (J/g) | TPE (°C) | $\Delta H$ (J/g) | TPE (°C) | $\Delta H$ (J/g) |
| <b>Filme 5:</b> 3% (m/v) NaAlg/ Nano maior | 103, 90  | 402,0            | —        | —                | —        | —                |
| <b>Filme 6:</b> 2% (m/v) NaAlg/ Nano maior | —        | —                | 100,60   | 395              | 101,87   | 318,6            |
| <b>Filme 7:</b> 3% (m/v) NaAlg/ Nano menor | 101,53   | 440              | 110,07   | 414              | 102,13   | 346              |
| <b>Filme 8:</b> 2% (m/v) NaAlg/ Nano menor | 102,88   | 428,6            | 110,53   | 405              | 102,99   | 320              |
| <b>Alginato 2% (m/v)</b>                   | 104, 95  | 545              | 104, 95  | 545              | 104, 95  | 545              |
| <b>Alginato 3% (m/v)</b>                   | 112,72   | 471              | 112,72   | 471              | 112,72   | 471              |

Fonte: Próprio autor

Nas Figuras 25, 26 e 27, são mostradas curvas de DSC dos FASM, FASL e FASC, respectivamente. Nota-se, assim como na Tabela 13, que com a adição da nanoemulsão, há uma diminuição significativa na TPE em relação aos filmes controle de alginato, uma vez que as nanoemulsões interagem com as hidroxilas presentes no polímero, diminuindo a interação da matriz polimérica com a água.

Isso pode ser observado também, nos valores de  $\Delta H$  dos filmes mostrados na Tabela 13. Nela os  $\Delta H$  são maiores para os filmes com partículas de nanoemulsão de tamanho menores, ou seja, são maiores para os filmes 7 em todos os casos.

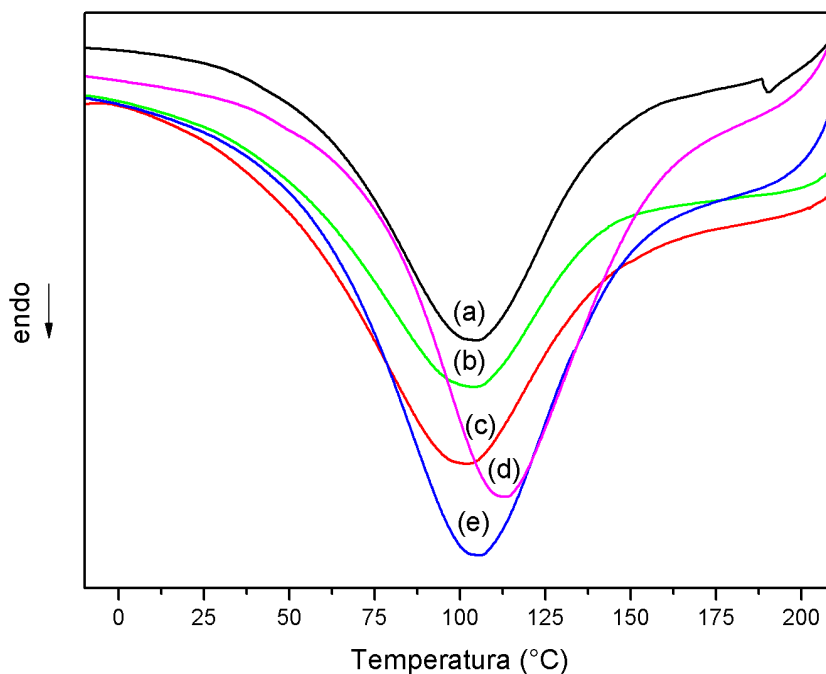
O aumento dos valores de  $\Delta H$  está relacionado com a evaporação de água nos filmes, ou seja, os filmes 7 têm maiores valores de  $\Delta H$ , pois possuem partículas de nanoemulsão de tamanho menores, as quais interagem mais com a matriz de alginato que, por sua vez, acabam

interagindo menos com a água, que evapora com mais facilidade, aumentando os valores de  $\Delta H$ . Esses resultados podem ser observados também nas análises de WVP.

Na Tabela 13, o filme 7 dos FASM, apesar de ter uma maior concentração de alginato de sódio, teve menor TPE em relação aos outros FASM. Isso pode ter ocorrido por causa do tamanho de partícula de nanoemulsão presentes ser menor. Por ter tamanho menor, tinham uma quantidade maior de partículas e melhor dispersão, interagindo com um maior número de grupamentos polares, diminuindo a interação das cadeias com a água e também, diminuindo a TPE.

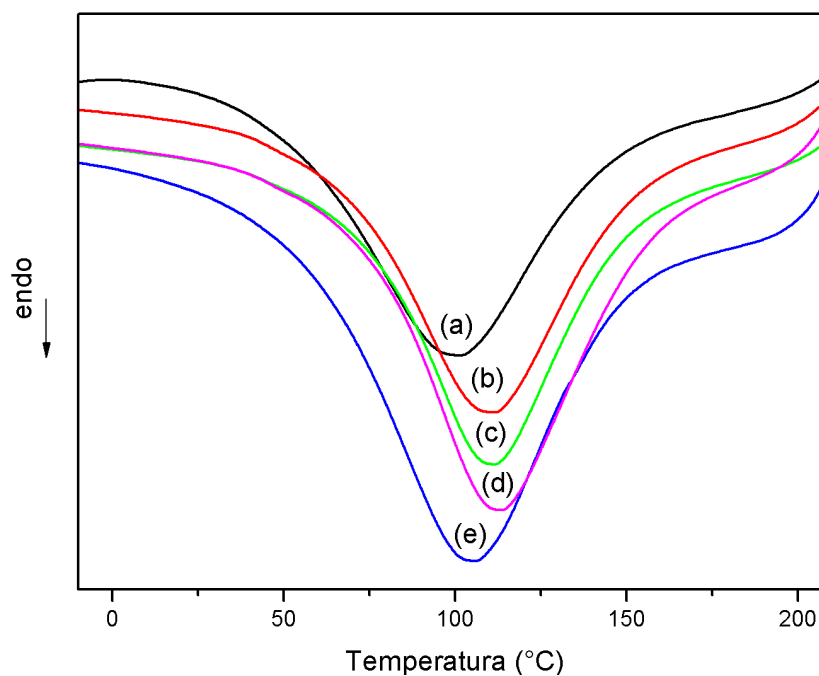
No caso dos valores de TPE dos filmes 8 ( 2 % (m/v) de alginato de sódio e tamanho de partícula de nanoemulsão menor) presentes na Tabela 13, observa-se que estes foram maiores do que as TPE dos filmes 6 ( 2% (m/v) de alginato e tamanho de partícula de nanoemulsão maior). Entretanto, apesar da maior TPE, os filmes 8 tiveram maiores valores de  $\Delta H$  em relação ao filmes 6, o que indica que houve uma maior evaporação de água ligada “congelável” e, principalmente, da “não congelável” presentes neles. O que vai de encontro com as análises de WVP.

**Figura 25** – Curva de DSC para os FASM: (a) 3%MN>, (b) 2%MN<, (c) 3%MN<, (d) Filme controle NaAlg 3 % m/v e (e) Filme controle NaAlg 2% m/v



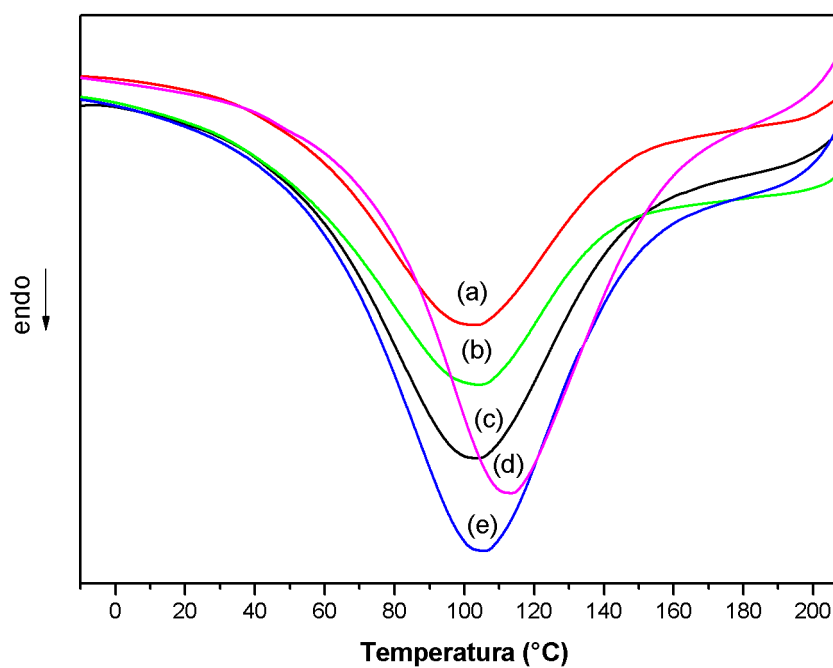
Fonte: Próprio autor

**Figura 26** – Curva de DSC para os FASL: (a) 2%LN>, (b) 3%LN<, (c) 2%LN<, (d) Filme controle NaAlg 3 % m/v e (e) Filme controle NaAlg 2% m/v



