



# **SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANA DE QUITOSANA COM EXTRATO DE BANANA VERDE E ANDIROBA PARA CICATRIZAÇÃO DE LESÕES EPITELIAIS**

**ELISÂNGELA DA SILVA FERREIRA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia, PRODERNA/ITEC, da Universidade Federal do Pará, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Doutor em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia.

Orientadora: Profa. Dra. Verônica Scarpini Candido

Belém, PA – Brasil  
Março – 2022

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF CHITOSAN MEMBRANE WITH GREEN  
BANANA EXTRACT AND ANDIROBA FOR HEALING OF EPITHELIAL LESIONS

Elisângela da Silva Ferreira

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM ENGENHARIA DE RECURSOS NATURAIS DA AMAZÔNIA (PRODERNA/ITEC)  
DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ COMO PARTE DOS REQUISITOS  
NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM ENGENHARIA DE  
RECURSOS NATURAIS DA AMAZÔNIA.

Aprovada por:

---

Profa. Verônica Scarpini Candido, D.Sc.

---

Prof. Afonso Rangel Garcez de Azevedo, D.Eng.

---

Profa. Marcele Fonseca Passos, D.Eng.

---

Prof. Alisson Clay Rios da Silva, D.Sc.

---

Prof. Marcos Allan Leite dos Reis, D.Eng.

Belém, PA – Brasil  
Março – 2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo (a) autor (a)

F383s Ferreira, Elisângela da Silva

Síntese e Caracterização de Membrana de Quitosana com Extrato de Banana Verde e Andiroba para Cicatrização de Lesões Epiteliais / Elisângela Da Silva Ferreira. — Belém:

UFPA/PRODERNA, 2022.

94f. : il. color.

Orientador (a): Prof<sup>ª</sup>. Dra. Verônica Scarpini Candido

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Naturais na Amazônia, Belém, 2022.

Referências Bibliográficas: p. 95 - 105

1. Biomaterial. 2. Ferida. 3. Cicatrização.

I. Ferreira, Elisângela da Silva. II. Universidade Federal do Pará, ITEC, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia.

III. Síntese e Caracterização de Membrana de Quitosana com Extrato de Banana Verde e Andiroba para Cicatrização de Lesões Epiteliais

CDD 333.909811

## DEDICATÓRIA

*“Dedico aos meus filhos, Elizandra e Felipe, que me fazem lutar incansavelmente pelo alcance dos meus objetivos e tentar ser sempre uma pessoa melhor”*

## AGRADECIMENTOS

Um grande desafio agradecer a todos que merecem e que estiveram comigo nessa caminhada em poucas linhas. Sempre soube que essa seria uma das partes mais difíceis desse trabalho, e olha que ele não foi nada fácil! Então, desde já, justifico que a ordem do agradecimento não tem relação com a importância, pois todos, realmente todos, foram essenciais para que eu conseguisse concluir mais essa etapa na minha vida.

Primeiro de tudo, agradeço a Deus por me guiar, ser meu refúgio, meu afago, minha força para enfrentar as dificuldades, não desanimar e seguir em frente, com fé, sempre.

À minha família, minha mãe, meus irmãos e sobrinhos, vocês são minha base, meu apoio, com quem sei que posso contar sempre. Agradeço também ao meu pai (*in memorian*), que nunca sai dos meus pensamentos e sempre acreditou em mim. Ah como ele estaria orgulhoso!

Ao meu esposo, Luiz, por sempre me apoiar e ser meu companheiro em todos os momentos.

Aos meus filhos, por ser a razão da minha vida, estímulo em querer estudar, para dar exemplo e mostrar que o caminho é esse. Agradeço por seguirem meus passos e entender que a universidade pública é a melhor opção para quem quer um ensino de qualidade. Em casa “Somos todos UFPA”.

À Universidade Federal do Pará, por ser minha casa, por duas vezes na graduação, na especialização, no mestrado, no trabalho e agora no doutorado, a “maior e melhor do Norte”.

À Faculdade de Enfermagem da UFPA, por me apoiar na realização deste doutorado, desde o processo de seleção e nivelamento até a finalização.

Aos meus colegas do curso, enfermeiros e odontólogos. Em especial, Carlos e Augusto (*in memorian*), que nos deixaram de forma repentina e sem a realização desse sonho, mas que tanto nos motivaram durante o curso.

Agradecimento especial às minhas amigas Francilene Belo, Esleane Vasconcelos e Sheila Paranhos. Uma grande loucura, enfermeiras entrando na área da engenharia, manipulando equipamentos programas de computador, elaborando gráficos, estudando cálculos e métodos estatísticos. Ufa, conseguimos, vencemos e juntas foi bem mais fácil! Até o fim, ninguém larga a mão de ninguém! Obrigada pelos bons momentos e por dividirem comigo os momentos complicados. As risadas e parceria foram o combustível.

Aos professores que tanto nos ensinaram, motivaram e acreditaram em nós. Não consigo deixar de agradecer ao professor Marcos Vinícius Paula e Marcele Passos por todo apoio, vocês foram indispensáveis e importantíssimos em vários momentos.

Aos laboratórios de Engenharia Química da UFPA/Belém, Caracterização de Materiais da UFPA/Ananindeua, Laboratórios de Química da UFPA/Ananindeua, Compostos Híbridos Interfaces e Colóides/UFPE, Caracterização de Materiais do Instituto Federal do Pará (IFPA)/Belém, Óleos da Amazônia/Parque de Ciência e Tecnologia da UFPA/Belém, Caracterização Mineral da UFPA/Belém, Física da UFPA/Belém. Sem o apoio deles seria impossível a realização desse trabalho.

Aos colegas dos laboratórios da UFPA campus Ananindeua, em especial ao Jhonny e Miriane. Agradeço de todo coração, me ajudaram sem ter um “porque”, sem nada em troca. Nunca me negaram apoio e sempre foi de muita boa vontade.

Por fim, agradeço imensamente a pessoa que mais contribuiu com esse trabalho, que embarcou comigo e me guiou durante todo caminho, minha orientadora Dra. Verônica Scarpini Cândido, exemplo de mulher guerreira, competente, dedicada, inteligente. E se já não bastasse, linda. Agradeço, infinitamente, por aceitar me orientar e apoiar a escolha do tema desse estudo, mesmo não sendo sua linha direta de trabalho. Obrigada, por sempre apoiar e nunca desmotivar, corrigir e não coagir. Levarei para a vida seus ensinamentos e atitudes.

Resumo da Tese apresentada ao PRODERNA/UFPA como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia.

## SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANA DE QUITOSANA COM EXTRATO DE BANANA VERDE E ANDIROBA PARA CICATRIZAÇÃO DE LESÕES EPITELIAIS

Elisângela da Silva Ferreira

Março/2022

Orientadora: Verônica Scarpini Cândido

Área de Concentração: Uso e Transformação de Recursos Naturais

Os biomateriais devem possibilitar que as células saudáveis circundantes cresçam e substituam a matriz que constitui o material. A fusão de quitosana com outros compostos bioativos está sendo amplamente estudada, bem como a incorporação de óleos vegetais em filmes de quitosana para aplicação na cicatrização de feridas por diferentes técnicas. Este estudo teve como objetivo sintetizar e caracterizar membranas de quitosana, extrato de casca de banana verde e óleo de andiroba para aplicação em lesões epiteliais. Foram sintetizadas membranas em diferentes composições e concentrações e realizados testes de caracterização no material. O óleo de andiroba foi adicionado de forma pura ou emulsão óleo em água (O/A) na solução de quitosana. Houve maior intumescimento das membranas de quitosana com emulsão O/A, sendo 978,79 % e 423,64 %, Nano M6 e Nano M11, respectivamente, após 24 horas de imersão em água. A maior porcentagem de umidade foi em M7 ( $24,9 \pm 3,8$  %) e o menor em Nano M7 ( $13,46 \pm 0,8$  %). Todas as amostras são hidrofílicas, com valores menores com extratos de casca de banana da primeira decocção, M1 ( $24,0^\circ \pm 1,9^\circ$ ) e Nano M6 ( $23,7^\circ \pm 4,3^\circ$ ). Os difratogramas demonstraram material amorfo, na sua grande maioria. A análise térmica aponta maior estabilidade das membranas de quitosana sintetizadas com extrato de casca de banana e adição de óleo de andiroba. A espectroscopia mostrou picos e bandas características dos componentes das amostras e interação entre esses compostos, além de sugerir o encapsulamento do óleo. O material sintetizado apresentou características de absorção de líquidos, hidrofilicidade e interação entre seus componentes, em especial as membranas compostas com extrato de casca de banana do primeiro dia de decocção e com adição de emulsões O/A, com maior possibilidade de eficácia para cicatrização de lesões epiteliais.

Palavras-chave: Biomaterial; Ferida; Cicatrização.

Abstract of thesis presented to PRODERNA/UFPA as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor in Engineering of Natural Resources in the Amazon.

## SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF CHITOSAN MEMBRANE WITH GREEN BANANA EXTRACT AND ANDIROBA FOR HEALING OF EPITHELIAL INJURIES

Elisângela da Silva Ferreira

Mar/2022

Advisor: Verônica Scarpini Candido

Research Area: Use and Transformation of Natural Resources

Biomaterials must enable the surrounding healthy cells to grow and replace the matrix that constitutes the material. The application of other bioactives is being widely studied, as well as the incorporation of phytochemicals into chemical removal films in wound healing by different techniques. This study aimed to synthesize and characterize chitosan membranes, green banana peel extract and andiroba oil for application in epithelial devices. Membranes were made in different compositions and characterization tests were carried out on the synthesizer. Andiroba oil was added in pure form or oil-in-water (O/W) emulsion in the chitosan solution. Higher in chitosan membranes with emulsion O/W, being 978.79 % e 423.64 %, in Nano M6 and Nano M11, respectively, after 24 hours of life in water. The highest percentage of moisture was in M7 ( $24.9 \pm 3.8$  %) and the lowest in Nano M7 ( $13.46 \pm 0.8$  %). All samples are hydrophilic, with lower values with banana peel extracts from the first decoction, M1 ( $24.0^\circ \pm 1.9^\circ$ ) and Nano M6 ( $23.7^\circ \pm 4.3^\circ$ ). Diffractograms are mostly amorphous material, for the most part. Thermal analysis has greater stability of chitosan membranes synthesized with banana peel extract and addition of andiroba oil. Spectroscopy showed characteristic peaks and bands of sample components and interaction between these components, as well as suggestion or encapsulation of the oil. The material first presented characteristics of absorption of liquids and synthesized, in particular the membranes of banana extraction of the day of decoction interaction and with addition of O/W emulsions, with greater possibility of duration of its healing of composting epithelial deficiencies.

Keywords: Biomaterial; Wound; Healing.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
1.1	OBJETIVOS .....	15
<b>1.1.1</b>	<b>Objetivo Geral</b> .....	<b>15</b>
<b>1.1.2</b>	<b>Objetivos Específicos</b> .....	<b>15</b>
1.2	JUSTIFICATIVA E INEDITISMO .....	15
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>18</b>
2.1	LESÕES EPITELIAIS E CICATRIZAÇÃO .....	18
2.2	TRATAMENTO DE FERIDAS E CURATIVOS .....	21
2.3	BIOMATERIAIS .....	23
2.4	QUITOSANA .....	26
2.5	CASCA DE BANANA VERDE .....	28
<b>2.5.1</b>	<b>O Uso da Casca da Banana Verde como cicatrizante de Lesões de Pele</b> .....	<b>32</b>
2.7	ÓLEO DE ANDIROBA .....	33
<b>2.7.1</b>	<b>Compostos Bioativos presentes no óleo de andiroba</b> .....	<b>36</b>
<b>2.7.2</b>	<b>Extração do Óleo de Andiroba</b> .....	<b>38</b>
<b>2.7.3</b>	<b>Emulsificação do Óleo de Andiroba</b> .....	<b>39</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>42</b>
3.1	FLUXOGRAMA DO PLANO DE DESENVOLVIMENTO DE TRABALHO .....	42
3.2	MATÉRIA PRIMA E SÍNTESE.....	43
<b>3.2.1</b>	<b>Casca de Banana Verde – Coleta e Preparo do Material</b> .....	<b>43</b>
<b>3.2.2</b>	<b>Preparo dos Extratos da Casca da Banana por Decocção.....</b>	<b>43</b>
3.3	SÍNTESE DAS MEMBRANAS DE QUITOSANA .....	44
<b>3.3.1</b>	<b>Material Utilizado</b> .....	<b>44</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Preparo e descrição dos componentes das membranas</b> .....	<b>45</b>
<b>3.3.3</b>	<b>Síntese da Emulsão do Óleo de Andiroba em água O/A e Análise do Tamanho das Partículas e o Índice de Polidispersidade (PDI).....</b>	<b>47</b>
<b>3.3.4</b>	<b>Síntese da Nanoemulsão do Óleo de Andiroba</b> .....	<b>48</b>
<b>3.3.5</b>	<b>Síntese das Membranas de Quitosana por Nanoemulsão</b> .....	<b>48</b>
3.4	CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE QUITOSANA SINTETIZADAS POR EMULSÃO E POR NANOEMULSÃO.....	50
<b>3.4.1</b>	<b>Análise Macroscópica</b> .....	<b>50</b>
<b>3.4.2</b>	<b>Análise Morfológica</b> .....	<b>51</b>

3.4.3	<b>Intumescimento</b> .....	<b>51</b>
3.4.4	<b>Umidade</b> .....	<b>52</b>
3.4.5	<b>Ângulo de Contato</b> .....	<b>53</b>
3.4.6	<b>Difração de Raios-X (DRX)</b> .....	<b>53</b>
3.4.7	<b>Análise Térmica – Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</b> .....	<b>54</b>
3.4.8	<b>Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) ...</b>	<b>54</b>
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	54
4	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>55</b>
4.1	PREPARO DOS EXTRATOS DE CASCA DE BANANA VERDE .....	55
4.2	ESPALHAMENTO DINÂMICO DE LUZ ( <i>DYNAMIC LIGHT SCATTERING</i> – DLS) DAS EMULSÕES O/A.....	55
4.3	ASPECTO MACROSCÓPICO .....	58
4.4	ANÁLISE MORFOLÓGICA .....	62
4.5	INTUMESCIMENTO .....	66
4.6	UMIDADE .....	74
4.7	ÂNGULO DE CONTATO .....	77
4.8	DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX) .....	80
4.9	ANÁLISE TÉRMICA – DSC .....	83
4.10	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	85
5	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>93</b>
6	<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b> .....	<b>95</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>96</b>
	<b>APÊNDICES</b> .....	<b>107</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Corte transversal da pele .....	19
Figura 2	Representação das estruturas primárias de quitina e quitosana .....	26
Figura 3	Estrutura química geral de compostos fenólicos .....	30
Figura 4	Classificação da banana segundo o estágio de maturação e escala de Von Loesecke .....	31
Figura 5	Andiroba: (A) Tronco e raiz. (B) Fruto-ouriço. (C) Sementes .....	34
Figura 6	Limonoides constituintes do óleo de andiroba .....	37
Figura 7	Formação e disposição da massa chamado “pão-de-andiroba” e massa protegida com folha, durante o gotejamento do óleo .....	38
Figura 8	Estrutura de uma nanoemulsão estabilizada por tensoativo.....	39
Figura 9	Fluxograma do plano de desenvolvimento do trabalho .....	42
Figura 10	Casca de banana verde higienizada e cortada.....	43
Figura 11	Decocção e filtragem do extrato da casca da banana.....	44
Figura 12	Metodologia de síntese das membranas por emulsão .....	46
Figura 13	Metodologia de preparo de nanoemulsão e membranas de quitosana por nanoemulsão sintetizadas .....	49
Figura 14	Extratos da casca de banana verde preparados pelo método de decocção ..	55
Figura 15	Tamanho médio de partículas e índice de Polidispersidade das emulsões O/A analisadas .....	56
Figura 16	Membranas de quitosana por emulsão .....	58
Figura 17	Membranas de quitosana por nanoemulsão .....	61
Figura 18	Micrografias obtidas por MEV das membranas de quitosana por emulsão (M0, M4 e M5) .....	62
Figura 19	Micrografias obtidas por MEV das membranas de quitosana por emulsão (M1, M2, M3).....	63
Figura 20	Micrografias obtidas por MEV das membranas de quitosana por emulsão (M6 a M11) .....	64
Figura 21	Micrografias obtidas por MEV das membranas (M5, Nano M5).....	65
Figura 22	Micrografias obtidas por MEV das membranas (M8, Nano M8).....	66
Figura 23	Percentual de Intumescimento das membranas de quitosana por emulsão nas soluções utilizadas (água e PBS), após 24h de imersão .....	67
Figura 24	Comparação do percentual de intumescimento das membranas de	

	quitosana por emulsão (M0) e membranas de quitosana por emulsão com extrato da casca da banana (M1, M2 e M3), em água e PBS .....	69
Figura 25	Comparação do percentual de intumescimento das membranas de quitosana por emulsão (M0) e membranas de quitosana por emulsão com óleo de andiroba na concentração de 0,1% v/v (M4) e 0,5% v/v (M5), em água e PBS.....	70
Figura 26	Comparação do percentual de intumescimento das membranas de quitosana por emulsão (M0) e membranas de quitosana por emulsão contendo extrato da casca de banana e óleo de andiroba, em diferentes concentrações, em água e PBS .....	70
Figura 27	Comparação do percentual de intumescimento das membranas de quitosana por emulsão e membranas por nanoemulsão, em água e PBS, após 24h de imersão.....	72
Figura 28	Comparação entre o percentual de umidade das membranas de quitosana por emulsão e membranas de quitosana por nanoemulsão.....	75
Figura 29	Comparação do ângulo de contato das membranas de quitosana por emulsão e membranas de quitosana por nanoemulsão.....	78
Figura 30	Difratogramas de raios-X de 3 a 70° (2θ) de membranas de quitosana por emulsão.....	80
Figura 31	Comparação entre os difratogramas de raios-X de 3 a 70° (2θ) das membranas de quitosana por emulsão e por nanoemulsão contendo quitosana, extrato de casca de banana verde e óleo de andiroba.....	82
Figura 32	Análise DSC (segundo calor) das membranas de quitosana por emulsão.....	83
Figura 33	Comparação entre espectros de FTIR – Pó de quitosana e Membrana de Quitosana por emulsão Pura (M0).....	85
Figura 34	Comparação entre espectros de FTIR – M0, M1, M2 e M3.....	87
Figura 35	Comparação entre espectros de FTIR – M0, M4 e M5.....	87
Figura 36	Comparação entre espectros de FTIR – Membranas de quitosana com extrato de casca de banana verde e óleo de andiroba (M6 a M11).....	90
Figura 37	Comparação entre espectros de FTIR de membranas de quitosana por emulsão e membranas de quitosana por nanoemulsão.....	91

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Descrição das siglas e componentes de cada membrana preparada no estudo .....	45
Tabela 2	Descrição da composição amostras das nanoemulsões testadas.....	47
Tabela 3	Descrição das siglas e componentes de cada membrana por nanoemulsão sintetizada.....	47
Tabela 4	Descrição das siglas e componentes de cada membrana de quitosana por nanoemulsão sintetizada .....	50
Tabela 5	Modelo de Tabela para Comparação do aspecto macroscópico visual e tátil das membranas sintetizadas .....	51
Tabela 6	Comparação do aspecto macroscópico visual e tátil das membranas por emulsão sintetizadas .....	58
Tabela 7	Comparação do aspecto macroscópico visual e tátil das membrana por nanoemulsão .....	60
Tabela 8	Dados gerados pela ANOVA: único fator para teste de intumescimento das amostras de membranas de quitosana por emulsão .....	68
Tabela 9	Dados gerados pela ANOVA: único fator para teste de intumescimento comparativo entre as amostras de membranas de quitosana por nanoemulsão .....	73
Tabela 10	Dados gerados pela ANOVA: único fator para teste de umidade das amostras de membranas de quitosana por emulsão e por nanoemulsão ....	75
Tabela 11	Dados gerados pela ANOVA: único fator para ângulo de contato das amostras de membranas de quitosana por emulsão e por nanoemulsão ....	78
Tabela 12	Relação entre bandas e grupos funcionais da quitosana .....	86
Tabela 13	Relação entre bandas e grupos funcionais da Casca de Banana.....	87
Tabela 14	Relação entre bandas e grupos funcionais do óleo de andiroba.....	89

## 1 INTRODUÇÃO

Biomaterial pode ser definido como uma substância projetada que, sozinha ou como parte de um sistema complexo, interage com componentes de sistemas vivos para diagnóstico ou terapêutico. Para qualquer aplicação, um dado biomaterial não deve apresentar rejeição pelo organismo hospedeiro, nem perder sua função pretendida (HUDECKI; KIRYCZYŃSKI; LOS, 2019).

Na atualidade, os materiais mais usados clinicamente são das categorias biocompatíveis, bioativos e biodegradáveis. Os biomateriais naturais, derivados de animais, microbianos ou plantas, apresentam como vantagem a semelhança com o organismo do ser humano e por raramente apresentarem toxicidade, em contraste com os materiais sintéticos. Podem-se destacar os polímeros produzidos por seres vivos, os biopolímeros, e projetados para facilitar e acelerar o processo de cicatrização de feridas (ARAMWIT, 2016; OKUR *et al.*, 2020).

As propriedades versáteis dos biopolímeros são exploradas no mercado atual de tratamento de feridas, devido às suas características funcionais e estruturais. Avanços na compreensão de aspectos físicos, químicos e mecânicos auxiliam na exploração das propriedades desejáveis desses polímeros e têm movimentado os pesquisadores e as indústrias numa nova geração de tratamento curativo para lesões de pele (SAHANA; REKHA, 2018).

Desse modo, é fundamental o conhecimento das intervenções que acelerem o processo de cicatrização e reduzem os riscos de agravos e complicações, que podem ser longos e difíceis em alguns casos, além de diminuir os custos econômicos no tratamento.

Estudos sobre o desenvolvimento de biomateriais multipoliméricos têm sido realizados, em busca de melhoria das propriedades de seus componentes. Conforme Gaspar-Pintilieșcu, Stanciuc e Craciunescu (2019), a estabilidade de curativos naturais é melhorada pela interação entre polímeros e componentes de extratos vegetais.

A disponibilidade e atividade biológica dos polímeros naturais os tornam adequados para o desenvolvimento de novos biomateriais. Dentre esses polímeros destaca-se a quitosana, um biopolímero natural derivado da quitina, com similaridade aos componentes da matriz extracelular, capaz de promover a adesão, proliferação, diferenciação e regeneração celular (SULTANKULOV *et al.*, 2019).

A quitosana é um polímero amplamente estudado, sendo comprovada a cicatrização facilitada e rápida reepitelização de feridas, dentre outras funções (SINGH; SHITIZ; SINGH, 2017).

Ademais, existem diferentes materiais oriundos de vegetais que podem facilitar o processo de cicatrização de feridas, em virtude da presença de compostos bioativos estocados nas folhas, caules, raízes, flores e sementes e, por isso, têm sido objetos de estudos e atraindo atenção, em especial, devido à relação custo-benefício e baixos efeitos adversos (OLIVEIRA, L. *et al.*, 2018; BAYAT *et al.*, 2019).

A casca da banana tem destaque por conter uma grande variedade de compostos bioativos responsáveis por atividades terapêuticas, como antimicrobiana, antioxidante e capacidade de aumentar a proliferação celular, além de produzir colágeno e sintetizar DNA (BUDOVSKY; YARMOLINSKY; BEN-SHABAT, 2015).

Conforme Budovsky, Yarmolinsky e Ben-Shabat (2015), os compostos bioativos presentes na casca da banana, capazes de acelerar a cicatrização de feridas, são os compostos fenólicos que incluem os flavonoides, ácidos fenólicos e taninos, provenientes do metabolismo secundário.

Assim como a casca da banana possui bioativos com efeitos benéficos ao processo de cicatrização de feridas, estudos como o de Souza *et al.* (2017) apontam a ação do óleo de andiroba como potencializador do processo cicatricial.

O óleo extraído de sementes de plantas da espécie *Carapa guianensis*, popularmente conhecida como Andiroba, é um produto que oferece importantes propriedades medicinais, como atividades anti-inflamatórias, antioxidantes e anticarcinogênicas (MELO *et al.*, 2021).

A fusão de quitosana com outros compostos bioativos está sendo amplamente estudada, bem como a incorporação de óleos vegetais em filmes de quitosana para aplicação na cicatrização de feridas por diferentes técnicas. Uma dessas técnicas utiliza surfactante não iônico para melhor solubilidade do óleo e produção de nanoemulsões, de modo a tornar as soluções mais homogêneas (SUGUMAR; MUKHERJEE; CHANDRASEKARAN, 2015).

Com isso, acredita-se ser válida a síntese de membranas utilizando nanoemulsão, para fins de comparação e análise em relação à biomateriais semelhantes e sem esta técnica de preparo.

Portanto, com a finalidade de possibilitar o uso de biomateriais, a base de polímeros naturais e compostos vegetais, para auxiliar na cicatrização de lesões epiteliais, este estudo objetivou estudar a síntese de membranas de quitosana, extrato de casca de banana verde e óleo de andiroba, sabendo-se da importância na realização de novas pesquisas visando à criação e testes de um novo produto terapêutico.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Sintetizar e caracterizar membranas de quitosana, extrato de casca de banana verde e óleo de andiroba para aplicação em lesões epiteliais.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- Conhecer as características de polidispersão (PDI) de emulsões de óleo em água (O/A) à base de óleo de andiroba, através do teste de Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS);
- Sintetizar membranas por emulsão e membranas por nanoemulsão de quitosana, extrato de casca de banana e óleo de andiroba;
- Avaliar a capacidade de intumescimento, umidade e molhabilidade da superfície por meio de análises gravimétricas e medidas de ângulo de contato das membranas obtidas;
- Caracterizar as membranas sintetizadas quanto às propriedades morfológicas (MEV), difratométricas (DRX), térmicas (DSC) e espectroscópicas (FTIR);
- Comparar os resultados de caracterização das membranas sintetizadas a partir de emulsões e nanoemulsões.

## 1.2 JUSTIFICATIVA E INEDITISMO

Sabe-se que a realidade do campo de tratamento de feridas é que existem diversos tipos de curativos comercializados que permitem o tratamento de feridas de diversas causas. Entretanto, percebe-se que a maioria desses produtos é importada, de alto custo econômico e difícil acesso à grande parte da população que necessita de tratamento de lesões de pele.

Sendo assim, acredita-se que, os biopolímeros biodegradáveis são excelentes opções na atualidade.

A diversidade de aplicações dos biopolímeros, assim como suas características químicas, físicas, biológicas e morfológicas, faz da pesquisa nesta área do conhecimento um trabalho com características importantes e interdisciplinares. Além disso, os benefícios da utilização da quitosana, casca da banana verde e óleo de andiroba têm sido foco de inúmeras

pesquisas, e vem contribuindo para a evolução das ciências para as áreas biomédicas devido à fácil aplicabilidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade desses materiais.

Segundo Lopes (2019) na medicina local e tradicional brasileira, a casca de banana tem uma história de utilidade para promover a cicatrização de feridas, principalmente por queimaduras, quando usada topicamente. Como o interior da casca tem propriedades anti-sépticas, ela pode ser enrolada diretamente em torno de feridas ou cortes em uma emergência.

Há um grande número de pesquisas sobre o uso dos componentes da banana, através de extrato ou gel em diferentes concentrações, com resultados promissores em relação à cicatrização de lesões de pele, embora ainda haja a necessidade de mais estudos em humanos (OLIVEIRA L. *et al.*, 2018).

O óleo de andiroba tem características peculiares, que desperta o interesse de pesquisas em diversas aplicações, mas, apesar de bem relatado na medicina popular, poucos são os trabalhos experimentais relacionados ao amplo espectro de ação, eficácia e atividade biológica (SILVA, 2018). Este óleo, usado popularmente na Região Amazônica, em diversas situações, devido suas atividades bioativas, deve ser amplamente estudado.

É importante também destacar, a crescente busca por fontes naturais de compostos bioativos presentes em espécies vegetais. Portanto, considera-se que um estudo relacionado à incorporação do óleo de andiroba em biomateriais, atuando como fonte potencial de constituintes bioativos e funcionais é de suma importância, podendo contribuir para a melhoria das propriedades cicatrizantes de um biomaterial.

Vale ressaltar que este estudo realizou a síntese de membranas de quitosana por emulsão e por nanoemulsão preparada com óleo de andiroba. Contudo, foi realizada, também, a caracterização destas membranas e a comparação dos resultados entre elas, visando avaliação da interação, emulsificação e incorporação do óleo de andiroba com os demais constituintes do material.

O estudo de biomateriais em regeneração de tecidos tem apresentado resultados satisfatórios e interessantes. Tanto a quitosana quanto os bioativos presentes na casca da banana e óleo de andiroba apresentam efeitos benéficos comprovados na cicatrização de feridas.

Diante do exposto, é de suma importância a realização de novas pesquisas, especialmente sobre biopolímeros. Consequente, espera-se a união entre os benefícios apresentados por cada constituinte do biomaterial objetivando, futuramente, a produção de um produto eficaz, acessível e de baixo custo econômico.

Apesar dos avanços nas pesquisas da aplicação de membranas à base de quitosana, casca de banana verde e óleo de andiroba, de forma isolada ou combinada, até o presente momento não foram encontrados estudos publicados sobre síntese e caracterização de biomaterial composto por esses três componentes em um único produto. Partindo desse pressuposto, este estudo tem seu caráter inédito e original.

Ademais, com a presente pesquisa buscou-se uma proposta inovadora e original ao realizar síntese de membranas de quitosana com óleo de andiroba por nanoemulsão, além de comparar os resultados de sua caracterização com as membranas de quitosana por emulsão com adição do óleo.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

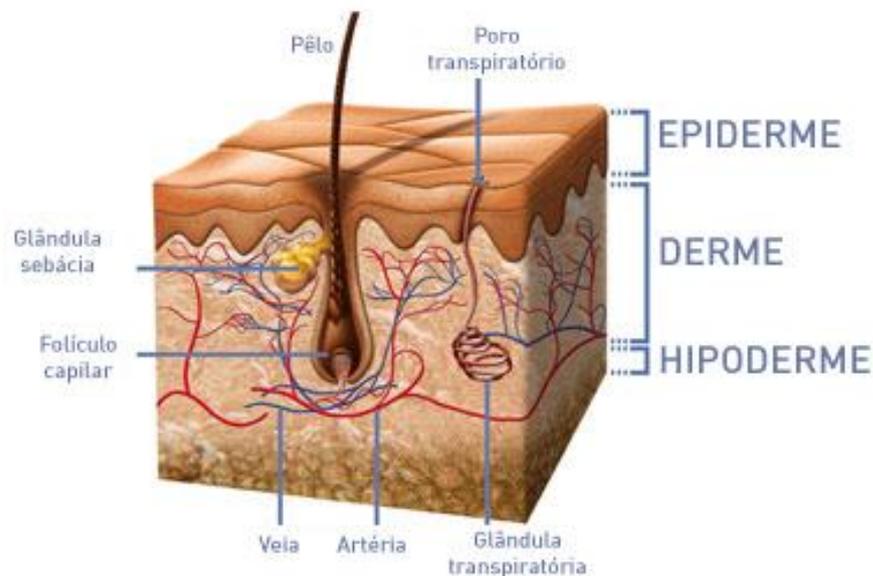
### 2.1 LESÕES EPITELIAIS E CICATRIZAÇÃO

A pele é um órgão protetor e fornece função vital como modulação de temperatura, regulação de umidade, bem como sensação, recepção e transmissão. As capacidades de reparar e regenerar são fundamentais para essas funções (CHILDS; MURTHY, 2017).

A estrutura da pele é composta por duas camadas: a epiderme e a derme. A epiderme contém queratinócitos, melanócitos, células dendríticas, células de Langerhans e outras do sistema imunológico, axônios sensoriais e a membrana basal dermo-epidérmica. A derme tem os apêndices, mastócitos, fibroblastos, células que apresentam antígenos e o complexo de matriz extracelular que fornece suporte para conexões, movimento celular e regula citocinas e funções dos fatores de crescimento (CAÑEDO-DORANTES; CAÑEDO-AYALA, 2019).

A epiderme é formada por tecido epitelial, do tipo pavimentoso estratificado queratinizado e, abaixo desta, a derme composta de tecido conjuntivo. O tecido epitelial apresenta uma grande coesão entre suas células, mas é sensível a solução de continuidade, que se ocorrer, é precipitada por fatores agentes, expondo o tecido conjuntivo subjacente, ocasionando uma ferida (NITZ *et al.*, 2006). A Figura 1 mostra um corte transversal da pele.

Figura 1 – Corte transversal da pele.



Fonte: Dealey (2008).

As lesões epiteliais são quaisquer rupturas ou ferimentos da estrutura anatômica e da função devido a rupturas em órgãos como a pele. Essa quebra pode se estender a outros

tecidos e estruturas, como tecido subcutâneo, músculos, tendões, nervos, vasos e ossos (OKUR *et al.*, 2020).

O ferimento ou lesão de pele é uma sequência de eventos que inicia com o trauma e termina com o fechamento completo e organizado da ferida com o tecido cicatricial, é um processo altamente complexo e dinâmico envolvendo fenômenos bioquímicos e fisiológicos que se comportam de maneira harmoniosa garantindo a restauração tissular. Essas feridas podem ser classificadas de várias maneiras, de acordo com a etiologia, morfologia, grau de contaminação, fase de evolução cicatricial, características do leito, do exsudato, entre outros (EBERHARDT *et al.*, 2015).

As lesões epiteliais, chamadas de feridas, geralmente cicatrizam sem problemas, entretanto deve-se evitar a falta ou diminuição de oxigênio, edema excessivo e corpos estranhos na lesão, pois estes fatores criam um ambiente que interrompe a cura e cria um ciclo de hipóxia, inflamação, necrose e infecção, podendo evoluir para uma ferida crônica. A reparação de feridas é uma série coordenada de fases que têm tipos de células previsíveis e preparações do microambiente (CHILDS; MURTHY, 2017).

A maioria das funções essenciais da pele é reparada e dependem de vários fatores como a atuação de células inflamatórias, quimiocinas, citocinas, moléculas de matriz e nutrientes em quantidades exigidas pelo metabolismo aumentado. Esse processo ocorre simultaneamente e geralmente são divididos em três principais fases de cicatrização: inflamatórias, proliferativa e remodelação (HAN; CEILLEY, 2017).

A fase inflamatória inclui inflamação neurogênica cutânea e hemóstase, que iniciam nos primeiros segundos após a lesão e duram aproximadamente uma hora, seguido de recrutamento rápido de neutrófilos para o tecido lesado durante as primeiras 24 horas e seu posterior declínio na semana subsequente (CAÑEDO-DORANTES; CAÑEDO-AYALA, 2019).

Inicialmente nesta fase ocorre um tampão de plaquetas na ferida, que limita o sangramento e começa a sinalização de citocinas. Este evento inicia a cascata de coagulação e promove amplificação e recrutamento de células para o desbridamento de tecido viável. Os neutrófilos, atraídos e presos no tampão de plaquetas, irão fagocitar tecido morto e partículas bacterianas e fornecem estímulo à proliferação de queratinócitos (CHILDS; MURTHY, 2017).

A infiltração progressiva de monócitos e macrófagos, iniciado no segundo dia da fase inflamatória, continua aumentando e atinge seu máximo durante a fase proliferativa, com declínio após duas semanas (CAÑEDO-DORANTES; CAÑEDO-AYALA, 2019).

A fase proliferativa, que ocorre normalmente entre 4 e 21 dias, representa angiogênese, formação de matriz extracelular (MEC) e epitelização. Durante essa fase, o defeito da ferida é preenchido com tecido conjuntivo altamente vascular, comumente conhecido como tecido de granulação. A migração das células epiteliais começa nas bordas da ferida algumas horas após o ferimento (OKUR *et al.*, 2020).

A remodelação, que é a terceira fase da cicatrização, começa duas a três semanas após o início da lesão e pode continuar por um ano ou mais. Esta fase ocorre após a formação do coágulo de fibrina na fase inflamatória inicial, que é substituído por tecido de granulação abundante em colágeno III e vasos sanguíneos durante a fase proliferativa. Consequentemente, é reintegrado por uma cicatriz colágena rica em colágeno tipo I com vasos sanguíneos muito menos maduros. Os principais pontos-chave do processo de reparo de feridas são os fatores de crescimento, que são polipeptídeos liberados por várias células ativadas no local da ferida e desencadeiam a proliferação celular (OKUR *et al.*, 2020).

Duas complicações comuns estão associadas com alterações no processo de cicatrização de feridas da pele: fibrose e cronicidade da ferida. A fibrose é caracterizada pela produção excessiva de matriz extracelular, conhecidas como cicatrizes hipertróficas e quelóides, devido desregulação do processo cicatricial, como inflamação sustentada, presença constante de macrófagos, miofibroblastos, hiperprodução de colágeno e alterações na sinalização de fatores de crescimento (CAÑEDO-DORANTES; CAÑEDO-AYALA, 2019).

Vários fatores locais e gerais podem interferir em maior ou menor grau no processo de cicatrização, sendo que a infecção é, provavelmente, a causa mais comum de atraso na cicatrização, pois no caso da infecção sistêmica, a ferida precisa disputar os glóbulos brancos e nutrientes com o corpo e sua cicatrização pode não acontecer enquanto esta infecção não for vencida (TAZIMA; VICENTE; MORIYA, 2008).

Dealey (2008) afirma que todas as feridas são contaminadas por bactérias e isto não afeta a cicatrização, mas a infecção clínica influencia esse processo, pois prolonga o estágio inflamatório à medida que as células combatem grande número de bactérias, inibindo, também a capacidade dos fibroblastos de produzir colágeno.

Em decorrência de sua permanente exposição ao meio externo, a pele está sujeita a intensa contaminação microbiana. Os microrganismos mais comumente encontrados em abundância na pele são as bactérias *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus*, e os bastonetes gram-negativos *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Proteus sp* e *Acinetobacter sp*, dentre outros (SILVA; FIGUEIREDO; MEIRELES, 2014).

As feridas são classificadas principalmente como agudas ou crônicas. As feridas agudas, processadas através das fases normais de cicatrização, exibem sinais bem definidos de regeneração em quatro semanas, enquanto feridas crônicas não mostram progresso normal através dos estágios de cicatrização e a cura não é óbvia em quatro semanas (OKUR *et al.*, 2020).