Fonte: Próprio autor

**Figura 27** – Curva de DSC para os FASC: (a) 3%CN<, (b) 2%CN<, (c) 2%CN>, (d) Filme controle NaAlg 3 % m/v e (e) Filme controle NaAlg 2% m/v

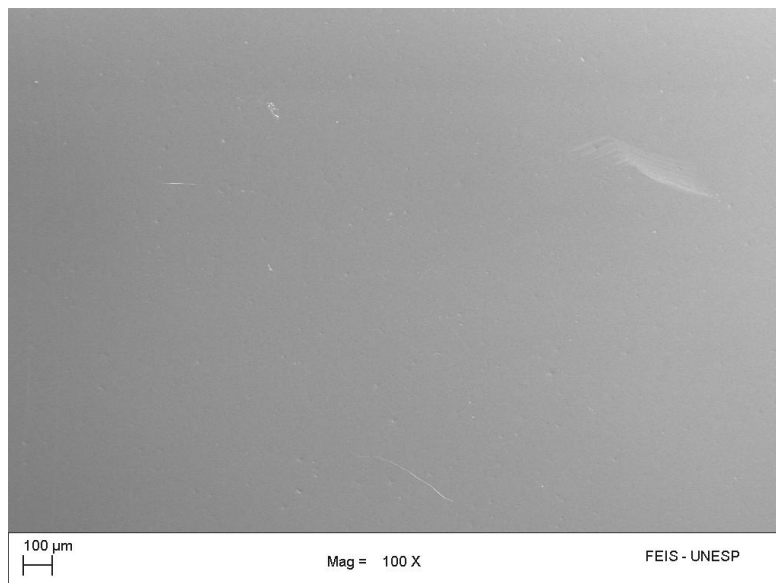


Fonte: Próprio autor

### 5.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Na Figura 28, temos a micrografia do filme controle de alginato, o qual apresenta uma superfície lisa e homogênea, diferenciando-se das micrografias dos filmes com as nanoemulsões.

**Figura 28** – Micrografia do filme controle de alginato de sódio



A análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada com o intuito de verificar e comparar os tamanhos de partículas de nanoemulsão presentes nos filmes, por isso, sempre foram realizadas microscopias comparando-se os filmes com tamanho de partículas de nanoemulsão menor e o filmes com tamanho de partículas de nanoemulsão maior de cada óleo estudado.

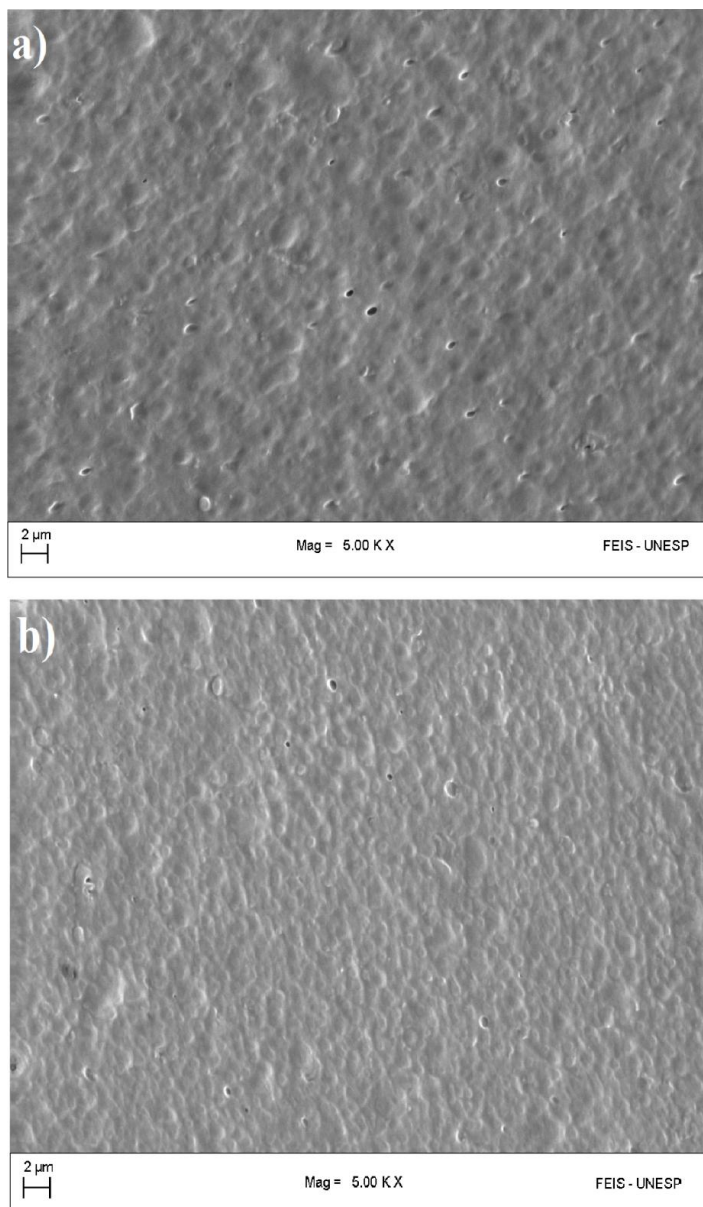
#### 5.3.4.1 Micrografias dos FASM

Nas micrografias da Figura 29 dos FASM, é possível observar uma morfologia globular, referente às nanoemulsões, com uma diferença no tamanho dos glóbulos entre a Figura 21 (a) e (b). Na Figura 29 (b) (3%MN<) os aglomerados de nanoemulsões são bem menores que na Figura 29 (a) (3%MN>).

É possível observar também, uma diferença na homogeneidade do tamanho de partículas de nanoemulsões e na rugosidade dos filmes. O filme da Figura 29 (b) é mais homogêneo e menos rugoso que o filme da Figura 29 (a), isso ocorre devido à maior interação

das nanoemulsões com a matriz de alginato no filme com 3%MN<. Segundo Fani et al.<sup>59</sup>, filmes que apresentam tamanho de partículas de nanoemulsões menores são mais lisos que filmes com partículas de nanoemulsões maiores.

**Figura 29**– Micrografia dos FASM: (a) 3%MN> e (b) 3%MN<

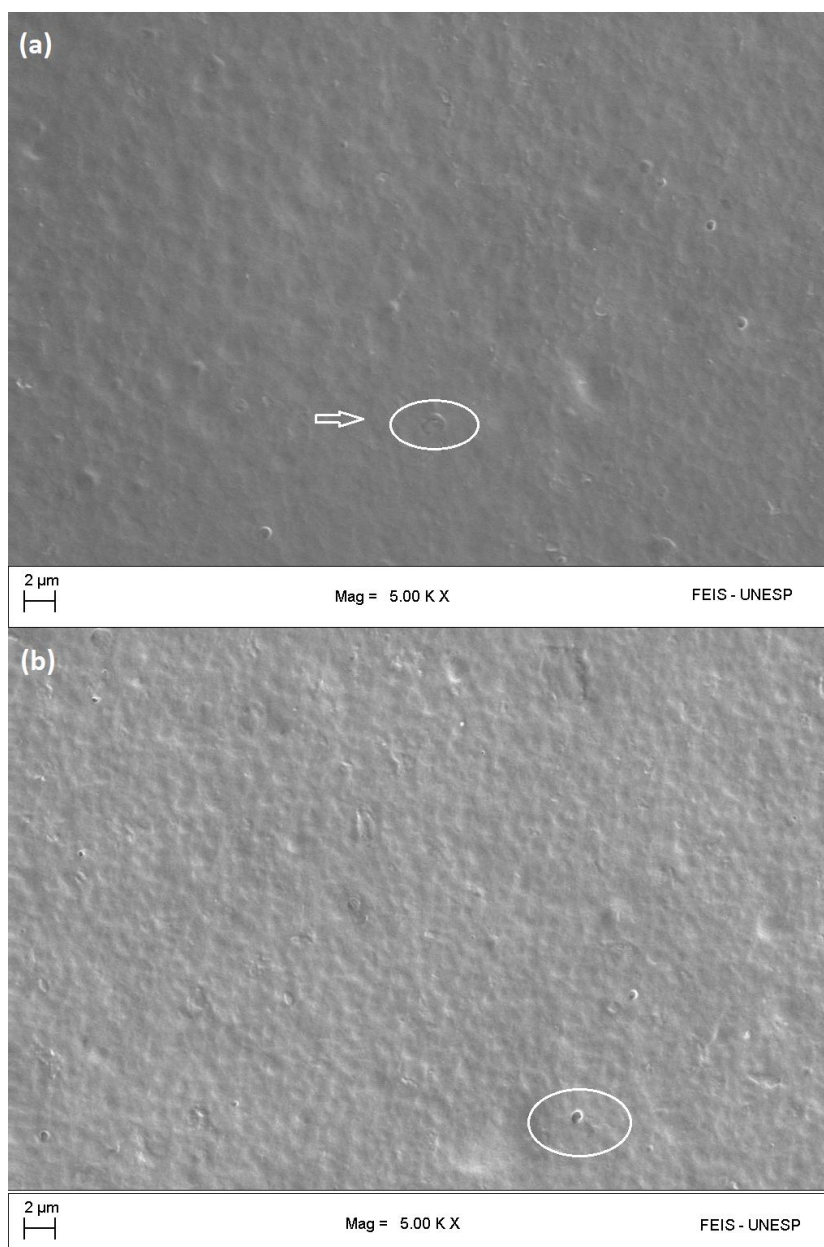


Devido ao menor tamanho de partícula de nanoemulsão do filme 3%MN< (Figura 29 (a)), ele é mais compacto. Isso acontece, pois, se levarmos em consideração que quanto menor o tamanho de partícula de nanoemulsão, maior a superfície de contato por unidade de área que ela abrangerá, o resultado será um filme com menos espaços vazios de alginato, portanto mais compacto.

#### 5.3.4.2 Micrografias dos FASL

As micrografias da Figura 30 dos FASL mostraram aglomerados de óleo puro (mais ocorrente no Figura 30 (a) (2%LN>)) depositadas em sua superfície, as quais não apareceram nas micrografias dos FASM. Essas partículas são quantidades bem pequenas de óleo que não interagiram tão bem com a matriz de alginato e nem com o tenso-ativo (emulsificante).

**Figura 30**– Micrografia dos FASL: (a) 2%LN> e (b) 2%LN<



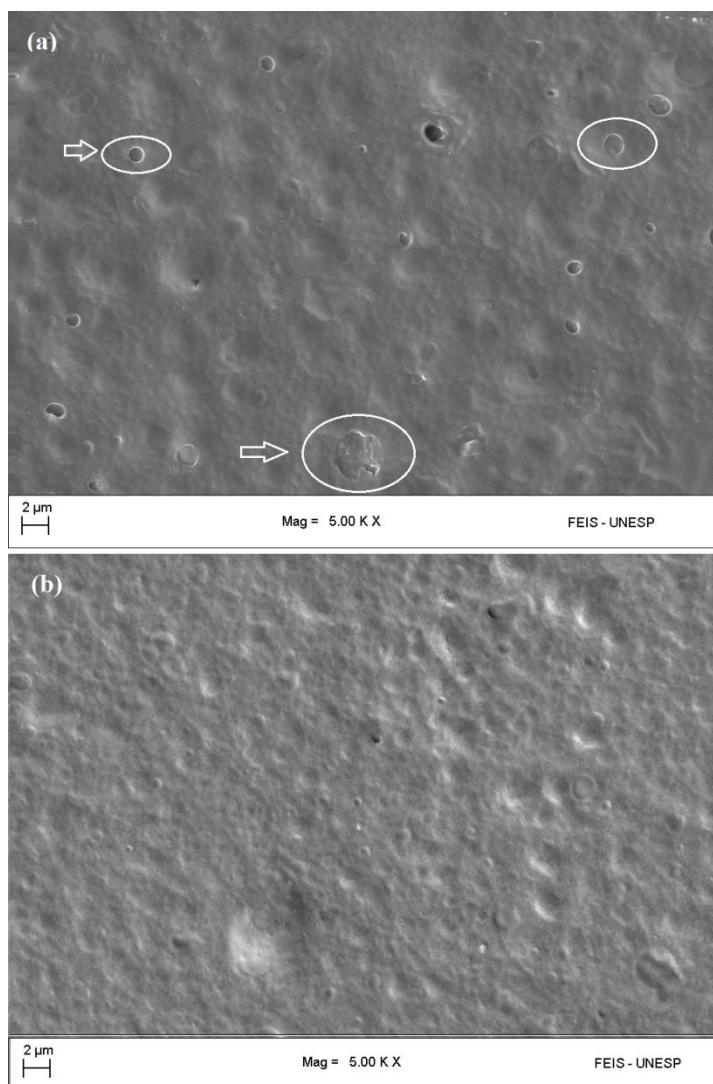
O filme 3%LN< apresentou maior rugosidade que o filme 2%LN>. Esse fato pode ter ocorrido devido ao filme 2%LN> ter em sua superfície óleo que não interagiram com a matriz

de alginato, não tendo assim a rugosidade esperada, causadas pelos aglomerados de partículas de nanoemulsão. O maior tamanho de partícula de nanoemulsão, a falta de interação das mesmas e o óleo presente na superfície do filme 2%LN> influenciaram na morfologia do mesmo, tornando-o menos rugoso.

#### 5.3.4.3 Micrografias dos FASC

Os FASC, em relação aos outros filmes com as nanoemulsões dos demais óleos, foram os que apresentaram menor interação da nanoemulsão com a matriz de alginato. As micrografias dos filmes 2%CN> e 3%CN< são mostradas na Figura 31.

Figura 31 – Micrografia dos FASC: (a) 2%CN> e (b) 3%CN<



Observam-se aglomerados de óleos que não interagiram tão bem com o surfactante e com a matriz de alginato, ficando depositados na superfície do filme. Essa falta de interação pode ser observada nas análises termogravimétricas, onde aparece um pico de perda de massa referente à degradação do óleo puro, que não interagiu como deveria com o surfactante e, consequentemente, nem com a matriz de alginato de sódio.

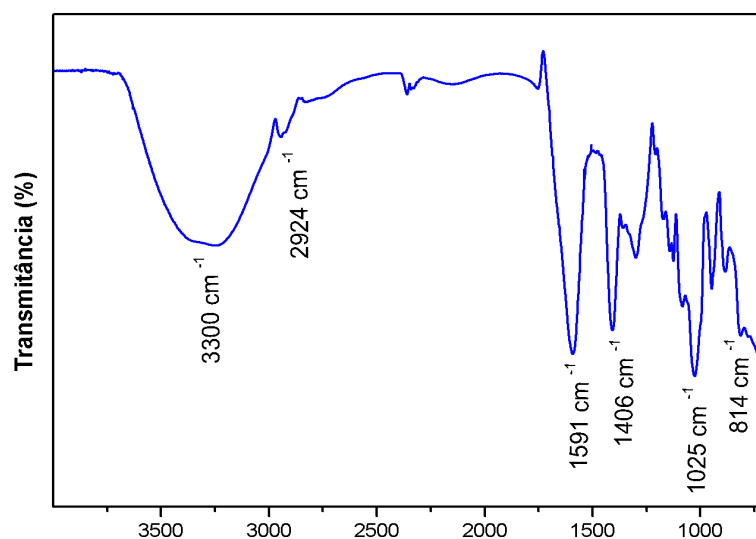
É possível observar também, assim como na Figura 29, que a incorporação das nanoemulsões na matriz de alginato dos filmes, resultou na aparição de um número pequeno de poros, o que também pode ter contribuído para o aumento do WVP nesses filmes em relação ao filme controle de alginato<sup>72</sup>.

### 5.3.5 Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) adaptada com a Técnica de Refletância Total Atenuada (ATR)

#### 5.3.5.1 ATR do filme controle de alginato de sódio

A Figura 32 mostra o espectro de ATR do filme controle de alginato, o qual identificou uma banda intensa em  $3300\text{ cm}^{-1}$ , referente à vibração de estiramento da hidroxila (O-H), e um pico em  $2924\text{ cm}^{-1}$  da ligação C-H. Os picos em  $1591$  e  $1406\text{ cm}^{-1}$  são atribuídos as deformações de estiramentos simétricos e assimétricos dos grupos carboxilatos ( $\text{COO}^-$ ). Em  $1025$  e  $814\text{ cm}^{-1}$  há picos referentes às vibrações de estiramento das ligações C-O e Na-O, respectivamente, ambos característicos do alginato de sódio<sup>20,21</sup>.

**Figura 32** - Espectro do filme de alginato de sódio



Fonte: Próprio autor

### 5.3.5.2 ATR dos FASL

A Tabela 14 mostra alguns dos principais picos que aparecem no espectro do óleo puro de limão<sup>73,74</sup>.