Ferida crônica é aquela em que há déficit de tecido como resultado de lesão ou injúria duradoura ou de recorrência frequente, com ocorrência mais provável em idosos ou pessoas com múltiplos problemas sistêmicos, como úlceras por pressão, úlceras de perna, úlceras diabéticas dos pés e feridas neoplásicas malignas (DEALEY, 2008).

A cronicidade da ferida ocorre quando há um desvio do curso fisiológico natural de cicatrização e estagna em algum ponto. O desafio evitável mais comum para a cicatrização de feridas é a possível infecção, e antimicrobianos tópicos têm sido usados empiricamente há muito tempo para tentar prevenir a infecção de feridas. Embora algumas bactérias façam parte da flora da pele, nas feridas um limite crítico de  $10^5$  bactérias foi proposto como o delineamento entre a colonização e uma infecção clinicamente relevante que pode impedir a cicatrização (HAN; CEILLEY, 2017).

Segundo Zhang *et al.* (2020), existem tratamentos clínicos para essas complicações, contudo, os métodos convencionais apresentam diversas desvantagens, inclusive falha em mudar o microambiente das feridas crônicas, o que não é propício ao reparo e não representam avanços no tratamento. Tendo em vista as limitações dos tratamentos tradicionais, os biomateriais têm recebido grande atenção em relação às suas potenciais aplicações em feridas crônicas.

## 2.2 TRATAMENTO DE FERIDAS E CURATIVOS

O tratamento adequado é fundamental para a cicatrização e prevenção de recidiva, quando se trata de feridas. Assim, a escolha da terapêutica deve levar em conta a relação entre o custo e o benefício, pois em muitos casos os pacientes não seguem o tratamento por motivo financeiro (EBERHARDT *et al.*, 2015).

Na história, a preocupação em relação ao tratamento de feridas existe desde 3000 anos a. C., ou seja, pré-históricos utilizavam vários meios para tratar as lesões, como extratos de plantas, água, neve, gelo, frutas e até lama. Os egípcios empregavam óleos vegetais aderidos a faixas de algodão e gregos e romanos usavam banhas, óleos minerais, pomadas, entre outros. As plantas medicinais ganharam destaque nos mosteiros no período medieval, no qual

defendiam a importância da manutenção da ferida limpa e remoção de corpos estranhos (ALMEIDA, 2014).

Nos dias atuais, há inúmeros produtos à disposição para tratamento de feridas, que incluem agentes tópicos e curativos, que se aplicam diretamente na ferida. Porém, as terapias alternativas também são utilizadas por pessoas que as consideram úteis, mesmo sem comprovação científica quanto ao seu papel na cicatrização (DEALEY, 2008).

O curativo é uma forma de tratamento de feridas cutâneas, desenvolvido para atuar de forma dinâmica, na evolução das fases da cicatrização. Diversos tipos de curativos são comercializados, podendo conter antibióticos, antibacterianos, antissépticos, antimicrobianos, enzimas proteolíticas e fatores de crescimento, além de produtos direcionados à proteção da pele contra as lesões (SILVA; SILVA, 2018).

Os curativos comerciais podem ser produzidos a partir de polímeros sintéticos como poliuretano, ou polímeros naturais como, por exemplo, a quitosana (HemCon™ da HemCon Medical Technologies INC.), alginato (Algisite M da Smith & Nephew Healthcare Ltd), carboximetilcelulose (Aquacel™ da ConvaTec), celulose bacteriana (Membracel, [www.membracel.com.br](http://www.membracel.com.br)), sendo este último um dos poucos curativos comerciais de fabricação nacional, além do Curatec ([www.curatec.com.br](http://www.curatec.com.br)), um curativo na forma de filme de poliuretano.

No entanto, para Silva e Silva (2018), novas plataformas para o tratamento das alterações da pele, que consigam resultados mais eficazes e robustos estão em crescente avanço pela introdução da bioengenharia e engenharia de tecidos. Terapias que mimetizem a pele humana com a finalidade de fechar a ferida, controlar a perda de fluidos e exibir propriedades como durabilidade, elasticidade e histocompatibilidade são desenvolvidas com a utilização dos chamados biomateriais inteligentes constituídos pela combinação de sistemas para entrega específica de fármacos ou moléculas bioativas associadas a coberturas.

A década de 60 foi marcada pelo início da evolução dos curativos com a proliferação de materiais para coberturas, que evoluíram das "gazes sofisticadas" aos chamados "curativos inteligentes". Assim, nos anos 70 surgem os retentores de umidade, como os filmes transparentes e hidrocolóides e, a partir de 1980, ampliam-se as alternativas com o surgimento dos alginatos. Os curativos biológicos e biossintéticos encontram-se em pleno desenvolvimento (ARANTES, 2014).

No entanto, há trabalhos como um estudo analítico intervencional, que comparam alguns biomateriais a outros curativos no mercado, como a eficácia da utilização da pele da *Tilápia-do-Nilo* como curativo biológico oclusivo no manejo e tratamento de queimaduras de

segundo grau superficial e profundo em adultos em comparação ao curativo à base de hidrofibra com prata. obteve-se que os pacientes com o curativo a base de hidrofibra com prata necessitaram de um número de trocas superior do que o outro grupo, indicando melhor aproveitamento e menor gasto financeiro com o uso de biomateriais (NOGUEIRA *et al.*, 2022).

Atualmente, uma estratégia que tem ganhado atenção na produção de curativos dérmicos, bem como tem sido fundamental na cicatrização de lesões de pele é a incorporação de agentes bioativos nos biomateriais destinados para este fim.

### 2.3 BIOMATERIAIS

A definição de “biomateriais” está em constante evolução, acompanhando os avanços no seu desenvolvimento e aplicação. Atualmente, de forma mais completa, biomateriais podem ser descritos como qualquer substância ou combinação de substâncias, exceto drogas, de origem sintética ou natural, que podem ser usadas por qualquer período de tempo, que aumenta ou substitui parcial ou totalmente, qualquer tecido, órgão ou função do corpo, a fim de manter ou melhorar a qualidade de vida do indivíduo (BIANCHERA *et al.*, 2020).

Para Pires, Bierhalz e Moraes (2015), os biomateriais possuem aplicações diagnósticas, vacinais, cirúrgicas ou terapêuticas, podendo ser na forma de sólidos, géis, pastas ou mesmo líquidos.

O campo de biomateriais se desenvolveu historicamente de forma a se obter uma combinação satisfatória de propriedades físicas próximas àquelas do tecido substituído com uma resposta tóxica mínima para o hospedeiro (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2012).

A escolha do biomaterial está associada à função que irá desempenhar e o período de tempo que entrará em contato com o corpo humano, com base na combinação de suas propriedades físicas, químicas, mecânicas e biológicas (DOS SANTOS; BRANDALISE; SAVARIS, 2017).

Na medicina regenerativa, mais especificamente no tratamento de feridas e liberação controlada de fármacos, esses biomateriais devem apresentar características de biodegradabilidade, biocompatibilidade, semelhança com a matriz extracelular e induzir e estimular o processo de cicatrização de feridas (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015).

Para tanto, os biomateriais podem possuir como características serem bioestáveis, ou seja, não induzir inflamação, reações tóxicas e sintomas alergênicos no corpo, serem bioinertes, bioativos, biofuncionais, biodegradáveis e esterilizáveis. Outra condição, é que

esses processos de higienização e esterilização não devem promover modificações nas propriedades dos mesmos (DOS SANTOS; BRANDALISE; SAVARIS, 2017).

Os materiais bioinertes mantêm suas propriedades físicas e mecânicas enquanto implantadas, são bem toleradas pelo organismo e não provocam resposta dos tecidos, assim como os bioativos, que tem um efeito sobre um organismo vivo, tecido ou célula e incentivam a ligação com o tecido circundante (HUDECKI; KIRYCZYŃSKI; LOS, 2019).

Ainda, conforme Hudecki, Kirycki e Los (2019), as propriedades dos biomateriais usados na medicina regenerativa dependem em grande parte das propriedades do material usado para sua preparação (polímero, cerâmica, metal, carbono ou sua combinação - um material compósito). Esses materiais podem ser classificados em reabsorvíveis, que após o implante são desintegrados e reabsorvidos no ambiente tecidual, e não reabsorvíveis, que não serão desintegrados e reabsorvidos. Os reabsorvíveis liberam gradualmente a sua massa no tecido circundante e podem dissolver-se completamente ao longo de um período de tempo.

Os materiais biodegradáveis são os que degradam ou solubilizam quando em contato com o organismo por um determinado período de tempo (DOS SANTOS; BRANDALISE; SAVARIS, 2017).

Os polímeros biodegradáveis são biomateriais com degradação resultante da ação de microorganismos de ocorrência natural como bactérias, fungos e algas. Os polímeros são macromoléculas formadas a partir de unidades estruturais menores (monômeros), ou seja, moléculas de baixa massa molecular os quais, a partir das reações de polimerização, gera a macromolécula polimérica. As unidades repetidas, chamadas de mero, provêm da estrutura do monômero. O número de meros que podem se verificar na estrutura de uma macromolécula, é chamado grau de polimerização. Em geral, os polímeros contêm os mesmos elementos nas mesmas proporções relativas que seus monômeros, mas em maior quantidade absoluta (VERT *et al.*, 2012).

Dentre os materiais biodegradáveis, os mais importantes são os biopolímeros. Estes são polímeros produzidos por seres vivos, definidos como polímeros obtidos a partir de matérias renováveis. Podem ser considerados também como polímeros naturais, possuem propriedades termoplásticas e constantemente são gerados pelos sistemas biológicos e também por matérias-primas derivadas, são as proteínas, os ácidos nucléicos e os polissacarídeos (DOS SANTOS; BRANDALISE; SAVARIS, 2017; COSTA, 2018).

Os biomateriais podem compensar a perda de função em tecidos doentes ou danificados, substituindo definitivamente a função de tais tecidos ou sendo usado para fins de diagnóstico. Esta propriedade é essencial para que o material execute as funções às quais foi

projetado, no período de tempo necessário e de forma eficaz (HUDECKI; KIRYCZYŃSKI; LOS, 2019; DOS SANTOS; BRANDALISE; SAVARIS, 2017).

Conforme Dos Santos, Brandalise e Savaris (2017), para materiais de biofuncionalidade de longa duração, o material não deve se degradar pelo contato com o tecido, visto que, assim, perderia parcialmente sua funcionalidade. Além disso, o biomaterial deve manter sua estabilidade química e mecânica ao longo de todo o processo.

A biocompatibilidade do biomaterial significa que a resposta do hospedeiro à sua implantação e presença não pode ter efeitos adversos no implante ou no organismo hospedeiro. Além de tudo, ser seguro para o organismo hospedeiro, sem causar efeitos prejudiciais na área de implantação, em outros órgãos ou tecidos (HUDECKI; KIRYCZYŃSKI; LOS, 2019)

Com o passar do tempo, a meta passou a ser a bioatividade dos biomateriais, e mais recentemente, o objetivo tem sido a regeneração de um tecido funcional de fato, com foco, então, no aspecto biológico. Inicialmente tinha-se por objetivo a obtenção de materiais biocompatíveis que pudessem substituir um tecido danificado e prover suporte mecânico, com mínima resposta biológica do paciente. Mais recentemente, tem-se trabalhado com o conceito de biomimética, buscando-se materiais que participem de forma ativa no processo de recuperação, atuando no tecido de forma específica, com estimulação em nível celular (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015).

Neste sentido, destacam-se propriedades biológicas, como a biocompatibilidade, que compreende as diferentes propriedades dos materiais, como toxicidade, compatibilidade de tecidos e sangue (hemocompatibilidade) e propriedades de biofuncionalidade (DOS SANTOS; BRANDALISE; SAVARIS, 2017).

Os biomateriais poliméricos estão dentre os mais empregados no âmbito médico, sendo que os de origem biológica são abundantes e seus produtos de degradação são biocompatíveis e atóxicos (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015).

Ultimamente, tem havido um enorme interesse em utilizar biopolímeros como fonte de novos materiais, também devido ao custo acessível e obtenção a partir de fontes renováveis (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015). Na área médica, os biopolímeros recentemente, têm se revelado componentes ideais para implantes, membranas, hidrogéis e substratos para medicamentos (VERT *et al.*, 2012).

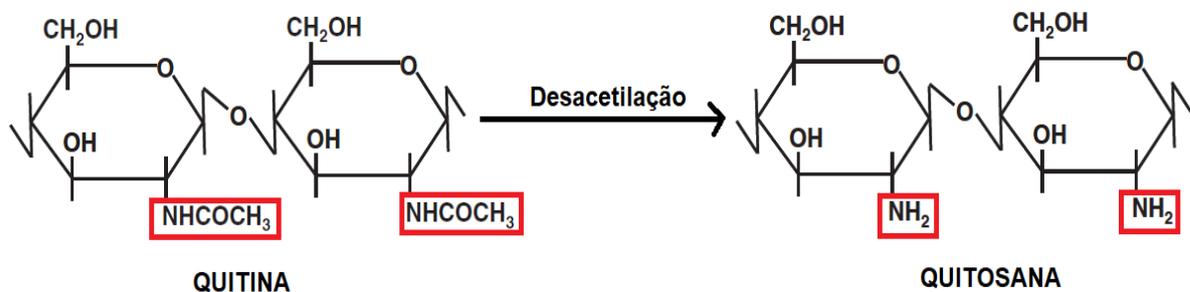
## 2.4 QUITOSANA

Quitosana é um polissacarídeo amino, derivado do processo de desacetilação da quitina. A quitina consiste em um biopolímero estrutural do exoesqueleto de animais marinhos (anelídeos, moluscos, celenterados, lagosta, camarão, caranguejo e krill), artrópodes (aranha, escorpião, formigas e besouros) e microrganismos (algas verdes, e marrons, leveduras, parede celular de fungos e esporos), sendo o segundo mais disponível na natureza (ROLIM *et al.*, 2018; MOUTINHO *et al.*, 2019).

A quitina é transformada em quitosana, seu principal derivado, por desacetilação parcial em condições especiais, como um ambiente fortemente alcalino. Uma solução alcalina (por exemplo, solução de NaOH) remove, simultaneamente, as proteínas e desacetila a quitina (MOUTINHO *et al.*, 2019; ROLIM *et al.*, 2018).

A desacetilação da quitina libera grupos amina (NH) e dá à quitosana uma característica catiônica. Durante essa reação os grupamentos acetamida (-NHCOCH<sub>3</sub>) da quitina são substituídos por resíduos amina (-NH<sub>2</sub>) (SINGH; SHITIZ; SINGH, 2017), conforme demonstrado na Figura 2.

Figura 2 – Representação das estruturas primárias de quitina e quitosana.



Fonte: Adaptado de Singh, Shitiz e Singh (2017).

O grau de acetilação determina uma das características mais importantes da quitosana, sua natureza policatiônica em meio ácido, resultante da ionização dos grupos amina.

Assim, suas propriedades funcionais, como solubilidade, razão de intumescimento, bioatividade e biodegradação, são influenciadas pelo grau de acetilação. O peso molecular junto com o grau de acetilação são as características físico-químicas mais importantes da quitosana (MATICA *et al.*, 2019).

Segundo Singh, Shitiz e Singh (2017), uma série de estudos demonstrou que a quitosana acelera a cicatrização de feridas em casos clínicos e veterinários, em parte, devido às suas atividades bioquímicas como a ativação de células polimorfonucleares, ativação de

fibroblastos, produção de citocinas, migração de células gigantes e estimulação da síntese de colágeno, além de funcionar como agente bacteriostático.

Em concordância com esses autores, Moutinho *et al.* (2019) afirmam que a quitosana, acelera a cicatrização de feridas devido à atração de macrófagos e neutrófilos para a lesão, e, portanto, estimula a resposta inflamatória e a reepitelização.

Dentre outros atributos, a quitosana como um biomaterial, é considerada verdadeiro arcabouço de inserção celular, contribuindo para a adesão, proliferação e diferenciação das células que em sua direção migrem, mas também devem ser capazes de permitir a invasão e o crescimento vascular no sítio de sua implantação. Tem capacidade de estimular células para que produzam e liberem citocinas, as quais favorecem a organização estrutural do tecido conjuntivo, o que facilita a osteogênese e a angiogênese (ROLIM *et al.*, 2018).

A quitosana é um polímero natural muito utilizado em aplicações biomédicas devido à sua atividade antimicrobiana e estimulação cicatricial. Também promove a drenagem, evita o acúmulo de exsudatos e serve como leito de autoenxerto na terapia de feridas, de modo essencial no processo de cicatrização de feridas (OKUR *et al.*, 2020).

Conforme Rolim *et al.* (2018), seu uso como regenerador de lesões de pele deve-se à capacidade de infiltração de leucócitos polimorfonucleares nas fases iniciais de cicatrização tecidual, aumentando, consideravelmente, a osteopontina, uma fosfoproteína capaz de aumentar a ligação celular na ferida em cicatrização, tendo propriedade imunomoduladora devido à sua capacidade de ativar macrófagos, que liberam interleucina-1, o que estimula a proliferação de fibroblastos e influencia a estrutura do colágeno.

Para Ferreira *et al.* (2020), a quitosana vem sendo amplamente estudada para ser utilizada em diversas áreas devido sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, não toxicidade, mucoadesão e atividade antimicrobiana, o que proporciona cicatrização acelerada às feridas.

Entretanto, Matica *et al.* (2019) apontam que o mecanismo de ação contra as células microbianas não está totalmente definido e, portanto, com base em vários estudos, formularam algumas hipóteses: interações eletrostáticas entre a quitosana catiônica e as moléculas aniônicas na superfície da célula microbiana, podendo romper a parede celular e levar ao vazamento de componentes intracelulares; a quitosana de baixo peso molecular pode penetrar na membrana celular e interagir com o DNA, interferindo na síntese de proteínas; e, a quelação de nutrientes e metais essenciais fundamentais para a estabilidade celular.

## 2.5 CASCA DA BANANA VERDE

A banana é o fruto da bananeira, espécie do gênero *Musa* da família *Musáceae*, que possui mais de 300 tipos cultivados em todo o mundo e foram classificadas e agrupadas, inicialmente, no gênero *Musa* (SINGH; SINGH; SINGH, 2016).

Atualmente a maioria dos taxonomistas de banana parece concordar que um único nome científico pode ser dado a todas as bananas comestíveis, ou seja, *Musa spp*, pois se tornou quase impossível apontar qual é a espécie de banana (PEREIRA; MARASCHIN, 2015).

As bananas são frutas originárias do sudeste da Ásia e, atualmente, são cultivadas em praticamente todas as regiões tropicais e subtropicais do planeta, sendo o Brasil um dos quatro maiores produtores mundiais (EMBRAPA, 2018).

Segundo Oliveira e Pandolfi (2020), a atualidade, o agronegócio é apontado como um dos principais geradores de resíduos, responsáveis por problemas ambientais. Neste setor as agroindústrias, que, ao longo de sua cadeia produtiva em todo o mundo, produzem milhões de toneladas de resíduos agroindustriais, oriundos do processamento de matérias-primas de origem agropecuária, com destaque para vegetais em geral.

Em 2017, a produção mundial de banana atingiu aproximadamente 125,3 milhões de toneladas, sendo o Brasil o quarto maior produtor 6,7 milhões de toneladas, gerando grande quantidade de resíduo, sendo de 35 a 50% em peso da fruta madura, podendo ser utilizado como subprodutos nas diversas áreas (OLIVEIRA; PANDOLFI, 2020).

Nos vegetais, os compostos fitoquímicos são produtos naturais, conhecidos como metabólitos secundários. Esses compostos secundários contêm um grupo fenol, um grupo hidroxila funcional em um anel aromático, classificadas como compostos fenólicos e se acumulam em todas as partes do vegetal: raízes, caules, folhas, flores e frutos.

Os fenóis estão associados à cor, características sensoriais (sabor, adstringência, dureza) e propriedades antioxidantes dos alimentos vegetais. Apresentam funções ecológicas importantes como proteção contra herbívoros e patógenos, ação alelopática, além de agir como atrativos para animais polinizadores (FERRERA *et al.*, 2016; ESPINOSA; SANTACRUZ, 2017).

Para tanto, as bananas e outras partes da planta *Musa spp*, são há muito tempo usadas na medicina local e tradicional na América, Ásia, Oceania, Índia e África. É um alimento amplamente utilizado e de fácil acesso, e ultimamente tem aumentado seu uso em fitoterapia,

especialmente como agente que melhora a cicatrização de feridas (PEREIRA; MARASCHIN, 2015; OLIVEIRA L. *et al.*, 2018).

Conforme Kamel, Abd El-Messieh e Saleh (2017), a casca da banana possui antioxidantes mais potentes, mais compostos fenólicos e maior conteúdo de minerais do que a polpa da banana, além disso, as cascas do fruto apresentam poderosa atividade antimicrobiana contra bactérias, fungos e leveduras.

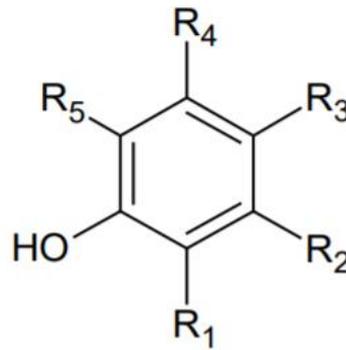
As propriedades antioxidantes da casca da banana são atribuídas à presença de compostos de metabolismo secundário, que são produtos do metabolismo especial, biossintetizados a partir do metabolismo primário. Grande parte dos princípios ativos responsáveis pela atividade de uma planta encontra-se entre os metabólitos secundários (OLIVEIRA L. *et al.*, 2018).

As ações cicatrizante e anti-inflamatória da casca da banana verde devem-se à presença de compostos fenólicos em sua composição. Dentre estes compostos estão os taninos, um composto químico com caráter adstringente (LINO *et al.*, 2011).

Os Compostos fenólicos são formados por um ou mais anéis benzênicos com grupamentos hidroxil ligados como substituintes (Figura 3), assim como radicais metil, metoxil, amino e monossacarídeos. Na natureza, tais compostos são usualmente encontrados conjugados com mono e polissacarídeos, ou sob a forma de ésteres e ésteres metílicos (HARBORNER, 1999).

Os taninos são altamente reativos, realizando ligações de hidrogênio intra e extra moleculares, o que leva à precipitação de proteínas. O precipitado forma um complexo proteína-tanino que se dispõe em camada, protegendo a pele e a mucosa subjacente, permitindo a cicatrização. O tanino, ainda, se liga à parede celular de bactérias e fungos, precipitando-as e garantindo um ambiente mais séptico e propício ao processo de cicatrização (LINO *et al.*, 2011; FRANCO *et al.*, 2017).

Figura 3 – Estrutura química geral de compostos fenólicos. R1, R2, R3, R4 e R5: anel benzênico, hidroxil, metil, metoxil, grupos amino e/ou mono e polissacarídeos.



Fonte: Harborner, 1999.

A casca de banana tem uma história de uso na cicatrização de feridas, pois tem propriedades anti-sépticas comprovadas. Além disso, o uso da casca da banana para tratar lesões de pele, como hematomas, queimaduras e infecções, é apoiado pela disponibilidade dessa parte do fruto como resíduo (PEREIRA; MARASCHIN, 2015; RIHAYAT *et al.*, 2019).

Conforme Oliveira L. *et al.*, (2018), o fator ativo (flavonoide de leucocianidina) presente na casca da banana é solúvel em água e os frutos maduros perdem o efeito terapêutico. Os autores afirmam que o extrato de banana verde age tanto aumentando a densidade da mucosa quanto a incorporação de timidina no DNA das células, mostrando seu efeito na multiplicação celular.

Youssef, Eman e Abeir (2018) afirmam que a casca de banana verde tem maior poder antioxidante do que a madura e seu estudo fornece a base científica para os usos tradicionais das cascas estudadas no tratamento de fungos bacterianos e infecções.

O amadurecimento da banana pode ser classificado em sete estágios segundo a escala de Von Loesecke (PBMH; PIF, 2006), de acordo com a cor da casca, conforme demonstrado na Figura 4.

Figura 4 – Classificação da banana segundo o estágio de maturação e escala de Von Loesecke.

Estágio de Maturação	Característica da Fruta	Aspecto da Fruta
1	Totalmente verde	
2	Verde com traços amarelos	
3	Mais verde que amarelo	
4	Mais amarelo que verde	
5	Amarelo com ponta verde	
6	Todo amarelo	
7	Amarelo com áreas marrons	

Fonte: Adaptado de Almeida, 2014.

Segundo Franco *et al.* (2017) a casca da banana é a parte do fruto que concentra a maior quantidade de compostos fenólicos e conteúdo mineral e suas propriedades antimicrobianas e cicatrizantes estão associadas à presença de taninos, em maior quantidade no fruto verde.

O estudo de Espinosa e Santacruz (2017) mostrou diferenças no teor de compostos fenólicos totais e taninos totais entre três variedades de banana, sendo que a casca da *Musa cavendish* apresentou o maior teor de ambos os compostos, que foram reduzidos ao longo dos estágios de maturação. Contudo, o estudo concluiu que as três variedades de banana estudadas são uma boa fonte de compostos fenólicos e taninos nos estágios iniciais da maturidade.

Alguns métodos de extração de taninos da casca da banana podem ser descritos, dentre eles a decocção. Este método consiste em manter o material vegetal em contato, durante certo tempo, com um solvente (normalmente água) em ebulição (SIMÕES *et al.*, 2007).

### 2.5.1 O Uso da Casca da Banana Verde como cicatrizante de Lesões de Pele

Com base em pesquisas científicas, funções importantes da casca da banana, como cicatrização de lesões de pele são comprovadas. No estudo de Oliveira L. *et al.* (2018) foi observada uma grande área de epitelização em feridas com cicatrização por segunda intenção por meio da síntese e uso de um gel da casca da banana verde a 4% .

De acordo com o estudo de Lopes (2019), o extrato aquoso da casca da banana não apresenta citotoxicidade, estimula a proliferação e migração celular, potencializa a produção de colágeno e é um candidato a formulações de produtos farmacêuticos para o reparo e a cicatrização de lesões cutâneas.

O extrato de banana verde age tanto aumentando a densidade da mucosa quanto a incorporação de timidina no DNA das células, mostrando seu efeito na multiplicação celular, essencial no reparo de lesões de pele (OLIVEIRA L. *et al.*, 2018).

No estudo de Franco *et al.* (2016), membranas preparadas com a casca da banana verde apresentarem propriedades desejadas para um potencial uso em feridas, que inclui transparência, flexibilidade e atividade antibacteriana.

Franco *et al.* (2017) desenvolveu e caracterizou membranas de quitosana com casca de banana verde, ricas em taninos condensados, no qual apresentaram resultados inibitórios de crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. As membranas também apresentaram permeabilidade ao vapor d'água, característica esta importante para uma maior eficiência na cicatrização de feridas cutâneas.

Rihayat *et al.* (2019), sintetizou e caracterizou um biomaterial à base de quitosana e resíduos de casca de banana e mostraram que a combinação entre os componentes do material apresentou ação antimicrobiana contra bactérias gram negativas, gram positivas e cepas de cultura de levedura com capacidade de formação de biofilme. Dentre outras propriedades observadas nesse estudo, bem como a interação entre a quitosana e a casca da banana observada por testes de caracterização, os autores concluíram que o biomaterial parece ser potencial para aplicações na cicatrização de feridas.

Kamel, Abd El-messieh e Saleh (2017) prepararam e caracterizaram nanocompósitos a partir de quitosana e pó da casca de banana em diferentes concentrações. Este estudo objetivou avaliar o efeito antimicrobiano do material e seu potencial como curativo de feridas. Os autores observaram que a adição do pó da casca da banana reforçou a matriz polimérica além do potencial aumentado para a atividade antibacteriana, sendo a *Candida albicans* a cepa mais sensível registrada.

A associação da casca da banana com outros polímeros naturais como alternativa de um biomaterial também são objetos de estudos. Quanto a isso, Franco *et al.* (2017) sintetizou e caracterizou membranas de quitosana associadas ao extrato de casca de banana preparado por decocção, além de realizar testes *in vivo* para analisar a citotoxicidade. Nesse estudo, os resultados de citotoxicidade indicaram que as membranas de quitosana e de quitosana com extrato da casca de banana, tanto da primeira quanto da terceira decocção, não liberaram substâncias tóxicas para os meios de cultura. Além de que, as membranas com extrato da banana mostraram mais de 80% de viabilidade celular, sugerindo não toxicidade para fibroblastos dérmicos e podendo ser potenciais biomateriais na área de feridas.

A casca da banana foi utilizada no estudo de Kamel, Abd El-messieh e Saleh (2017) a fim de avaliar o efeito antimicrobiano de membranas de quitosana e pó da casca de banana com diferentes concentrações contra microorganismos, especialmente os envolvidos nas infecções de pele. Os resultados desse estudo apontaram que a adição do pó do fruto reforçou a matriz polimérica e diminuiu a absorção de líquido pela quitosana, além de apresentar uma ação sinérgica mais alta na concentração de 10% e atividade antimicrobiana.

Oliveira L. *et al.* (2018), para avaliar a cicatrização, realizou aplicação de gel da casca da banana verde a 10% em feridas de pacientes diabéticos. Dos 30 pacientes que iniciaram o estudo, 9 apresentaram cicatrização completa após quatro semanas de avaliação e demonstrou uma diferença estatisticamente significativa na cicatrização em geral, obtidos em todo o grupo ( $p < 0,001$ ). Com isso, os autores concluíram que o biomaterial sintetizado pode ser usado como tratamento eficaz em lesões de pele de diabéticos.

## 2.7 ÓLEO DE ANDIROBA

*Carapa guianensis* é uma grande árvore neotropical, pertencente à família das *Meliaceae*, que pode ser encontrada no norte da América do Sul, América Central, Caribe e África Subsaariana. No Brasil é conhecida como Andiroba e está presente em terras baixas e áreas inundadas em toda a Região Amazônica (ARAÚJO-LIMA *et al.*, 2018; MENDONÇA *et al.*, 2020).

Essas árvores são de porte médio a alto e podem chegar até 35 metros de altura. Não são muito grossas e a copa não é muito espalhada. Suas raízes são do tipo tabulares, que dão mais sustentação à árvore. O fruto é um ouriço, que possui entre 4 a 16 sementes marrons, irregulares e angulosas, como apresentado na Figura 5 (LIRA-GUEDES, 2015).

Figura 5 – Andiroba: (A) Tronco e raiz. (B) Fruto-ouriço. (C) Sementes.



Fonte: Adaptado de Lira-Guedes (2015).

Entre muitas plantas medicinais no Brasil, a Andiroba oferece diversos benefícios às populações residentes na Amazônia, incluindo às propriedades medicinais do óleo extraído de suas sementes, composto principalmente de tiacilgliceróis, com altos níveis de ácidos graxos (OLIVEIRA I. *et al.*, 2018; KIMURA *et al.*, 2016).

Vários estudos identificaram que as sementes de andiroba são ricas em limonóides, o que confere uma variedade de atividades biológicas, como efeitos antimaláricos, antialérgicos, anti-inflamatórios e antioxidantes. Os limonóides são fitoquímicos que estão abundantemente presentes em frutas cítricas. Os limonóides cítricos são triterpenóides altamente oxigenados que são encontrados principalmente nas famílias Rutaceae e Meliaceae (MATSUMOTO *et al.*, 2019).

Conforme Krist (2020), as propriedades anti-inflamatórias do óleo de andiroba, bem como seu efeito repelente de insetos são atribuídos aos limonóides, especialmente a andirobina. Na aplicação tópica, o óleo de andiroba inibe quimicamente a formação de celulite, útil em casos de contusões ou inchaço, porque estimula a circulação sanguínea.

Na medicina popular, na Região Amazônica, o óleo é usado para tratar artrite, adnofaringite, picadas de insetos, cortes, inflamações, contusões, doenças de pele, diarreia e câncer uterino (KRIST, 2020).

O óleo de andiroba (OA) é rico em ácidos graxos como ácido oleico (cerca de 52%), palmítico (cerca de 28%), esteárico e linoleico, e 2-5% do óleo é constituída por limonoides. Limonoides ou tetranortriperpenoides, que são os metabólitos secundários (OLIVEIRA I., 2019).

Devido a essas propriedades terapêuticas, a andiroba tem sido usada pelos povos indígenas e locais, por muitos anos, para tratar diversas afecções como dermatite, lesões

cutâneas, úlceras, abrasões, além de reumatismo e como relaxante muscular (SOARES *et al.*, 2020).

Alguns estudos relataram diversas atividades medicinais produzidas pelo óleo de andiroba como o tratamento de febre e reumatismo, antialérgico, analgésico, efeitos quimioterápicos e anti-inflamatórios (ARAÚJO-LIMA *et al.*, 2018).

Conforme Kimura *et al.* (2016), o óleo de semente de andiroba é atualmente considerado acaricida, larvicida contra *Aedes aegypti*, além de ser um antiplasmódico, anti-inflamatório, antialérgico e também adequado para cicatrização de feridas.

Pesquisas têm demonstrado que o uso do óleo de andiroba participa efetivamente da cicatrização de feridas, promovendo a formação de tecido de granulação, contração do tecido e epitelização. Entretanto, sua atividade promotora da cicatrização é independente de sua atividade antimicrobiana e sim pela presença dos ácidos graxos e fosfolípídeos em sua composição (SOUZA *et al.*, 2017).

O estudo de Araújo-Lima *et al.* (2018), objetivando avaliar a composição química, atividade de eliminação de radicais livres e propriedades mutagênicas e genotóxicas de óleos de andiroba, obtidos por meio de três métodos de extração diferentes, concluiu que não houve relação entre o método de extração e a composição de ácidos graxos e propriedade físico-química. Além disso, verificou-se indução de níveis significativos de citotoxicidade em bactérias e modelos eucarióticos pelos três óleos. No entanto, o óleo extraído sem uso de altas temperaturas mostrou-se mais seguro para uso e o mais promissor por não ser mutagênico ou genotóxico, além de apresentar maior eliminação de radicais livres.

Souza *et al.* (2017) avaliaram a cicatrização de feridas em ratos diabéticos induzidos quanto ao uso do óleo de andiroba. Nesse estudo observou-se maior eficácia na formação de tecidos de epitelização, angiogênese e deposição de colágeno em relação ao grupo controle, concluindo-se que o óleo de andiroba é capaz de reduzir a intensidade da resposta inflamatória, comprovada por resultados macroscópicos, em que houve maior retração da ferida nos animais tratados com o óleo e nenhuma evidência de cicatrização da ferida incisional prejudicada.

A fim de avaliar os efeitos terapêuticos do gel de andiroba em mucosite oral em crianças com leucemia submetidas à quimioterapia, Soares *et al.* (2020) identificaram que a andiroba pode ser eficaz na redução da gravidade dos sintomas e dor, com melhores resultados em comparação com o tratamento a laser de baixa potência, podendo ser empregado como tratamento alternativo devido ser mais acessível, econômico e fácil de usar, além de boa aceitabilidade entre os pacientes.

A incorporação do óleo de andiroba em biopolímeros, visando a potencialização das propriedades cicatrizantes do material, também tem sido estudada. Sobre isso, Kimura *et al.* (2016) estudaram as propriedades curativas para feridas de uma membrana de quitosana com óleo de andiroba e concluíram que a adição do óleo modificou significativamente as propriedades mecânicas e de barreira dos filmes, além de promover maior estabilidade térmica ao material, desde que em concentrações não maiores que 1% em volume de quitosana e adição de baixas concentrações de óleo, como 0,1% por exemplo.

Portanto, sabe-se que ainda há necessidade de estudos que forneçam mais informações sobre as concentrações e composições mais adequadas para uso do óleo de andiroba como componente de produtos cicatrizantes de lesões de pele (MELO *et al.*, 2021).

### **2.7.1 Compostos Bioativos presentes no óleo de andiroba**

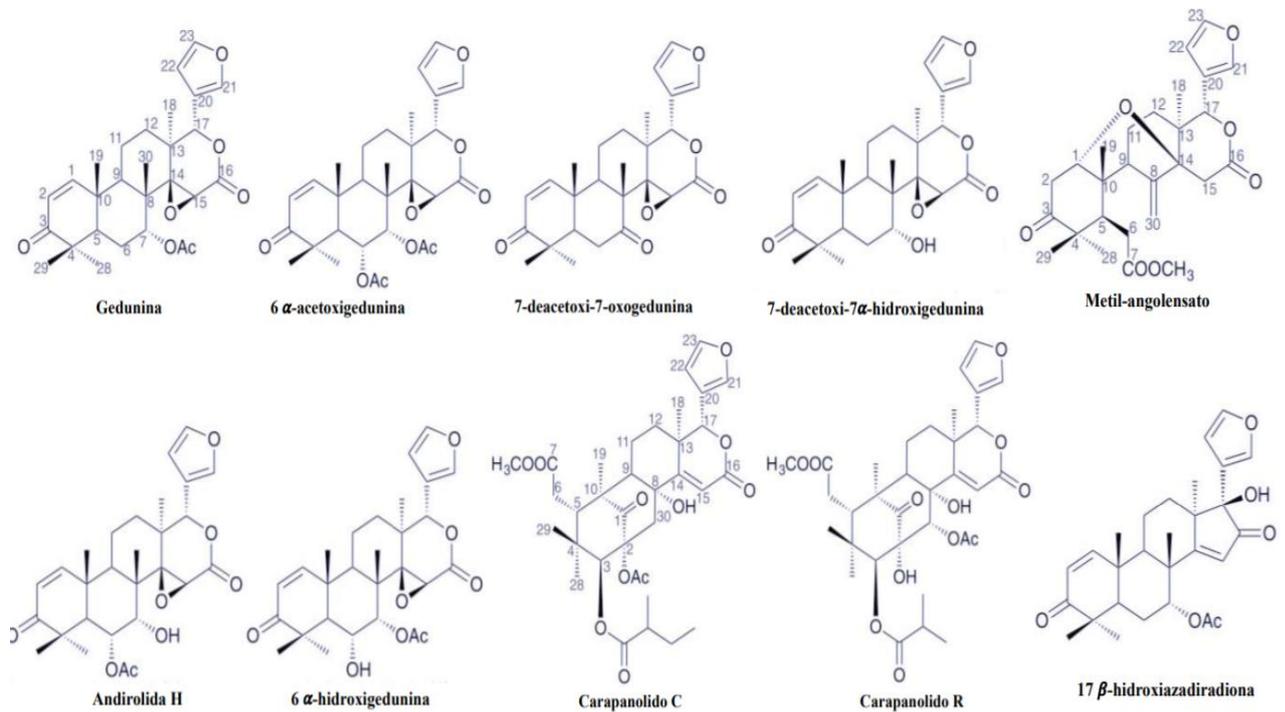
O óleo extraído da semente é composto normalmente por triglicerídeos e composição especial em ácidos graxos. A atividade biológica do óleo da andiroba está relacionada à presença de limonoides, fitoquímicos comumente encontrados em plantas da família *Meliaceae* (SILVA, 2018).