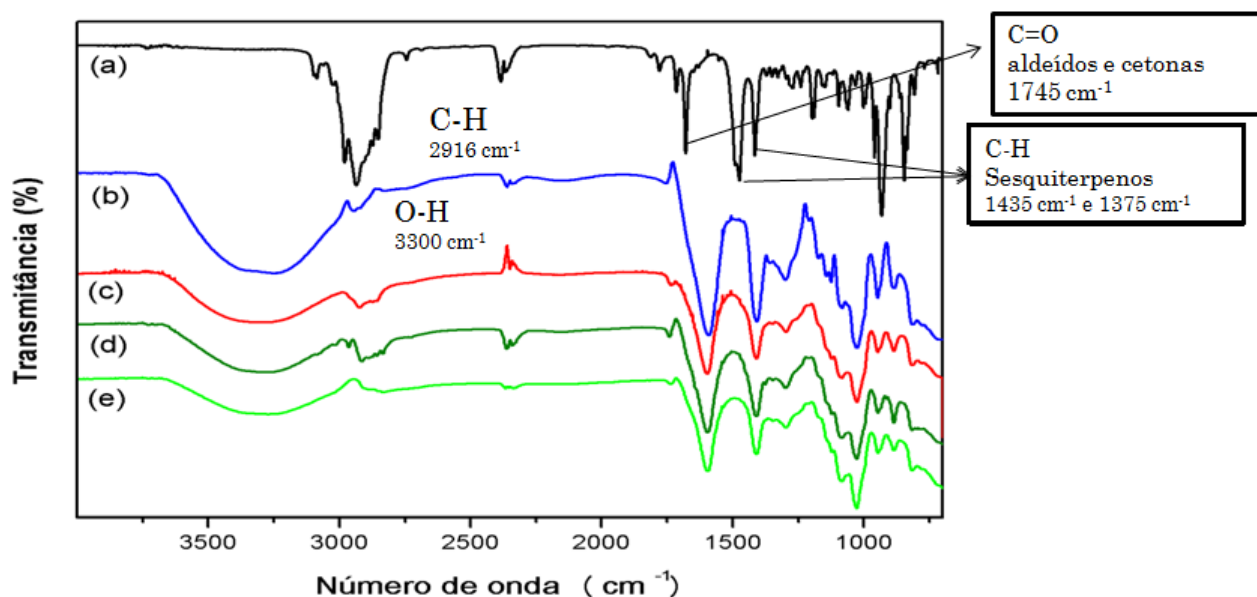
**Tabela 14** – Picos correspondentes aos principais compostos do óleo de limão

| cm <sup>-1</sup> | COMPONENTES                                               |
|------------------|-----------------------------------------------------------|
| 2916             | Ligações C-H dos alcanos                                  |
| 1745             | Deformação da ligação C=O presente nos aldeídos e cetonas |
| 1681             | Citrais (geranial e neral)                                |
| 1435 e 1375      | Referentes às ligações C-H                                |
| 948              | γ - terpineno                                             |
| 886              | β - pineno e cafeno                                       |
| 790              | Limoneno e α - pineno                                     |

Fonte: Próprio autor

A incorporação das nanoemulsões do óleo de limão na matriz de alginato de sódio também foi analisada através do ATR. Os espectros do óleo de limão, do filme controle de alginato e dos FASL são mostrados na Figura 33.

**Figura 33** - Espectros a) óleo essencial de limão b) Filme alginato de sódio, c) 3%LN<, d) 2%LN<, e) 2%LN>



Fonte: Próprio autor

Quando comparado os ATRs do filme controle de alginato com os FASL, é possível observar picos característicos do alginato. Isso pode estar relacionado com as regiões onde há a maior aparição dos picos de alginato e do óleo de limão serem as mesmas (  $1750\text{ cm}^{-1}$  a  $750\text{ cm}^{-1}$ ). Isso se deve ao fato de que, tanto o alginato de sódio quanto o óleo de limão apresentam ligações semelhantes (C-C, C=C, C-H, C=O) nas estruturas químicas de seus compostos. Sendo assim, os picos característicos dessas ligações acabam se sobrepondo nos FASL.

A quantidade de óleo também pode ter influenciado no espectro dos FASL 3%LN<, 2%LN< e 2%LN>, pois, além de ser incorporado na forma de nanoemulsão na matriz de alginato, o óleo foi colocado no filme em quantidades muito pequenas em relação à concentração de alginato. No entanto, pode ser observado que nesses filmes, a banda intensa em  $3.300\text{ cm}^{-1}$  referente à ligação O-H é menos intensa que no filme de alginato puro, tendendo a uma característcas do óleo, que não apresenta essa banda em seu espectro.

#### 5.3.5.3 ATR dos filmes incorporados com nanoemulsão do óleo de melaleuca

A Tabela 15 mostra alguns dos principais picos que aparecem no espectro do óleo puro de melaleuca<sup>74, 75</sup>.

**Tabela 15** - Picos correspondentes aos principais compostos do óleo de melaleuca

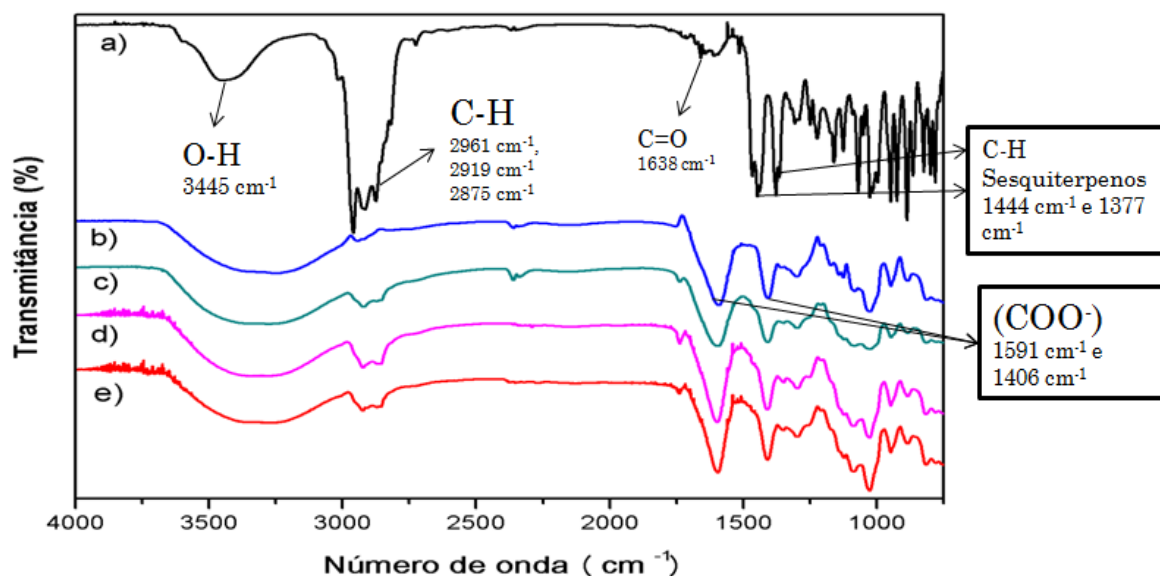
| $\text{cm}^{-1}$  | COMPONENTES                                                       |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------|
| 3445              | Ligações O-H                                                      |
| 2961, 2919 e 2875 | Característicos dos sesquiterpenos                                |
| 1444 e 1377       | Ligações C-H                                                      |
| 1638              | Carbonilas (-C=O)                                                 |
| 995               | Vibração da ligação C-O-C presente no composto 1,8 – cineol e nas |
| 886               | olefinas                                                          |

Fonte: Próprio autor

Na Figura 34, também estão os espectros dos FASM, que apresentaram picos característicos do alginato. A ausência de picos característicos do óleo de melaleuca pode estar relacionada com a sobreposição desses picos pelos picos característicos do alginato de sódio e, também, com a quantidade de óleo de melaleuca utilizada. No entanto, pode ser observado que os FASM apresentam uma banda mais intensa em  $3300\text{ cm}^{-1}$ , referente à

ligação O-H, diferentemente dos FASL e dos FASC. Essa banda é mais intensa nos FASM, pois aparecem tanto no óleo de melaleuca quanto na matriz de alginato de sódio.

**Figura 34** - Espectros a) óleo essencial de melaleuca b) Filme alginato de sódio, c) 3%MN<, d) 2%MN<, e) 3%MN>



Fonte: Próprio autor

Outra característica dos espectros dos FASM são os picos em  $2963\text{ cm}^{-1}$ ,  $2919\text{ cm}^{-1}$  e  $2876\text{ cm}^{-1}$ , referentes aos sesquiterpenos, que apareceram mais intensos nos filmes FASM em relação aos filmes de alginato puro, evidenciando a presença do óleo de melaleuca.