Estruturalmente, os limonóides são formados pela perda de quatro carbonos terminais da cadeia lateral no esqueleto apotirucalano ou apoeupano e depois ciclado para formar o anel 17 $\beta$ -furan, por isso também conhecidos como tetranortriterpenóides (BRAGA *et al.*, 2020).

Dentre os limonóides presentes no óleo da andiroba, destaca-se a 7-desacetoxi-7-oxogenudina, que inibe a ativação induzida por lipopolissacarídeos de macrófagos, que promove a resposta inflamatória, e diminui a sensibilidade ao fator de necrose tumoral, conferindo uma infinidade de atividades biológicas (MATSUMOTO *et al.*, 2019).

Dos vários fitoquímicos isolados de diferentes partes da Andiroba, os limonóides são os mais relevantes, uma série estruturalmente diversa de tetranortriterpenóides, dentre eles o 6-acetoxiedunina, 7-desacetoxi-7-oxogenudina, andirobina, genudina e angolensato de metila, guianolídeos A e B, carapanolidos M – S, carapanolidos C – I, carapanolidos T – U e carapanolidos V – X (BRAGA *et al.*, 2020; OLIVEIRA I. *et al.*, 2018), conforme descrito na Figura 6.

Figura 6 – Limonoides constituintes do óleo de andiroba.



Fonte: Adaptado de Oliveira, 2019.

Sabendo-se que o colágeno é uma importante proteína constituinte da matriz extracelular dérmica, Morikawa *et al.* (2018) realizaram estudos sobre as atividades biológicas de *C. guianensis* e revelaram que o óleo de sua semente pode promover síntese de colágeno em fibroblastos dérmicos humanos, sem causar toxicidade, por meio da ação de alguns limonóides em especial como genidina e 7-desacetoxi-7-oxogenedina, que mostraram atividades relativamente potentes.

Várias atividades são atribuídas à genudina, como antibacteriana, antifúngica, antimalárica, inseticida, antialérgica, anti-inflamatória, anticancerígena e efeitos neuroprotetores. Além disso, estudos apontam não toxicidade em células epidérmicas de animais e administração oral ou subcutânea. Entretanto, como atividade anticâncer e anti-inflamatória, mais estudos precisam ser realizados para melhor compreensão do mecanismo específico de ação por meio de ensaios clínicos (BRAGA *et al.*, 2020).

Conforme Silva (2018), os principais ácidos graxos identificados no óleo da semente de andiroba são ácido palmítico, esteárico, oleico, linoleico, araquidônico e behênico, sendo que há alto teor de ácidos graxos insaturados presentes em sua composição. A presença de ácidos graxos insaturados torna os óleos vegetais interessantes do ponto de vista medicinal e fitoterápico.

Ferreira *et al.* (2020) avaliaram a atividade antimicrobiana, antioxidante, atividade anti-inflamatória e cicatrizante de um gel de quitosana associado ao óleo de buriti. Nesse estudo, observou-se o sinergismo contra bactérias, além de propriedades cicatrizantes, com taxa de retração de ferida adequada, sugerindo eficiência no tratamento de lesões de pele.

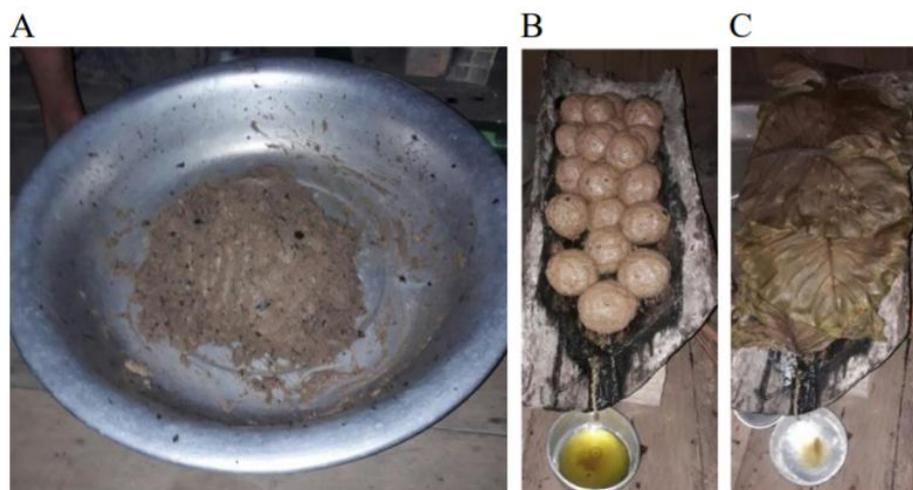
### 2.7.2 Extração do Óleo de Andiroba

A quantidade de óleo extraível das sementes de andiroba varia, de acordo com a espécie, fatores genéticos, ambientais e ainda pelo método de extração adotado (MENDONÇA *et al.*, 2020).

A extração do óleo das sementes de andiroba pode ser através da prensagem ou de forma tradicional. O método tradicional de extração é o mais adotado pelas comunidades ribeirinhas, embora com muitas variações nas etapas ao longo do processo, pode ser dividido em: coleta e seleção das sementes, preparo da massa e a extração do óleo (SOUSA *et al.*, 2019).

Conforme Lira-Guedes (2015) a extração do óleo de andiroba é realizado seguindo os seguintes passos: retirada do ouriço da árvore, extração das sementes do ouriço, lavagem e manutenção das sementes em bacia com água limpa por pelo menos 24 horas, cozimento e quebra das sementes para retirada da massa, amaciamento até obtenção de uma massa oleosa, formação de bolas de massa e colocação em um recipiente inclinado para escorrer o óleo, conforme Figura 7.

Figura 7 – Formação e disposição da massa chamada “pão-de-andiroba” (A e B) e massa protegida com folha, durante o gotejamento do óleo (C).



Fonte: Sousa *et al.* (2019).

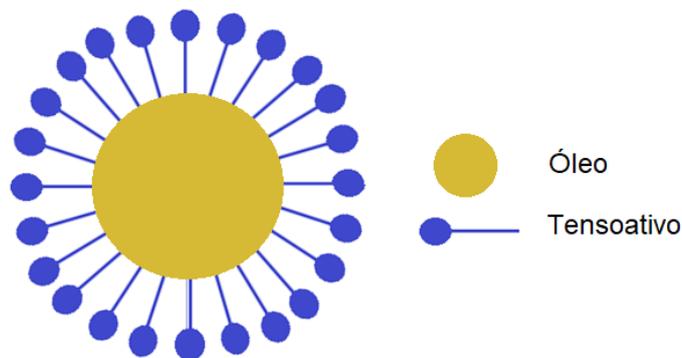
No processo de extração de óleos vegetais por prensagem, dois tipos de prensa são utilizados: prensa hidráulica e prensa de rosca (mecânica). A eficiência das prensas de pequena capacidade pode ser aumentada a partir da otimização das principais variáveis envolvidas no processo: pressão aplicada sobre a massa das amêndoas e prévio preparo da matéria-prima a ser processada como: temperatura de prensagem e teor de umidade das sementes (MENDONÇA *et al.*, 2020).

### 2.7.3 Emulsificação do Óleo de Andiroba

As emulsões são sistemas heterogêneos constituídos por dois líquidos imiscíveis, sendo que tal situação implica na formação de uma fase dispersa, interna ou descontínua e de uma fase dispersante, externa ou contínua. Tais sistemas são termodinamicamente instáveis, sendo necessária a adição de um terceiro elemento, o agente emulsionante, cuja função básica é estabilizar esses sistemas. Emulsões contêm fases aquosa e oleosa, onde a disposição dessas fases em um sistema disperso determina os diferentes tipos de emulsões. Assim, se a fase oleosa é dispersa na fase aquosa, a emulsão é do tipo óleo em água (O/A) (CORREA, 2012).

Quando essa emulsão, estabilizada por tensoativos, está distribuída em uma fase contínua, formando gotículas de emulsão extremamente pequenas em tamanho, conforme representado na Figura 8, na magnitude de nanômetros são chamadas nanoemulsões (SUGUMAR; MUKHERJEE; CHANDRASEKARAN, 2015).

Figura 8 – Estrutura de uma nanoemulsão estabilizada por tensoativo.



Fonte: Autoria própria.

No geral, essas nanoemulsões apresentam aspecto leitoso e baixa viscosidade, sendo que as moléculas ativas são preferencialmente dissolvidas e/ou adsorvidas no núcleo oleoso da nanoestrutura (DIAS *et al.*, 2014).

Devido às propriedades hidrofóbicas dos óleos, há a necessidade de formar nanoemulsões deles em água, para melhorar sua homogeneidade e dispersão nos filmes. As vantagens das nanoemulsões estão no tamanho das partículas (escala nanométrica), gotículas de óleo com tamanho médio de 20 a 200 nm, as quais melhoram suas propriedades físicas, químicas, além de aumentar as atividades biológicas do óleo nos filmes, devido a melhor distribuição do mesmo na superfície (PIRES; MOURA, 2017; NUNES *et al.*, 2018)

Na preparação das nanoemulsões vários métodos podem ser utilizados, dentre eles o homogeneizador ultrassônico, um método de alta energia, que causa a ruptura das gotas da emulsão pela formação e colapso de milhões de bolhas minúsculas dentro de um líquido. Este é o método mais amplamente usado, porque é econômico e fácil de usar (PORTO; ALMEIDA, VICENTINI, 2020; SUGUMAR; MUKHERJEE; CHANDRASEKARAN, 2015).

As nanopartículas presentes nas nanoemulsões apresentam propriedades que permitem a liberação prolongada dos princípios ativos. Sua interação com a pele depende das características, tais como o tamanho, a carga da superfície e as propriedades dos nanomateriais utilizados. As nanopartículas poliméricas podem ser imobilizadas na sua superfície, capazes de penetrar apenas nas camadas superficiais pele e o material encapsulado será liberado para as camadas mais profundas (SOARES *et al.*, 2015).

As nanoemulsões são consideradas atraentes para a síntese de produtos para aplicação tópica porque podem promover a penetração de substâncias de interesse terapêutico por meio de fluidização natural da pele, uma vez que óleos e surfactantes presentes na composição podem desestruturar as camadas da pele (BAJERSKI *et al.*, 2016).

Segundo Dias *et al.* (2014), esses sistemas apresentam uma série de vantagens, como redução dos efeitos colaterais e aumento na penetração na pele, além da capacidade de estabilizar alguns medicamentos, quando comparados às formulações convencionais.

A fim de investigar os efeitos de cicatrização de feridas após administração oral em ratos de óleo essencial de eucalipto puro, nanoemulsão de óleo de eucalipto e antibiótico padrão (Gentamicina), Alam *et al.* (2018) verificaram que o potencial de cicatrização de feridas foi significativo, inclusive com aumento no nível de colágeno, em comparação com o óleo puro. As lesões, do 20º ao 24º dia, apresentaram percentual de contração com o uso do óleo puro de 84,31% e 99,84% e com o uso de nanoemulsões de 99,49% e 100%.

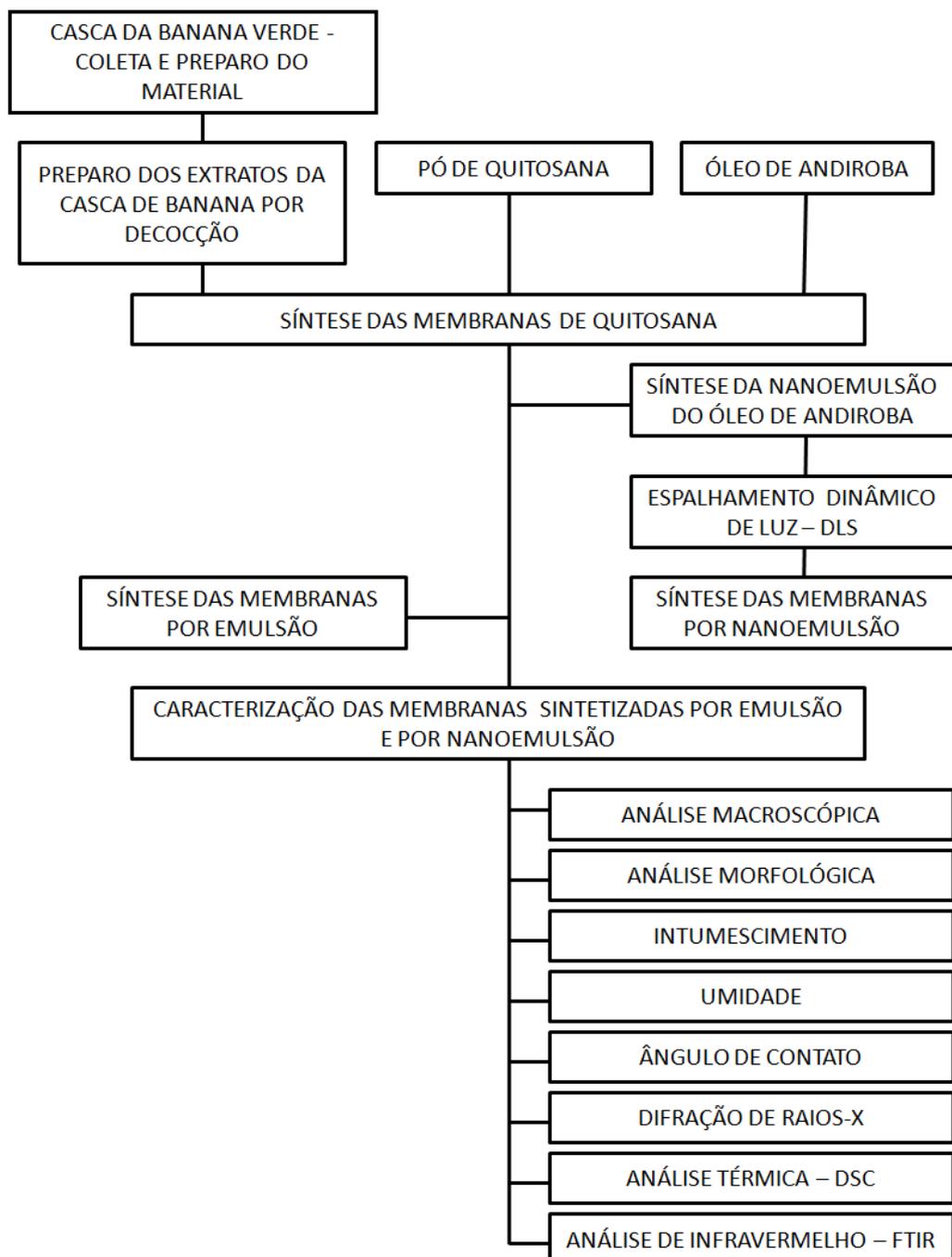
Portanto, com base nos referidos estudos e diante das evidências encontradas demonstrando as propriedades cicatrizantes e princípios bioativos em cada matéria-prima, faz-se necessário a união entre a área da engenharia e da saúde, essencial para um estudo mais

específico visando o agrupamento para melhorar essas propriedades e auxiliar na cicatrização de feridas.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 FLUXOGRAMA DO PLANO DE DESENVOLVIMENTO DE TRABALHO

No presente trabalho foram desenvolvidas emulsões e nanoemulsões para produção das membranas a partir de quitosana, extrato da casca da banana verde e óleo de andiroba. A figura 9 apresenta o procedimento experimental utilizado neste trabalho.



## 3.2 MATÉRIA-PRIMA E SÍNTESE

### 3.2.1 Casca de Banana Verde – Coleta e Preparo do Material

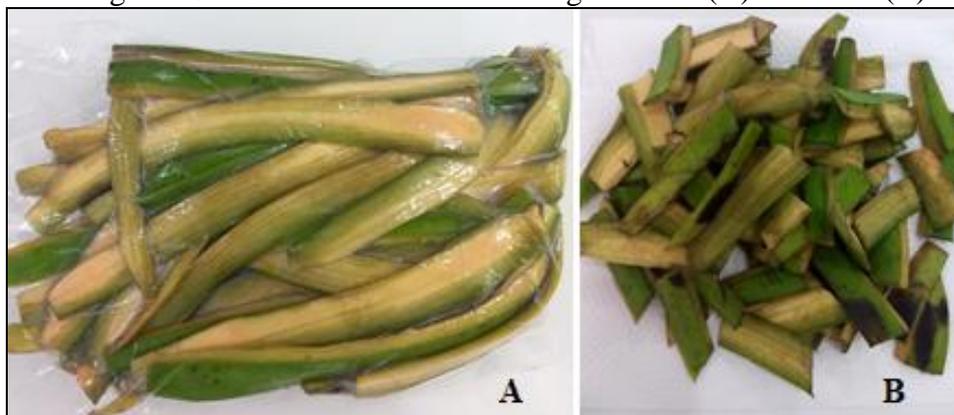
As cascas das bananas verdes foram fornecidas por um produtor do município de Santo Antônio do Tauá, localizado no estado do Pará, Brasil, que utiliza a polpa do fruto no preparo de bananas fritas para venda comercial.

Os frutos foram classificados como da espécie *Musa spp* na categoria 1, da escala de maturação de acordo com Von Loesecke, descrito nas Normas de Classificação de Banana (PBMH; PIF, 2006).

O preparo foi realizado no mesmo dia da colheita para evitar variação no grau de maturação.

Conforme o método utilizado por Franco *et al.* (2017), as cascas foram lavadas em água corrente, pesadas e imersas em hipoclorito de sódio 1% (v/v) durante 15 minutos, para desinfecção. Em seguida, as cascas foram lavadas em água corrente, secas em papel toalha e cortada em cubos (de aproximadamente 1 cm<sup>3</sup>), como mostrada na Figura 10.

Figura 10 – Casca de banana verde higienizada: (A) e cortada (B).



### 3.2.2 Preparo dos Extratos da Casca da Banana por Decocção

A decocção seguiu o procedimento descrito por Lino *et al.* (2011) e adaptado por Franco *et al.* (2017), onde 250 gramas (g) de casca de banana desinfetada foram fervidas em 500 ml de água destilada por 2 horas em chapa aquecedora e, posteriormente, acondicionada em frasco de vidro âmbar e armazenado sob refrigeração, aproximadamente 4 ° C, por um período de 24 horas.

No dia seguinte, o produto foi filtrado a vácuo para obtenção do extrato, como apresentado na Figura 11.

Figura 11 – Decocção e filtragem do extrato da casca da banana. (A) Decocção em chapa aquecedora. (B) Filtragem do extrato da casca da banana após decocção.



Para a síntese das membranas e com base nos estudos de Franco *et al.* (2017), foram preparados extratos da casca da banana durante três dias consecutivos. As cascas da banana submetidas à decocção, que deram origem ao primeiro extrato após 24 horas, foram reutilizadas para o preparo dos extratos do segundo e terceiro dia de decocção.

Após o preparo da primeira decocção, repetiu-se o processo do dia anterior. As cascas foram reutilizadas e mergulhadas em 500 ml de água destilada. O frasco com essa mistura foi mantido em chapa aquecedora por 2h, acondicionado em refrigeração por 24h e o material coado. Técnica similar foi realizada para o preparo do terceiro extrato.

### 3.3 SÍNTESE DAS MEMBRANAS DE QUITOSANA

#### 3.3.1 Material utilizado

A descrição do material utilizado neste estudo está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 – Descrição dos materiais utilizados na síntese das membranas.

Material	Descrição	Marca/fornecedor
Pó de quitosana	CAS ( <i>Chemical Abstracts Service</i> ): 9012-76-4, grau de desacetilação na faixa de 75-85% e massa molecular média 190.000-310.000 Da.	Sigma Aldrich (São Paulo, Brasil)
Ácido acético glacial	Puro, peso molecular 60.05 G/mol	Êxodo Científica (Sao Paulo, Brasil)
Solução de hidróxido de sódio 5%	Peso molecular 40 G/mol	Êxodo Científica (Sao Paulo, Brasil)
Óleo de Andiroba	Nível de acidez <15,0% peso, densidade 0,9261 a 25°C g/ml, índice de iodo 55-80 gI <sub>2</sub> / 100 g, ponto de fusão 22°C, teor de peróxido <10,0 (10 meq O <sub>2</sub> /kg), índice de saponificação 190-210 mg KOH/g, matéria insaponificável (bioativo) 3-5%	Amazon Oil (Belém, Pará, Brasil)
Casca de Banana Verde	Espécie <i>Musa spp</i> , categoria 1 de maturação Von Loesecke (PBMH; PIF, 2006).	Cultivada no município de Santo Antônio do Tauá, Pará, Brasil.
Tween 80 (Polissorbato) PS	CAS: 9005-65-6	Êxodo Científica (Sao Paulo, Brasil)

O preparo das membranas foi realizado nos Laboratórios de Química e Caracterização de Materiais da Universidade Federal do Pará, Campus Ananindeua.

### 3.3.2 Preparo e descrição dos componentes das membranas por emulsão

As membranas foram obtidas pelo método de evaporação do solvente (*casting*), onde a dispersão é vertida em uma superfície não aderente e levada para a estufa para a evaporação do solvente (JONES; MEDLICOTT, 1995).

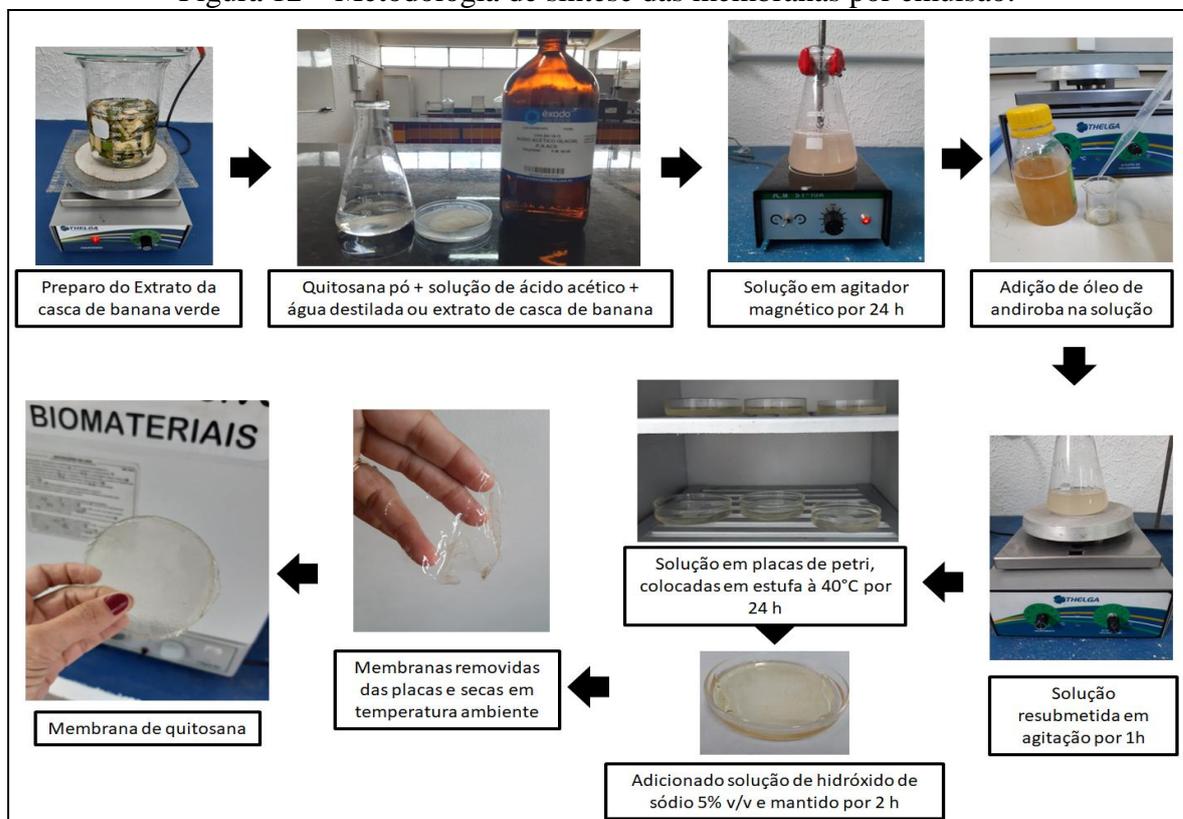
Foram preparadas membranas a partir de soluções de pó de quitosana diluído em água destilada ou extrato da casca da banana verde, com ou sem adição de óleo de andiroba, adaptados conforme os estudos de Franco *et al.* (2017), Kamel, Abd El-messieh e Saleh (2017) e Kimura *et al.* (2016).

Na solução e quitosana foi acrescido 1% (v/v) de ácido acético glacial e, posteriormente, mantida em agitador magnético em plataforma em piro-cerâmica TMA10C, da marca Thelga, durante 24h à temperatura ambiente. Para as membranas com óleo de andiroba em sua composição, após a agitação da solução por 24h, adicionou-se o óleo e resubmeteu-se à agitação por uma hora.

A solução preparada foi vertida em placas de petri de 8 cm (50 ml em cada) e colocadas em estufa analógica, modelo SX 1.2 da marca Sterilifer, para secagem a 40° C por 24 h, para evaporação do solvente e formação da membrana. Posteriormente, foi adicionada solução de hidróxido de sódio a 5% v/v, em cada placa e mantido por 2 horas, para neutralização das membranas. Após esse período, as membranas foram retiradas suavemente das placas e lavadas em água corrente em abundância. Logo após a lavagem, as membranas foram dispostas em estiramento e secas por 24h em temperatura ambiente.

A metodologia utilizada na síntese das membranas está descrita na Figura 12.

Figura 12 – Metodologia de síntese das membranas por emulsão.



Os componentes das membranas sintetizadas por emulsão, bem como as denominações (siglas) atribuídas a cada uma delas, estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 – Descrição das siglas e componentes de cada membrana preparada no estudo.

<b>Sigla</b>	<b>Componentes</b>	<b>Descrição</b>
<b>M0</b>	Quitosana	1g de quitosana em pó dissolvido em 100 mL de água destilada.
<b>M1</b>	Quitosana + extrato de casca de banana do 1º dia de decocção	1g de quitosana em pó dissolvido em 100 mL de solução extraída da casca de banana verde, por decocção do primeiro dia.
<b>M2</b>	Quitosana + extrato de casca de banana do 2º dia de decocção	1g de quitosana em pó dissolvido em 100 mL de solução extraída da casca de banana verde, por decocção do segundo dia.
<b>M3</b>	Quitosana + extrato de casca de banana do 3º dia de decocção	1g de quitosana em pó dissolvido em 100 mL de solução extraída da casca de banana verde, por decocção do terceiro dia.
<b>M4</b>	Quitosana + 0,1 ml óleo de andiroba	Mesma descrição de M0 e adicionado 0,1ml de óleo de andiroba.
<b>M5</b>	Quitosana + 0,5 ml óleo de andiroba	Mesma descrição de M0 e adicionado 0,5ml de óleo de andiroba.
<b>M6</b>	Quitosana + extrato do 1º dia + 0,1 ml óleo de andiroba	Mesma descrição de M1 e adicionado 0,1ml de óleo de andiroba.
<b>M7</b>	Quitosana + extrato do 1º dia + 0,5 ml óleo de andiroba	Mesma descrição de M1 e adicionado 0,5ml de óleo de andiroba.
<b>M8</b>	Quitosana + extrato do 2º dia + 0,1 ml óleo de andiroba	Mesma descrição de M2 e adicionado 0,1ml de óleo de andiroba.
<b>M9</b>	Quitosana + extrato do 2º dia + 0,5 ml óleo de andiroba	Mesma descrição de M2 e adicionado 0,5ml de óleo de andiroba.
<b>M10</b>	Quitosana + extrato do 3º dia + 0,1 ml óleo de andiroba	Mesma descrição de M3 e adicionado 0,1ml de óleo de andiroba.
<b>M11</b>	Quitosana + extrato do 3º dia + 0,5 ml óleo de andiroba	Mesma descrição de M3 e adicionado 0,5ml de óleo de andiroba.

### 3.3.3 Síntese de Emulsão do Óleo de Andiroba em Água O/A e Análise do Tamanho das partículas e o Índice de Polidispersidade (PDI)

As emulsões O/A preparadas foram compostas de água destilada, extratos de casca de banana e óleo de andiroba, sem sonicação e com sonicação, conforme descrição na Tabela 3.

Tabela 3 – Descrição da composição amostras das nanoemulsões testadas.

<b>Sigla</b>	<b>Composição da Nanoemulsão</b>	<b>Sonicado</b>
A	5 mL Óleo de andiroba + 5 mL polissorbato + 90 mL de água destilada	Não
B	5 mL Óleo de andiroba + 5 mL polissorbato + 90 mL de extrato 1ª decocção	Não
C	5 mL Óleo de andiroba + 5 mL polissorbato + 90 mL de extrato 2ª decocção	Não
D	5 mL Óleo de andiroba + 5 mL polissorbato + 90 mL de extrato 3ª decocção	Não
E	5 mL Óleo de andiroba + 5 mL polissorbato + 90 mL de água destilada	Sim
F	5 mL Óleo de andiroba + 5 mL polissorbato + 90 mL de extrato 1ª decocção	Sim
G	5 mL Óleo de andiroba + 5 mL polissorbato + 90 mL de extrato 2ª decocção	Sim
H	5 mL Óleo de andiroba + 5 mL polissorbato + 90 mL de extrato 3ª decocção	Sim

O tamanho médio das gotículas e a distribuição de tamanho da suspensão coloidal ou índice de polidispersividade das emulsões formuladas, foram determinados através da técnica de Espalhamento Dinâmico de Luz (*Dynamic Light Scattering – DLS*), através do analisador da marca NanoBrook Omni (*Brookhaven Instruments Corporation, New York, USA*) no Laboratório de Compostos Híbridos Interfaces e Colóides, do Departamento de Química Fundamental, da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Esta análise foi realizada no Laboratório de Compostos Híbridos Interfaces e Colóides, do Departamento de Química Fundamental, da Universidade Federal de Pernambuco.

### **3.3.4 Síntese da Nanoemulsão do Óleo de Andiroba**

Neste estudo foram sintetizadas membranas com várias composições. A adição do óleo de andiroba se fez de duas formas diferentes, sendo uma delas por nanoemulsões preparadas com o óleo. Nesse caso, foram denominadas membranas de quitosana por nanoemulsão.

A síntese das nanoemulsões foi realizada a partir da adição de óleo de andiroba puro, estabilizante e emulsificante Polissorbato 80 (Tween), água destilada ou extrato da casca de banana verde (conforme composição de cada membrana por nanoemulsão).

A nanoemulsão utilizada para a síntese das membranas foi preparada com 90 mL de água destilada, 5 mL de Polissorbato e 5 mL de óleo de andiroba. Essa mistura foi submetida à emulsificação ultrassônica usando um sonicador de sonda Sonics Vibra-cell 20kHz com potência máxima de 750 W, adaptada conforme os estudos de Sugumar, Mukherjee e Chandrasekaran (2015).

As nanoemulsões foram preparadas no Laboratório de Física da Universidade Federal do Pará, campus Guamá.

### **3.3.5 Síntese das Membranas de Quitosana por Nanoemulsão**

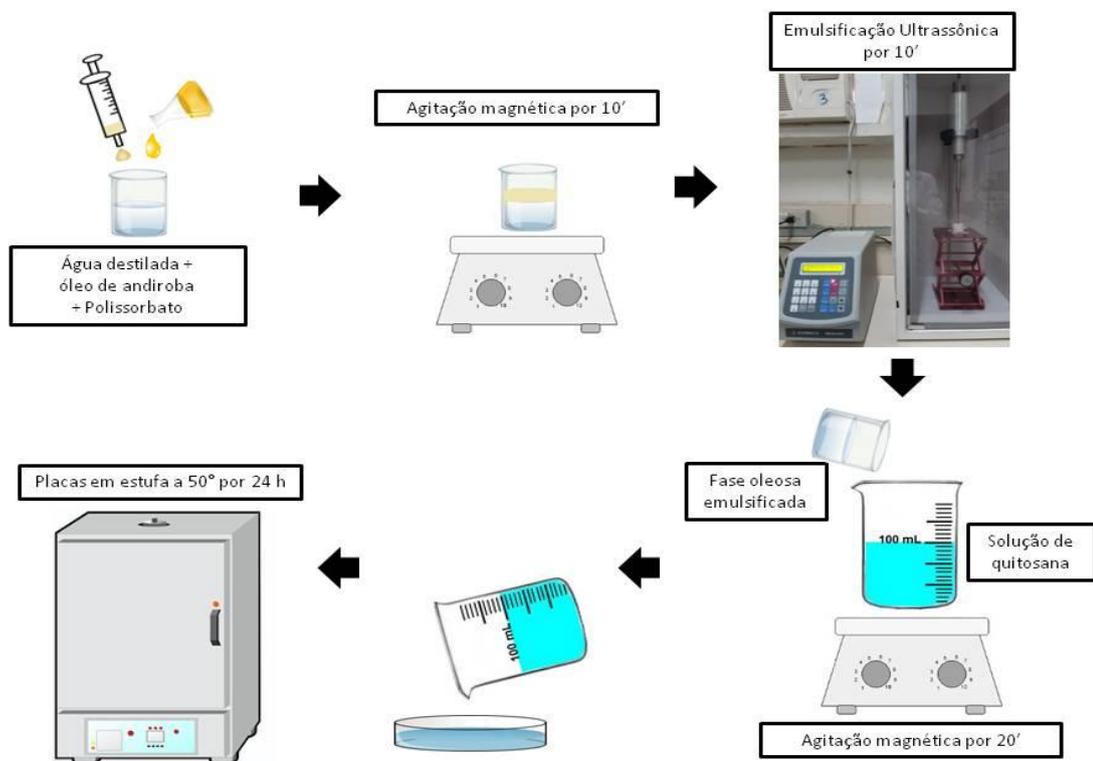
Após o preparo da solução de quitosana, com água destilada ou extrato da casca de banana, adicionou-se a nanoemulsão e manteve-se sob agitação magnética durante 20 minutos em temperatura ambiente.

A quantidade de nanoemulsão adicionada na solução de quitosana foi proporcional à concentração de óleo de andiroba proposta na composição de cada membrana, 0,1 mL (0,1% v/v) ou 0,5 mL (0,5% v/v).

Posteriormente as soluções foram vertidas em placas de petri de 8 cm (50 ml em cada) e colocadas em estufa a 40° C por 24 h para secagem, evaporação do solvente e formação da membrana. Após a secagem, as membranas foram neutralizadas utilizando uma solução de hidróxido de sódio a 5% (v/v), por 2 horas. Logo após a lavagem, as membranas foram dispostas em um recipiente de vidro, em estiramento, e secas por 24h em temperatura ambiente.

A metodologia utilizada na síntese das membranas por nanemulsão está descrita na figura 13.

Figura 13 – Metodologia de preparo de nanemulsão e membranas de quitosana por nanoemulsão sintetizadas.



Os componentes das membranas sintetizadas por nanoemulsão, bem como as denominações (siglas) atribuídas a cada uma delas, estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 – Descrição das siglas e componentes de cada membrana de quitosana por nanoemulsão sintetizada.

<b>Sigla</b>	<b>Componentes</b>	<b>Descrição</b>
<b>Nano M4</b>	Quitosana + 0,1 ml óleo de andiroba + 0,1 ml Polissorbato 80 + Água destilada	1g de quitosana em pó dissolvido em 100 mL de água destilada. Adicionado 1,8 ml da nanoemulsão.
<b>Nano M5</b>	Quitosana + 0,5 ml óleo de andiroba + 0,5 ml Polissorbato 80 + Água destilada	1g de quitosana em pó dissolvido em 100 mL de água destilada. Adicionado 9 ml da nanoemulsão.
<b>Nano M6</b>	Quitosana + extrato do 1º dia + 0,1 ml óleo de andiroba + 0,1 ml Polissorbato 80	1g de quitosana em pó dissolvido em 100 mL de extrato do 1º dia. Adicionado 1,8 ml da nanoemulsão.
<b>Nano M7</b>	Quitosana + extrato do 1º dia + 0,5 ml óleo de andiroba + 0,5 ml Polissorbato 80	1g de quitosana em pó dissolvido em 100 mL de extrato do 1º dia. Adicionado 9 ml da emulsificação.
<b>Nano M8</b>	Quitosana + extrato do 2º dia + 0,1 ml óleo de andiroba + 0,1 ml Polissorbato 80	1g de quitosana em pó dissolvido em 100 mL de extrato do 2º dia. Adicionado 1,8 ml da nanoemulsão.
<b>Nano M9</b>	Quitosana + extrato do 2º dia + 0,5 ml óleo de andiroba + 0,5 ml Polissorbato 80	1g de quitosana em pó dissolvido em 100 mL de extrato do 2º dia. Adicionado 9 ml da nanoemulsão.
<b>Nano M10</b>	Quitosana + extrato do 3º dia + 0,1 ml óleo de andiroba + 0,1 ml Polissorbato 80	1g de quitosana em pó dissolvido em 100 mL de extrato do 3º dia. Adicionado 1,8 ml da nanoemulsão.
<b>Nano M11</b>	Quitosana + extrato do 3º dia + 0,5 ml óleo de andiroba + 0,5 ml Polissorbato 80	1g de quitosana em pó dissolvido em 100 mL de extrato do 3º dia. Adicionado 9 ml da nanoemulsão.

### 3.4 CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE QUITOSANA SINTETIZADAS POR EMULSÃO E POR NANOEMULSÃO

#### 3.4.1 Análise Macroscópica

A análise macroscópica foi realizada através da observação visual e tátil das membranas, de modo subjetivo, quanto aos aspectos da cor, uniformidade (partículas dispersas homogeneamente pela membrana), transparência, presença ou ausência de bolhas e rachaduras, aspecto quebradiço, flexibilidade e desprendimento do suporte.