#### 5.3.5.4 ATR dos filmes incorporados com nanoemulsão do óleo de copaíba

A Tabela 16 mostra alguns dos principais picos que aparecem no espectro do óleo puro de copaíba<sup>76</sup>.

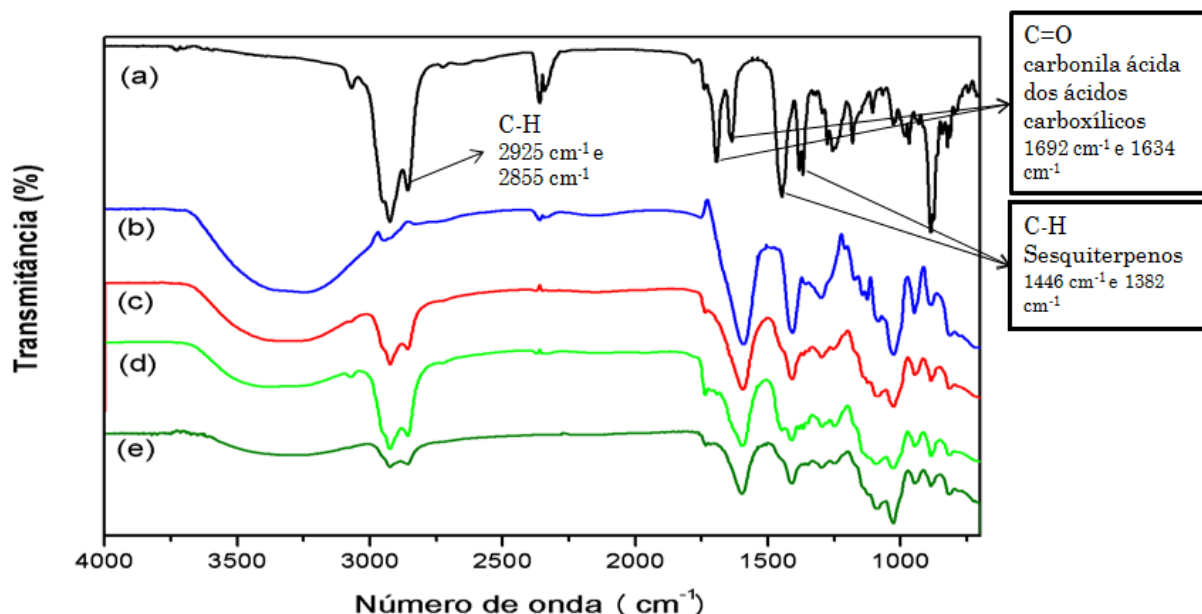
**Tabela 16** - Picos correspondentes aos principais compostos do óleo de copaíba

| $\text{cm}^{-1}$ | COMPONENTES                                           |
|------------------|-------------------------------------------------------|
| 2925 e 2855      | Hidrocarbonetos alifáticos (sesquiterpenos)           |
| 1446 e 1382      | Ligações C-H                                          |
| 1692 e 1634      | Deformação da carbonila ácida dos ácidos carboxílicos |
| 1368             | $\text{CH}_3$ ligado à carbonila ácida                |
| 887              | Olefinas (alcenos)                                    |

Fonte: Próprio autor

Na Figura 35, assim como nos ATRs dos FASL e dos FASM, os FASC apresentaram picos característicos do alginato, relacionados com a sobreposição dos picos do óleo de copaíba com os picos do alginato, e com a quantidade de óleo utilizada.

**Figura 35** - Espectros a) óleo de copaíba, b) Filme alginato de sódio, c) 3%CN<, d) 2%CN<, e) 2%CN>



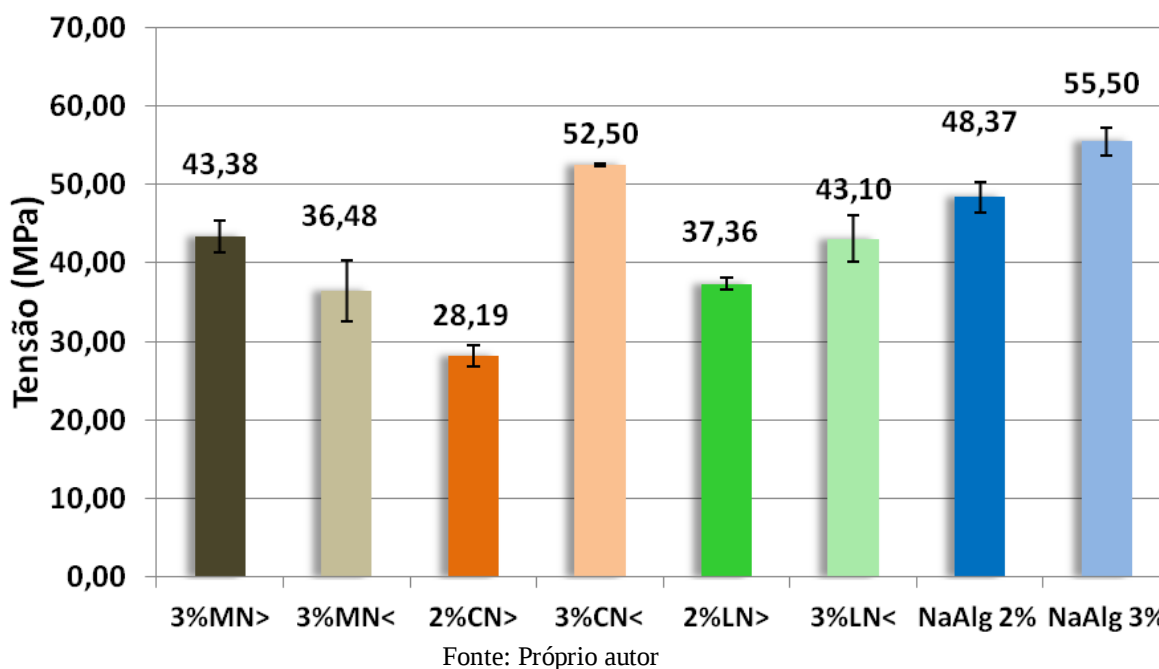
Fonte: Próprio autor

Entretanto os FASC apresentam picos em  $2925 \text{ cm}^{-1}$  e  $2855 \text{ cm}^{-1}$  mais intensos que os presentes no filme de alginato puro. Esses picos são referentes aos hidrocarbonetos alifáticos (sesquiterpenos), característicos do óleo usado. Há também, uma variação na intensidade da banda em  $3300 \text{ cm}^{-1}$  (vibrações das ligações O-H), conforme diminui a concentração de alginato, ou seja, nos FASC 2%CN< e 2%CN> (onde a concentração de alginato é de 2% m/v) a banda em  $3300 \text{ cm}^{-1}$  é menos intensa que no FASC 3%CN<, onde a concentração de alginato é de 3% m/v. A diminuição da intensidade da banda referente à ligação O-H pode estar relacionada com a ausência desta banda no espectro do óleo de copaíba, sendo que, com a diminuição da concentração de alginato começa a prevalecer as características do óleo presente nas nanoemulsões.

### 5.3.6 Propriedades mecânicas

A Figura 36 mostra um gráfico de barras dos valores médios das tensões para os filmes controle de alginato de sódio e para os FASM, FASC e FASL.

**Figura 36** – Valores médios de tensão dos FASM, FASC, FASL e dos filmes controle de alginato de sódio. A barra de erros indica o desvio padrão.



Na análise mecânica, os parâmetros químicos e estruturais e os parâmetros externos do polímero influenciam diretamente em suas respostas mecânicas. Dentre as diversas características químicas e estruturais do polímero que alteram seu comportamento mecânico estão: cristalinidade, presença de grupos polares, ligações cruzadas, etc<sup>68</sup>. Parâmetros externos também podem influenciar no comportamento mecânico dos polímeros, sendo estes: presença de plastificante, elastômeros, reforço com fibras, entre outros<sup>68</sup>.

Na Figura 36 os valores de tensão de ruptura passaram de  $48,36 \pm 1,88$  MPa para  $55,50 \pm 1,76$  MPa quando a concentração de alginato passou de 2% (m/v) para 3% (m/v). O aumento do valor de tensão de ruptura pode estar relacionado com a quantidade de grupamentos polares presentes nos filmes, os quais aumentaram com a concentração. Isto resultou, em uma maior interação entre as cadeias através de ligações secundárias<sup>68</sup>, consequentemente, aumentando a resistência mecânica do filme.

Os FASM, FASC e FASL tiveram valores de tensão de ruptura menores que os filmes controle de alginato. Isso pode estar relacionado com a incorporação das partículas de nanoemulsões.