A fim de se obter um parâmetro para comparação entre as membranas, foi formulada uma tabela com pontuações de cada aspecto visualizado em escala de 0 a 3, onde zero (0) significa ausência e três (3) a pontuação máxima encontrada, conforme modelo na Tabela 5.

Tabela 5 – Modelo de Tabela para Comparação do aspecto macroscópico visual e tátil das membranas sintetizadas

Aspecto visual	Amostras (pontuação de 0 a 3)
Cor	
Uniformidade	
Transparência	
Bolhas/Rachaduras	
Aspecto quebradiço	
Flexibilidade	
Desprendimento do suporte	

### 3.4.2 Análise Morfológica

A análise morfológica foi realizada por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) utilizando um equipamento analítico de microscópio da marca Tescan-Vega 3 (Kohutovice, República Tcheca), equipado com fonte de elétrons de emissão de campo de 5 kV.

As imagens de superfície das membranas foram obtidas com diferentes ampliações, respectivamente 180x e 5,16 kx. Antes da observação, as amostras foram cortadas com nitrogênio líquido, montadas em um esfregaço de metal e revestidas com uma fina camada de ouro-paládio.

A análise morfológica foi realizada no Laboratório de Caracterização de Materiais do Instituto Federal do Pará (IFPA), campus Belém.

### 3.4.3 Intumescimento

O ensaio de intumescimento foi realizado em triplicata, onde foram cortadas amostras de membrana de 2,5 x 2,5 mm. Cada três amostras foram pesadas (amostra seca) e, em seguida, imersas em água ou em Solução Tampão Fosfato-Salino (PBS) com pH= 7.2.

Todas as amostras foram pesadas após 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 24 h, 7 dias (168 h) e 14 dias (336 h). Algumas amostras de membranas por nanoemulsão apresentaram desintegração durante a imersão nos líquidos, especialmente após a quinta hora de teste, nesse caso a pesagem foi realizada até 24 horas.

Para a realização da pesagem, as membranas foram retiradas das soluções, colocadas em papel absorvente para remover o excesso de líquido e, então, pesadas em balança analítica digital da marca Chyo, modelo JK 200.

Após cada pesagem, as membranas foram colocadas novamente em água e em PBS, até a próxima pesagem.

Ao término do experimento, os dados de pesagem foram comparados entre os diferentes períodos.

Para cálculo do percentual de intumescimento foi utilizada a equação que relaciona a massa da amostra seca e a massa da amostra inchada, calculado pela média de três repetições, conforme Equação (1).

$$\% I = \frac{MI (g) - MS (g)}{MS (g)} \times 100\% \quad (1)$$

Onde: I = intumescimento; MI = massa da amostra inchada; MS = massa da amostra seca.

Este teste foi realizado no Laboratório de Óleos da Amazônia, no Parque de Ciência e Tecnologia, na Universidade Federal do Pará, Campus Guamá e no Laboratório de Química da Universidade Federal do Pará (UFPA), campus Ananindeua.

#### 3.4.4 Umidade

O percentual de umidade das membranas foi determinado pelo método gravimétrico, por meio da pesagem da massa inicial e da massa final. As amostras foram submetidas à secagem em estufa a 105 °C, sendo avaliadas durante um período de até 24 horas (CAMPOS, 2007). Após esse período foi obtida a massa final, conforme a Equação 2.

$$\% U = \frac{Mi (g) - Mf (g)}{Mi (g)} \times 100\% \quad (2)$$

Onde: % U = percentual de umidade; Mi = massa inicial; Mf = massa final (g).

Este teste foi realizado no Laboratório de Óleos da Amazônia, no Parque de Ciência e Tecnologia, na Universidade Federal do Pará, Campus Guamá.

### 3.4.5 Ângulo de Contato

A hidrofiliçidade das membranas sintetizadas foi avaliada por meio da determinação do ângulo de contato, através do método da gota séssil, aplicando-se uma gota de água destilada (0,05 mL) sobre as amostras das membranas, com o auxílio de uma seringa.

As amostras foram fixadas em uma lâmina de vidro por meio de fita adesiva dupla face, posicionada à frente de uma câmera de um smartphone e a imagem da gota capturada.

As imagens capturadas foram transferidas para o *software ImageJ*, versão 1.51 n (*National Institute Health*, EUA) e o cálculo foi obtido através da mensuração do ângulo formado entre o contato da membrana e a gota de água.

Esta técnica foi realizada a temperatura ambiente e determinada pela média dos ângulos direito da gota no tempo de 30 segundos após a instilação do líquido. Os valores do ângulo de contato representam a média dos ângulos das três repetições.

As avaliações do ângulo de contato das gotas de água sobre as superfícies das membranas foram realizadas no Laboratório de Óleos da Amazônia, no Parque de Ciência e Tecnologia, na Universidade Federal do Pará, Campus Guamá.

### 3.4.6 Difração de Raios-X (DRX)

Para realização da Difração de Raios-X, uma amostra de cada membrana foi analisada no Difrátômetro de Raios-X (DXR) modelo Epyrean da PANalytical (Malvern, Reino Unido), usando tubos de raios-X cerâmico de anodo de Co ( $K\alpha_1 = 1,789010 \text{ \AA}$ ), foco fino longo, filtro  $K\beta$  de Fe, detector PIXCEL3D-Medpix3 1x1, no modo scanning, com voltagem de 40 kV, corrente de 35mA, tamanho do passo  $0,0263^\circ$  em  $2\theta$ , varredura de  $3,00^\circ$  a  $70,00^\circ$  em  $2\theta$ , tempo/passo de 59,92s, fenda divergente:  $1/8^\circ$  e anti-espalhamento:  $1/4^\circ$ , máscara: 10 mm.

A identificação das fases foi realizada usando o software X-Pert HighScore Plus, versão 5.1.

Este teste foi realizado no Laboratório de Caracterização Mineral, na Universidade Federal do Pará, Campus Guamá.

### 3.4.7 Análise Térmica – Calorimetria Exploratoria Diferencial (DSC)

Para avaliar a estabilidade das membranas frente às variações de temperatura, foi realizada a técnica de calorimetria exploratória diferencial (DSC), que mede o fluxo de calor entre a amostra e um material termicamente inerte quando submetidos a uma variação de temperatura, sendo assim possível identificar e analisar as modificações ocorridas no estado físico da amostra.

O equipamento utilizado foi um analisador termogravimétrico, modelo DSC-60 da Shimadzu (Kyoto, Japão). Cerca de 5 mg de cada amostra foi colocada em um recipiente de alumínio fechado (cadinho), com dois furos na tampa. Inicialmente houve um aquecimento de 25 °C a 250 °C, posteriormente isoterma de 250 °C por 5 minutos, resfriamento de 250 °C a 25 °C, isoterma de 25 °C por 5 minutos e aquecimento de 25 °C a 550 °C, com todas as variações de temperatura a uma taxa de 10 °C / min, sob o fluxo de nitrogênio a 50 mL / min.

Este teste foi realizado no Laboratório de Óleos da Amazônia, no Parque de Ciência e Tecnologia, na Universidade Federal do Pará, Campus Guamá.

### 3.4.8 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

As membranas foram analisadas por FTIR e, como pré-tratamento, as amostras foram secas a 60 °C por 24 horas.

Os espectros no infravermelho das amostras requeridas foram obtidos por reflectância total atenuada (ATR), utilizando-se um espectrômetro da marca Thermo, modelo Nicolet iS50 FT-IR, na região espectral de 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ , a 100 scans e resolução de 8  $\text{cm}^{-1}$ . A aquisição dos dados foi realizada através do *software* OMNIC.

Este teste foi realizado no Laboratório de Caracterização Mineral, na Universidade Federal do Pará, Campus Guamá.

## 3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores dos testes de intumescimento, umidade e ângulo de contato das membranas foram expressos como desvio padrão médio e avaliados por meio da análise de variância (ANOVA), e a significância foi verificada com o teste de Tukey, com nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 PREPARO DOS EXTRATOS DE CASCA DE BANANA VERDE

Para utilização na síntese das membranas, foram preparados extratos da casca de banana por decocção conforme descrito na metodologia, originando três extratos acastanhados, sendo o do primeiro dia mais turvo e escuro que os demais. O extrato do terceiro dia de decocção apresentou-se mais transparente, como demonstrado na Figura 14.

Figura 14 – Extratos da casca de banana verde preparados pelo método de decocção.



O escurecimento da solução pode ser atribuído à oxidação enzimática dos taninos presentes na casca da banana (FRANCO *et al.*, 2017). Com isso, observando-se macroscopicamente os extratos da casca da banana preparadas neste estudo, sugere-se que há maior quantidade de taninos na solução mais acastanhada.

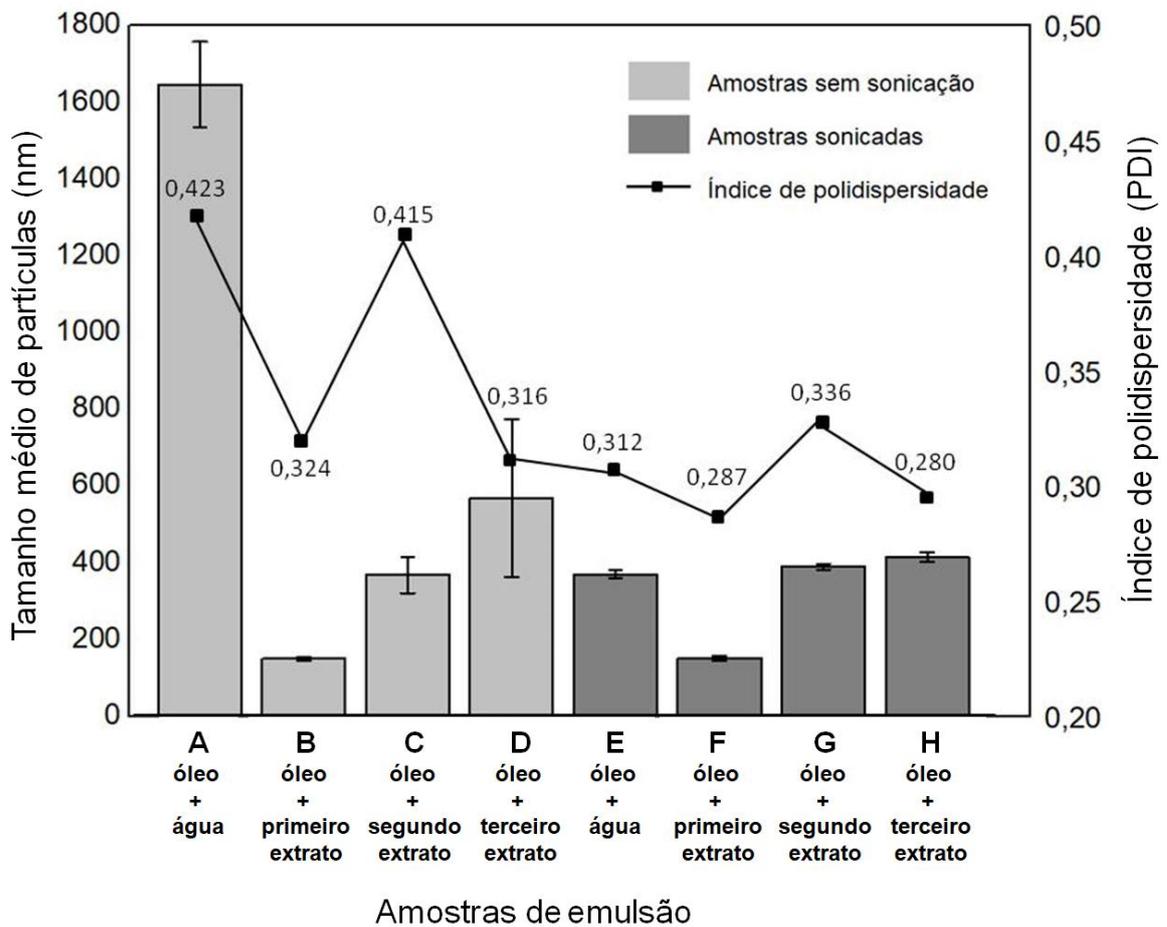
### 4.2 ESPALHAMENTO DINÂMICO DE LUZ (*DYNAMIC LIGHT SCATTERING* – DLS) DAS EMULSÕES O/A

As emulsões obtidas foram acondicionadas em frascos e isolados com tampa e permaneceram em repouso, em temperatura ambiente, por um período de 15 dias. As amostras sonicadas apresentaram-se opalescentes, com aspecto leitoso (esbranquiçadas) e sem separação de fase e precipitação, demonstrando boa interação tanto com a água destilada quanto com os extratos de casca de banana.

As emulsões O/A apresentaram tamanho médio de partículas entre  $1642,6 \pm 0,05$  nm e  $145,83 \pm 0,01$  nm. A Figura 15 aponta que as amostras preparadas com extrato do primeiro dia de decocção (B e F) foram as que apresentaram os menores valores de tamanho médio de partículas ( $145,83 \pm 0,01$  nm e  $148,41 \pm 0,005$  nm, respectivamente).

Os maiores valores de índice de polidispersão (PDI) encontrados foram das emulsões sem sonicação. A amostra preparada com óleo de andiroba e água destilada sem sonicação, denominada “A”, foi a que apresentou o maior valor de PDI ( $0,423 \pm 0,053$ ), e também a que demonstrou maior tamanho médio das partículas ( $1642,6 \pm 111$  nm). Em seguida, o maior PDI foi da amostra “C”, diluída em extrato de casca de banana do 2º dia de decocção ( $0,415 \pm 0,047$  nm), entretanto, esta não obteve um dos maiores valores de tamanho médio das partículas, como demonstrado na figura 15.

Figura 15 – Tamanho médio de partículas e índice de Polidispersidade das emulsões O/A analisadas.



Para Nayak *et al.* (2015) valores de PDI mais elevados indicam ampla distribuição do tamanho das gotículas no sistema, podendo resultar em agregação, caracterizando instabilidade. Com isso, pode-se sugerir que o processo de sonicação influenciou na dispersão das gotículas de óleo de andiroba nas amostras testadas no presente estudo.

Quanto menor o valor de PDI, preferencialmente  $\leq 0,2$ , maior o grau de homogeneidade da amostra e maior a distribuição de gotículas no sistema (NAYAK *et al.*, 2015; DA SILVA *et al.*, 2019).

Com isso, percebe-se que no presente estudo duas amostras de emulsão de O/A apresentaram-se mais homogêneas, sendo ambas sonicadas, preparadas com extrato de casca de banana do 1º e 3º dia de decocção.

Neste estudo a maior concentração do extrato de casca de banana verde, decocção do primeiro dia, proporcionou menores tamanhos de partículas, independente de sonicação. Sendo que, as partículas formadas pelas emulsões compostas por este extrato apresentaram tamanho satisfatório dentro da escala nanométrica.

Segundo Da Silva *et al.* (2019), a sonicação é um eficiente método de nanoemulsificação, possibilitando um menor tamanho de gotícula e menor índice de polidispersão quando comparado ao método convencional com agitação magnética. Esse fato pode ser observado no presente estudo ao que se refere às amostras preparadas com água destilada.

Conforme Alam *et al.* (2018), o diâmetro da gota de emulsão tende a diminuir significativamente com a diminuição na concentração de óleo na formulação e, o maior valor de índice de polidispersividade (PDI) é obtido em emulsão com maior percentual de óleo. Entretanto, como no presente estudo foram comparadas amostras de emulsão de O/A com a mesma concentração de óleo de andiroba, não foi possível avaliar se há proporcionalidade direta do diâmetro da gota com a concentração de óleo.

Entretanto, apesar de diminuir o PDI das amostras compostas por extrato da casca de banana, a sonicação não influenciou de forma significativa no tamanho das gotículas de nanoemulsões preparadas com os extratos das cascas de banana.

Sabendo-se que as nanoemulsões possuem como vantagem o tamanho de partícula em escala nanométrica, o que pode aumentar a ação contra micro-organismos nos filmes e também melhorar suas propriedades físicas e químicas (NUNES *et al.*, 2018), entende-se que as emulsões de óleo de andiroba preparadas com extrato da casca de banana do primeiro dia, são as de escolha e maior possibilidade de eficácia para a produção das membranas de quitosana.

Portanto, este teste aponta que as emulsões de O/A sem sonicação tiveram maior valor de PDI, indicando ampla distribuição do tamanho das gotículas no sistema, tendo um resultado proporcional direto do diâmetro da gota com a concentração de óleo na formulação.

### 4.3 ASPECTO MACROSCÓPICO

As membranas apresentaram aspectos diferenciados quanto à cor, uniformidade, transparência, presença de bolhas/rachaduras, aspecto quebradiço, flexibilidade e desprendimento do suporte, como descrito na Tabela 6.

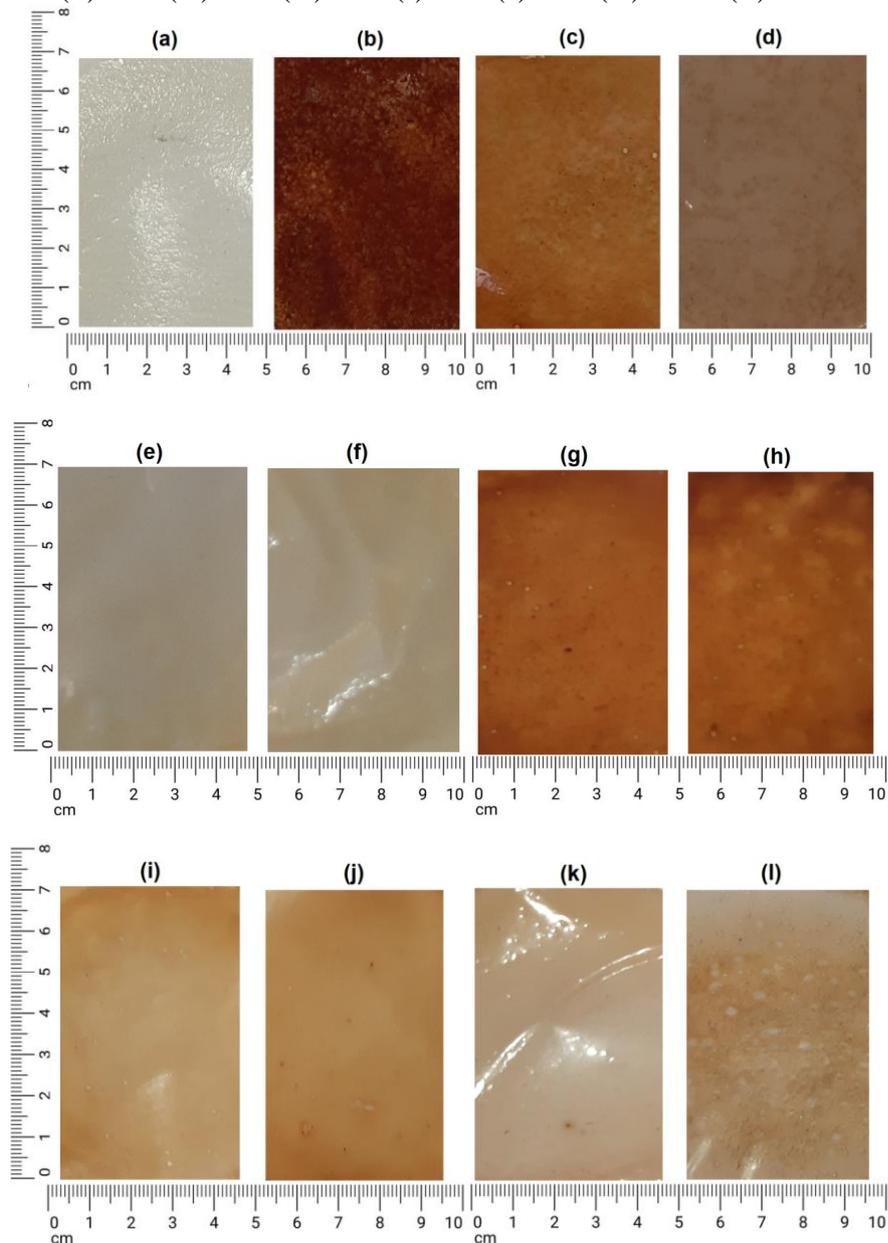
Tabela 6 – Comparação do aspecto macroscópio visual e tátil das membranas por emulsão sintetizadas.

<b>Aspecto visual</b>	<b>M0</b>	<b>M1</b>	<b>M2</b>	<b>M3</b>	<b>M4</b>	<b>M5</b>	<b>M6</b>	<b>M7</b>	<b>M8</b>	<b>M9</b>	<b>M10</b>	<b>M11</b>
Cor	0	3	2	1	0	0	2	2	1	1	1	1
Uniformidade	3	2	2	2	1	1	2	2	3	3	3	3
Transparência	3	0	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2
Bolhas/Rachaduras	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	2
Aspecto quebradiço	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Flexibilidade	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Desprendimento do suporte	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3

Legenda: 0–ausência; 1-pouco; 2- médio; 3- intenso.

Observou-se maior escurecimento e opacidade das membranas compostas por extrato da casca de banana verde do primeiro dia de decocção (M1) e maior translucidez das membranas sem adição de extrato da casca de banana e óleo de andiroba (M0). Em relação à coloração, não se observou diferença entre membranas com concentração de 0,1 mL ou 0,5 mL de óleo de andiroba, ou seja, entre M4 e M5, M6 e M7, M8 e M9 e entre M10 e M11. No entanto, ao comparar M0 com M4 e M5, observou-se influência da cor castanha do óleo, como aponta a Figura 16.

Figura 16 – Membranas de quitosana por emulsão: (A) M0. (B) M1. (C) M2. (D) M3. (E) M4. (F) M5. (G) M6. (H) M7. (I) M8. (J) M9. (K) M10. (L) M11.



No presente estudo observou-se que o aspecto macroscópico visual de cada membrana foi influenciado pelos componentes de sua síntese.

Resultado semelhante foi encontrado no estudo de Zhang, Li e Jiang (2019), onde se observou aumento gradual da cor amarela e opacidade do filme preparado com quitosana e extrato da casca da banana. As amostras com maior concentração do extrato exibiram cor amarela mais intensa. Os autores atribuíram isso à maior quantidade de luteína presente em cascas de banana madura, um carotenoide de tonalidade amarela presente em alguns vegetais.

Percebe-se que o extrato da casca da banana influencia mais na coloração acastanhada da membrana do que a adição do óleo de andiroba, independente da concentração.

Devido à oleosidade ao toque apresentado pelas membranas contendo óleo de andiroba, especialmente as sintetizadas com 0,5 mL do óleo, justifica-se a necessidade em realizar o preparo de nanoemulsão de membranas, para fins de realização de testes de caracterização e comparação quanto à sua absorção.

Em relação à análise macroscópica das membranas de quitosana por nanoemulsão, houve flexibilidade intermediária, influencia do extrato da casca de banana verde da primeira decocção na cor e uniformidade nas membranas compostas pelos mesmos componentes, independente da concentração. Foi atribuído o mesmo valor às membranas de quitosana por nanoemulsão ao aspecto quebradiço, flexibilidade e desprendimento do suporte, como observado na Tabela 7.

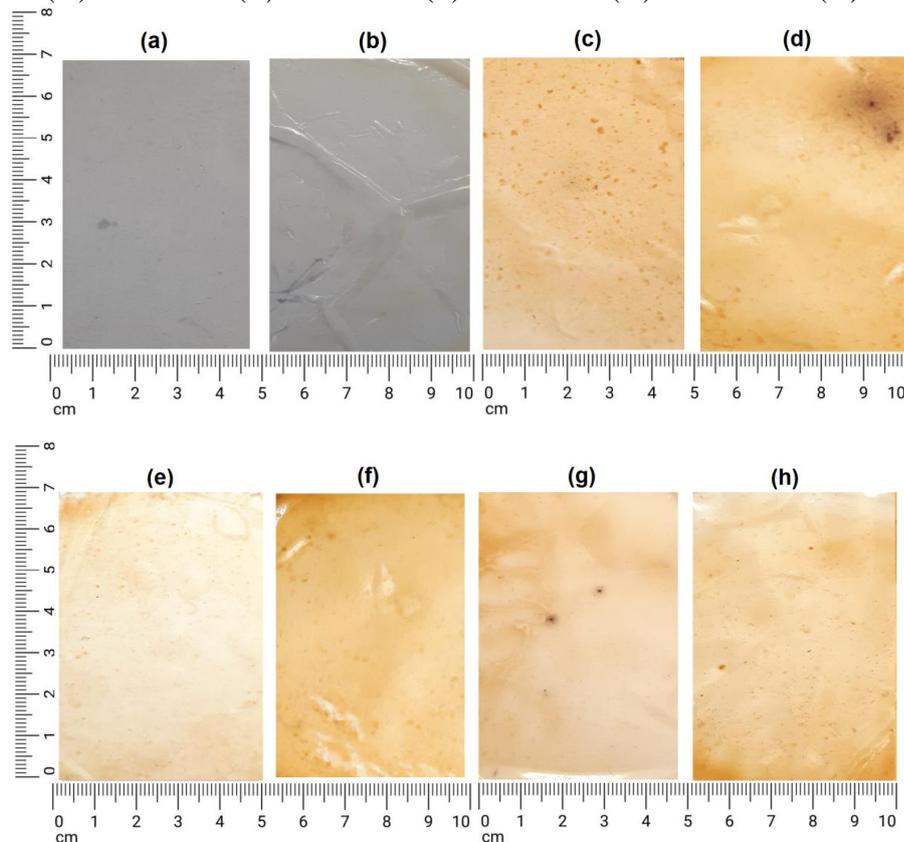
Tabela 7 – Comparação do aspecto macroscópico visual e tátil das membranas sintetizadas por nanoemulsão.

Aspecto visual	Nano M4	Nano M5	Nano M6	Nano M7	Nano M8	Nano M9	Nano M10	Nano M11
Cor	0	0	2	2	1	1	1	1
Uniformidade	3	3	1	1	2	2	2	2
Transparência	0	0	2	2	1	1	1	1
Bolhas/Rachaduras	1	1	1	2	1	1	1	1
Aspecto quebradiço	0	0	0	0	0	0	0	0
Flexibilidade	2	2	2	2	2	2	2	2
Desprendimento do suporte	3	3	3	3	3	3	3	3

Legenda: 0–ausência; 1-pouco; 2- médio; 3- intenso.

Não se observou diferença na coloração entre as membranas por nanoemulsão compostas por 0,1 mL ou 0,5 mL de óleo, a maior diferença está relacionada à concentração do extrato da casca de banana, conforme Figura 17.

Figura 17 – Membranas de quitosana por nanoemulsão: (A) Nano M4. (B) Nano M5. (C) Nano M6. (D) Nano M7. (E) Nano M8. (F) Nano M9. (G) Nano M10. (H) Nano M11.



As membranas por nanoemulsão apresentaram aspecto macroscópico diferenciado relacionado aos componentes da síntese.

A adição da nanoemulsão pode ter influenciado no escurecimento e opacidade das amostras, visto que esses aspectos se apresentaram menos intensos em comparação às membranas por emulsão.

Além disso, outro ponto que pode ter sofrido influência da nanoemulsão é a flexibilidade, pois estas se mostraram menos flexíveis.

Conforme Bajerski *et al.* (2016), as concentrações adequadas de óleo e espessantes em nanoemulsões proporcionam uma distribuição uniforme do aspecto sensorial do produto e o tornam agradável ao toque.

Entretanto, não foi observada uma diminuição da oleosidade ao toque entre elas, necessitando de testes microscópicos para avaliar a absorção do óleo de andiroba pelo biomaterial.

Contudo, percebe-se que os componentes e processo de síntese podem influenciar no aspecto macroscópico de membranas de quitosana. Sendo assim, espera-se adquirir características importantes e adequadas para obtenção de um produto eficaz e de fácil

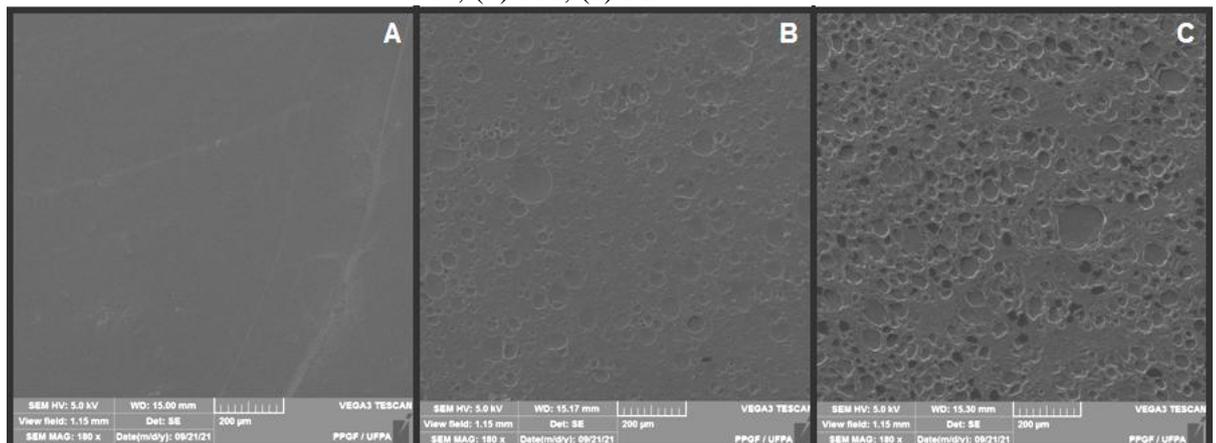
manipulação, acreditando-se que a cor, translucidez e maleabilidade têm grande influência em materiais a serem utilizados em lesões de pele.

Portanto, esta análise demonstrou que as membranas de quitosana por emulsão e membranas de quitosana por nanoemulsão apresentaram aspecto macroscópico diferenciado, demonstrando maleabilidade do material e influência maior do extrato e menor do óleo na coloração acastanhada do material sintetizado.

#### 4.4 ANÁLISE MORFOLÓGICA

As micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) para as amostras das membranas de quitosana por emulsão pura e com óleo de andiroba são observadas na Figura 18.

Figura 18 – Micrografias obtidas por MEV das membranas de quitosana por emulsão: (a) M0, (b) M4, (c) M5.



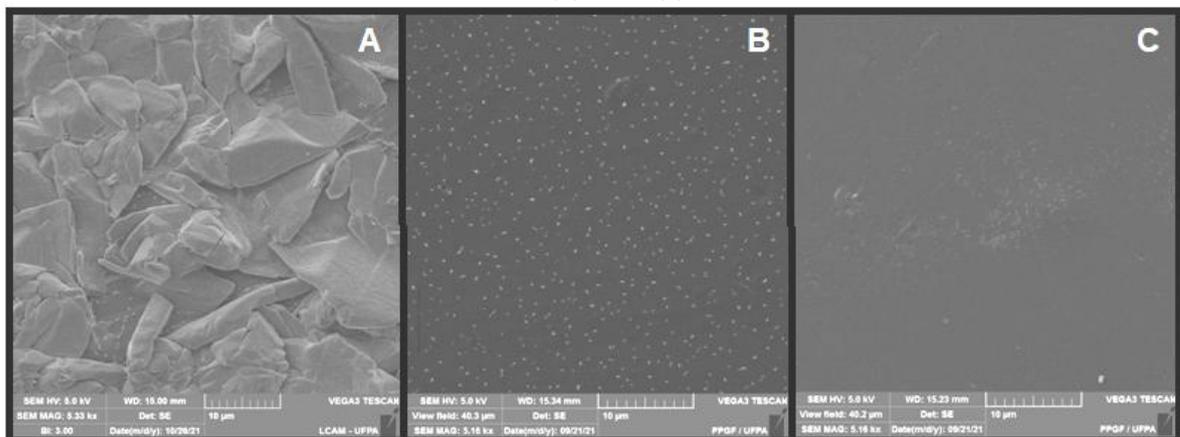
Comparando as micrografias, percebe-se que houve diferença entre as amostras, visto que a membrana M0 (Figura 18a) apresenta superfície lisa e homogênea o que indica a compatibilidade da quitosana em água destilada. Já as membranas com adição de óleo de andiroba, apresentam imagem irregular compatível com imiscibilidade entre a quitosana e o óleo, com estruturas arredondadas distribuídas em toda a membrana. Observa-se um aumento quantitativo dessas estruturas arredondadas maior na amostra de M5 (Figura 18c) com maior quantidade de óleo e menor nas membranas M4 (Figura 18b), com 0,5 mL e 0,1 mL de óleo respectivamente.

Esses resultados podem ser justificados pela incorporação de um material de caráter hidrofóbico em uma matriz hidrofílica.

Kimura *et al.* (2016) encontraram resultados semelhantes no MEV de membranas de quitosana contendo óleo de andiroba a 2% v/v e a 1% v/v, demonstrando estruturas com formato elipsoidal e descontínuadas, associadas à formação de duas fases (lipídeo e polímero) na matriz, com número de gotas de óleo aumentado à medida que a concentração de óleo aumentou.

As micrografias das amostras sintetizadas com extrato da primeira decocção por emulsão (Figura 19a) demonstram presença de estruturas irregulares agregadas e dispersas em toda a membrana. Entretanto, essas estruturas não são visualizadas na amostra composta por extrato da segunda decocção (Figura 19b), observando-se superfície com estruturas homogêneas menores distribuídas por toda a membrana. Já a micrografia da amostra preparada com extrato da terceira decocção por emulsão (Figura 19c) aponta superfície mais homogênea que as demais, porém com a presença de alguns precipitados.

Figura 19 – Micrografias obtidas por MEV das membranas de quitosana por emulsão: (a) M1, (b) M2, (c) M3.



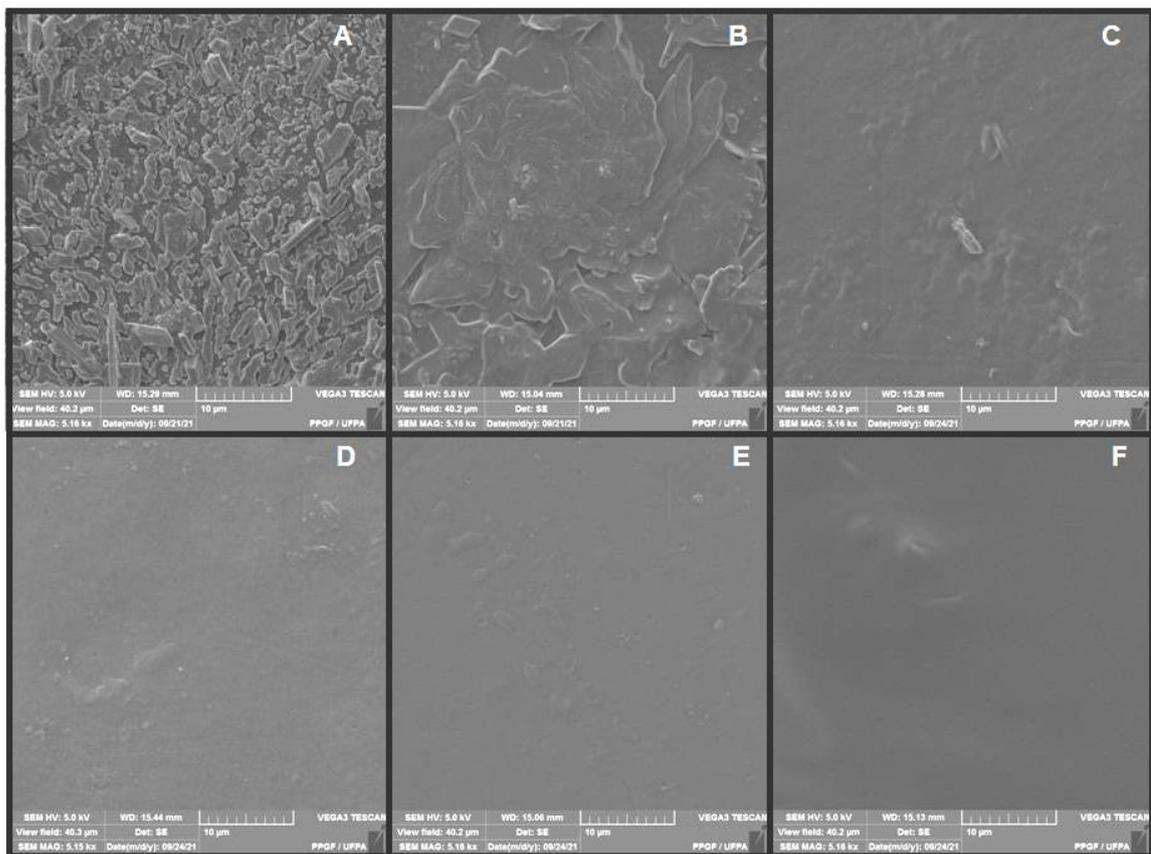
O estudo de Franco *et al.* (2017) encontrou resultados semelhantes, evidenciando membrana de quitosana densa, contínua e homogênea, enquanto que a de quitosana com extrato do 1º dia e 3º dia de decocção com descontinuidades e precipitados. Estes autores apontam que o resultado das micrografias pode ser atribuído à presença dos compostos extraídos da casca de banana que modificou estruturalmente a matriz de quitosana.

Da mesma forma, Kamel, Abd El-Messieh e Saleh (2017), em um estudo com membranas de quitosana e casca de banana em pó (0, 2, 5 e 10% em peso), obtiveram micrografias indicando enchimento uniformemente distribuído dentro da matriz de quitosana nas membranas com 2% do pó. Esses autores afirmam que ao aumentar a concentração do pó maior a irregularidade na distribuição e a formação de agregados.

Corroborando com o presente estudo, Zhang, Li e Jiang (2019), observaram, que as membranas produzidas com quitosana e extrato de casca de banana, exibiram uma estrutura altamente heterogênea e porosa, com uma série de pequenas manchas brancas e separação de fases. Além disso, os autores observaram que as membranas com menor concentração de extrato apresentaram-se mais densas e uniformes.

Houve pouca diferença entre as micrografias das amostras de membranas de quitosana por emulsão, compostas por diferentes concentrações de óleo de andiroba e mesmo extrato da casca de banana. Contudo, membranas sintetizadas com extrato de casca de banana do terceiro dia de decocção por emulsão apresentam superfícies mais lisas, com menos agregados, como demonstrado na Figura 20.

Figura 20 – Micrografias obtidas por MEV das membranas de quitosana por emulsão: (a) M6, (b) M7, (c) M8, (d) M9, (e) M10, (f) M11.

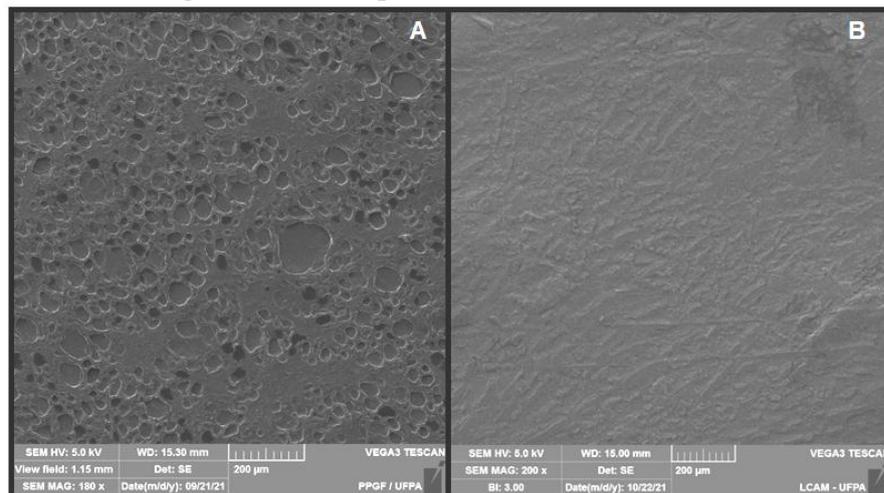


A concentração de compostos no extrato da casca da banana pode ter influência na heterogeneidade das superfícies das membranas. Contudo, o presente estudo pode sugerir que as membranas sintetizadas com extrato da terceira decocção, devido a menor que quantidade

de compostos extraídos, podendo inferir que esta seja a solução mais adequada na preparação de membranas de quitosana, extrato e óleo de andiroba.

As micrografias das membranas compostas de quitosana e 0,5% v/v óleo de andiroba por emulsão (Figura 21a) apresentam inúmeras estruturas arredondadas, de aspecto côncavo, dispersas na superfície, correspondente à divisão bifásica. Entretanto, a amostra composta pelos mesmos componentes e concentração, sintetizada por nanoemulsão (Figura 21b), apresenta aparência rugosa, sem gotículas visíveis.

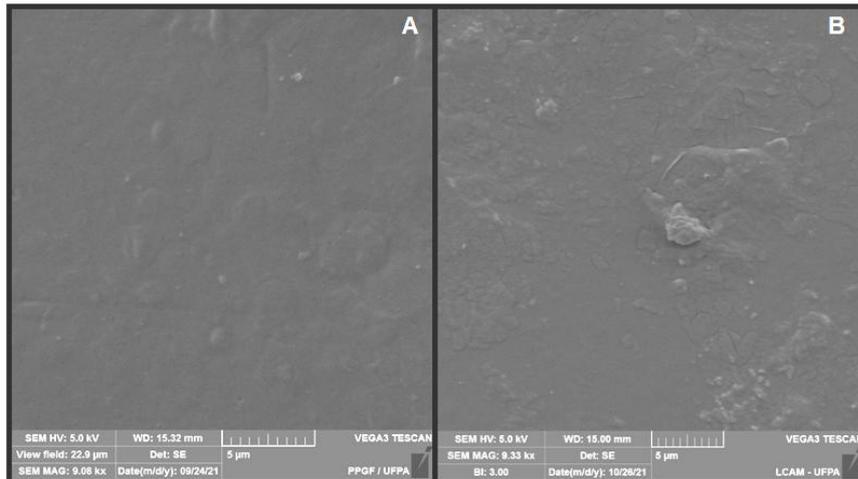
Figura 21 – Micrografias obtidas por MEV das membranas: (a) M5, (b) Nano M5.



Entende-se que o óleo de andiroba foi incorporado na matriz polimérica da membrana de quitosana por nanoemulsão, de modo que não foi possível a visualização das gotículas por meio do MEV. Para Nunes *et al.* (2018) tais modificações após a adição da nanoemulsão podem ter ocorrido devido às mudanças nos arranjos das moléculas durante a formação do filme.

Entretanto, em relação às membranas compostas de extrato de casca de banana, não houve diferença nas micrografias das amostras preparadas por emulsão e por nanoemulsão. A morfologia de M8 (Figura 22a) e nano M8 (Figura 22b), apresentaram-se de forma semelhante, sendo ambas de superfície aparentemente compactas, com poucas estruturas granulosas, aparência levemente rugosa, sem separação de fases visíveis.

Figura 22 – Micrografias obtidas por MEV das membranas: (a) M8, (b) Nano M8.



Entende-se que o extrato de casca de banana pode ter influenciado na aparência da superfície das membranas no que se refere à visualização de gotículas de óleo. De modo que, não se observa diferença entre micrografias de amostras sintetizadas por emulsão e por nanoemulsão, mesmo tendo elas mesma composição.

Portanto, sugere-se que o processo de síntese por nanoemulsão confere adequada compatibilidade e miscibilidade entre os componentes das membranas.

#### 4.5 INTUMESCIMENTO

As características de intumescimento das membranas de quitosana por emulsão e membranas de quitosana por nanoemulsão foram analisadas por parâmetros associados à quantidade de água/PBS absorvida pela matriz polimérica em função do tempo estipulado.

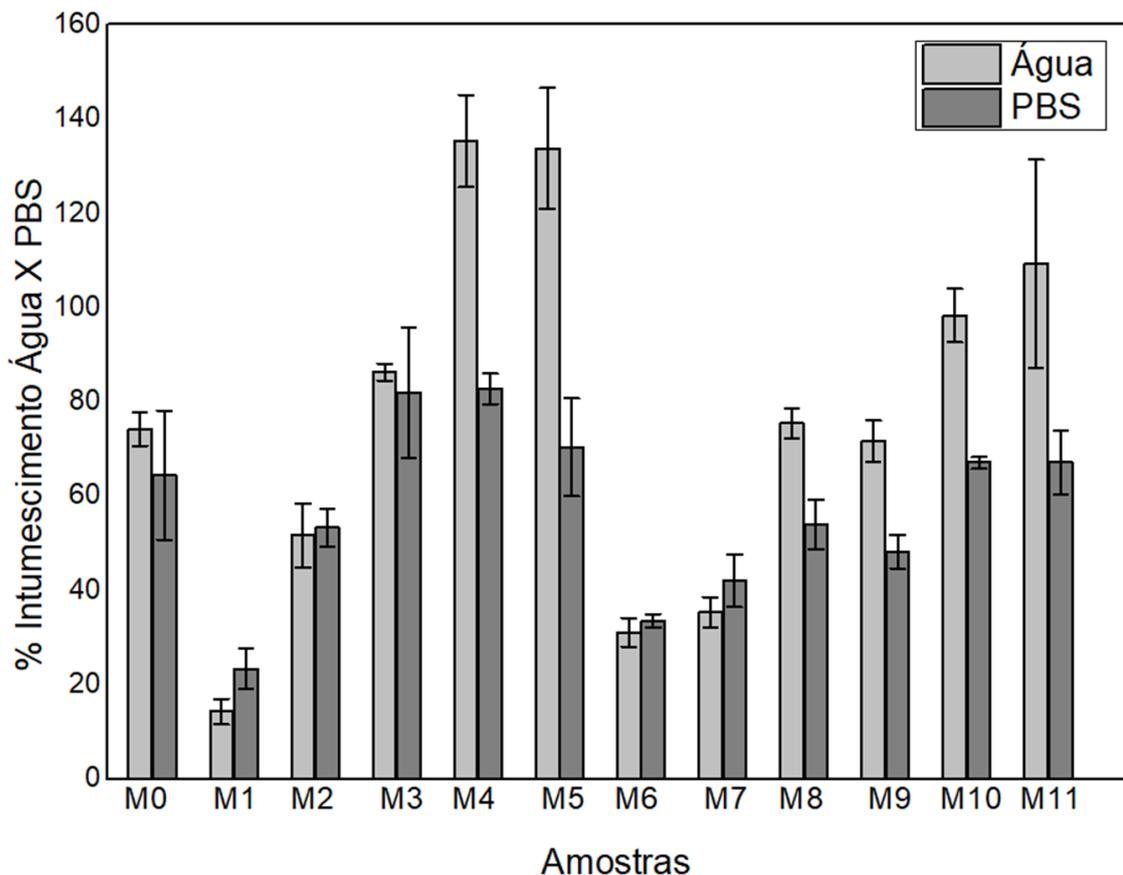
Os valores referentes às médias dos percentuais de intumescimento e seus respectivos desvio padrão estão dispostos em tabela, apresentada no Apêndice A. Algumas membranas após algum tempo imersas em água foram desintegradas, sem condições de pesagem, por isso, influenciando alguns valores de desvio padrão. Após 24h de imersão em água e PBS, as membranas de quitosana por emulsão que apresentaram o menor percentual de intumescimento, foram compostas por extrato da casca de banana verde do primeiro dia de decocção (M1, M6 e M7), sendo  $10,23 \pm 1,04$  % em água/  $23,39 \pm 4,33$  % em PBS;  $31,06 \pm 3,01$  % em água/  $33,61 \pm 1,41$  % em PBS; e  $35,33 \pm 3,24$  % em água/  $42,02 \pm 5,60$  % em PBS, respectivamente.

Em relação às membranas de quitosana por emulsão, observou-se na Figura 23 que houve diferença no percentual de intumescimento das amostras dependente da solução

utilizada na imersão. Na sua grande maioria, os valores foram maiores em água e menores em PBS, com exceção das membranas preparadas com extrato da casca de banana verde do primeiro dia de decocção (M1, M6 e M7) e M2, que tiveram maior intumescimento em PBS.

No geral, as membranas de quitosana por emulsão com maior percentual de intumescimento, após 24h de imersão, foram compostas por óleo de andiroba (M4 e M5), sem adição de extrato da casca de banana, sendo  $135,33 \pm 9,79$  % em água/  $82,79 \pm 3,24$  % em PBS e  $133,83 \pm 12,79$  % em água/  $70,34 \pm 10,39$  % em PBS, respectivamente, como demonstrado na Figura 23.

Figura 23 – Percentual de Intumescimento das membranas de quitosana por emulsão nas soluções utilizadas (água e PBS), após 24h de imersão.



A fim de avaliar e comparar se houve diferença estatística significativa no percentual de intumescimento entre as membranas de quitosana por emulsão, realizou-se a análise de variância (ANOVA) e método de Tukey, sendo que os dados gerados teste estatístico (fator único) estão descritos na Tabela 8.

Tabela 8 – Dados gerados pela ANOVA: único fator para teste de intumescimento das amostras de membranas de quitosana por emulsão.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre Grupos	68377,20	23	2972,92	46,40	2,48E-25	1,76
Dentro do Grupo	3075,63	48	64,07			
Total	71452,83	71				

\* SQ: soma dos quadrados; gl: grau de liberdade; MQ: quadrado médio.

No teste estatístico, o valor de F (46,40) foi superior ao valor de F crítico (1,76) e, ainda, MQ entre os grupos (2972,92) foi maior que MQ dentro do grupo (64,07), ao nível de significância  $\alpha=5\%$ . Esses resultados apontam pelo menos uma diferença significativa entre os grupos, podendo concluir que os percentuais de intumescimento diferem entre si.

Para comparar as médias uma a uma e identificar quais as diferenças entre os resultados, foi utilizado o teste de tukey. O valor de d.m.s. (diferença mínima significativa), encontrado através da Equação (3), foi de 25,23. O resultado do teste de Tukey, comparando às diferenças entre as amostras está descrito em tabela no Apêndice B.

$$d. m. s. = q. \sqrt{\frac{QMR}{n}} \quad (3)$$

Onde:

q = Amplitude total estudentizada (valor tabulado), ao qual é função do grau de liberdade (GLR) e amostras;

QMR = Quadrado médio do resíduo dentro do grupo;

n = Número de repetições de cada amostra dentro do grupo.

Com base nos resultados do teste de Tukey, e levando-se consideração as duas soluções utilizadas (água e PBS), verificou-se diferença estatisticamente significativa entre as três membranas de quitosana e extrato de casca de banana (M1, M2 e M3), além de diferença entre M1 as membranas de quitosana com adição de óleo de andiroba (M4 e M5). Estas, também, apresentaram diferença com as membranas com extrato do primeiro dia de decoção e óleo de andiroba (M6 e M7) e com extrato do terceiro dia de decoção e óleo de andiroba (M10 e M11).

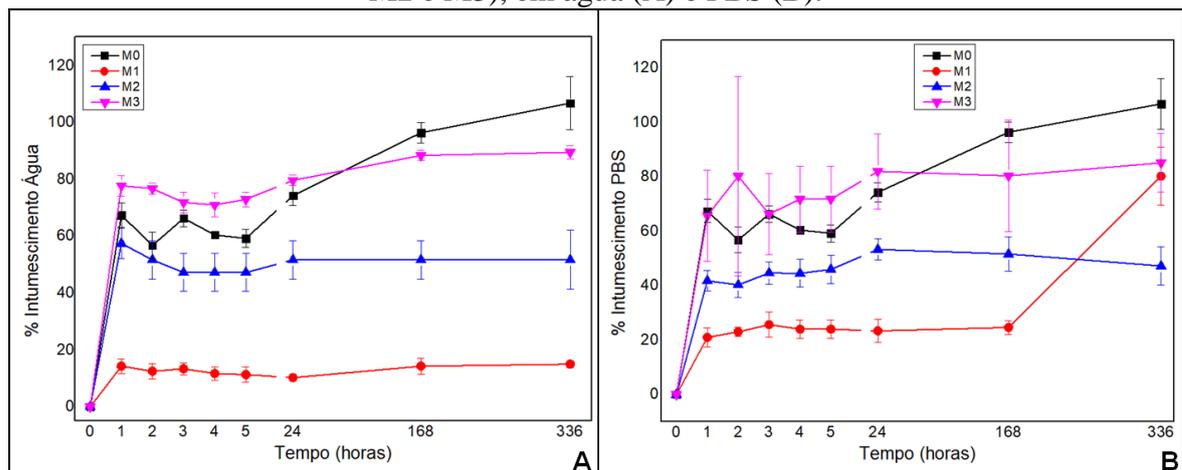
Conforme Garcia, Moura e Aouada (2019), o intumescimento de um dado polímero é dependente do grau de interação entre as moléculas de solução e do polímero.

De maneira geral, os valores do grau de intumescimento em solução salina são menores que em água destilada devido à presença dos cátions no PBS que interagem com os grupos aniônicos das cadeias poliméricas, diminuindo a probabilidade de que moléculas de água possam interagir com tais grupos. Tais interações também reduzem o processo de expansão das cadeias poliméricas, reduzindo a absorção de água, causando redução no percentual de intumescimento (GARCIA; MOURA; AOUADA, 2019).

Em relação ao intumescimento das membranas de quitosana por emulsão durante o período de imersão das amostras em água e PBS, a análise geral aponta que houve crescimento contínuo ao longo do tempo avaliado e até 24h, com estabilidade após esse período.

Observa-se que dentre as membranas de quitosana por emulsão com extrato de casca de banana, a composta por extrato da terceira decocção foi a única que apresentou percentual superior à M0, tanto em água quanto em PBS, até 24h de imersão. As demais se mantiveram com percentual abaixo de M0, em todo o período analisado. Depois da primeira hora, houve certa estabilidade no intumescimento, com pouco crescimento no percentual, como pode ser observado na Figura 24.

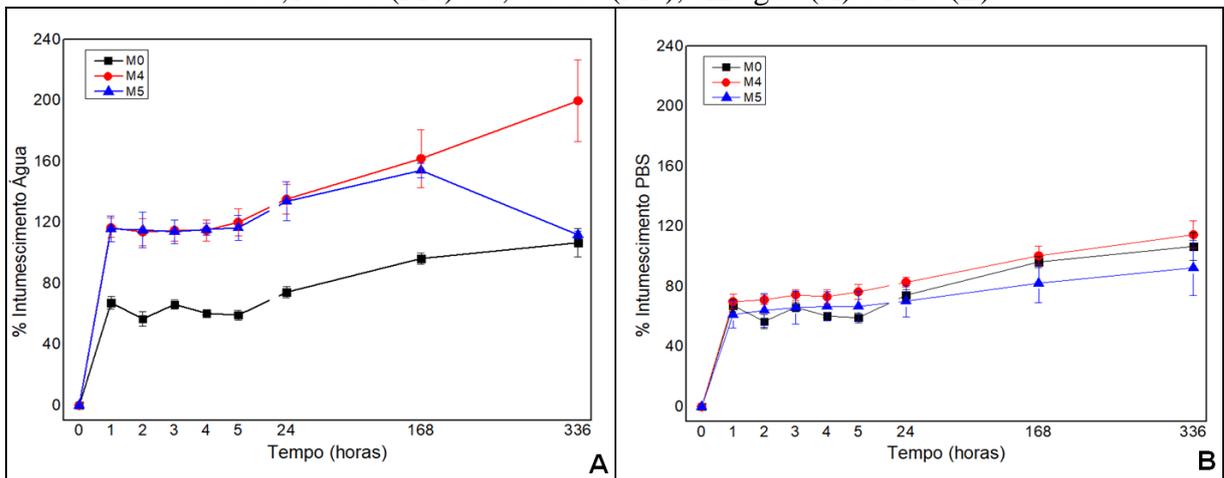
Figura 24 – Comparação do percentual de intumescimento das membranas de quitosana por emulsão (M0) e membranas de quitosana por emulsão com extrato da casca da banana (M1, M2 e M3), em água (A) e PBS (B).



O intumescimento das membranas de quitosana por emulsão com adição de óleo de andiroba (M4 e M5) é maior que em M0. No entanto, essa diferença só é estatisticamente significativa quando imersas em água. Houve crescimento contínuo ao longo do tempo

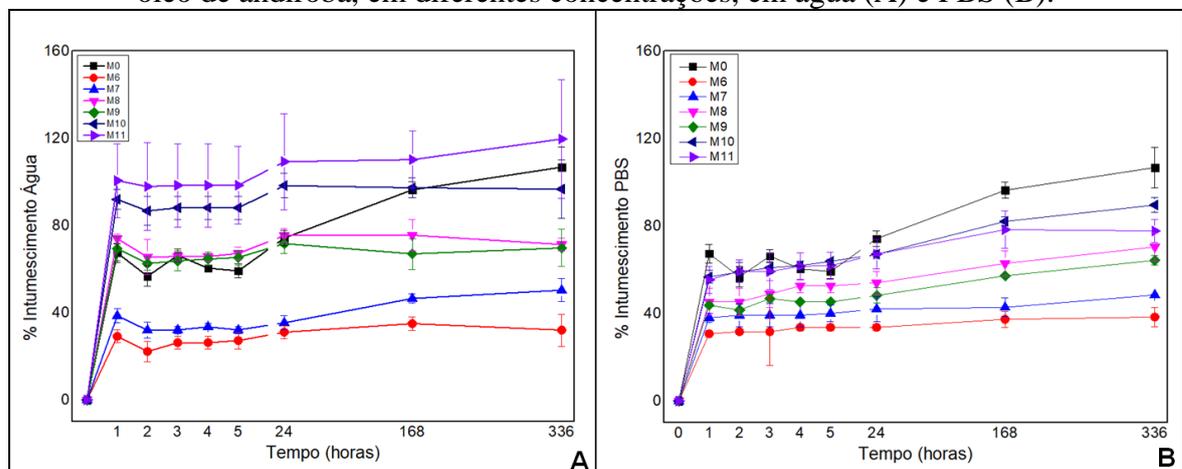
avaliado, havendo estabilidade após sete dias (168 horas), com exceção da membrana M5 em água, que após esse período demonstra queda no percentual de intumescimento, como apresentado na Figura 25.

Figura 25 – Comparação do percentual de intumescimento das membranas de quitosana por emulsão (M0) e membranas de quitosana por emulsão com óleo de andiroba na concentração de 0,1% v/v (M4) e 0,5% v/v (M5), em água (A) e PBS (B).



Os resultados de intumescimento demonstram que houve relação entre o percentual de intumescimento e a concentração de extrato da casca de banana, mesmo com a adição de óleo de andiroba. Não houve diferença entre amostras com concentrações diferentes de óleo. Como apresentado na Figura 26, não se observa diferença de intumescimento durante o período avaliado, visto que após uma hora, a maioria das amostras manteve estabilidade, havendo pequena variação de M0 após 24h de imersão em água (A) e PBS (B).

Figura 26 – Comparação do percentual de intumescimento das membranas de quitosana por emulsão (M0) e membranas de quitosana por emulsão contendo extrato da casca de banana e óleo de andiroba, em diferentes concentrações, em água (A) e PBS (B).



A capacidade de absorção apresentada pelas amostras no presente estudo pode estar relacionada à presença da quitosana como componente de todas as membranas sintetizadas. Conforme Kamel, Abd El-Messieh e Saleh (2017), o poder de captação de água está relacionado aos grupos hidrofílicos (grupo hidroxila e amino) do polissacarídeo. Leite, Wanderley e Salviano (2021) afirmam que na quitosana há predominância dos grupos amino caracterizados por ligações covalentes (N-H), onde a eletronegatividade das ligações gera sítios de alta polaridade, tornando assim favorável o rearranjo das moléculas de água ao redor de tais sítios, caracterizando o material com um alto grau de afinidade e retenção de água. Isso pode justificar, também, o intumescimento mais elevado no uso da água como fluido, em comparação com o PBS, apresentados no presente estudo.

A incorporação do óleo de andiroba na membrana de quitosana promoveu mudança na absorção dos fluídos neste teste, discordando com Matsumoto *et al.* (2019), que apontam que a presença de ácidos graxos na composição dos óleos confere natureza hidrofóbica e de pouca interação com a água.

Os menores percentuais de intumescimento apresentados pelas membranas por emulsão preparadas com extrato casca de banana no presente estudo, concordam com o estudo de Franco *et al.* (2017), que observou captação de água inversamente proporcional à concentração de extrato da casca de banana, com intumescimento menor das membranas compostas com extrato do primeiro dia. Esses autores sugeriram que os compostos ativos da casca de banana interagiram com a matriz polimérica reduzindo a absorção de água devido às interações quitosana e o grupamento hidroxila (-OH).

No estudo de Kamel, Abd El-Messieh e Saleh (2017), a adição do pó da casca da banana no material resultou em diminuição do percentual de intumescimento. Para esses autores, este comportamento pode ser atribuído a algum tipo de interação entre compostos carregados negativamente na casca da banana, tais como ácidos carboxílicos e grupos carregados positivamente na estrutura da quitosana, restringindo a mobilidade de cadeias da quitosana, diminuindo a absorção de água.

O intumescimento de um material é tomado como fator decisivo para uma eficaz difusão de nutrientes e células. Um material com elevado grau de intumescimento tende a favorecer positivamente o processo de cicatrização, uma vez que há uma maior absorção de exsudados na superfície da ferida (LEITE; WANDERLEY; SALVIANO, 2021). Baseado nisso, podem-se destacar que as membranas M4 e M5 podem ser mais eficazes no tratamento de lesões de pele.

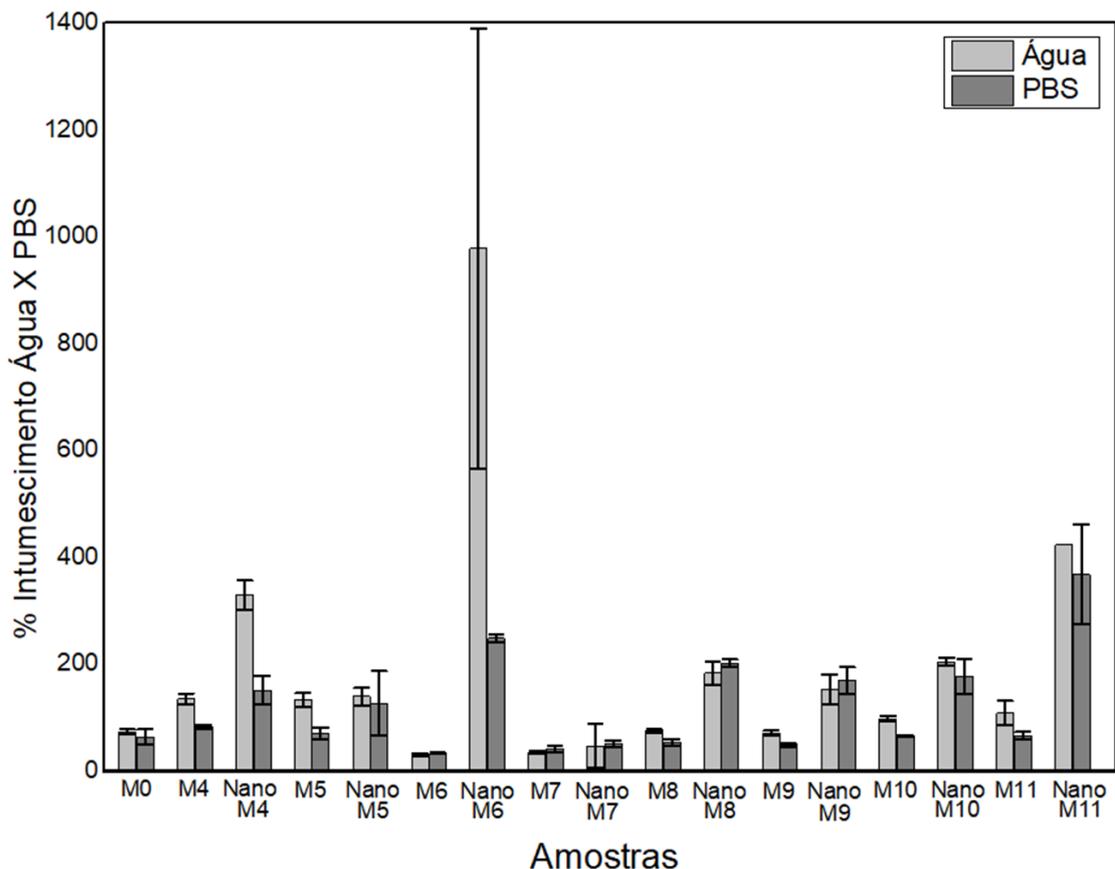
Quanto às membranas de quitosana por nanoemulsão, os resultados apontam que todas as amostras apresentaram intumescimento tanto em água quanto em PBS. Porém, a grande maioria das amostras apresentou valores médios de intumescimento maior em água que em PBS. Os valores das médias dos percentuais de intumescimento e seu respectivo desvio padrão estão dispostos em tabela, apresentada no Apêndice C.

Algumas amostras de membranas de quitosana por nanoemulsão, apresentaram intumescimento muito elevado e conseqüente desmanche, que impossibilitou a continuidade do teste. Com isso, houve influencia nos valores de desvio padrão.

O maior percentual de intumescimento entre as membranas de quitosana por nanoemulsão, em 24h de imersão em água foi observado em M6 ( $978,79 \pm 412,52$  %), seguido de M11 ( $423,64 \pm 0,0$  %) e M4 ( $324,71 \pm 28,06$  %).

No geral, a maioria das membranas de quitosana por nanoemulsão apresentou percentual de intumescimento mais elevado que as membranas de quitosana por emulsão, ao comparar os resultados de imersão em 24h, tanto em água quanto em PBS, como demonstrado no gráfico disposto na Figura 27.

Figura 27 – Comparação do percentual de intumescimento das membranas de quitosana por emulsão e membranas por nanoemulsão, em água e PBS, após 24h de imersão.



A ANOVA (fator único) foi realizada para comparar o intumescimento das membranas de quitosana por nanoemulsão, em relação à diferença estatística significativa e os dados gerados estão descritos na tabela 9.

Tabela 9 – Dados gerados pela ANOVA: único fator para teste de intumescimento comparativo entre as amostras de membranas de quitosana por nanoemulsão.

<b>Fonte da variação</b>	<b>SQ</b>	<b>gl</b>	<b>MQ</b>	<b>F</b>	<b>valor-P</b>	<b>F crítico</b>
Entre Grupos	1674040	17	98472,91	15,54327	4E-11	1,95
Dentro do Grupo	209068,40	33	6335,41			
Total	1883108	50				

\* SQ: soma dos quadrados; gl: grau de liberdade; MQ: quadrado médio.

Como observado, há pelo menos uma diferença entre os grupos, visto que o F (15,54) foi superior ao F crítico (1,94) ao nível de significância  $\alpha=5\%$ . Além disso, MQ entre os grupos foi maior que MQ dentro do grupo.

Para tanto, utilizou-se o teste de Tukey para comparação das médias de cada amostra e identificação da diferença entre elas. O valor de d.m.s. encontrado foi de 245,40 e o resultado deste teste está descrito em Tabela, no Apêndice D.

O resultado do teste de Tukey aponta que o intumescimento em água de Nano M6 é diferente estatisticamente com todas as outras membranas de quitosana por nanoemulsão. A Nano M11 também apresentou diferença estatisticamente significativa com a maioria das amostras testadas imersas em água, com exceção de Nano M4, Nano M8 e Nano M10.

Para analisar se houve existência de diferença significativa do percentual de intumescimento entre as membranas de quitosana por emulsão e por nanoemulsão, de mesma composição e concentração, realizou-se um teste de Tukey comparativo com todas as mostras sintetizadas no presente estudo. Nesse caso, o valor de d.m.s. encontrado foi de 173,48. Com isso, pode-se observar uma diferença entre as membranas M6 e Nano M6, M11 e Nano M11, tanto em água quanto em PBS. Já as membranas M4 e Nano M4 apresentaram diferença apenas em PBS.

Os resultados do presente estudo concorda com Bajerski *et al.* (2016) quando afirmam que, quanto menor as gotículas de óleo presentes na nanoemulsão, maior seu potencial de absorção de líquidos. Com isso, e com base nos resultados do presente estudo, acredita-se que o mesmo vale para membranas compostas de óleo sintetizadas a partir de nanoemulsões.

Como houve um maior percentual de intumescimento de membranas de quitosana por nanoemulsão com extrato da casca de banana da primeira decocção e menor tamanho de gotículas em nanoemulsão sintetizada com esse mesmo extrato, pode-se inferir relação direta entre os resultados no teste de intumescimento e DLS, no presente estudo.

O inchamento é uma propriedade importante que está diretamente relacionada com a capacidade de absorção dos curativos. A importância deste parâmetro reside em sua capacidade de limitar a propagação de exsudatos nocivos liberados ao redor da ferida (ALMINDEREJ, 2019).

Portanto, todas as membranas de quitosana sintetizadas neste estudo apresentam-se como materiais potenciais para uso em lesões epiteliais, visto que demonstram capacidade de manter o local da cicatrização úmido e absorver o exsudato da ferida, pois intumesceram no teste de comportamento hídrico, feito em condições de pH semelhante ao sanguíneo (pH = 7,2).

Entende-se que as membranas com elevado percentual de intumescimento podem auxiliar o processo de cicatrização de lesões de pele pela alta hidrofiliçidade, podendo tornar-se géis em contato com fluidos biológicos, permitindo alta umidade na região da lesão.

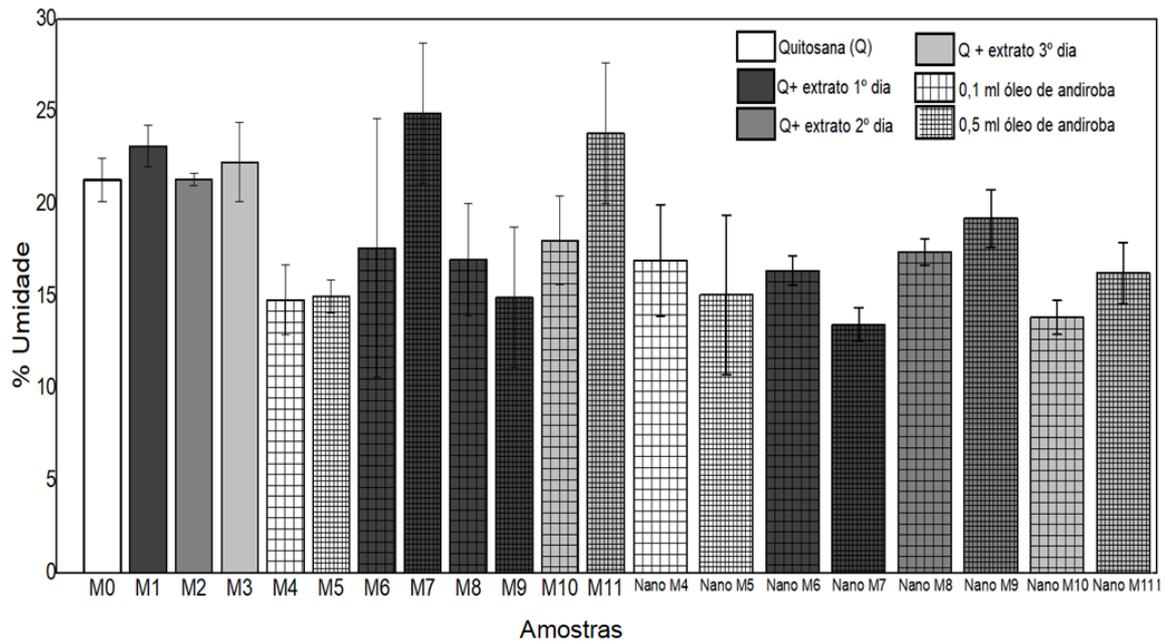
#### 4.6 UMIDADE

Os valores do percentual de umidade das membranas de quitosana por emulsão e por nanoemulsão, com base na média e desvio padrão, estão descritos em tabela apresentados no Apêndice E.

A Figura 28 mostra o gráfico comparativo entre o percentual de umidade das membranas de quitosana por emulsão e membranas de quitosana por nanoemulsão. Ao comparar com os valores de M0, a adição e concentração do extrato da casca de banana verde na síntese das membranas por emulsão não influenciou no percentual de umidade. No entanto, a adição do óleo de andiroba parece ter influenciado os resultados do teste, visto que houve uma diminuição no percentual de umidade de M4 e M5.

Na comparação entre membranas por emulsão com membranas por nanoemulsão, de mesmos componentes e concentrações, observou-se que não houve diferença entre o percentual de umidade, com exceção M7 e Nano M7, como observado na Figura 28.

Figura 28 – Comparação entre o percentual de umidade das membranas de quitosana por emulsão e membranas de quitosana por nanoemulsão.



A análise de variância (ANOVA) e método de Tukey foi realizada para comparar as membranas sintetizadas com o propósito de evidenciar diferenças significativas entre os valores médios de umidade. Os dados gerados pela ANOVA: único fator estão descritos na Tabela 10.

Tabela 10 – Dados gerados pela ANOVA: único fator para teste de umidade das amostras de membranas de quitosana por emulsão e por nanoemulsão.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre Grupos	698,35	19	36,75	4,74	1,7E-05	1,85
Dentro do Grupo	310,24	40	7,75			
Total	1008,59	59				

\* SQ: soma dos quadrados; gl: grau de liberdade; MQ: quadrado médio.

Como o F (4,74) foi superior ao F crítico (1,85) e MQ entre os grupos > MQ dentro do grupo, ao nível de significância  $\alpha=5\%$ , houve pelo menos uma diferença significativa entre os grupos, podendo concluir que os percentuais de umidade diferem entre si.

O teste de Tukey, Apêndice F, foi utilizado e obteve-se valor de d.m.s. igual a 8,62. A partir dessa análise, concluiu-se que houve diferença estatisticamente significativa entre M7 e

M4, M7 e M5, M7 e M9, M4 e M11, M5 e M11, M9 e M11. Entretanto, ao comparar membranas de quitosana por emulsão e por nanoemulsão, de mesmo componente e concentração, pode-se afirmar que houve diferença apenas entre M7 e Nano M7.

Esses resultados podem sugerir que o processo de nanoemulsão não possui tanta influência na síntese das membranas no que se refere à perda de umidade pelo material. No entanto, sugere-se que a adição de determinados componentes influencia nessa propriedade, como a adição do óleo de andiroba, visto que as amostras que apresentaram diferença são compostas por óleo sem extrato ou com extrato e óleo na maior concentração (0,5% v/v).

A manutenção de feridas em um ambiente úmido na superfície da lesão auxilia a migração das células da epiderme auxiliando no processo de cicatrização. Portanto, esse processo pode ser influenciado por mudanças no teor de umidade na lesão e ao seu redor, de modo que ferimentos ressecados podem atrasar ou prejudicar a cicatrização, enquanto que o excesso de fluido pode ocasionar maceração ou infecção (DEALEY, 2008).

Para tanto, entende-se que um biomaterial proposto para auxiliar na cicatrização de feridas deve ser capaz de absorver o exsudato excessivo de modo que esta se mantenha úmida suficiente para evitar o ressecamento da lesão.

Resultados similares foram encontrados por Franco *et al.* (2017), que não observaram diferença significativa no teor de umidade das membranas de quitosana e extratos de casca de banana, sugerindo que a presença de compostos extraídos não influenciou no conteúdo de água no biomaterial.

O estudo de Zhang, Li e Jiang (2019), apontou que o menor teor de umidade de membranas de quitosana com extrato de casca de banana está associado à presença de substância fenólica contida no extrato. Esses autores sugerem que os grupos hidroxila e carboxila do fenólico aumentam a capacidade de ligação à molécula de quitosana, reduzindo a ligação às moléculas de água.

Coincidindo com os resultados apontados no presente estudo, Kimura *et al.* (2016) afirmam que a concentração de óleo de andiroba em membranas de quitosana diminui a capacidade de perda de umidade do material devido à hidrofobicidade do óleo.

Apesar da pouca diferença entre o percentual de umidade das membranas de quitosana por emulsão em relação às membranas por nanemulsão encontradas no presente estudo, acredita-se que as nanoemulsões devem ser priorizadas na síntese de biomateriais para tratamento de lesões epiteliais, pois, segundo Bajerski *et al.* (2016) as nanoemulsões apresentam alta capacidade hidratante e são capazes de liberar mais água na pele.