As nanoemulsões, como observado nas análises de WVP, TG, DSC, ATR e MEV, interagem com as cadeias poliméricas acarretando uma heterogeneidade no filme, ou seja, elas diminuem a interação cadeia-cadeia e aumentam a interação cadeia-nanoemulsão<sup>59</sup>. Essa interação facilita o escoamento entre as cadeias, diminuindo assim, a tensão de ruptura.

Os FASM 3%MN< e 3%MN> apesar de terem a mesma concentração de alginato de sódio (3% m/v) tiveram valores de tensões diferentes (Figura 36). Sendo que, o FASM 3%MN> teve maior valor de tensão de ruptura do que o 3%MN<.

O filme 3%MN<, por ter um menor tamanho de partícula de nanoemulsão, possui uma maior área de contato abrangida pela mesma, o que resulta em uma maior heterogeneidade e uma maior interação cadeia-nanoemulsão ao longo do filme. Já o filme 3%MN> possui partículas maiores, conseqüentemente, menor heterogeneidade e uma maior interação cadeia-cadeia, aumentando assim, seu valor de tensão.

Os plastificantes, um dos parâmetros externos que influenciam no comportamento mecânico dos polímeros, são moléculas (baixa massa molar) miscíveis ao polímero, que quando incorporadas, interagem e ocupam fisicamente um espaço entre as cadeias poliméricas, dificultando a interação entre elas através de ligações secundárias<sup>68</sup>.

O material resultante da mistura do polímero com o plastificante tem como característica uma resistência mecânica menor, ou seja, uma diminuição do seu módulo de elasticidade de tração e uma maior elongação na ruptura, por outro lado, este material terá uma melhor resistência ao impacto, além de apresentar facilidade de processamento<sup>68</sup>.

A Tabela 17 mostra a influência das nanoemulsões no comportamento mecânico dos FASM, FASL e FASC. Nela é possível observar que a adição das nanoemulsões (FASM, FASL e FASC) aumentou a % de elongação e diminuiu o módulo de elasticidade dos filmes. Isso pode ser um indício de que as partículas de nanoemulsão podem estar atuando como um material plastificante nos mesmos.

**Tabela 17** – Influência da incorporação e do tamanho de partícula de nanoemulsão na % de elongação e no módulo de elasticidade do FASM, FASL e FASC.

| <b>Filmes</b>          | <b>Tamanho médio das nanoemulsões (nm)</b> | <b>Elongação (%)</b> | <b>Módulo de elasticidade (MPa)</b> |
|------------------------|--------------------------------------------|----------------------|-------------------------------------|
| <b>NaAlg 2%</b>        | (Sem nanoemulsão)                          | 1,89 ± 0,04          | 6366 ± 109                          |
| <b>NaAlg 3%</b>        | (Sem nanoemulsão)                          | 1,55 ± 0,09          | 6595 ± 105                          |
| <b>FASM - 3%MN&gt;</b> | 187 ± 4                                    | 3,7 ± 0,2            | 2980 ± 24                           |
| <b>FASM - 3%MN&lt;</b> | 67 ± 4                                     | 7,3 ± 1,6            | 2227 ± 252                          |
| <b>FASC - 2%CN&gt;</b> | 272 ± 19                                   | 4,9 ± 0,5            | 1853 ± 113                          |
| <b>FASC - 3%CN&lt;</b> | 97 ± 4                                     | 11,26 ± 0,01         | 2659 ± 191                          |
| <b>FASL - 2%LN&gt;</b> | 277 ± 12                                   | 6,3 ± 0,6            | 2158 ± 103                          |
| <b>FASL - 3%LN&lt;</b> | 88 ± 5                                     | 7,9 ± 2,3            | 2632 ± 125                          |

Fonte: Próprio autor

O tamanho da partícula de nanoemulsão, assim como observado nos valores de tensão (Figura 36), também influenciou na % elongação e no módulo de elasticidade dos FASM, FASL e FASC. Se compararmos o FASM 3%MN< e 3%MN> novamente, pois eles tem a mesma concentração de alginato de sódio e só se diferem no tamanho de partícula de nanoemulsão, veremos que o efeito plastificante das nanoemulsões é mais intenso no filme 3%MN<. Isso é observado pois este filme tem maior % de elongação e menor módulo de elasticidade, o que pode ser resultado do menor tamanho de partícula presente.

## 6 CONCLUSÃO

Foram obtidos filmes de alginato de sódio incorporados com nanoemulsões dos óleos de copaíba, limão e melaleuca com sucesso. Os filmes produzidos com a incorporação das nanoemulsões mostraram-se manuseáveis e visivelmente homogêneos.

Os filmes de alginato de sódio incorporados com nanoemulsões do óleo de melaleuca foram os que mostraram melhor interação entre as partículas de nanoemulsões e a matriz polimérica. Isso pode estar relacionado com a concentração de Tween e de óleo utilizada, a qual foi suficiente para a formação de nanoemulsões mais estáveis.

Os filmes de alginato de sódio incorporados com nanoemulsões do óleo de copaíba foram os que tiveram menor interação entre as nanoemulsões e a matriz polimérica. O óleo de copaíba utilizado é composto por um óleo essencial e uma parte resinosa. Sendo assim, a dificuldade de interação pode estar relacionada com concentração de Tween utilizada, a qual não foi suficiente para formar nanoemulsões de todo o óleo utilizado, resultando no aparecimento do mesmo na superfície dos filmes, como mostrado nas micrografias do MEV.

Através do Planejamento fatorial  $2^3$  e da Análise subjetiva utilizada na aquisição dos filmes, foi possível produzir filmes que apresentassem boa homogeneidade, continuidade e manuseabilidade. Somente os melhores filmes produzidos foram escolhidos para serem caracterizados.

As análises de WVP mostraram que a incorporação de nanoemulsões de óleos essenciais na matriz de alginato de sódio melhorou a permeabilidade de vapor de água nos filmes. Este resultando foi importante para o trabalho, uma vez que, para uma futura aplicação na área de curativos, seria necessário um material que permitisse à pele respirar.

Na análise de TG, os filmes de alginato de sódio incorporados com nanoemulsões dos óleos de melaleuca, limão e copaíba se mostraram mais estáveis ( $T_d$  maior) que o filme controle de alginato de sódio. A estabilidade térmica dos filmes é importante para uma eventual produção industrial.

Como observado na análise de DSC, a incorporação das nanoemulsões dos óleos nos filmes dificultou a interação entre a matriz polimérica e os diversos tipos de água presentes. Isso facilitou a evaporação da água, aumentando os valores de  $\Delta H$ , o que concilia com as análises de WVP.

Como observado nas análises de ATR, as mudanças mais visíveis nos espectros dos filmes de alginato de sódio incorporados com as nanoemulsões dos óleos, ocorreram na

variação do tamanho da banda referente ao estiramento da ligação O-H e na variação do tamanho do pico referente às ligações C-H. Essas variações sugerem que as ligações de hidrogênio entre as nanoemulsões e o alginato de sódio estão acontecendo nessa região.

Os filmes incorporados com as nanoemulsões dos óleos apresentaram propriedades mecânicas diferente dos filmes controle de alginato de sódio. A incorporação de nanoemulsão na matriz polimérica resultou em filmes com menor valor de tensão de ruptura, maior porcentagem de alongação e menor módulo de elasticidade. Isso pode ter ocorrido, pois as nanoemulsões podem estar atuando como um plastificante na estrutura dos filmes, o que pode ser interessante na aplicação dos mesmos como curativo, uma vez que, este material terá uma facilidade de processamento e manuseamento.

## 7 REFERÊNCIAS

1. MILLER, K. J.; BROWN, D. A.; IBRAHIM, M. M.; RAMCHAL, T. D.; LEVINSON, H. MicroRNAs in skin tissue engineering. **Advanced Drug Delivery Review**, Amsterdam, v. 88, p. 16-36, 2015.
2. CHANDIKA, P.; KO, S.; JUNG, W. Marine-derived biological macromolecule-based biomaterials for wound healing and skin tissue regeneration. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 77, p. 24-35, 2015.
3. Balsa, I. M.; Culp, W. T. N. Wound Care. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 45, p. 1049–1065, 2015.
4. LIAO, N.; UNNITHAN, A. R.; JOSHI, M. K.; TIWARI, A. P.; HONG, S. T.; PARK, C.; KIM, C. S. Electrospun bioactive poly ( $\epsilon$ -caprolactone)–cellulose acetate–dextran antibacterial composite mats for wound dressing applications. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 469, p. 194–201, 2015.
5. MOMOH, F. U.; BOATENG, J. S.; RICHARDSON, S. C. W.; CHOWDHRY, B. Z.; MITCHELL, J. C. Development and functional characterization of alginate dressing as potential protein delivery system for wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 81, p.137–150, 2015.
6. ZAHARAN, M. K.; AHMED, H. B.; EL-RAFIE, M. H. Surface modification of cotton fabrics for antibacterial application by coating with AgNPs–alginate composite. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 108, p.145-152, 2014.
7. CALO, J. R.; CRANDALL, P. G.; O'BRYAN, C. A.; RICKE, S. C. Essential oils as antimicrobials in food systems - A review. **Food Control**, Oxford , v. 54, p. 111–119, 2015.
8. AL-JABRI, N. N.; HOSSAIN, M. A. Comparative chemical composition and antimicrobial activity study of essential oils from two imported lemon fruits samples against pathogenic bacteria. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, Beni-Suef, v. 3, p. 247–253, 2014.
9. LEANDRO, L. M.; VARGAS, F. S.; BARBOSA, P. C. S.; NEVES, J. K. O.; SILVA, J. A.; JUNIOR, V. F. V. Chemistry and biological activities of terpenoids from copaiba (*Copaifera* ssp.) oleoresins. **Molecules**, Basel, v. 17, p. 3866-3889, 2012.
10. PIERI, F. A.; SILVA, V. O.; VARGAS, F. S.; JUNIOR, V. F. V.; MOREIRA, M. A. S. Antimicrobial activity of *Copaifera langsdorffii* oil and evaluation of its most bioactive fraction against bacteria of dog's dental plaque. **Pakistan Veterinary Journal**, Oxford, v. 34, p. 165-169, 2014.
11. MORELLI, C. L.; MAHROUS, M.; BELGACEM, M. N.; BRANCIFORTI, M. C.; BRETAS, R. E. S; BRAS, J. Natural copaiba oil as antibacterial agent for bio-based active packaging. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 70, p. 134–141, 2015.
12. PADALIA, R. C.; VERMA, R. S.; CHAUHAN, A.; GOSWAMI, P.; VERMA, S. K.; DAROKAR, M. P. Chemical composition of *Melaleuca linarrifolia* Sm. from India: a

potential source of 1,8-cineole. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 63, p. 264 - 268, 2015.

13. HAMMER, K. A. Treatment of acne with tea tree oil (melaleuca) products: A review of efficacy, tolerability and potential modes of action. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 45, p. 106–110, 2015.

14. HAMMER, K. A.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V.; NIELSEN, J. B. A review of the toxicity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 44, p. 616 - 625, 2006.

15. YUKUYAMA, M. N.; GHISLENI, D. D. M.; PINTO, T. J. A.; BOU-CHACRA, N. A. Nanoemulsion: process selection and application in cosmetics - a review. **International Journal of Cosmetic Science**, Hoboken, v. 37, p. 1–12, 2015.

16. MCCLEMENTS, D. J. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. **The Royal Society of Chemistry**, London, v. 8, p. 1719 – 1729, 2012.

17. AHMAD, N.; RAMSCH, R.; LLINÀS, M.; SOLANS, C.; HASHIM, R.; TAJUDDIN, H. A. Influence of nonionic branched-chain alkyl glycosides on a model nano-emulsion for drug delivery systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 115, p. 267-274, 2014.

18. LIAKOS, I.; RIZZELLO, L.; SCURR, D. J.; POMPA, P. P.; BAYER, I. S.; ATHANASSIOU, A. All-natural composite wound dressing films of essential oils encapsulated in sodium alginate with antimicrobial properties. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 463, p. 137–145, 2014.

19. NATIONAL Center for Biotechnology Information. PubChem. Kaltostat. Banco de dados online de informações sobre substâncias químicas. Disponível em: <<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6850754#section=Top>>. Acesso em: 24 de agosto de 2015.

20. BEKIN, S.; SARMA, S.; GÜRKAN, K.; KEÇELİ, G.; GÜRDAĞ, G. Synthesis, characterization and bending behavior of electroresponsive sodium alginate/poly (acrylic acid) interpenetrating network films under an electric field stimulus. **Sensors and Actuators B: Chemical**, Lausanne, v. 202, p. 878–892, 2014.

21. SELLIMI, S.; YOUNES, I.; AYED, H. B.; MAALEJ, H.; MONTERO, V.; RINAUDO, M.; DAHIA, M.; MECHICHI, T.; HAJJI, M.; NASRI, M. Structural, physicochemical and antioxidant properties of sodium alginate isolated from a Tunisian brown seaweed. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 72, p. 1358–1367, 2015.

22. RUVINOV, E.; COHEN, S. Alginate biomaterial for the treatment of myocardial infarction: Progress, translational strategies, and clinical outlook. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, 23 p., 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2015.04.021>>. Acesso em: 24 de agosto de 2015.

23. DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. Química de alimentos de Fennema. Carboidratos. 4. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2010.
24. HOLDT, S. L.; KRAAN, S. Compostos bioativos em algas: aplicações de alimentos funcionais e legislação. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 23, p. 543-597, 2011.
25. WINBERG, P. C.; FITTON, H. J.; STRINGER, D.; KARPINIEC, S. S.; GARDINER, V. A. Chapter Eight – Controlling Seaweed Biology, Physiology and Metabolic Traits in Production for Commercially Relevant Bioactives in Glycobiology. **Advances in Botanical Research**, London, v. 71, p. 221–252, 2014.
26. BEDOUX, G.; HARDOUIN, K.; BURLOT, A. S.; BOURGOUGNON, N. Chapter Twelve – Bioactive Components from Seaweeds: Cosmetic Applications and Future Development. **Advances in Botanical Research**, London, v. 71, p. 345–378, 2014.
27. BIXLER, H. J.; PORSE, H. A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 23, p. 321-335, 2011.
28. MAYAUD, L.; CARRICAJÓ, A.; ZHIRI, A.; AUBERT, G. Comparison of bacteriostatic and bactericidal activity of 13 essential oils against strains with varying sensitivity to antibiotics. **Letters in Applied Microbiology**, Hoboken, v. 47, p.167–173, 2008.
29. ALI, B.; AL-WABEL, N. A.; SHAMS, S.; AHAMAD, A.; KHAN, S. A.; ANWAR, F. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, Hainan, v. 5, p. 601–611, 2015.
30. LEE, J.; LEE, J.; SONG, K. B. Development of a chicken feet protein film containing essential oils. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 46, p. 208–215, 2015.
31. ASBAHANI, A. E.; MILADI, K.; BADRI, W.; SALA, M.; ADDI, E. H. A.; CASABIANCA, H.; MOUSADIK, A. E.; HARTMANN, D.; JILALE, A.; RENAUD, F. N. R.; ELAISSARI, A. Essential oils: From extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 483, p. 220–243, 2015.
32. SAMY, R. P.; GOPALAKRISHNAKONE, P. Therapeutic potential of plants as antimicrobials for drug discovery. **Evid. Based Compl. Altern. Med.**, Oxford, v. 7, p. 283–294, 2010.
33. RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. Bioprospecting of plant essential oils for medicinal uses. **Environment and Sustainable Development**, London, 194p., p. 59–76, 2014.
34. ISMAN, M. B.; WILSON, J. A.; BRADBURY, R. Insecticidal activities of commercial rosemary oils (*Rosmarinus officinalis*) against larvae of *Pseudaletia unipuncta* and *Trichoplusia* in relation to their chemical compositions. **Pharmaceut. Biol.**, Lisse, v. 46, p. 82–87, 2008.
35. RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam v. 62, p. 250–264, 2014.