#### 4.7 ÂNGULO DE CONTATO

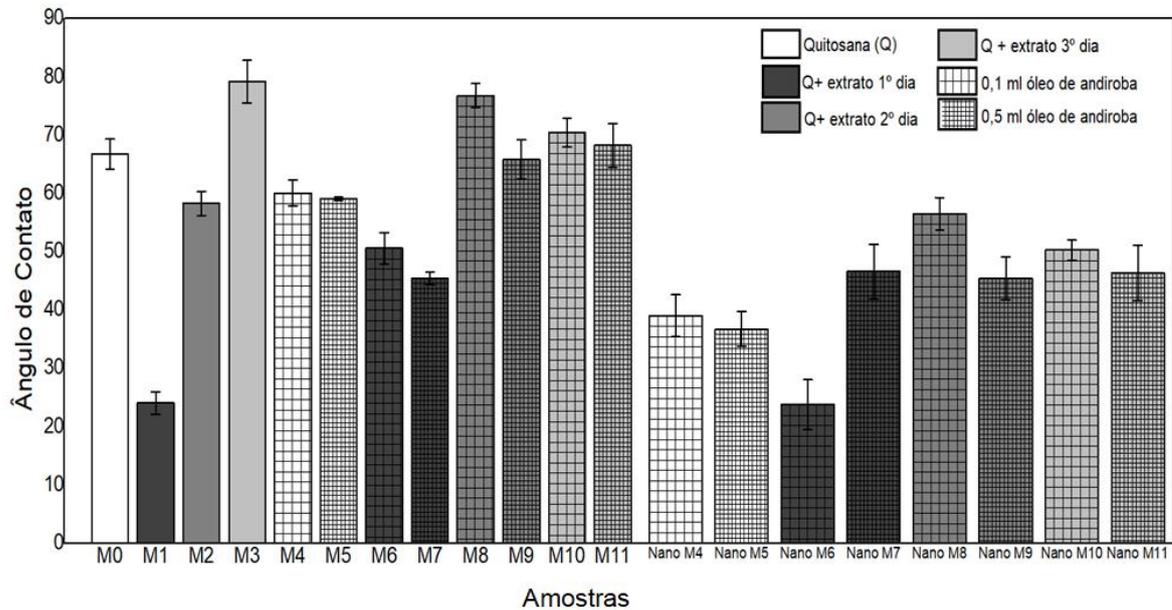
A partir do valor obtido para o ângulo de contato é possível definir qual o grau de molhabilidade de uma superfície. A molhabilidade é uma propriedade importante das superfícies e está relacionada com a tendência que um líquido tem de se espalhar ou não sobre uma determinada superfície. Quando este ângulo é inferior a  $90^\circ$  a superfície é definida como hidrofílica, pois o líquido a molha parcialmente. Quando superior a  $90^\circ$  obtém-se uma superfície hidrofóbica, onde o líquido não molha o sólido. Nos casos extremos, há as superfícies super-hidrofílicas (ângulo de contato inferior a  $10^\circ$ ) e superhidrofóbicas (ângulo de contato superior a  $150^\circ$ ) (YUAN; LEE, 2013).

Os valores médios e desvio padrão das medidas de ângulo de contato, para a análise do caráter hidrofílico e hidrofóbico, das membranas de quitosana por emulsão e membranas de quitosana por nanoemulsão com água destilada estão apresentados em Tabela disposta no Apêndice G. Todas as amostras testadas no presente estudo apresentaram valores de ângulos abaixo de  $90^\circ$ , demonstrando, portanto, caráter hidrofílico.

Os menores valores de ângulo de contato encontrados foram apresentados pelas membranas de quitosana com extrato da casca de banana do primeiro dia de decocção, tanto por emulsão (M1) quanto por nanoemulsão (Nano M6), com média de  $24,03^\circ \pm 1,95^\circ$  e  $23,73^\circ \pm 4,30^\circ$ , respectivamente, conforme descrito na Figura 29.

A Figura 29 aponta que a concentração do óleo de andiroba parece ter tido pouca influência no ângulo de contato apresentado pelas membranas de quitosana sem extrato de casca de banana, observado ao comparar M4 com M5 ( $60,03^\circ \pm 2,25^\circ$  e  $59,06^\circ \pm 0,32^\circ$ , respectivamente) e Nano M4 com Nano M5 ( $39,03^\circ \pm 3,55^\circ$  e  $36,73^\circ \pm 3,03^\circ$ , respectivamente). Entretanto, com a adição de extrato houve maior diferença entre as membranas compostas por quantidade diferente de óleo, como pode ser observado ao comparar M6 com M7 e Nano M6 com M7.

Figura 29 – Comparação do ângulo de contato das membranas de quitosana por emulsão e membranas de quitosana por nanoemulsão.



A diferença significativa na comparação entre a média dos ângulos de contato das membranas sintetizadas nesse estudo foi analisada através da ANOVA: único fator e teste de Tukey e os dados gerados estão dispostos na Tabela 11.

Tabela 11 – Dados gerados pela ANOVA: único fator para ângulo de contato das amostras de membranas de quitosana por emulsão e por nanoemulsão.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre Grupos	13874	19	730,21	78,17	1,1E-25	1,85
Dentro do Grupo	373,65	40	9,34			
Total	14247,60	59				

\* SQ: soma dos quadrados; gl: grau de liberdade; MQ: quadrado médio.

Houve diferença significativa entre os grupos, visto que o F (78,17) foi superior ao F (1,85) e MQ entre os grupos > MQ dentro do grupo, ao nível de significância  $\alpha=5\%$ . O teste de tukey foi utilizado para comparar as médias uma a uma e identificar quais as diferenças entre os resultados, com valor de d.m.s. encontrado de 9,46. O resultado deste teste encontra-se em Tabela no Apêndice H.

O teste de Tukey aponta que houve diferença significativa entre a maioria das amostras. No entanto, ao comparar as membranas de quitosana por emulsão com M0, não se

observa diferença com M2, M4, M5, M9, M10, M11. Além disso, observou-se diferença significativa entre M0 e as membranas por nanoemulsão.

Houve diferença entre todas as amostras de quitosana por emulsão e as de quitosana por nanoemulsão de mesma composição e concentração, exceto no caso de M7 e Nano M7.

Sugere-se que a adição de extrato do primeiro dia e terceiro dia influencia nos valores do ângulo de contato, bem como o processo de síntese por nanoemulsão do óleo de andiroba.

Esses resultados podem sugerir que o processo de nanoemulsão possui influência na síntese das membranas no que se refere ao caráter hidrofílico do material. Contudo, os componentes e suas concentrações também influenciam essa propriedade de modo importante.

Corroborando com o presente estudo, Franco *et al.* (2017) encontrou resultado semelhante, apontando que o ângulo de contato das membranas com extrato do primeiro e terceiro dia apresentaram caráter hidrofílico, porém com valor de ângulo menor da amostra preparada com o extrato do primeiro dia, sugerindo que a presença de alta concentração de compostos extraídos modificaram a rugosidade desta membrana. Além disso, valores menores de ângulo de contato, indicam que o extrato aumentou a hidroflicidade do sistema.

Com base nos resultados do presente estudo, sugere-se que a adição do extrato da casca de banana verde, independente se do primeiro, segundo ou terceiro dia de decocção, tem influencia maior no valor do ângulo de contato, que a introdução do óleo de andiroba isoladamente.

No entanto, alguns autores (LEITE; WANDERLEY; SALVIANO, 2021) afirmam que a adição de óleo às membranas de quitosana proporciona diminuição do ângulo de contato.

O estudo de Silva *et al.* (2021), analisou o ângulo de contato de membranas preparadas com um polímero sintético (Poli  $\epsilon$ -caprolactona – PCL) e óleo de andiroba, encontrando valores superiores ao presente estudo, demonstrando que a introdução do óleo na composição da membrana confere maior poder hidrofóbico ao material.

Sobre o uso de nanoemulsões na síntese das membranas, Bajerski *et al.* (2016) afirma que o pequeno tamanho das gotas das nanoemulsões garante maior molhabilidade e espalhabilidade, resultando em uma alta superfície de contato.

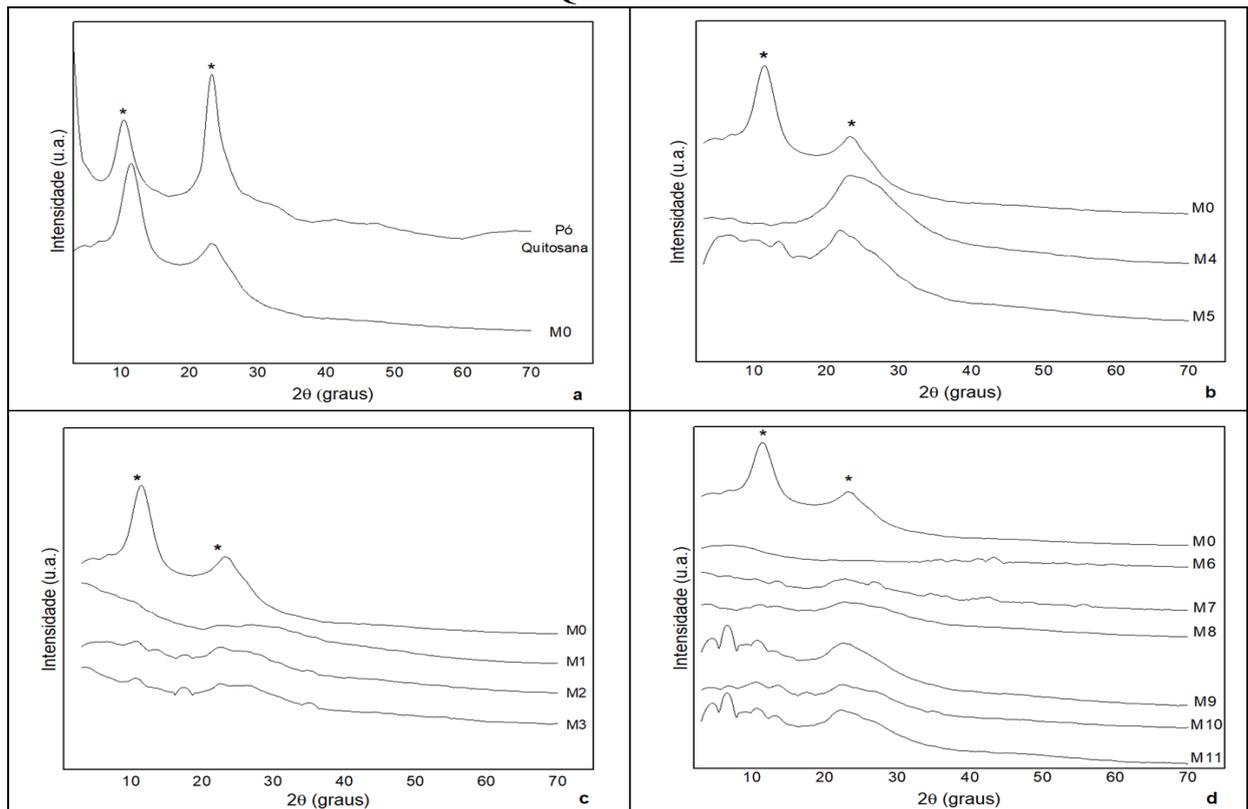
Portanto, os resultados deste teste sugerem que todas as membranas sintetizadas neste estudo demonstram características importantes para uso em lesões epiteliais, visto que seu caráter hidrofílico pode possibilitar a permeabilidade seletiva e a manutenção da umidade da ferida, contribuindo para o processo de regeneração das células, além de minimizar as dores devido ao ressecamento de terminações nervosas.

#### 4.8 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX)

Os difratogramas do pó de quitosana e membrana de quitosana por emulsão sintetizada são apresentados na Figura 30.

Figura 30 – Difratogramas de raios-X de 3 a 70° (2θ) de membranas de quitosana por emulsão: (a) Quitosana pó e M0; (b) M0, M4 e M5); (c) M0, M1, M2 e M3; (d) M0 e membranas de quitosana com extrato de casca de banana verde e óleo de andiroba.

\*Quitosana.



A Figura 30a evidencia um perfil de material semicristalino com dois picos de bases largas em  $2\theta$ , sendo  $10,94^\circ$  e  $23,70^\circ$  em M0 e  $10,55^\circ$  e  $23,37^\circ$  na amostra de quitosana pó.

Na Figura 30b observa-se que, ao incorporar óleo de andiroba na síntese das membranas de quitosana por emulsão, houve modificação dos difratogramas. Observa-se maior amorficidade de M4 e M5 em relação à M0, além de eliminação do primeiro pico e leve aumento da intensidade do segundo pico, independente da concentração de óleo inserida. Entretanto, há um pico discreto ( $2\theta$ :  $23,54^\circ$ ) em M5.

Já os difratogramas das membranas de quitosana por emulsão compostas por extrato de casca de banana verde mostraram proporcionalidade inversa entre a concentração do extrato e a cristalinidade do material. Diferente de M1, que apresentou difratograma sem

picos, foram visualizados dois picos discretos em M2 ( $2\theta$ :  $17,48^\circ$  e  $35,28^\circ$ ) e a intensificação destes em M3 ( $2\theta$ :  $17,45^\circ$  e  $35,23^\circ$ ), como observado na Figura 30c.

Houve o surgimento de novos picos discretos nos difratogramas de membranas de quitosana por emulsão sintetizadas com extrato de casca de banana e óleo de andiroba e eliminação dos picos característicos da quitosana, ao compará-los com M0. Observa-se picos mais intensos nos difratogramas das amostras compostas por extratos do segundo e terceiro dia com adição de 0,5 mL de óleo, M9 e M11 ( $2\theta$ :  $4,5^\circ$  e  $6,6^\circ$ ), respectivamente, como observado na Figura 30d.

De acordo com Dantas *et al.* (2016), a quitosana pode apresentar três morfismos diferentes: não-cristalina, cristalina hidratada e cristalina anidra. A forma hidratada de quitosana revela um pico agudo no ângulo  $2\theta = 10,4^\circ$  e um pico fraco em  $2\theta = 20-22^\circ$ . A forma anidro, é caracterizada por um pico principal agudo em  $2\theta = 15^\circ$  e um adicional no ângulo  $2\theta = 20^\circ$ , e a forma amorfa possui apenas um pico agudo em  $2\theta = 20^\circ$ .

A semelhança entre os difratogramas do pó de quitosana e a membrana de quitosana por emulsão sintetizada no presente estudo, coincidiu com o estudo de Oliveira, Fernandes e Carvalho (2021) que, ao analisar esferas produzidas com quitosana comercial pura, apresentou difratograma com dois picos, sendo um em torno de  $2\theta = 12^\circ$  e outro por volta de  $2\theta = 23,5^\circ$ , evidenciando a parte cristalina do material.

O perfil de material semicristalino apresentado nos resultados do presente estudo também corrobora com os estudos de Da Cruz *et al.* (2016).

De acordo com Oliveira, Fernandes e Carvalho (2021), o perfil apresentado pela quitosana é decorrente das fortes interações inter e intramoleculares, o que confere certa organização à estrutura, sendo tais interações provenientes da presença de pontes de hidrogênio formadas entre os grupos amina, amida, álcool e outros grupos funcionais presentes na molécula.

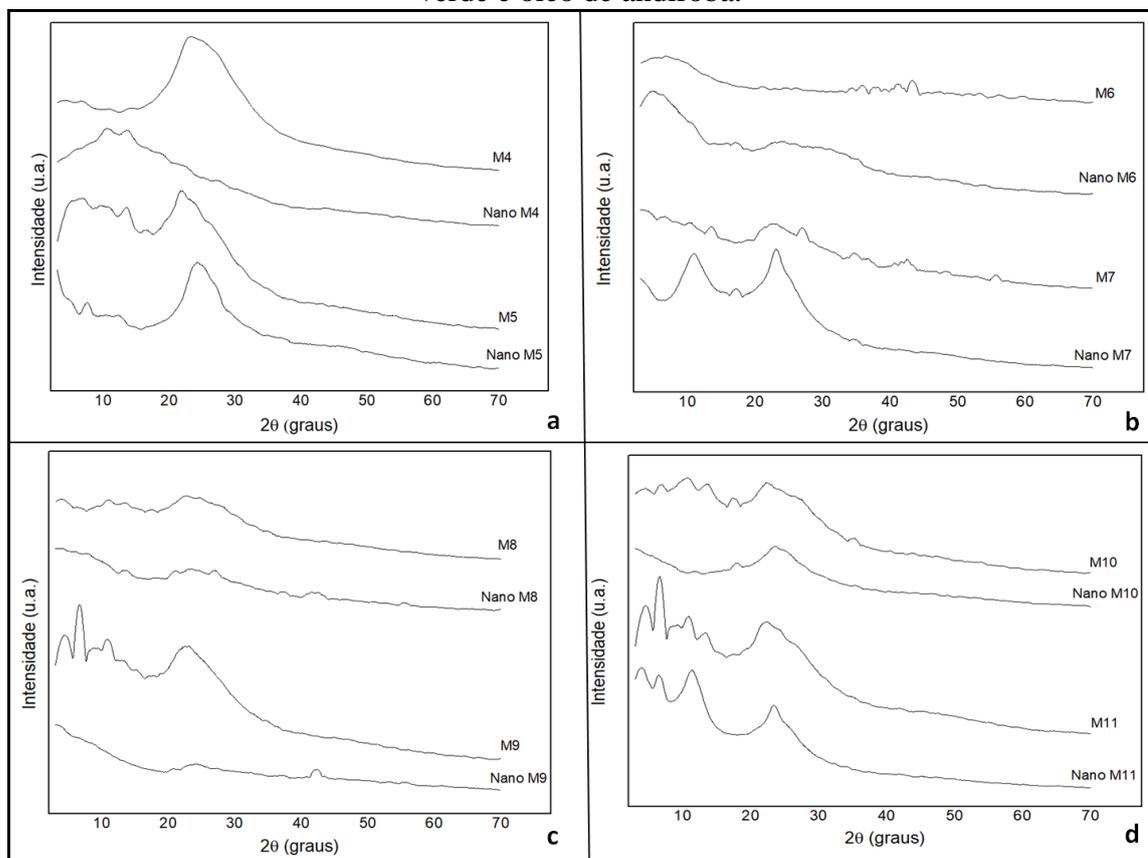
Em relação à adição do óleo de andiroba em membranas de quitosana e a maior amorficidade apresentada nos difratogramas do presente estudo, Nascimento Filho *et al.* (2019) afirma que esse comportamento é justificado pelo baixo grau de cristalinidade do óleo de andiroba, sendo predominantemente amorfo.

Sobre a adição da casca de banana em membranas de quitosana, Kadam e Lele (2018) apontam que a interação entre a molécula de quitosana e a casca de banana altera o arranjo original do polímero resultando na formação de um complexo amorfo, corroborando com o presente estudo.

Quanto ao surgimento de novos picos em difratogramas de membranas de quitosana por emulsão com extrato de casca de banana e óleo de andiroba apresentados no presente estudo, entende-se que a presença dos constituintes dos componentes vegetais, tanto nos extratos quanto no óleo, pode causar maior cristalinidade no material sintetizado.

No geral, a maioria das amostras de membranas por nanoemulsão apresentam diminuição no número de picos em relação às membranas por emulsão, demonstrando maior amorficidade, como apresentado na Figura 31.

Figura 31 – Comparação entre os difratogramas de raios-X de 3 a 70° ( $2\theta$ ) das membranas de quitosana por emulsão e por nanoemulsão contendo quitosana, extrato de casca de banana verde e óleo de andiroba.



Segundo Yin *et al.* (2005), a maior amorficidade apresentada em difratogramas de quitosana por nanoemulsão pode ser considerada um indicativo da parcial miscibilidade entre os componentes do material.

Os materiais predominantemente amorfos são os preferidos para uso biomédico por apresentarem maior bioatividade quando comparados aos materiais cristalinos (BARRIONI *et al.*, 2017).

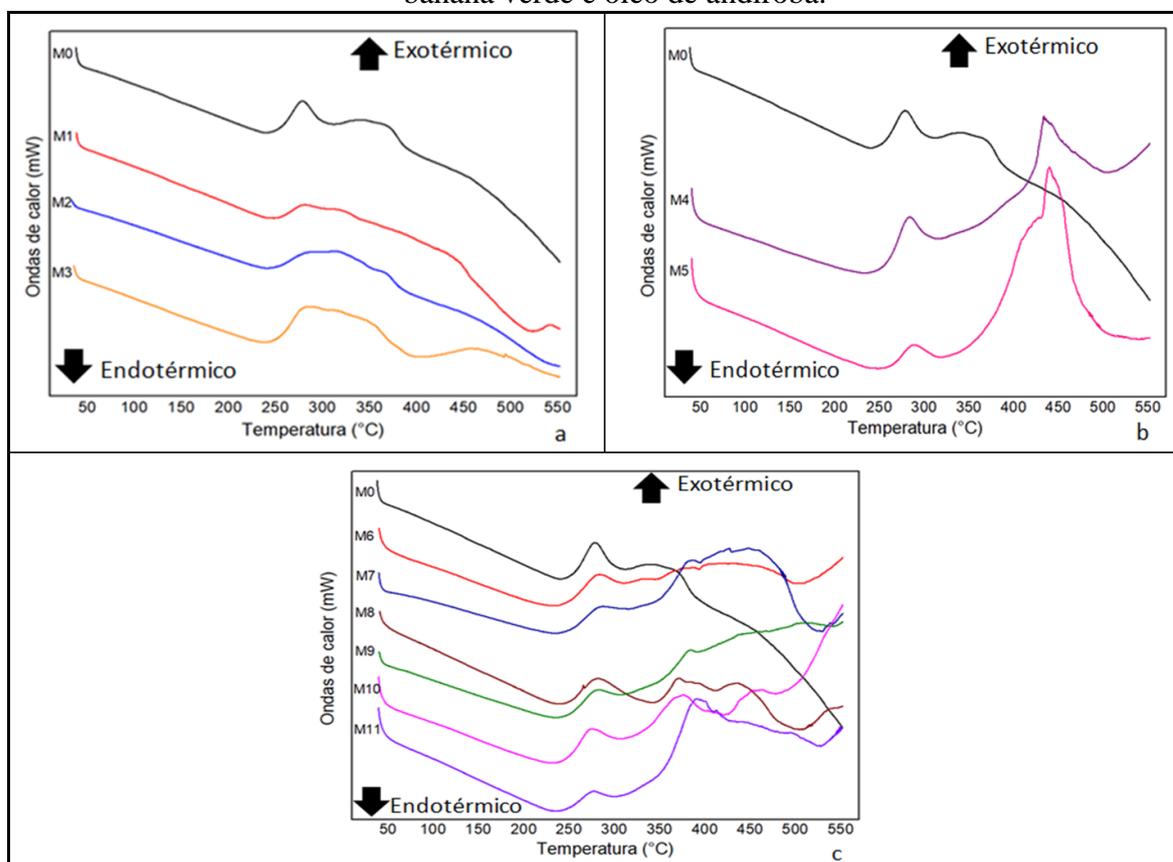
Segundo Pires, Bierhalz e Moraes (2015), o aumento da cristalinidade dos biomateriais modifica suas propriedades físicas e químicas, bem como tende a reduzir sua bioatividade e taxa de reabsorção.

Portanto, pelos resultados apresentados no presente estudo, as membranas de quitosana sintetizadas contendo extrato de casca de banana verde da primeira decocção, com ou sem adição de óleo de andiroba, sintetizadas por emulsão ou nanoemulsão, apresentam características benéficas para utilização como biomaterial, pois a diminuição da cristalinidade pode proporcionar um aumento da proliferação celular, sendo este um indício favorável de ação na reconstituição e cicatrização de tecidos.

#### 4.9 ANÁLISE TÉRMICA – DSC

Os termogramas obtidos por calorimetria exploratória diferencial (DSC) das membranas de quitosana por emulsão, sintetizadas sem e com extrato de casca de banana verde, incorporadas ou não com óleo de andiroba estão apresentados na Figura 32.

Figura 32 – Análise DSC (segundo calor) das membranas de quitosana por emulsão. (a) M0, M1, M2 e M3. (b) M0, M4 e M5. (c) M0 e membranas de quitosana, extrato de casca de banana verde e óleo de andiroba.



A partir das curvas DSC obtidas para as membranas, podem-se verificar eventos exotérmicos, associados à degradação das membranas, e eventos endotérmicos, correspondentes à evaporação e à temperatura de fusão das membranas.

O deslocamento do pico endotérmico em relação à curva DSC, apresentado pelas amostras compostas por extrato de casca de banana, pode ter ocorrido devido à presença dos compostos vegetais presentes na formulação das membranas, justificando, assim, a necessidade de temperatura maior para a evaporação dos componentes voláteis e para a fusão das membranas. Sendo que quanto mais concentrado o extrato maior a necessidade de temperaturas mais elevadas para degradação das membranas.

O segundo evento térmico, ao redor de 270° e 290° C, é atribuído à decomposição estrutural normalmente relacionada à degradação das unidades de glucosaminas na estrutura da quitosana. O desvio deste evento para temperaturas mais baixas confirma a redução da estabilidade estrutural (MARTINS; MORGADO; ASSIS, 2016), o que não observamos neste estudo.

O surgimento de um novo pico exotérmico entre 433° e 439 °C é observado ao incorporar óleo de andiroba na síntese das membranas, apontando a necessidade de temperaturas mais elevadas para degradação das membranas devido aos compostos do óleo.

No estudo de Kimura *et al.* (2016) os picos endotérmicos apresentados em membranas contendo óleo de andiroba, surgiram entre 180° e 360° C, e foram associados à decomposição dos triglicerídeos. Para esses autores, o aumento na concentração de óleo promove a diminuição da temperatura, esse fato pode ser explicado pelo caráter hidrofóbico do óleo e pela redução da entalpia relacionada a esta evaporação. Isso pode justificar a diferença entre os resultados no presente estudo, visto que houve uma adição diminuída de óleo na síntese das membranas.

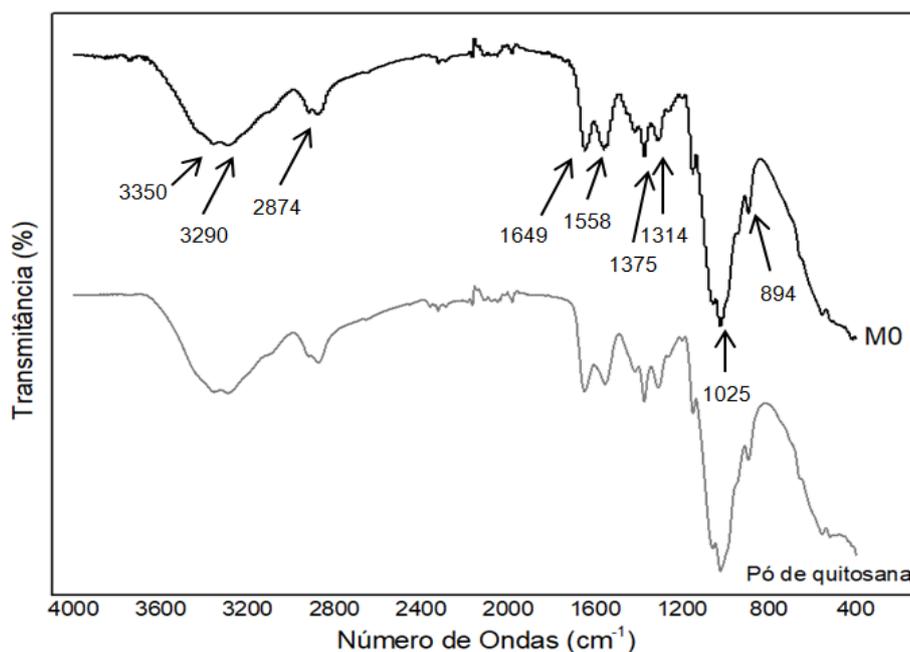
Com os resultados apresentados pelo presente estudo, sugere-se que a adição de constituintes vegetais, tanto de extrato da casca de banana quanto de óleo de andiroba, influenciou no surgimento de picos em graus diferenciados. Contudo, o óleo de andiroba parece ter maior influencia nos picos exotérmicos e o extrato nos picos endotérmicos, além de sugerir maior estabilidade térmica das membranas de quitosana sintetizadas com extrato de casca de banana e adição de óleo de andiroba.

#### 4.10 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A análise de espectroscopia de infravermelho foi realizada para identificar os grupos funcionais encontrados nas membranas de quitosana sintetizadas. Os espectros de absorção das amostras para verificação da estrutura química são registrados na região espectral 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ .

A Figura 33 demonstra que houve grandes semelhanças e sobreposição dos dados em perfis espectrais do pó de quitosana e da membrana de quitosana pura (M0), visto que não houve diferença na intensidade e nem surgimento de novas bandas. Observam-se estiramentos C–H (2874  $\text{cm}^{-1}$ ), N–H (1649 e 1558  $\text{cm}^{-1}$ ), além de bandas largas com estiramentos O–H (3290  $\text{cm}^{-1}$ ).

Figura 33 – Comparação entre espectros de FTIR – Pó de quitosana e Membrana de Quitosana por emulsão Pura (M0).



Para facilitar a identificação das bandas nos espectros, os intervalos e atribuição das bandas nas amostras de quitosana estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 – Relação entre bandas e grupos funcionais da quitosana.

<b>Bandas (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Grupos Associados</b>
3570-3200	O–H
3400-3380	OH ... OH
2900-2827	C–H
1650-1550	N–H
1465 e 1423	O–H e CH <sub>2</sub>
1406	–CH <sub>2</sub> (C=O)
1340-1260	C–N
1154-880	C–O–C C–O C–C

Fonte: Oliveira; Fernandes; Carvalho, 2021; Sobreira *et al.*, 2020.

Ao comparar os espectros do pó da quitosana com as membranas sintetizadas (M0), pode-se inferir que o processo de síntese das membranas não influenciou nos grupos funcionais característicos da quitosana.

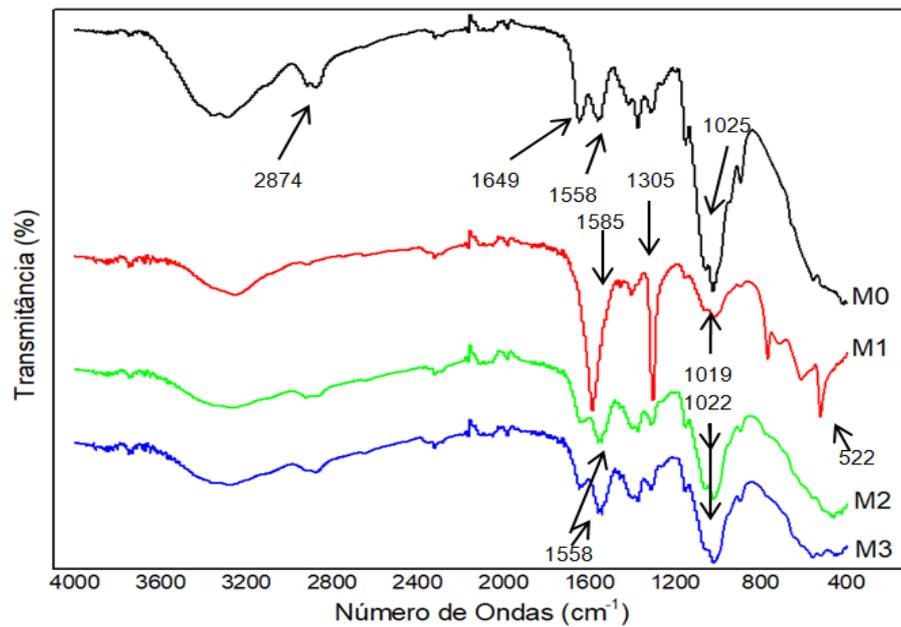
Os estiramentos apresentados pelo presente estudo são semelhantes aos apontados na literatura, além de outras regiões vibracionais características da quitosana (OLIVEIRA; FERNANDES; CARVALHO, 2021; SOBREIRA *et al.*, 2020).

Os espectros com bandas largas são característicos do grupo hidroximetil (CH<sub>2</sub>OH) observadas nas moléculas de quitosana (SOBREIRA *et al.*, 2020). Bandas intensas e largas de 3000 a 3500 cm<sup>-1</sup> são comuns em materiais orgânicos, devido a presença de H<sub>2</sub>O (LAIANE *et al.*, 2018).

Ao comparar M0 com as membranas compostas por extrato de casca de banana, observa-se semelhança entre os espectros de FTIR. Contudo, a adição desse composto vegetal influenciou no surgimento de novas bandas, bem como, intensificação ou amenização de algumas bandas. Essa diferença foi mais visível no espectro de M1, como demonstrado na Figura 34.

A Figura 34 mostra que a banda larga na região de 3500-3000 cm<sup>-1</sup>, atribuída ao grupo funcional O–H, presente no espectro M0, foi mantida nos espectros das amostras de membranas de quitosana com extrato de casca de banana, contudo em menor intensidade. Observa-se o desaparecimento da banda 2874 cm<sup>-1</sup> em M1 e seu ressurgimento em M2 e M3, sendo levemente mais intenso em M3. Evidenciado no espectro de M1 o pico 1585 cm<sup>-1</sup> com intensidade elevada, podendo ser a união dos picos 1558 e 1649 cm<sup>-1</sup> presentes em M0. Em M1, também ocorreu o surgimento de uma banda 1305 cm<sup>-1</sup>. A banda 1025 cm<sup>-1</sup> do espectro M0, se apresentou com menor intensidade e deslocada para 1019 cm<sup>-1</sup> em M1 e 1022 cm<sup>-1</sup> em M2 e M3.

Figura 34 – Comparação entre espectros de FTIR – M0, M1, M2 e M3.



Os grupos funcionais e bandas vibracionais características da casca de banana estão descritas na Tabela 13.

Tabela 13 – Relação entre bandas e grupos funcionais da Casca de Banana.

<b>Bandas (cm-1)</b>	<b>Grupo Funcional</b>
3439-3424	O–H
2926-2847	C–H
1741	C=O
1868-1025	C–O
1628	O–H
1635	C–C
879	N–H

Fonte: Boniolo, 2008; Kamel, Abd El-Messieh; Salehb, 2017.

O alongamento atribuído ao grupo funcional O–H, entre 3500 a 3000  $\text{cm}^{-1}$ , apontado no presente estudo, é característico de extratos polifenólicos (FRANCO *et al.*, 2017). No estudo de Kamel, Abd El-Messieh e Salehb (2017), a adição de pó de casca de banana na membrana de quitosana, ampliou e deslocou esta banda para valores maiores.

Para Zhang, Li e Jiang (2019), esta ampliação indica que a combinação de fenólicos da casca da banana com os grupos funcionais –OH ou –NH na quitosana resultam em um declínio no estiramento O–H e N–H livres.

Estudos anteriores também mostraram diferenças claras nos espectros de amostras de membranas de quitosana e pó de casca de banana verde quando comparados com o espectro

de quitosana pura (KAMEL; ABD EL-MESSIEH; SALEHB, 2017; ZHANG; LI; JIANG, 2019).

O pico característico da cadeia aromática atribuída à ligação C=C corresponde à presença de compostos fenóis/taninos e também foram encontradas nos estudos de Franco *et al.* (2017), Kamel, Abd El-Messieh e Salehb (2017) e Euridesa *et al.* (2018) e pode mostrar a forte interação entre os fenólicos da casca de banana e a molécula de quitosana (ZHANG, LI; JIANG, 2019).

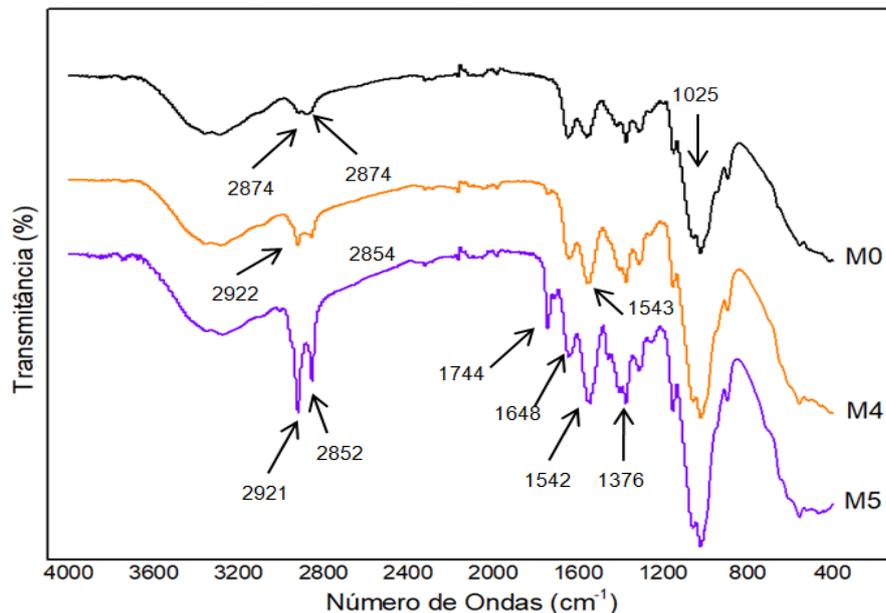
Para Euridesa *et al.* (2018), a presença de grupos C–N em aromáticos pode ser suspeitada devido a ocorrência de picos entre  $1400\text{ cm}^{-1}$  e  $1300\text{ cm}^{-1}$ .

Os deslocamentos de bandas, ao comparar M0 com as membranas com extrato de casca de banana, sugere a existência de interações físicas entre a quitosana e os constituintes do extrato.

Quanto às membranas de quitosana com adição de óleo de andiroba, os resultados apontam algumas diferenças entre os espectros M0, M4 e M5.

Como observado na Figura 35, o pico  $2874\text{ cm}^{-1}$  presente no espectro de M0 foi deslocado para  $2922\text{ cm}^{-1}$  em M4 e  $2921\text{ cm}^{-1}$  em M5. O espectro referente à amostra de M5 demonstra o surgimento de um pico  $1744\text{ cm}^{-1}$  e se refere ao grupo funcional C=O. Observam-se picos entre  $1314\text{ cm}^{-1}$  a  $1649\text{ cm}^{-1}$  em M0, que se apresentaram com pouca diferença de valores de número de onda em M4 e M5, tanto para mais quanto para menos, contudo, de maior intensidade em ambos os espectros, podendo sugerir a presença de interações químicas entre os materiais utilizados no estudo.

Figura 35 – Comparação entre espectros de FTIR – M0, M4 e M5.



A Tabela 14 descreve a relação entre bandas e grupos funcionais do óleo de andiroba.

Tabela 14 – Relação entre bandas e grupos funcionais do óleo de andiroba.

<b>Bandas (cm-1)</b>	<b>Grupos Associados</b>
721	CH
1200-1160	C – O
1377-1417	CH <sub>3</sub>
1465	=CH <sub>2</sub>
1712-1750	C=O
2900-2850	=C – H <sub>2</sub>
2924	C – H <sub>3</sub>
3005	H – C=

Fonte: Oliveira; Fernandes; Carvalho, 2021; Silva *et al.*, 2021; Nascimento Filho *et al.*, 2019.

Semelhante ao presente estudo, o estudo de Silva *et al.* (2021) encontrou diferenças na intensidade e posição de picos, de acordo com o aumento na quantidade de óleo de andiroba utilizado na síntese das membranas.

O deslocamento de picos atribuídos ao estiramento =C–H<sub>2</sub> para maior valor de número de ondas pode demonstrar a integração dos componentes das amostras. Conforme Nascimento Filho *et al.* (2019), picos entre 2852 a 3005 cm<sup>-1</sup> correspondem à deformação angular do plano assimétrico do =C–H<sub>2</sub> e são característicos de triglicerídeos, o que pode justificar maior intensidade desses em membranas com percentual maior de óleo de andiroba. Esse resultado foi semelhante ao estudo de De Santana *et al.* (2017) e Oliveira (2019).

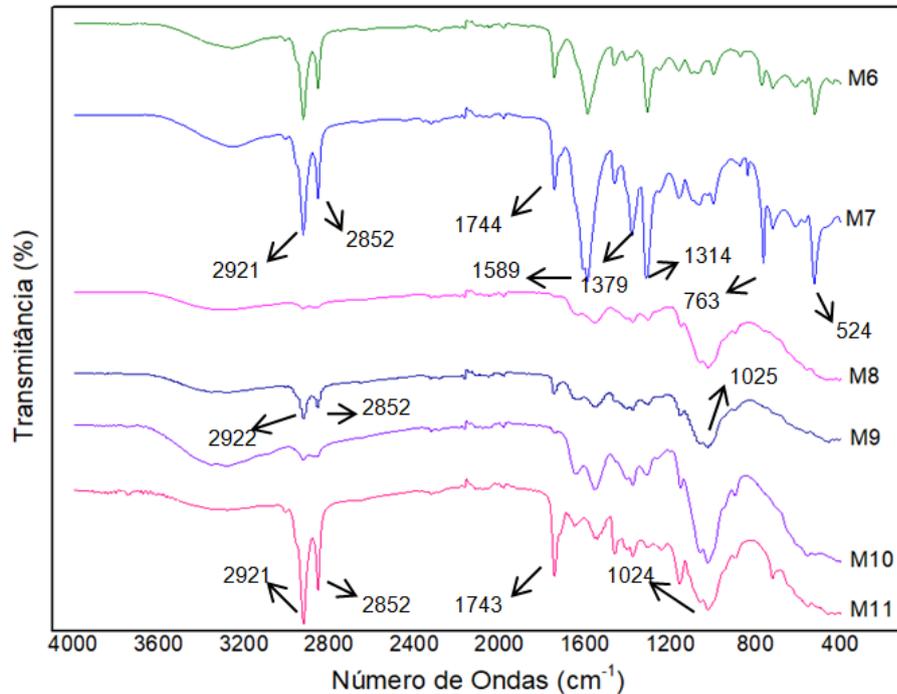
O espectro referente ao grupo funcional C=O está presente em triglicerídeos (DE SANTANA *et al.*, 2017). Os picos entre 1314 a 1649 cm<sup>-1</sup> são atribuídas à deformação angular no plano referente ao –CH<sub>3</sub> e banda de deformação angular atribuída ao grupo metileno =CH<sub>2</sub> (NASCIMENTO FILHO *et al.*, 2019).

A adição de óleo de andiroba, independente da concentração, proporcionou modificações no espectro de membranas com este composto, sugerindo interação entre os componentes da síntese. Conforme Sobreira *et al.* (2020), deslocamentos de bandas nos espectros podem estar associadas a um fenômeno físico de atração e repulsão entre as moléculas, enquanto a variação de intensidade e o alargamento das bandas estariam relacionados com alterações em parâmetros físicos, como momento dipolar, que resultaria em mudanças nas características vibracionais.

Como demonstrado na Figura 36, houve diferença entre o surgimento, desaparecimento, intensificação de bandas e valores de número de ondas conforme a

concentração do extrato usada na síntese das membranas sejam do primeiro (M6 e M7), segundo (M8 e M9) ou terceiro dia (M10 e M11) de decocção. Havendo pouca mudança entre os espectros de amostras compostas por 0,1% v/v ou 0,5% v/v de óleo de andiroba.

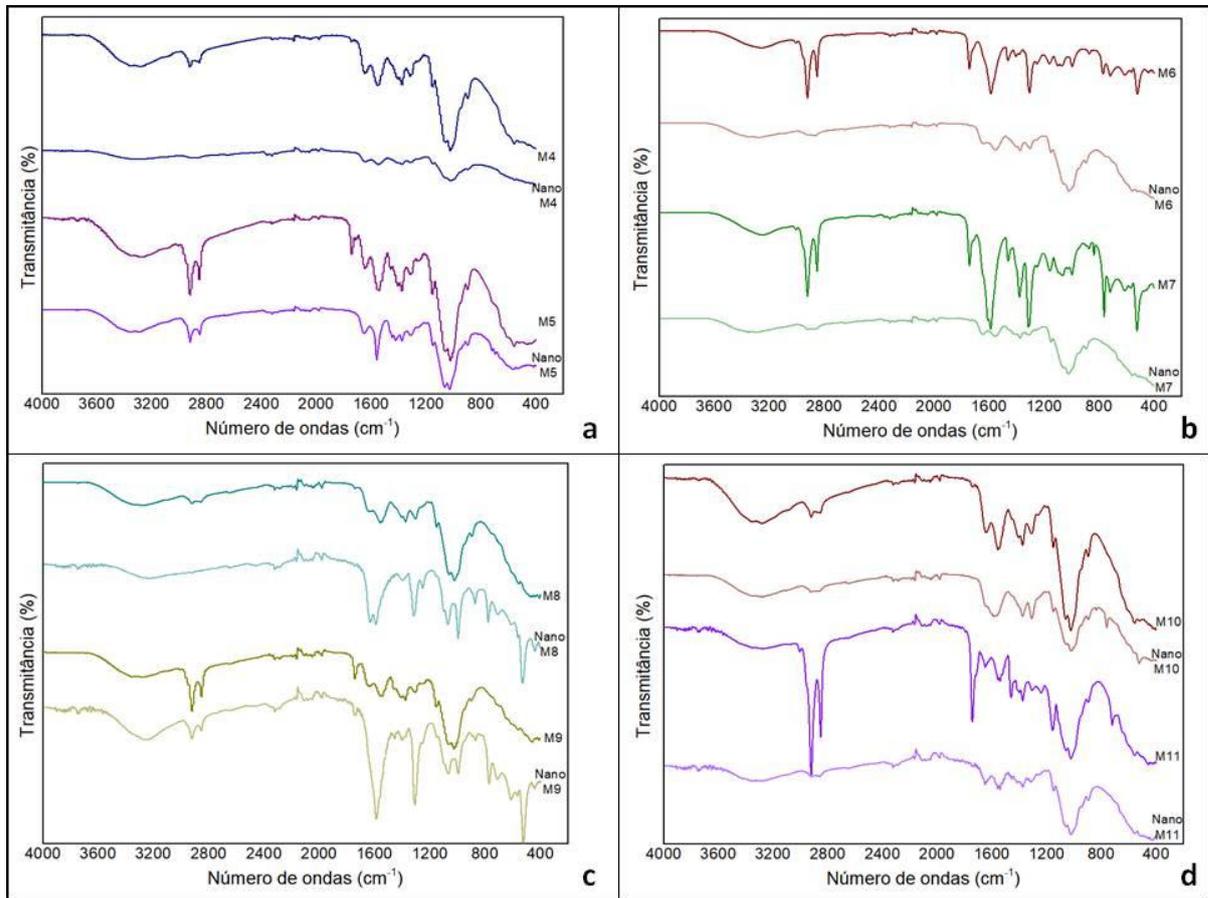
Figura 36 – Comparação entre espectros de FTIR – Membranas de quitosana com extrato de casca de banana verde e óleo de andiroba (M6 a M11).



Contudo, sugere-se que a adição do óleo de andiroba parece influenciar mais nos espectros de FTIR que o extrato da casca de banana das amostras testadas.

A figura 37 demonstra os espectros de FTIR de membranas de quitosana por nanoemulsão e os compara com as membranas de quitosana sintetizadas sem nanoemulsão. Alguns picos e/ou bandas (entre 2852 a 3005  $\text{cm}^{-1}$  e 1744  $\text{cm}^{-1}$ , por exemplo) ficaram ausentes nos espectros das amostras de com nanoemulsão.

Figura 37 – Comparação entre espectros de FTIR de membranas de quitosana por emulsão e membranas de quitosana por nanoemulsão: (a) M4, M5, Nano M4 e Nano M5; (b) M6, M7, Nano M7 e Nano M7; (c) M8, M9, Nano M8 e Nano M9; (d) M10, M11, Nano M10 e Nano M11.



Ao analisar esses espectros, foram observados perfis similares em relação a algumas bandas características da quitosana e compostos vegetais. Não houve deslocamento de bandas que permaneceram ao comparar membranas por emulsão e nanemulsão de mesmos componentes.

A maioria dos picos eliminados nos espectros de membranas de quitosana por nanoemulsão são característicos de triglicerídeos presentes nos espectros de membranas de quitosana com adição de óleo de andiroba (OLIVEIRA; FERNANDES; CARVALHO, 2021; SILVA *et al.*, 2021; NASCIMENTO FILHO *et al.*, 2019). Esse fato pode sugerir o encapsulamento do bioativo do óleo.

Para Costa (2020), a técnica de FTIR pode representar uma eficiente ferramenta qualitativa para a verificação do encapsulamento de ativos em nanopartículas.

Entretanto, como outros picos e/ou bandas permanecem, mesmo com a utilização do óleo puro no lugar da nanoemulsão na síntese das membranas, e a incorporação do óleo não

ocorrer por interação química, pode-se descartar a princípio a possibilidade de perda de atividade do bioativo.

Devido ao fato de os espectros representarem uma mistura de componentes, algumas bandas podem estar sobrepostas, o que dificulta a sua interpretação, em especial quanto aos grupos funcionais presentes nas amostras. Entretanto, ao comparar os espectros das membranas por emulsão e nanoemulsão, está clara a ausência de picos e a diferença entre eles.

## 5 CONCLUSÃO

Com base na caracterização e testes realizados neste estudo, todas as membranas apresentam-se como interessantes para uso em lesões epiteliais, visto que possuem características para compor um biomaterial, reunindo propriedades essenciais, como capacidade de absorção e retenção de líquidos, adesão celular facilitada pela diminuição da degradação cristalina e térmica, com possível auxílio no processo de cicatrização.

O DLS apontou que as emulsões à base de óleo de andiroba compostas por extrato de casca de banana verde da primeira decocção foram as mais homogêneas e apresentaram menores tamanhos de partículas.

Todas as membranas sintetizadas são hidrofílicas e apresentaram capacidade de intumescimento, com maior percentual apresentado por membranas de quitosana por nanoemulsão, com resultado inverso apresentado pelo teste de umidade.

Morfologicamente as membranas compostas por extrato de casca de banana apresentaram superfície heterogênea e o processo de síntese por nanoemulsão proporcionou encapsulamento do óleo de andiroba. A adição do extrato, especialmente do primeiro dia de decocção, e do óleo na síntese proporcionou maior amorficidade de membranas por emulsão e a nanoemulsão auxiliou na amorficidade de todas, confirmada pela análise térmica. Houve interação dos componentes das membranas confirmados pelo FTIR e encapsulamento do óleo no uso de nanoemulsões.

As membranas de quitosana por emulsão compostas por extrato da casca de banana do primeiro dia de decocção, com ou sem adição de óleo de andiroba, possuem maiores vantagens em relação ao poder de absorção de exsudato da ferida e capacidade de reter líquido mantendo a lesão úmida. Por apresentarem método de síntese simples, sem necessidade de equipamentos e materiais sofisticados e utilizarem resíduos sólidos vegetais, além do óleo de andiroba, podendo ser extraído de modo artesanal, acredita-se que essas membranas podem ser mais economicamente viáveis que os produtos disponíveis comercialmente.

Para tanto, são necessários estudos e realização de testes biológicos para avaliar sua eficácia na regeneração tecidual e definição da melhor concentração dos constituintes vegetais na síntese das membranas de quitosana.

Vale ressaltar que, a escassez de estudos científicos publicados sobre avanços na síntese e testes de biomaterial composto por óleo de andiroba ofereceu dificuldades na comparação e discussão dos resultados do presente estudo. Além disso, esse óleo merece mais

estudos, sobretudo na Região Amazônica, por suas propriedades conhecidas e benefícios que oferece à saúde da população local.

Contudo, este estudo deverá contribuir, de forma científica, para as pesquisas sobre a síntese e eficácia dos produtos naturais na cicatrização de feridas. Além disso, espera-se que, futuramente, esta pesquisa possa ajudar na elaboração de biomateriais mais viáveis e acessíveis economicamente, auxiliando na cicatrização de feridas.

## 6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Realizar testes biológicos *in vitro* para avaliar citotoxicidade e atividade antimicrobiana;
- Avaliar novas metodologias de preparo de membranas com quitosana, extrato de casca de banana verde e óleo de andiroba;
- Realizar análise térmica por DSC das membranas por nanoemulsão;
- Preparar e caracterizar membranas de quitosana com diferentes concentrações de óleo de andiroba;
- Realizar testes *in vivo* para avaliar adesão celular, citotoxicidade e cicatrização epitelial;
- Comparar a eficácia das membranas sintetizadas com outros produtos comerciais, tanto quanto a nível de testes de caracterização como em relação aos custos econômicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALAM, P., SHAKEEL, F., ANWER, M. K., FOUDAH, A. I., ALQARNI, M. H., 2018, “Wound Healing Study of Eucalyptus Essential Oil Containing Nanoemulsion in Rat Model”, *Journal of Oleo Science*, v. 67, n. 8, pp. 957–968.
- ALMEIDA, L. A., 2014, *Determinação de taninos em extratos das cascas de banana*. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, Brasil.
- ALMINDEREJ, F. M., 2019, “Study of new cellulosic dressing with enhanced antibacterial performance grafted with a biopolymer of chitosan and myrrh polysaccharide extract”, *Arabian Journal of Chemistry*, v. 13, n. 2, pp. 3672-3681.
- ARAMWIT, P., 2016, “Introduction to biomaterials for wound healing”. In: Magnus, S., Agren, M.S. (eds), *Wound healing biomaterials*, vol. 2: functionals biomaterials. Woodhead Publishing, Elsevier Ltd., Duxford, UK, PP. 3-38.
- ARANTES, L. C., 2014, *Curativos Inteligentes para Reparação e Reconstrução Epitelial*. Trabalho de Conclusão de Curso de Engenharia de Materiais do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.
- ARAÚJO-LIMA, C. F., FERNANDES, A. S., GOMES, E. M., OLIVEIRA, L. L., MACEDO, A. F., ANTONIASSI, R., FELZENSZWALB, I., 2018, “Antioxidant Activity and Genotoxic Assessment of Crabwood (*Andiroba*, *Carapa guianensis* Aublet) Seed Oils”, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, pp. 1-11.
- BAJERSKI, L., MICHELS, L. R., COLOMÉ, L. M., BENDER, E. A., FREDDO, R. J., BRUXEL, F., HAAS, S. E., 2016, “O uso de óleos vegetais brasileiros em nanoemulsões: uma atualização no preparo e aplicações biológicas”, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 52, n. 3, pp. 347-363.
- BARRIONI, B. R., OLIVEIRA, A. C., LEITE, M. DE F., PEREIRA, M. DE M., 2017, “Sol–gel-derived manganese-releasing bioactive glass as a therapeutic approach for bone tissue engineering”, *Journal of Materials Science*, v. 52, pp. 8904–8927.

- BAYAT, S., AMIRI, N., PISHAVAR, E., KALALINIA, F., MOVAFFAGH, J., HAHSEMI, M., 2019, “Bromelain-loaded chitosan nanofibers prepared by electrospinning method for burn wound healing in animal models”, *Life Sciences*, v. 229, pp. 57–66.
- BIANCHERA, A., CATANZANO, O., BOATENG, J., ELVIRI, L., 2020, “The Place of Biomaterials in Wound Healing”, In: Boateng, J. (eds.), *Therapeutic Dressings and Wound Healing Applications*, chapter 15, pp. 337–366.
- BRAGA, T. M., ROCHA, L., CHUNG, T. Y., OLIVEIRA, R. F., PINHO, C., OLIVEIRA, A. I., MORGADO, J., CRUZ, A., 2020, “Biological Activities of Gedunin—A Limonoid from the Meliaceae Family”, *Molecules*, v. 25, n. 3, pp. 493.
- BUDOVSKY, A., YARMOLINSKY, L., BEN-SHABAT, S., 2015, “Effect of medicinal plants on wound healing”, *Wound Repair and Regeneration*, v. 23, n. 2, pp. 171-183.
- CAMPOS, M. G. N., 2007, *Desenvolvimento e caracterização de membranas de quitosana para recobrimento de feridas e liberação controlada de fármacos*, Tese de Doutorado em Engenharia Química, UNICAMP, Campinas, SP, Brasil.
- CAÑEDO-DORANTES, L., CAÑEDO-AYALA, M., 2019, “Skin Acute Wound Healing: A Comprehensive Review”, *International Journal of Inflammation*, v. 1, pp. 1-15.
- CHILDS, D. R., MURTHY, A. S., 2017, “Overview of Wound Healing and Management”, *Surgical Clinics of North America*, v. 97, n. 1, pp. 189–207.
- COSTA, G.C.A., 2018, *Biopolímero Quitosana: propriedades, características e aplicações na cicatrização de feridas*. Trabalho de Conclusão de Curso de Engenharia Química, Centro Universitário de Formiga, UNIFOR, MG, Brasil.
- COSTA, I. C., 2020, *Nanopartículas poliméricas preenchidas com óleo essencial de Piper nigrum: caracterização química e morfológica*. Dissertação de Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal do Amazonas, AM, Brasil.
- DA SILVA, S. S., BAZANA, M. T., DA SILVA, C. B., BIZZI, C. A., DE MENEZES, C. R., CODEVILLA, C. F., 2019, “Influência da Sonicação no Tamanho de Gotícula de Nanoemulsões contendo Extrato de Physalis Peruviana”. In: Da Silva Neto, B. R. (eds.), *Atividades de pesquisa em biotecnologia e nanociências*, Ponta Grossa, PR, Atena.

- DANG, Q., ZHANG, Q., LIU, C., YAN, J., CHANG, G., XIN, Y., ... LIU, Y. , 2019, “Decanoic acid functionalized chitosan: Synthesis, characterization, and evaluation as potential wound dressing material”, *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 139, pp. 1046–1053.
- DANTAS, M. J. L., FIDÉLES, T. B., CARRODEGUAS, R. G., FOOK, M. V. L., 2016, “Obtenção e caracterização de esferas de quitosana/hidroxiapatita gerada in situ”, *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v. 11, n. 1, pp.18–24
- DE OLIVEIRA, V. S., Carreadores lipídicos nanoestruturados de óleo de andiroba (*carapa guianensis aublet*) contendo tacrolimus para tratamento da psoríase. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde. Programa de pós-graduação em nanotecnologia farmacêutica. Recife, 2019.
- DE SANTANA, F. B., MAZIVILA, S. J., GONTIJO, L. C., NETO, W. B., POPPI, R. J., 2018, “Rapid Discrimination Between Authentic and Adulterated Andiroba Oil Using FTIR-HATR Spectroscopy and Random Forest”, *Food Analytical Methods*, v. 11, n. 7, pp. 1927–1935.
- DEALEY, C., 2008, *Cuidando de feridas: um guia para as enfermeiras*, 3ª ed, São Paulo, SP, Atheneu Editora.
- DOS SANTOS, V., BRANDALISE, R. N., SAVARIS, M., 2017, “Topics in Mining, Metallurgy and Materials Engineering”. In: Bergmann, C. P. (eds.), *Engineering of Biomaterials*, 3rd ed., Springer, pp. 5-15.
- EBERHARDT, T.D., DIAS, C.F.C., FONSECA, G.G.P., KESSLER, M., SOARES, R.S. A., LIMA, S.B.S., 2015, “Cicatrização e Feridas: análise das tendências em teses e dissertações”, *Revista de Enfermagem da UFSM*, v. 5, n. 2, pp. 387-395.
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2018, *Mandioca e Fruticultura*, Disponível em: <<http://www.cnpmf.embrapa.br>>. Acesso em: 23 mar. 2019.
- ESPINOSA, A., SANTACRUZ, S., 2017, “Phenolic compounds from the peel of *Musa cavendish*, *Musa acuminata* and *Musa cavandanaish*”, *Revista Politécnica – Enero*, v. 38, n. 2.

- EURIDESA, ANA LUIZA G.; MAYRINKA, AYSLA C. S.; DE ANDRADE, BRUNO C.; ALVESA, IGOR M.; DE SOUZA, ISABELLA L.; BARROUINA, MATHEUS B.; DE ANDRADE, PEDRO F., 2018, “Extrato de casca de banana (Musa AAB subgrupo Prata) como inibidor verde de corrosão do aço carbono em ácido clorídrico. *INTERCORR 2018*, São Paulo, Brasil, maio de 2018.
- FERREIRA, M. O. G. et al., 2020, “Biocompatible gels of chitosan-buriti oil for potential wound healing applications”, *Materials*, v. 13, pp. 1-17.
- FRANCO, P. B., ALMEIDA, L. A., MARQUES, R. F. C., SILVA, M. A., CAMPOS, M. G. N., 2017, “Chitosan Associated with the Extract of Unripe Banana Peel for Potential Wound Dressing Application”, *International Journal of Polymer Science*, v. 3, pp. 1-8.
- FRANCO, P.B., ALMEIDA, L.A., MARQUES, R.F.C., BRUCHA, G., CAMPOS, M.G.N., 2016, “Evaluation of Antibacterial Activity of Chitosan Membranes Associated to Unripe Banana Peel”, *Materials Science Forum*, v. 869, pp. 859-863.
- GARCIA, J. A. F., MOURA, M. R., AOUADA, F. A., 2019, “Efeito do pH, Espécie e Concentração Iônica na Absorção de Água de Hidrogéis Bionanocompósitos Constituídos de CMC/PAAM/Laponita RDS”, *Química Nova*, v. 42, n. 8, pp. 831-837.
- GASPAR-PINTILIESCU, A., STANCIUC, A. M., CRACIUNESCU, O., 2019, “Natural composite dressings based on collagen, gelatin and plant bioactive compounds for wound healing: A review”, *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 138, pp. 854-865.
- HARBORNE, J.B., 1999, **Phytochemical dictionary: Handbook of bioactive compounds from plants**. London, Taylor and Francis, London, Second edition, pp. 221-234.
- HUDECKI, A., KIRYCZYŃSKI, G., LOS, M., 2019, “Definition, Overview. Stem Cells and Biomaterials for Regenerative Medicine”, *Journal of Biomaterials*, Chapter 7, pp. 85-98.
- ISO - ISO 22412:2008 - *Particle size analysis — Dynamic light scattering (DLS)*. Disponível em: <<https://www.iso.org/standard/40942.html>>. Acesso em: 26 jan. 2022.

- JONES, D.S., MEDLICOTT, N.J., 1995, “Casting solvent controlled release of chlorhexidine from ethylcellulose films prepared by solvent evaporation”, *International Journal of Pharmaceutics*, v.114, pp. 257-261.
- KADAM, D.; LELE, S.S., 2018, “Cross-linking effect of polyphenolic extracts of *Lepidium sativum* seedcake on physicochemical properties of chitosan films”, *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 114, pp. 1240–1247.
- KAHN, H. **Difração de Raios X, 2000**. Disponível em:  
<[http://www.angelfire.com/crazy3/qfl2308/1\\_multipart\\_xF8FF\\_2\\_DIFRACAO.pdf](http://www.angelfire.com/crazy3/qfl2308/1_multipart_xF8FF_2_DIFRACAO.pdf)>.  
Acesso em: 23 Jan. 2022.
- KAMEL, N. A. A, ABD EL-MESSIEH, S. L. A., SALEHB, N., 2017, “Chitosan/banana peel powder nanocomposites for wound dressing application: preparation and characterization”. *Materials Science and Engineering*, v. 72, pp. 543–550.
- KIMURA, V. T., MIYASATO, C. S., GENESI, B. P., LOPES, P. S., YOSHIDA, C. M. P., SILVA, C. F. DA., 2016, “The effect of andiroba oil and chitosan concentration on the physical properties of chitosan emulsion film”, *Polímeros*, v. 26, n. 2, pp. 168–175.
- KRIST, S., 2020. **Vegetable Fats and Oils**. New York, USA, Springer.
- LAW, K-Y., ZHAO, H., 2015, **Surface Wetting: Characterization, Contact Angle, and Fundamentals**. New York, USA, Springer.
- LEITE, I. F., WANDERLEY, W. F., SALVIANO, A. T. DE M., 2021, “Membranas de Quitosana-Bioativo Natural para uso Potencial como Curativos”. In: Holzmann, H. A., Dallamuta, J. (eds.), *Engenharia de materiais e metalúrgica: tudo à sua volta 2*, Ponta Grossa, PR, Atena.
- LINO, P.B., CORRÊA, C.F., ARCHONDO, M.E. D. L.; DELLOVA, D.C. A. L., 2011.  
“Evaluation of post-surgical healing in rats using a topical preparation based on extract of *Musa sapientum* epicarp”. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 21, n. 3, pp. 491-496.
- LIRA-GUEDES, A.C., 2015, *Guia prático para o manejo sustentável de andirobeiras de várzea e para a extração do óleo de suas sementes*, Brasília, DF, Brasil, Embrapa.

- LOPES, S., 2019, *Perfil químico do extrato aquoso de cascas de banana (Musa SP., cv. Prata Anã) e avaliação in vitro dos seus efeitos sobre a cicatrização de lesões cutâneas e fotoproteção à radiação UVB*. Tese de doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.
- MARTINS, C.S.; MORGADO, D.L.; ASSIS, O.B.G., 2016, “Cashew gum-chitosan blended films: Spectral, mechanical and surface wetting evaluations”, *Macromolecular Research*, v. 24 b, n. 8, p. 691-697.
- MATICA, M. A., AACHMANN, F. L., TØNDERVIK, A., SLETTA, H., OSTAFE, V., 2019, “Chitosan as a Wound Dressing Starting Material: Antimicrobial Properties and Mode of Action”, *International Journal of Molecular Sciences*, v. 20, pp. 5889.
- MATSUMOTO, C., KOIKE, A., TANAKA, R., FUJIMORI, K., 2019, “A Limonoid, 7-Deacetoxy-7-Oxogedunin (CG-1) from Andiroba (*Carapa guianensis*, Meliaceae) Lowers the Accumulation of Intracellular Lipids in Adipocytes via Suppression of IRS-1/Akt-Mediated Glucose Uptake and a Decrease in GLUT4 Expression” *Molecules*, v. 24, n. 9, pp. 1668.
- MATSUURA, E. N., SIMIONI, A. R., SAKANE, K. K., 2019, “Espectroscopia no Infravermelho como Ferramenta para Diferenciação de Chá Verde de Agricultura Orgânica e Convencional”, *Revista Tecnologia e Tendências*, v. 10, n. 2, pp. 59-74.
- MELO, K. M., OLIVEIRA, L. F. S., ROCHA, R. M., FERREIRA, M. A. P., FASCINELI, M. L., MILHOMEM-PAIXAO, S. S. R., GRISOLIA, C. K., SANTOS, A. S., SALGADO, H. L. C., MUEHLMANN, L. A., AZEVEDO, R. B., PIECZARKA, J. C., NAGAMACHI, C. Y., 2021, “Andiroba oil and nanoemulsion (*Carapa guianensis* Aublet) reduce lesion severity caused by the antineoplastic agent doxorubicin in mice”, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 138.
- MENDONÇA, A. P., ALMEIDA, F. A. C., OLIVEIRA, A. S., ROSA, J. C., ARAÚJO, M. E. R., SAMPAIO, P. T. B., 2020, “Extração de óleo de andiroba por prensa: rendimento e qualidade de óleo de sementes submetidas a diferentes teores de água e temperaturas de secagem”, *Scientia Forestalis*, v. 48, n. 125.

- MORIKAWA, T., NAGATOMO, A., KITAZAWA, K., MURAOKA, O., KIKUCHI, T., YAMADA, T., NINOMIYA, K., 2018, “Collagen Synthesis-Promoting Effects of Andiroba Oil and its Limonoid Constituents in Normal Human Dermal Fibroblasts”, *Journal of Oleo Science*, v. 67, n. 10, pp. 1271–1277.
- MOUTINHO, I., OLIVEIRA, I. C., SANTOS, M. C., VASCONCELOS, M., PORTELA, A. I., 2019, “Different Chitosan-Based Biomaterials and their Biomedical Applications”, *European Journal of Medical Research and Clinical Trials*, v. 1, pp. 1-12.
- MUÑOZ-RUÍZ, A., ESCOBAR-GARCÍA, D. M., QUINTANA, M., POZOS-GUILLÉN, A., FLORES, H., 2019, “Synthesis and Characterization of a New Collagen-Alginate Aerogel for Tissue Engineering”, *Journal of Nanomaterials*, v. 6, pp. 1-10.
- NASCIMENTO FILHO, W. B.; SILVA, H. E. B.; SOUSA, R. C. P.; SOUZA, O. S., 2019, “Espectroscopia no Infravermelho FT-IR e Difractometria de Raios X Aplicada no Acompanhamento do Processo de Polimerização do Óleo de Andiroba”, *Revista Virtual de Química*, v. 11, n. 3, pp. 922-936.
- NAYAK D., PRADHAN S., ASHE S., RAUTA PR.; NAYAK, B., 2015, “Biologically synthesised silver nanoparticles from three diverse family of plant extracts and their anticancer activity against epidermoid A431 carcinoma”, *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 457, pp. 329- 338.
- NITZ, A. C. et al., 2006, “Estudo morfométrico no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos, usando: Coronopu didymus e Calendula officinalis”, *Arquivos Catarinenses de Medicina*, v. 35, n. 4, pp. 74-79.
- NOGUEIRA, B. L., DA SILVA, M; L., PINHEIRO, R., DA CRUZ, S. H., DE ALMEIDA, A. C. C., DE BITTENCOURT, R. A., 2022, “Os curativos a base de prata e sua eficácia em queimaduras: uma revisão integrativa”, *Brazilian Journal of Development*, v.8, n.2, pp. 8535-8556.
- NUNES, J., MELO, P., AOUADA, F.; MOURA, M., 2018, “Influência da Nanoemulsão de Óleo Essencial de Limão em Filmes à Base de Gelatina”, *Química Nova*, v. 41, n. 9, pp. 1006-1010.

- OKUR, M.E.; KARANTAS, I.D.; SENYIGIT, Z.; ÜSTÜ NDAG OKUR, N.; SIAFAKA, P.I., 2020, “Recent trends on wound management: New therapeutic choices based on polymeric carriers”, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 15, n. 6, p. 661-684, 2020.
- OLIVEIRA, M. C. F., PANDOLFI, M. A. C., 2020, “Estudo Bibliográfico: aproveitamento integral na elaboração de subprodutos na indústria alimentícia”, *Interface Tecnológica*, v. 17, n. 1.
- OLIVEIRA, I. DOS S. DA S., MORAGAS TELLIS, C. J., CHAGAS, M. DO S. DOS S., BEHRENS, M. D., CALABRESE, K. DA S., ABREU-SILVA, A. L., ALMEIDA-SOUZA, F., 2018, “Carapa guianensis Aublet (Andiroba) Seed Oil: Chemical Composition and Antileishmanial Activity of Limonoid-Rich Fractions”, *BioMed Research International*, pp. 1–10.
- OLIVEIRA, L.M.T.S., ATZINGEN, D.A.N.C.V., MENDES, J.V.B., MESQUITA FILHO, M., MENDONÇA, A.R.A., 2018, “Banana Skin: Wound Healing Analysis in Diabetics Patients”, *Asian Journal of Science and Technology*. v. 9, n. 7, pp. 8393-8398.
- OLIVEIRA, M.Z.F.S.; FERNANDES, T.S.M.; CARVALHO, T.V., 2021, “Síntese e caracterização de beads de quitosana comercial reticulados com glutaraldeído”, *Revista Matéria*, v. 26, n. 2.
- ORÉFICE, R.L.; PEREIRA, M.M.; MANSUR, H.S., 2012, *Biomateriais: fundamentos e aplicações*. Rio de Janeiro, RJ, Brasil, Cultura Médica: Guanabara Koogan.
- PBMH & PIF - Programa Brasileiro para a Modernização da Horticultura & Produção Integrada de Frutas, 2006, *Normas de Classificação de Banana*. São Paulo, SP, Brasil, CEAGESP.
- PEREIRA, A., MARASCHIN, M., 2015, “Banana (*Musa* spp) from peel to pulp: Ethnopharmacology, source of bioactive compounds and its relevance for human health”, *Journal of Ethnopharmacology*, v. 160, pp. 149–163.
- PIRES, A.L.R.; BIERHALZ, A.C.K.; MORAES, Â.M., 2015, “Biomateriais: Tipos, Aplicações e Mercado”, *Quim. Nova*. v. 38, n. 7, pp. 957-971.

- PIRES, V.G. A., MOURA, M. R. DE., 2017, “Preparação de Novos Filmes Poliméricos contendo Nanoemulsões do Óleo de Melaleuca, Copaíba e Limão para Aplicação como Biomaterial”, *Química Nova*, v. 40, n. 1, pp. 1-5.
- PORTO, A. S.; ALMEIDA, I. V.; VICENTINI, V. E. P. 2020, “Nanoemulsões formuladas para uso tópico: estudo de síntese e toxicidade”, *Revista Fitos*, v. 14, n. 4, pp. 513-527.
- PUSEY, P. N. 2002, *Neutron, X-Rays and Light Scattering*, First Edition, Amsterdam, Boston, Elsevier.
- RIHAYAT, T., et al., 2019, “Wound Dressing Based on Banana Peels Waste and Chitosan by Strengthening Lignin as Wound Healing Medicine”, *Materials Science and Engineering*, v. 506.
- ROLIM, A. E. H.; CARVALHO, F. A. A.; COSTA, R. C. C.; ROSA F. P., 2018, “Arcabouços de Quitosana - Propriedades Físico-Químicas e Biológicas para o Reparo Ósseo”, *Rev. Virtual Quim.* v. 10, n. 2, pp. 211-228.
- SAHANA, T. G.; REKHA, P. D., 2018, “Biopolymers: Applications in wound healing and skin tissue engineering”, *Molecular biology reports*, v. 45, n. 6, pp. 2857-2867.
- SILVA, D.F.; LIMA, K.T.; BASTOS, G.N.T.; OLIVEIRA, J.A.R.; DO NASCIMENTO, L.A.S.; COSTA, C.E.F.; FILHO, G.N.R.; CONCHA, V.O.C.; PASSOS, M.F., 2021, “PCL/Andiroba Oil (*Carapa guianensis* Aubl.) Hybrid Film for Wound Healing Applications”, *Polymers*, v. 13, pp. 1591.
- SILVA, J.R., SILVA, F.M., 2018, “Nanosistemas Lipídicos e Poliméricos para Aplicação Tópica no Tratamento de Feridas”. *Hegemonia* – Revista Eletrônica do Programa de Mestrado em Direitos Humanos, Cidadania e Violência/Ciência Política do Centro Universitário Unieuro. Brasília, número 25 (Especial).
- SILVA, L. R., 2018, “Propriedades físico-químicas e perfil dos ácidos graxos do óleo da andiroba”, *Nativa*, v. 6, n. 2, pp. 147-152.
- SILVA, R.C.L., FIGUEIREDO, N.M.A., MEIRELES, I.B., 2014, *Prevenção e tratamento de feridas: da evidência à prática, Feridas: fundamentos e atualizações em enfermagem*. São Caetano do Sul, SP, Brasil, Yendis Editora.

- SIMÕES, C.M.O., SCHENKEL, E.P., GOSMANN, G., MELLO, J.C.P., MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R., 2007, *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 6.ed., Florianópolis, Santa Catarina, Brasil, Editora da UFRGS.
- SINGH, B., SINGH, J.P., KAUR, A., SINGH, N., 2016, “Bioactive compounds in banana and their associated health benefits – a review”, *Food Chemistry*, v. 206, pp. 1-11.
- SINGH, R., SHITIZ, K., SINGH, A., 2017, “Chitin and chitosan: biopolymers for wound management”, *International Wound Journal*, v. 14, n. 6, pp. 1276-1289.
- SOARES, A. DOS S., WANZELER, A. M., CAVALCANTE, G. H., BARROS, E., CARNEIRO, R., TUJI, E. F. M., 2020, “Therapeutic effects of andiroba (*Carapa guianensis* Aubl) oil, compared to low power laser, on oral mucositis in children underwent chemotherapy: A clinical study”, *Journal of Ethnopharmacology*, v. 264.
- SOARES, M., VITORINO, C., SOUSA, J., PAIS, A., 2015, “Permeação cutânea: desafios e oportunidades”, *Revista Ciência Farmacêutica Básica Aplicada*, v. 36, n. 3, pp. 337-348.
- SOBREIRA, T. G. P., DA SILVA, L. A., DE MENEZES, F. D., FRANÇA, E. J., AQUINO, K. A. DA S., 2020, “Aspectos estruturais de esferas de quitosana/PVA reticuladas com glutaraldeído submetidas a diferentes tratamentos térmicos”, *Química Nova*, v. 43, n. 9.
- SOUSA, R. L. , ALMEIDA, B. B., DA SILVA, R. P., ALBUQUERQUE, L. C. S., CORDEIRO, Y. E. M., 2019, “Óleo de Andiroba: Extração, Comercialização e Usos Tradicionais na Comunidade Mamangal, Igarapé-Miri, Pará”, *Biodiversidade* , v. 18, n. 1, pp. 68-81.
- SOUZA, B. A. A. et al., 2017, “Effects of Andiroba Oil (*Carapa Guianensis*) on Wound Healing in Alloxan-Diabetic Rats”, *International archives of Medicine*, v. 10, n. 263, p. 1-6.
- SUGUMAR, S., MUKHERJEE, A., CHANDRASEKARAN, N., 2015, “Eucalyptus oil nanoemulsion-impregnated chitosan film: antibacterial effects against a clinical pathogen, *Staphylococcus aureus*, in vitro”, *International Journal of Nanomedicine*, v. 10, n. 1, pp. 67–75.