36. RUIZ, B.; FLOTATS, X. Citrus essential oils and their influence on the anaerobic digestion process: An overview. **Waste Management**, Oxford, v. 34, p. 2063–2079, 2014.
37. DO, T. K. T.; MINAGLOU, F. H.; ANTONIOTTI, S.; FERNANDEZ, X. Authenticity of essential oils. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 66, p. 146–157, 2015.
38. CAMPOLO, O.; MALACRINÒ, A.; ZAPPALÀ, L.; LAUDANI, F.; CHIERA, E.; SERRA, D.; RUSSO, M.; PALMERI, V. Fumigant bioactivity of five Citrus essential oils against *Tribolium confusum*. **Phytoparasitica**, Dordrecht, v. 42, p. 223–233, 2014.
39. LIU, Y.; ZHANG, X.; WANG, Y.; CHEN, F.; YU, Z.; WANG, L.; CHEN, S.; GUO, M. Effect of citrus lemon oil on growth and adherence of *Streptococcus mutans*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, New York, v. 29, p. 1161–1167, 2013.
40. KIA, P. Y.; SAFAJOU, F.; SHAHNAZI, M.; NAZEMIYEH, H. The Effect of Lemon Inhalation Aromatherapy on Nausea and Vomiting of Pregnancy: A Double-Blinded, Randomized, Controlled Clinical Trial. **Iran Red Crescent Medical Journal**, Dubai, v. 16, não pag., 2014.
41. PIERI, F.A.; MUSSI, M.C.; MOREIRA, M.A.S.. Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 465–472, 2009.
42. BARBOSA, P. C. S. et al. Influence of abiotic factors on the chemical composition of copaiba oil (*Copaifera multijuga* Hayne): soil composition, seasonality and diameter at breast height. **J. Braz. Chem. Soc.**, São Paulo, v. 23, n. 10, p. 1823–1833, 2012.
43. CARVALHO, H. O. et al. Study of the in vitro release profile of sesquiterpenes from a vaginal cream containing *Copaifera duckei* Dwyer (Fabaceae) oleoresin. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, Gulmohar, v. 5, p. 001–006, 2015.
44. LIMA, C. S.; MEDEIROS, B. J. L.; FAVACHO, H. A. S.; SANTOS, K. C.; OLIVEIRA, B. R.; TAGLIALEGNA, J. C.; COSTA, E. V. M.; CAMPOS, K. J.; CARVALHO, J. C. T. Pre-clinical validation of a vaginal cream containing copaiba oil (reproductive toxicology study). **Phytomedicine**, Jena, v. 18, p. 1013–1023, 2011.
45. SVETLICHNY, G.; KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C.; CUNHA, S. L.; SILVA, F. E. K.; BUENO, K.; POHLMANN, A. R.; FUENTEFRIA, A. M.; GUTERRES, S. S. Solid lipid nanoparticles containing copaiba oil and allantoin: development and role of nanoencapsulation on the antifungal activity. **Pharmazie**, Eschborn, v. 70, p. 155–164, 2015.
46. SANTOS, F. M. S. **Utilização de quitosana no revestimento de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e na preparação de filmes incorporados com óleos essenciais**. 2014. 149 f. Tese (Doutorado em Bioquímica e Fisiologia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PB, 2014.
47. LEE, C.; CHEN, L.; CHEN, L.; CHANG, T.; HUANG, C.; HUANG, M.; WANG, C. Correlations of the components of tea tree oil with its antibacterial effects and skin irritation. **Journal of Food and Drug Analysis**, Taipei, v. 21, p. 169–176, 2013.

48. MILLAR, B. C.; MOORE, J. E. Successful topical treatment of hand warts in a paediatric patient with tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*). **Complementary Therapies in Clinical Practice**, Edinburgh, v. 14, p. 225–227, 2008.
49. IRELAND, D. J.; GREAY, S. J.; HOOPER, C. M.; KISSICK, H. T.; FILION, P.; RILEY, T. V.; BEILHARZ, M. W. Topically applied *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil causes direct anti-cancer cytotoxicity in subcutaneous tumour bearing mice. **Journal of Dermatological Science**, Clare, v. 67, p. 120–129, 2012.
50. PAZYAR, N.; YAGHOUBI, R.; BAGHERANI, N.; KAZEROUNI, A. A review of applications of tea tree oil in dermatology. **International Journal of Dermatology**, Hoboken, v. 52, p. 784–790, 2013.
51. BARKER, S. C.; ALTMAN, P. M. A randomised, assessor blind, parallel group comparative efficacy trial of three products for the treatment of head lice in children - melaleuca oil and lavender oil, pyrethrins and piperonyl butoxide, and a "suffocation" product. **Dermatology**, Basel, v. 10, p. 1-7, 2010.
52. ZORZI, G. K.; CARVALHO, E. L. S.; POSER, G. L.; TEIXEIRA, H. F. On the use of nanotechnology-based strategies for association of complex matrices from plant extracts. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 25, p. 426–436, 2015.
53. MATÉ, J.; PERIAGO, P. M.; PALOP, A. When nanoemulsified, d-limonene reduces *Listeria monocytogenes* heat resistance about one hundred times. **Food Control**, Oxford, v. 59, p. 824–828, 2016.
54. TRUJILLO, L. S.; GRAÜ, A. R.; FORTUNY, R. S.; BELLOSO, O. M. Physicochemical characterization and antimicrobial activity of food-grade emulsions and nanoemulsions incorporating essential oils. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 43, p. 547–556, 2015.
55. **American Society for Testing and Materials**; Standard test method for water vapor transmission of materials. ASTM E96-80, Philadelphia, PA, 1980.
56. MCHUGH, T. H.; AVENA-BUSTILLOS, R.; KROCHTA, J. M. Hydrophilic Edible Films: Modified Procedure for Water Vapor Permeability and Explanation of Thickness Effects. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 58, p. 899–903, 1993.
57. **American Society for Testing and Materials**; Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. ASTM D882-97, Philadelphia, PA, 1997.
58. JUNIOR, S. V. C. **Técnicas de Caracterização de Polímeros**. 2º ed, São Paulo, SP: Artliber, 2007.
59. FANI, A. A.; TRUJILLO, L. S.; GRAÜ, M. A. R.; BELLOSO, O. M. Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 47, May 2015, p. 168–177, 2015.

60. MONTERREY, E. S.; SOBRAL, P. J. A. Characterization of mechanical and optical properties of tilapia myofibrillar proteins-based biofilms using a surface-response method. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 294-301, 1999.
61. ZHANG, Y.; MA, Q.; CRITZER, F.; DAVIDSON, P. M.; ZHONG, Q. Physical and antibacterial properties of alginate films containing cinnamon bark oil and soybean oil. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 64, p. 423-430, 2015.
62. KAVOOSI, G.; RAHMATOLLAHI, A.; DADFAR, S. M. M.; PURFARD, A. M. Effects of essential oil on the water binding capacity, physicochemical properties, antioxidant and antibacterial activity of gelatin films. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 57, p. 556-561, 2014.
63. BROWN, T. L.; JR., H. E. L.; BURSTEN, B. E. Química, A ciência central. 9. ed. São Paulo, SP: Pearson Prentice Hall, 2005.
64. LÓPEZ, O. V.; NINAGO, M. D.; LENCINA, M. M. S.; GARCÍA, M. A.; ANDREUCETTI, N. A.; CIOLINO, A. E.; VILLAR, M. A. Thermoplastic starch plasticized with alginate-glycerol mixtures: Melt-processing evaluation and film properties. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 126, p. 83-90, 2015.
65. IŞIKLAN, N.; KURŞUN, F.; İNAL, M. Graft copolymerization of itaconic acid onto sodium alginate using ceric ammonium nitrate as initiator. **Journal of Applied Polymer Science**, Hoboken, v. 114, p. 40-48, 2009.
66. LENCINA, M. M. S.; IATRIDI, Z.; VILLAR, M. A.; TSITSILIANIS, C. Thermoresponsive hydrogels from alginate-based graft copolymers. **European Polymer Journal**, Oxford, v. 61, p. 33-44, 2014.
67. SEGATO, M. P. **Estudos termoanalíticos do ácido algínico e dos alginatos de metais alcalinos, alcalino-terroso, amônio, mono-, di-, e trietanolamônio**. 2007. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências, Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2007.
68. JUNIOR, S. V. C. **Ciência dos polímeros: Introdução Histórica**. 2º ed, São Paulo, SP: Artliber, 2006.
69. LOREVICE, M. V.; OTONI, C. G.; MOURA, M. R.; MATTOSO, L. H C. Chitosan nanoparticles on the improvement of thermal, barrier, and mechanical properties of high- and low-methyl pectin films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 52, p. 732-740, 2016.
70. HATAKEYAMA, T.; TANAKA, M.; HATAKEYAMA, H. Studies on bound water restrained by poly (2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine): Comparison with polysaccharide-water systems. **Acta Biomaterialia**, Oxford, v. 6, p. 2077-2082, 2010.
71. HATAKEYAMA, H.; HATAKEYAMA, T. Interaction between cellulosic polysaccharides and water. **Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 1, p. 261-270, 2000.

72. NORAJIT, K.; KIM, K. M.; RYU, G. H. Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films containing ginseng extract. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 98, p. 377–384, 2010.
73. BARROS, C. B.; YABIKU, H. Y.; PINTO, A. J. D. **Óleos essenciais cítricos especificações**. 2ª Ed. Campinas, 45 p., 1986.
74. SILVERTEIN, R.M; WEBSTER, F. X; KIEMLE, D.J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7ª ed., R. Janeiro, 490 p., 2006.
75. NAVARRO, M. M. S.; GARROTE, N. C.; AÍS, F. A.; BARCELÓ, C. O. Microencapsulation of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil as biocide for footwear applications. **Journal of Dispersion Science and Technology**, Philadelphia, v. 32, p. 1722-1727, 2011.
76. PONTES, A. B.; CORREIA, D. Z.; COUTINHO, M. S.; MOTHÉ, C. G. Emulsão dermatológica à base de copaíba. **Revista analytica**, São Paulo, v.7, p. 36-42, 2003.