- SULTANKULOV, B., BERILLO, D., SULTANKULOVA, K., TOKAY, T., SAPAROV, A., 2019, “Progress in the Development of Chitosan-Based Biomaterials for Tissue Engineering and Regenerative Medicine”, *Biomolecules*, v. 9, n. 9, pp. 470.
- SUNG, J. H., HWANG, M.-R., KIM, J. O., LEE, J. H., KIM, Y. I., KIM, J. H., ... LYOO, W. S., 2010, “Gel characterisation and in vivo evaluation of minocycline-loaded wound dressing with enhanced wound healing using polyvinyl alcohol and chitosan”, *International Journal of Pharmaceutics*, v. 392, n. 1-2, pp. 232–240.
- TAZIMA, M.F.G.S., VICENTE, Y.A.M.V.A., MORIYA T., 2008, “Biologia da ferida e cicatrização”. *Medicina* (Ribeirão Preto), v. 4, n. 3, pp. 259-64.
- VERT, M., et al., 2012, “Terminology for biorelated polymers and applications” (IUPAC Recommendations 2012). *Pure Appl. Chemistry*, v. 84, n. 2, pp. 377-410.
- YIN, J.; LUO, K.; CHEN, X.; KHUTORYANSKIY, V.V., 2005, “Miscibility studies of the blends of chitosan with some cellulose ethers”, *Carbohydrate polymers*, v. 63, p. 238-244.
- YOUSSEF M.A., EMAN A. ABDEL KHAFAR; ABEIR M.F. ELBAZ., 2018, “Evaluation the bioactive compounds extracted from dried banana (*Musa* sp.) peels which obtained by different drying methods”, *Current Science International*, v. 7, p 135-148.
- YUAN, Y.; LEE, T. R., 2013, *Contact Angle and Wetting Properties*, Berlin, Heidelberg, Springer.
- ZHANG, W., LI, X., JIANGW., 2019, “Development of antioxidant chitosan film with banana peels extract and its application as coating in maintaining the storage quality of Apple”, *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 154, pp. 1205-1214.
- ZHANG, X., SHU, W., YU, Q., QU, W., WANG, Y., LI, R., 2020, “Functional Biomaterials for Treatment of Chronic Wound”, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, v. 8.

Apêndice A – Percentual de intumescimento pelas membranas em água e solução PBS de pH 7.2 após todos os períodos de imersão.

Amostra	Solução	Tempo (h)							
		1	2	3	4	5	24	168	336
M0	Água	67,38 ± 4,24	56,76 ± 4,73	66,27 ± 2,97	60,42 ± 1,05	59,19 ± 3,16	74,26 ± 3,58	96,32 ± 3,70	106,75 ± 1,18
	PBS	46,14 ± 8,56	49,94 ± 9,30	49,88 ± 13,33	55,23 ± 11,46	56,62 ± 9,90	64,48 ± 13,68	79,12 ± 11,39	80,20 ± 10,79
M1	Água	14,24 ± 2,49	12,48 ± 2,69	13,36 ± 2,10	11,86 ± 2,40	11,30 ± 2,68	10,24 ± 1,04	14,27 ± 2,74	14,99 ± 1,18
	PBS	20,97 ± 3,49	23,02 ± 1,82	25,65 ± 4,65	24,02 ± 3,38	24,02 ± 3,38	23,39 ± 4,33	24,65 ± 2,54	25,44 ± 6,94
M2	Água	57,45 ± 5,36	51,64 ± 6,78	47,22 ± 6,62	47,22 ± 6,62	51,64 ± 6,78	51,64 ± 6,78	51,64 ± 6,78	51,64 ± 10,39
	PBS	41,76 ± 3,83	40,26 ± 4,59	44,66 ± 4,12	44,49 ± 5,08	45,94 ± 5,26	53,29 ± 3,97	51,62 ± 6,36	47,22 ± 6,94
M3	Água	77,71 ± 3,62	76,70 ± 1,92	71,85 ± 3,57	70,98 ± 4,14	72,90 ± 2,51	79,63 ± 1,94	86,37 ± 1,80	89,46 ± 2,27
	PBS	65,66 ± 16,76	80,18 ± 36,56	66,29 ± 14,88	71,72 ± 12,25	71,72 ± 12,15	81,94 ± 13,83	80,30 ± 20,50	85,10 ± 10,72
M4	Água	116,57 ± 6,37	113,76 ± 8,94	114,91 ± 6,95	114,91 ± 6,95	120,17 ± 8,71	135,33 ± 9,79	161,94 ± 19,08	199,86 ± 26,82
	PBS	69,99 ± 4,76	71,14 ± 3,35	74,40 ± 3,61	73,25 ± 4,89	76,52 ± 5,04	82,79 ± 3,24	100,53 ± 6,37	114,56 ± 9,10
M5	Água	115,78 ± 8,62	115,12 ± 11,67	113,97 ± 7,91	115,49 ± 3,93	116,54 ± 8,13	133,83 ± 12,79	154,23 ± 4,77	111,95 ± 2,39
	PBS	61,36 ± 9,08	64,11 ± 11,24	65,96 ± 11,04	66,78 ± 9,69	66,78 ± 9,69	70,34 ± 10,39	82,22 ± 12,90	92,47 ± 18,22
M6	Água	29,13 ± 2,98	27,20 ± 4,60	26,22 ± 2,97	26,22 ± 2,97	27,20 ± 3,91	31,06 ± 3,01	34,96 ± 3,00	31,99 ± 7,38
	PBS	30,72 ± 1,55	31,70 ± 1,21	31,70 ± 15,38	33,61 ± 1,41	33,61 ± 1,41	33,61 ± 1,41	37,37 ± 3,68	38,35 ± 4,36
M7	Água	38,54 ± 3,19	31,94 ± 3,70	32,10 ± 1,64	33,49 ± 1,47	32,10 ± 1,64	35,33 ± 3,24	46,54 ± 2,08	50,34 ± 5,28
	PBS	38,01 ± 1,99	39,22 ± 5,14	39,22 ± 5,14	39,22 ± 5,14	40,01 ± 3,79	42,02 ± 5,60	42,81 ± 4,27	48,50 ± 0,40
M8	Água	73,97 ± 2,0	65,51 ± 8,03	65,74 ± 2,05	65,74 ± 2,05	67,19 ± 2,87	75,42 ± 3,17	75,54 ± 7,32	71,30 ± 3,02
	PBS	45,33 ± 6,11	45,33 ± 6,11	48,89 ± 6,30	52,67 ± 3,06	52,67 ± 3,06	54,00 ± 5,29	62,89 ± 5,75	70,44 ± 6,48
M9	Água	69,33 ± 5,46	62,57 ± 3,11	63,76 ± 4,48	64,61 ± 3,16	65,35 ± 3,36	71,67 ± 4,41	66,99 ± 7,08	69,67 ± 8,54
	PBS	43,76 ± 0,97	41,62 ± 2,58	46,83 ± 1,81	45,35 ± 0,86	45,35 ± 0,86	48,23 ± 3,56	57,25 ± 0,74	64,33 ± 5,33
M10	Água	91,99 ± 4,63	86,65 ± 6,56	88,16 ± 5,29	88,16 ± 5,29	88,16 ± 5,29	98,31 ± 5,66	97,33 ± 4,62	96,71 ± 13,34
	PBS	56,72 ± 2,95	59,01 ± 4,37	60,94 ± 2,71	61,92 ± 2,00	63,85 ± 0,93	67,12 ± 1,23	82,12 ± 2,01	89,63 ± 3,42
M11	Água	100,59 ± 16,87	97,88 ± 20,09	98,42 ± 19,07	98,42 ± 19,07	98,46 ± 17,74	109,28 ± 22,07	110,22 ± 13,04	119,69 ± 27,33
	PBS	55,40 ± 6,16	59,32 ± 5,15	59,19 ± 8,28	61,66 ± 6,22	61,86 ± 6,18	67,16 ± 6,80	78,37 ± 8,59	77,73 ± 5,33

Apêndice B – Resultado do Teste de Tukey para o intumescimento comparativo entre as membranas de quitosana por emulsão (água e PBS).

Amostras	% M0 àgua	% M0 PBS	% M1 àgua	% M1 PBS	% M2 àgua	% M2 PBS	% M3 àgua	% M3 PBS	% M4 àgua	% M4 PBS	% M5 àgua	% M5 PBS	% M6 àgua	% M6 PBS	% M7 àgua	% M7 PBS	% M8 àgua	% M8 PBS	% M9 àgua	% M9 PBS	% M10 àgua	% M10 PBS	% M11 àgua	% M11 PBS
% M0 àgua	0,000	9,788	64,020	50,871	22,622	20,975	5,367	7,681	61,064	8,523	59,565	3,923	43,199	40,656	38,932	32,248	1,157	20,263	2,597	26,037	24,050	7,143	35,021	7,099
% M0 PBS	9,788	0,000	54,233	41,083	12,834	11,187	15,155	17,469	70,852	18,311	69,353	5,865	33,411	30,868	29,144	22,460	10,945	10,475	7,191	16,249	33,838	2,645	44,809	2,689
% M1 àgua	64,020	54,233	0,000	13,150	41,399	43,046	69,387	71,702	125,084	72,543	123,586	60,097	20,822	23,364	25,088	31,772	65,178	43,757	61,424	37,983	88,071	56,878	99,041	56,922
% M1 PBS	50,871	41,083	13,150	0,000	28,249	29,896	56,238	58,552	111,934	59,394	110,436	46,948	7,672	10,215	11,938	18,623	52,028	30,608	48,274	24,833	74,921	43,728	85,892	43,772
% M2 àgua	22,622	12,834	41,399	28,249	0,000	1,647	27,989	30,303	83,685	31,145	82,187	18,699	20,577	18,034	16,311	9,626	23,779	2,359	20,025	3,416	46,672	15,479	57,643	15,523
% M2 PBS	20,975	11,187	43,046	29,896	1,647	0,000	26,341	28,656	82,038	29,497	80,540	17,051	22,224	19,682	17,958	11,274	22,132	0,711	18,378	5,063	45,025	13,832	55,995	13,876
% M3 Àgua	5,367	15,155	69,387	56,238	27,989	26,341	0,000	2,314	55,697	3,156	54,198	9,290	48,566	46,023	44,299	37,615	4,210	25,630	7,964	31,404	18,684	12,510	29,654	12,466
% M3 PBS	7,681	17,469	71,702	58,552	30,303	28,656	2,314	0,000	53,382	0,842	51,884	11,604	50,880	48,337	46,614	39,929	6,524	27,944	10,278	33,719	16,369	14,824	27,340	14,780
% M4 Água	61,064	70,852	125,084	111,934	83,685	82,038	55,697	53,382	0,000	52,541	1,498	64,987	104,262	101,720	99,996	93,312	59,907	81,327	63,660	87,101	37,013	68,206	26,043	68,162
% M4 PBS	8,523	18,311	72,543	59,394	31,145	29,497	3,156	0,842	52,541	0,000	51,042	12,446	51,722	49,179	47,455	40,771	7,366	28,786	11,119	34,560	15,528	15,666	26,498	15,621
% M5 Água	59,565	69,353	123,586	110,436	82,187	80,540	54,198	51,884	1,498	51,042	0,000	63,488	102,764	100,221	98,498	91,813	58,408	79,828	62,162	85,603	35,515	66,708	24,544	66,664
% M5 PBS	3,923	5,865	60,097	46,948	18,699	17,051	9,290	11,604	64,987	12,446	63,488	0,000	39,276	36,733	35,009	28,325	5,080	16,340	1,326	22,114	27,974	3,220	38,944	3,176
% M6 àgua	43,199	33,411	20,822	7,672	20,577	22,224	48,566	50,880	104,262	51,722	102,764	39,276	0,000	2,543	4,266	10,951	44,356	22,936	40,602	17,161	67,249	36,056	78,220	36,100
% M6 PBS	40,656	30,868	23,364	10,215	18,034	19,682	46,023	48,337	101,720	49,179	100,221	36,733	2,543	0,000	1,724	8,408	41,813	20,393	38,060	14,619	64,707	33,513	75,677	33,557
% M7 àgua	38,932	29,144	25,088	11,938	16,311	17,958	44,299	46,614	99,996	47,455	98,498	35,009	4,266	1,724	0,000	6,684	40,089	18,669	36,336	12,895	62,983	31,790	73,953	31,834
% M7 PBS	32,248	22,460	31,772	18,623	9,626	11,274	37,615	39,929	93,312	40,771	91,813	28,325	10,951	8,408	6,684	0,000	33,405	11,985	29,652	6,211	56,299	25,105	67,269	25,149
% M8 àgua	1,157	10,945	65,178	52,028	23,779	22,132	4,210	6,524	59,907	7,366	58,408	5,080	44,356	41,813	40,089	33,405	0,000	21,420	3,754	27,194	22,893	8,300	33,864	8,256
% M8 PBS	20,263	10,475	43,757	30,608	2,359	0,711	25,630	27,944	81,327	28,786	79,828	16,340	22,936	20,393	18,669	11,985	21,420	0,000	17,667	5,774	44,314	13,120	55,284	13,165
% M9 àgua	2,597	7,191	61,424	48,274	20,025	18,378	7,964	10,278	63,660	11,119	62,162	1,326	40,602	38,060	36,336	29,652	3,754	17,667	0,000	23,441	26,647	4,546	37,618	4,502
% M9 PBS	26,037	16,249	37,983	24,833	3,416	5,063	31,404	33,719	87,101	34,560	85,603	22,114	17,161	14,619	12,895	6,211	27,194	5,774	23,441	0,000	50,088	18,895	61,058	18,939
% M10 àgua	24,050	33,838	88,071	74,921	46,672	45,025	18,684	16,369	37,013	15,528	35,515	27,974	67,249	64,707	62,983	56,299	22,893	44,314	26,647	50,088	0,000	31,193	10,970	31,149
% M10 PBS	7,143	2,645	56,878	43,728	15,479	13,832	12,510	14,824	68,206	15,666	66,708	3,220	36,056	33,513	31,790	25,105	8,300	13,120	4,546	18,895	31,193	0,000	42,164	0,044
% M11 àgua	35,021	44,809	99,041	85,892	57,643	55,995	29,654	27,340	26,043	26,498	24,544	38,944	78,220	75,677	73,953	67,269	33,864	55,284	37,618	61,058	10,970	42,164	0,000	42,120
% M11 PBS	7,099	2,689	56,922	43,772	15,523	13,876	12,466	14,780	68,162	15,621	66,664	3,176	36,100	33,557	31,834	25,149	8,256	13,165	4,502	18,939	31,149	0,044	42,120	0,000

\*Em vermelho as amostras que apresentaram diferença estatisticamente significativa.

Apêndice C – Percentual de intumescimento das membranas de quitosana por nanoemulsão em água e solução PBS de pH 7.2 após todos os períodos de imersão.

Amostra	Solução	Tempo (h)					
		1	2	3	4	5	24
Nano M4	Água	247,21 ± 46,09	276,98 ± 55,31	251,83 ± 76,53	227,85 ± 56,29	247,28 ± 55,19	329,71 ± 28,06
	PBS	103,77 ± 12,91	83,28 ± 56,37	107,47 ± 1,49	99,52 ± 23,69	112,53 ± 7,33	151,53 ± 26,67
Nano M5	Água	148,54 ± 32,05	170,45 ± 17,18	139,93 ± 23,24	156,32 ± 30,92	131,76 ± 17,33	140,09 ± 16,63
	PBS	147,68 ± 23,43	136,61 ± 2,91	112,52 ± 13,80	198,21 ± 25,29	148,11 ± 10,42	127,23 ± 7,76
Nano M6	Água	644,37 ± 240,01	890,65 ± 301,70	918,72 ± 437,59	1064,63 ± 381,42	1269,36 ± 502,46	978,79 ± 412,52
	PBS	161,65 ± 29,45	352,29 ± 138,61	327,25 ± 55,99	346,96 ± 44,15	278,68 ± 16,40	249,25 ± 7,76
Nano M7	Água	76,69 ± 6,44	157,75 ± 3,02	189,30 ± 32,99	83,62 ± 22,57	60,43 ± 4,39	47,52 ± 41,30
	PBS	47,12 ± 9,01	128,20 ± 4,27	202,21 ± 22,64	60,24 ± 1,28	51,55 ± 6,09	67,75 ± 20,31
Nano M8	Água	173,65 ± 31,56	192,18 ± 18,01	180,15 ± 87,87	163,00 ± 34,89	188,52 ± 54,07	183,54 ± 21,53
	PBS	141,47 ± 28,13	120,97 ± 23,72	57,47 ± 19,15	144,70 ± 31,55	225,26 ± 48,09	201,87 ± 7,08
Nano M9	Água	280,54 ± 50,87	261,46 ± 79,12	128,54 ± 7,93	162,81 ± 25,73	181,74 ± 10,15	153,53 ± 27,38
	PBS	248,79 ± 146,16	152,95 ± 141,39	129,55 ± 10,67	285,95 ± 83,38	235,57 ± 49,29	170,07 ± 24,61
Nano M10	Água	107,54 ± 15,42	129,65 ± 5,35	245,46 ± 37,40	135,95 ± 27,31	138,15 ± 16,73	204,72 ± 7,02
	PBS	105,45 ± 11,17	94,33 ± 81,67	259,63 ± 36,43	187,29 ± 55,14	105,70 ± 9,02	177,67 ± 32,90
Nano M11	Água	226,48 ± 143,97	397,27 ± 0,0	531,18 ± 0,0	434,55 ± 0,0	449,09 ± 0,0	423,64 ± 0,0
	PBS	176,06 ± 30,71	276,92 ± 83,63	322,13 ± 55,98	342,19 ± 87,31	339,45 ± 71,64	368,51 ± 92,92

Apêndice D – Resultado do Teste de Tukey para o intumescimento comparativo entre as membranas de quitosana por emulsão com as membranas de quitosana por nanoemulsão (água e PBS).

Amostras	% M0 Água	% M0 PBS	% Nano M4 Água	% Nano M4 PBS	% Nano M5 Água	% Nano M5 PBS	% Nano M6 Água	% Nano M6 PBS	% Nano M7 Água	% Nano M7 PBS	% Nano M8 Água	% Nano M8 PBS	% Nano M9 Água	% Nano M9 PBS	% Nano M10 Água	% Nano M10 PBS	% Nano M11 Água	% Nano M11 PBS
% M0 Água	0,00	9,79	255,45	77,26	65,82	52,97	904,53	174,98	26,75	6,52	109,28	127,61	79,27	95,81	130,46	103,41	349,37	294,24
% M0 PBS	9,79	0,00	265,24	87,05	75,61	62,75	914,32	184,77	16,96	3,27	119,06	137,40	89,06	105,60	140,24	113,20	359,16	304,03
% Nano M4 Água	255,45	265,24	0,00	178,19	189,63	202,48	649,08	80,47	282,20	261,97	146,18	127,84	176,18	159,64	124,99	152,04	93,92	38,79
% Nano M4 PBS	77,26	87,05	178,19	0,00	11,44	24,30	827,27	97,72	104,01	83,78	32,01	50,35	2,00	18,55	53,19	26,15	272,11	216,98
% Nano M5 Água	65,82	75,61	189,63	11,44	0,00	12,86	838,71	109,16	92,57	72,34	43,45	61,79	13,45	29,99	64,63	37,59	283,55	228,42
% Nano M5 PBS	52,97	62,75	202,48	24,30	12,86	0,00	851,56	122,02	79,71	59,48	56,31	74,64	26,30	42,84	77,49	50,44	296,41	241,28
% Nano M6 Água	904,53	914,32	649,08	827,27	838,71	851,56	0,00	729,55	931,28	911,05	795,26	776,92	825,26	808,72	774,07	801,12	555,16	610,29
% Nano M6 PBS	174,98	184,77	80,47	97,72	109,16	122,02	729,55	0,00	201,73	181,50	65,71	47,37	95,71	79,17	44,53	71,57	174,39	119,26
% Nano M7 Água	26,75	16,96	282,20	104,01	92,57	79,71	931,28	201,73	0,00	20,23	136,02	154,36	106,02	122,56	157,20	130,16	376,12	320,99
% Nano M7 PBS	6,52	3,27	261,97	83,78	72,34	59,48	911,05	181,50	20,23	0,00	115,79	134,13	85,79	102,33	136,97	109,93	355,89	300,76
% Nano M8 Água	109,28	119,06	146,18	32,01	43,45	56,31	795,26	65,71	136,02	115,79	0,00	18,33	30,01	13,47	21,18	5,86	240,10	184,97
% Nano M8 PBS	127,61	137,40	127,84	50,35	61,79	74,64	776,92	47,37	154,36	134,13	18,33	0,00	48,34	31,80	2,85	24,20	221,76	166,64
% Nano M9 Água	79,27	89,06	176,18	2,00	13,45	26,30	825,26	95,71	106,02	85,79	30,01	48,34	0,00	16,54	51,19	24,14	270,10	214,98
% Nano M9 PBS	95,81	105,60	159,64	18,55	29,99	42,84	808,72	79,17	122,56	102,33	13,47	31,80	16,54	0,00	34,65	7,60	253,56	198,44
% Nano M10 Água	130,46	140,24	124,99	53,19	64,63	77,49	774,07	44,53	157,20	136,97	21,18	2,85	51,19	34,65	0,00	27,04	218,92	163,79
% Nano M10 PBS	103,41	113,20	152,04	26,15	37,59	50,44	801,12	71,57	130,16	109,93	5,86	24,20	24,14	7,60	27,04	0,00	245,96	190,83
% Nano M11 Água	349,37	359,16	93,92	272,11	283,55	296,41	555,16	174,39	376,12	355,89	240,10	221,76	270,10	253,56	218,92	245,96	0,00	55,13
% Nano M11 PBS	294,24	304,03	38,79	216,98	228,42	241,28	610,29	119,26	320,99	300,76	184,97	166,64	214,98	198,44	163,79	190,83	55,13	0,00

\*Em vermelho as amostras que apresentaram diferença estatisticamente significativa.

Apêndice E – Percentual de umidade das membranas de quitosana por emulsão e membranas de quitosana por nanoemulsão, após 24h de secagem.

<b>Amostra</b>	<b>Umidade (%) <math>\pm</math> DP*</b>
M0	21,28 $\pm$ 1,2
M1	23,13 $\pm$ 1,1
M2	21,33 $\pm$ 0,3
M3	22,28 $\pm$ 2,1
M4	14,79 $\pm$ 1,9
M5	14,99 $\pm$ 0,9
M6	17,60 $\pm$ 7,0
M7	24,90 $\pm$ 3,8
M8	16,90 $\pm$ 3,0
M9	14,93 $\pm$ 3,8
M10	18,03 $\pm$ 2,4
M11	23,82 $\pm$ 3,7
Nano M4	16,93 $\pm$ 3,0
Nano M5	15,06 $\pm$ 4,3
Nano M6	16,38 $\pm$ 0,8
Nano M7	13,46 $\pm$ 0,8
Nano M8	17,40 $\pm$ 0,7
Nano M9	19,22 $\pm$ 1,5
Nano M10	13,84 $\pm$ 0,9
Nano M11	16,23 $\pm$ 1,6

\* Desvio padrão

Apêndice F – Resultado do Teste de Tukey para o teste de umidade comparativo entre as membranas de quitosana por emulsão e membranas de quitosana por nanoemulsão.

Amostras	M-0	M-1	M-2	M-3	M-4	M-5	M-6	M-7	M-8	M-9	M-10	M-11	Nano M4	Nano M5	Nano M6	Nano M7	Nano M8	Nano M9	Nano M10	Nano M11
M-0	0	1,846938	0,049753	0,989097	6,490506	6,2905	3,675391	3,620589	4,302202	6,355686	3,25372	2,53775	4,348711	6,221987	4,896473	7,814685	3,878821	2,06389	7,443363	5,044669
M-1	1,846938	0	1,797184	0,85784	8,337443	8,137437	5,522328	1,773652	6,149139	8,202624	5,100657	0,690813	6,195648	8,068925	6,743411	<b>9,661623</b>	5,725758	3,910828	<b>9,290301</b>	6,891607
M-2	0,049753	1,797184	0	0,939344	6,540259	6,340253	3,725144	3,570836	4,351955	6,405439	3,303473	2,487997	4,398464	6,27174	4,946226	7,864438	3,928574	2,113643	7,493117	5,094422
M-3	0,989097	0,85784	0,939344	0	7,479603	7,279597	4,664488	2,631492	5,291299	7,344783	4,242817	1,548653	5,337808	7,211084	5,88557	<b>8,803782</b>	4,867918	3,052987	8,432461	6,033766
M-4	6,490506	8,337443	6,540259	7,479603	0	0,200006	2,815115	<b>10,11109</b>	2,188304	0,134819	3,236786	<b>9,028256</b>	2,141795	0,268519	1,594033	1,324179	2,611685	4,426615	0,952858	1,445837
M-5	6,2905	8,137437	6,340253	7,279597	0,200006	0	2,615109	<b>9,911089</b>	1,988298	0,065187	3,03678	<b>8,82825</b>	1,941789	0,068513	1,394026	1,524185	2,411679	4,226609	1,152864	1,245831
M-6	3,675391	5,522328	3,725144	4,664488	2,815115	2,615109	0	7,29598	0,626811	2,680295	0,421671	6,213141	0,67332	2,546596	1,221082	4,139294	0,20343	1,611501	3,767973	1,369278
M-7	3,620589	1,773652	3,570836	2,631492	<b>10,11109</b>	<b>9,911089</b>	7,29598	0	7,922791	<b>9,976275</b>	6,874309	1,082839	7,9693	<b>9,842576</b>	8,517062	<b>11,43527</b>	7,49941	5,684479	<b>11,06395</b>	<b>8,665258</b>
M-8	4,302202	6,149139	4,351955	5,291299	2,188304	1,988298	0,626811	7,922791	0	2,053484	1,048482	6,839952	0,046509	1,919785	0,594271	3,512483	0,423381	2,238312	3,141162	0,742467
M-9	6,355686	8,202624	6,405439	7,344783	0,134819	0,065187	2,680295	<b>9,976275</b>	2,053484	0	3,101967	<b>8,893436</b>	2,006975	0,133699	1,459213	1,458999	2,476865	4,291796	1,087677	1,311017
M-10	3,25372	5,100657	3,303473	4,242817	3,236786	3,03678	0,421671	6,874309	1,048482	3,101967	0	5,79147	1,094991	2,968268	1,642754	4,560965	0,625101	1,189829	4,189644	1,79095
M-11	2,53775	0,690813	2,487997	1,548653	<b>9,028256</b>	<b>8,82825</b>	6,213141	1,082839	6,839952	<b>8,893436</b>	5,79147	0	6,886461	<b>8,759737</b>	7,434223	<b>10,35244</b>	6,416571	4,60164	<b>9,981114</b>	7,582419
Nano M4	4,348711	6,195648	4,398464	5,337808	2,141795	1,941789	0,67332	7,9693	0,046509	2,006975	1,094991	6,886461	0	1,873276	0,547762	3,465974	0,46989	2,284821	3,094653	0,695958
Nano M5	6,221987	8,068925	6,27174	7,211084	0,268519	0,068513	2,546596	<b>9,842576</b>	1,919785	0,133699	2,968268	<b>8,759737</b>	1,873276	0	1,325514	1,592698	2,343166	4,158097	1,221376	1,177318
Nano M6	4,896473	6,743411	4,946226	5,88557	1,594033	1,394026	1,221082	8,517062	0,594271	1,459213	1,642754	7,434223	0,547762	1,325514	0	2,918212	1,017652	2,832583	2,54689	0,148196
Nano M7	7,814685	<b>9,661623</b>	7,864438	<b>8,803782</b>	1,324179	1,524185	4,139294	<b>11,43527</b>	3,512483	1,458999	4,560965	<b>10,35244</b>	3,465974	1,592698	2,918212	0	3,935864	5,750795	0,371322	2,770016
Nano M8	3,878821	5,725758	3,928574	4,867918	2,611685	2,411679	0,20343	7,49941	0,423381	2,476865	0,625101	6,416571	0,46989	2,343166	1,017652	3,935864	0	1,814931	3,564543	1,165848
Nano M9	2,06389	3,910828	2,113643	3,052987	4,426615	4,226609	1,611501	5,684479	2,238312	4,291796	1,189829	4,60164	2,284821	4,158097	2,832583	5,750795	1,814931	0	5,379473	2,980779
Nano M10	7,443363	<b>9,290301</b>	7,493117	8,432461	0,952858	1,152864	3,767973	11,06395	3,141162	1,087677	4,189644	<b>9,981114</b>	3,094653	1,221376	2,54689	0,371322	3,564543	5,379473	0	2,398694
Nano M11	5,044669	6,891607	5,094422	6,033766	1,445837	1,245831	1,369278	<b>8,665258</b>	0,742467	1,311017	1,79095	7,582419	0,695958	1,177318	0,148196	2,770016	1,165848	2,980779	2,398694	0

\*Em vermelho as amostras que apresentaram diferença estatisticamente significativa.

Apêndice G – Valores de ângulo de contato entre membranas de quitosana por emulsão e membranas de quitosana por nanoemulsão com água destilada.

<b>Amostra</b>	<b>Média ± Desvio padrão</b>
M0	66,77 ± 2,56
M1	24,03 ± 1,95
M2	58,26 ± 2,05
M3	79,13 ± 3,64
M4	60,03 ± 2,25
M5	59,06 ± 0,32
M6	50,56 ± 2,71
M7	45,40 ± 1,12
M8	76,73 ± 2,05
M9	65,76 ± 3,38
M10	70,40 ± 2,50
M11	68,23 ± 3,78
Nano M4	39,03 ± 3,55
Nano M5	36,73 ± 3,03
Nano M6	23,73 ± 4,30
Nano M7	46,56 ± 4,60
Nano M8	56,46 ± 2,80
Nano M9	45,43 ± 3,67
Nano M10	50,26 ± 1,74
Nano M11	46,30 ± 4,78

Apêndice H – Resultado do Teste de Tukey para o ângulo de contato comparativo entre as membranas de quitosana por emulsão e membranas de quitosana por nanoemulsão.

	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	Nano M4	Nano M5	Nano M6	Nano M7	Nano M8	Nano M9	Nano M10	Nano M11
M0	0	<b>42,70</b>	8,47	<b>12,40</b>	6,70	7,67	<b>16,17</b>	<b>21,33</b>	<b>10,00</b>	0,97	3,67	1,50	<b>27,70</b>	<b>30,00</b>	<b>43,00</b>	<b>20,17</b>	<b>10,27</b>	<b>21,30</b>	<b>16,47</b>	<b>20,43</b>
M1	<b>42,70</b>	0	<b>34,23</b>	<b>55,10</b>	<b>36,00</b>	<b>35,03</b>	<b>26,53</b>	<b>21,37</b>	<b>52,70</b>	<b>41,73</b>	<b>46,37</b>	<b>44,20</b>	<b>15,00</b>	<b>12,70</b>	0,30	<b>22,53</b>	<b>32,43</b>	<b>21,40</b>	<b>26,23</b>	<b>22,27</b>
M2	8,47	<b>34,23</b>	0	<b>20,87</b>	1,77	0,80	7,70	<b>12,87</b>	<b>18,47</b>	7,50	<b>12,13</b>	<b>9,97</b>	<b>19,23</b>	<b>21,53</b>	<b>34,53</b>	<b>11,70</b>	1,80	<b>12,83</b>	8,00	11,97
M3	<b>12,40</b>	<b>55,10</b>	<b>20,87</b>	0	<b>19,10</b>	<b>20,07</b>	<b>28,57</b>	<b>33,73</b>	2,40	<b>13,37</b>	8,73	<b>10,90</b>	<b>40,10</b>	<b>42,40</b>	<b>55,40</b>	<b>32,57</b>	<b>22,67</b>	<b>33,70</b>	<b>28,87</b>	<b>32,83</b>
M4	6,70	<b>36,00</b>	1,77	<b>19,10</b>	0	0,97	<b>9,47</b>	<b>14,63</b>	<b>16,70</b>	5,73	<b>10,37</b>	8,20	<b>21,00</b>	<b>23,30</b>	<b>36,30</b>	<b>13,47</b>	3,57	<b>14,60</b>	<b>9,77</b>	<b>13,73</b>
M5	7,67	<b>35,03</b>	0,80	<b>20,07</b>	0,97	0	8,50	<b>13,67</b>	<b>17,67</b>	6,70	<b>11,33</b>	9,17	<b>20,03</b>	<b>22,33</b>	<b>35,33</b>	<b>12,50</b>	2,60	<b>13,63</b>	8,80	<b>12,77</b>
M6	<b>16,17</b>	<b>26,53</b>	7,70	<b>28,57</b>	<b>9,47</b>	8,50	0	5,17	<b>26,17</b>	<b>15,20</b>	<b>19,83</b>	<b>17,67</b>	<b>11,53</b>	<b>13,83</b>	<b>26,83</b>	4,00	5,90	5,13	0,30	4,27
M7	<b>21,33</b>	<b>21,37</b>	<b>12,87</b>	<b>33,73</b>	<b>14,63</b>	<b>13,67</b>	5,17	0	<b>31,33</b>	<b>20,37</b>	<b>25,00</b>	<b>22,83</b>	6,37	8,67	<b>21,67</b>	1,17	<b>11,07</b>	0,03	4,87	0,90
M8	<b>10,00</b>	<b>52,70</b>	<b>18,47</b>	2,40	<b>16,70</b>	<b>17,67</b>	<b>26,17</b>	<b>31,33</b>	0	<b>10,97</b>	6,33	8,50	<b>37,70</b>	<b>40,00</b>	<b>53,00</b>	<b>30,17</b>	<b>20,27</b>	<b>31,30</b>	<b>26,47</b>	<b>30,43</b>
M9	0,97	<b>41,73</b>	7,50	<b>13,37</b>	5,73	6,70	<b>15,20</b>	<b>20,37</b>	<b>10,97</b>	0	4,63	2,47	<b>26,73</b>	<b>29,03</b>	<b>42,03</b>	<b>19,20</b>	<b>9,30</b>	<b>20,33</b>	<b>15,50</b>	<b>19,47</b>
M10	3,67	<b>46,37</b>	<b>12,13</b>	8,73	<b>10,37</b>	<b>11,33</b>	<b>19,83</b>	<b>25,00</b>	6,33	4,63	0	2,17	<b>31,37</b>	<b>33,67</b>	<b>46,67</b>	<b>23,83</b>	<b>13,93</b>	<b>24,97</b>	<b>20,13</b>	<b>24,10</b>
M11	1,50	<b>44,20</b>	<b>9,97</b>	<b>10,90</b>	8,20	9,17	<b>17,67</b>	<b>22,83</b>	8,50	2,47	2,17	0	<b>29,20</b>	<b>31,50</b>	<b>44,50</b>	<b>21,67</b>	<b>11,77</b>	<b>22,80</b>	<b>17,97</b>	<b>21,93</b>
Nano M4	<b>27,70</b>	<b>15,00</b>	<b>19,23</b>	<b>40,10</b>	<b>21,00</b>	<b>20,03</b>	<b>11,53</b>	6,37	<b>37,70</b>	<b>26,73</b>	<b>31,37</b>	<b>29,20</b>	0	2,30	<b>15,30</b>	7,53	<b>17,43</b>	6,40	<b>11,23</b>	7,27
Nano M5	<b>30,00</b>	<b>12,70</b>	<b>21,53</b>	<b>42,40</b>	<b>23,30</b>	<b>22,33</b>	<b>13,83</b>	8,67	<b>40,00</b>	<b>29,03</b>	<b>33,67</b>	<b>31,50</b>	2,30	0	<b>13,00</b>	<b>9,83</b>	<b>19,73</b>	8,70	<b>13,53</b>	9,57
Nano M6	<b>43,00</b>	0,30	<b>34,53</b>	<b>55,40</b>	<b>36,30</b>	<b>35,33</b>	<b>26,83</b>	<b>21,67</b>	<b>53,00</b>	<b>42,03</b>	<b>46,67</b>	<b>44,50</b>	<b>15,30</b>	<b>13,00</b>	0	<b>22,83</b>	<b>32,73</b>	<b>21,70</b>	<b>26,53</b>	<b>22,57</b>
Nano M7	<b>20,17</b>	<b>22,53</b>	<b>11,70</b>	<b>32,57</b>	<b>13,47</b>	<b>12,50</b>	4,00	1,17	<b>30,17</b>	<b>19,20</b>	<b>23,83</b>	<b>21,67</b>	7,53	<b>9,83</b>	<b>22,83</b>	0	<b>9,90</b>	1,13	3,70	0,27
Nano M8	<b>10,27</b>	<b>32,43</b>	1,80	<b>22,67</b>	3,57	2,60	5,90	<b>11,07</b>	<b>20,27</b>	9,30	<b>13,93</b>	<b>11,77</b>	<b>17,43</b>	<b>19,73</b>	<b>32,73</b>	<b>9,90</b>	0	<b>11,03</b>	6,20	<b>10,17</b>
Nano M9	<b>21,30</b>	<b>21,40</b>	<b>12,83</b>	<b>33,70</b>	<b>14,60</b>	<b>13,63</b>	5,13	0,03	<b>31,30</b>	<b>20,33</b>	<b>24,97</b>	<b>22,80</b>	6,40	8,70	<b>21,70</b>	1,13	<b>11,03</b>	0	4,83	0,87
Nano M10	<b>16,47</b>	<b>26,23</b>	8,00	<b>28,87</b>	<b>9,77</b>	8,80	0,30	4,87	<b>26,47</b>	<b>15,50</b>	<b>20,13</b>	<b>17,97</b>	<b>11,23</b>	<b>13,53</b>	<b>26,53</b>	3,70	6,20	4,83	0	3,97
Nano M11	<b>20,43</b>	<b>22,27</b>	<b>11,97</b>	<b>32,83</b>	<b>13,73</b>	<b>12,77</b>	4,27	0,90	<b>30,43</b>	<b>19,47</b>	<b>24,10</b>	<b>21,93</b>	7,27	<b>9,57</b>	<b>22,57</b>	0,27	<b>10,17</b>	0,87	3,97	0

\*Em vermelho as amostras que apresentaram diferença estatisticamente significativa.