



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

EVELLHEYN REBOUÇAS PONTES

AEROGEL DE CELULOSE BACTERIANA SILANIZADA INCORPORADO DE
ÓLEOS NATURAIS COMO POTENCIAL CURATIVO DÉRMICO

FORTALEZA

2020

EVELLHEYN REBOUÇAS PONTES

AEROGEL DE CELULOSE BACTERIANA SILANIZADA INCORPORADO DE ÓLEOS
NATURAIS COMO POTENCIAL CURATIVO DÉRMICO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Engenharia Química. Área de concentração: Processos químicos e bioquímicos.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Silveira Vieira.
Coorientador: Prof. Dra. Fábila Karine Andrade

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- P858a Pontes, Evellheyn Rebouças.
AEROGEL DE CELULOSE BACTERIANA SILANIZADA INCORPORADO DE ÓLEOS
NATURAIS COMO POTENCIAL CURATIVO DÉRMICO / Evellheyn Rebouças Pontes. – 2020.
86 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Transportes, Fortaleza, 2020.
Orientação: Prof. Dr. Rodrigo Silveira Vieira.
Coorientação: Profa. Dra. Fábila Karine Andrade.
1. Celulose bacteriana. 2. Silanização. 3. Óleos naturais. 4. Cicatrização. I. Título.
- CDD 388
-

EVELLHEYN REBOUÇAS PONTES

AEROGEL DE CELULOSE BACTERIANA SILANIZADA INCORPORADO DE ÓLEOS
NATURAIS COMO POTENCIAL CURATIVO DÉRMICO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Engenharia Química. Área de concentração: Processos químicos e bioquímicos.

Aprovada em: 19/06/2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rodrigo Silveira Vieira (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Morsyleide de Freitas Rosa
Examinadora Interna

Prof. Dra. Mariana Agostini de Moraes
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Dra. Niédja Fittipaldi Vasconcelos
Examinadora Externa a Instituição

À Deus, que em sua infinita misericórdia, me deu coragem para seguir, sobretudo, em frente. Aos meus amados pais Tereza Cristina e Everardo pelo amor incondicional e todo sacrifício feito em prol da nossa família e da nossa educação. Ao meu querido irmão, Everardhy, pelo amor e amizade. Ao meu esposo e companheiro de vida, Clóvis, por todo cuidado, amor e compreensão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Dr. Rodrigo Silveira Vieira pela orientação, apoio, compreensão e oportunidade de fazer parte da equipe.

A minha coorientadora Dra. Fábila Karine Andrade por toda paciência, palavras de apoio e motivação, por todos os ensinamentos e compreensão ao longo da pesquisa, e por acreditar na minha capacidade de vencer as dificuldades.

Ao professor Dr. Francisco César Barroso Barbosa, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará (Campus Sobral), pela parceria prontamente aceita.

Às Dras. Morsyleide de Freitas Rosa, Niedja Fittipaldi Vasconcelos e Mariana Agostini de Moraes pelas considerações e sugestões pertinentes a melhoria deste trabalho.

À professora Dra. Selene Maia de Moraes, da Universidade Estadual do Ceará (UECE), pela contribuição fundamental para a realização deste trabalho.

As amigas Ludimila Gomes, Thalita Adrielly, Mayara Goiana, Ândressa Galvão, Luísa Vasconcelos, Sandy Lucindo, Lana Garcia, agradeço de todo coração por toda ajuda e contribuição, pela amizade, por tornarem os dias mais leves e pelas palavras de incentivo.

Aos amigos Géssica Cavalcante e André Luís pelas colaborações e suporte dados para desenvolvimento deste trabalho.

Ao demais colegas do LMA e LTB (EMBRAPA), NPL e LIBS (UFC) pela colaboração e suporte, por dividirem seu dia-a-dia comigo, compartilhando conhecimento. Pela infraestrutura oferecida nestes laboratórios, fundamentais para a realização da pesquisa.

A UFC, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

A Embrapa Agroindústria Tropical pela infraestrutura e suporte técnico.

A CAPES pela concessão da bolsa de mestrado, possibilitando a realização deste trabalho.

RESUMO

A versatilidade e a biocompatibilidade da celulose bacteriana (CB) permitem seu uso em aplicações biomédicas, como no tratamento de lesões cutâneas. A CB possui características importantes para um curativo, porém não possui capacidade antimicrobiana, sendo necessário a adição de agentes farmacológicos. Uma alternativa é a incorporação de óleos naturais, como o óleo essencial de copaíba (OEC), óleo essencial de gerânio (OEG) e o óleo vegetal de buriti (OVB), que possuem efeito antibactericida, propriedades analgésicas e anti-inflamatórias. Entretanto, a hidrofiliabilidade característica da CB impossibilita a incorporação destes óleos, sendo uma alternativa a modificação química da suspensão de CB por silanização utilizando o metiltrimetoxissilano (MTMS), obtendo uma matriz hidrofóbica. Neste trabalho membranas de CB foram desconstruídas, adicionadas de carboximetilcelulose (CMC) e desfibriladas em moinho coloidal para obtenção da suspensão de CB. A suspensão foi hidrofobizada e liofilizada obtendo o aerogel hidrofóbico. O aerogel de CB modificado apresentou elevado grau de hidrofobização com ângulo de contato de $127,9^\circ$ com a água. Essa modificação também pode ser comprovada pela análise de FTIR na qual foi possível observar as bandas de vibração em 780 cm^{-1} , 905 cm^{-1} , e 1275 cm^{-1} referentes as ligações feitas entre o silício derivado do reagente MTMS com o grupo metil ($-\text{CH}^3$), o carbono e o oxigênio da cadeia celulósica. O aerogel silanizado foi capaz de absorver 1,76 vezes mais óleo do que o aerogel de CB padrão. Os ensaios de citotoxicidade demonstraram que o aerogel silanizado não foi tóxico para as células de fibroblastos (L929) e queratinócitos (HaCat), permitindo viabilidade celular de 85% e 95% após 48 horas, respectivamente. As análises de CG-EM dos óleos mostraram que os constituintes majoritários do OEC são os sesquiterpenos (77%), enquanto que do OEG são os monoterpenos (48%), e do OVB são os ácidos graxos (86%). Quanto à atividade antimicrobiana apenas o OEG apresentou ação bactericida para *E. coli* e *S. aureus* na concentração de 16 mg.mL^{-1} e ação fungicida para *C. albicans* na concentração de 4 mg.mL^{-1} . Na análise de citotoxicidade o OVB apresentou os melhores resultados de viabilidade celular para ambas as linhagens. Após 48 horas de cultivo celular, a concentração de $100\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$ permitiu a viabilidade de aproximadamente 142% e 174% das células de fibroblastos (L929) e queratinócitos (HaCat), respectivamente. Assim, os resultados obtidos neste trabalho tornam promissor o uso do aerogel de CB silanizado incorporado de óleos para o tratamento de feridas.

Palavras-chave: Celulose bacteriana. Silanização. Óleos naturais. Cicatrização.

ABSTRACT

The versatility and biocompatibility of bacterial cellulose (BC) allows its use in biomedical applications, such as in the treatment of skin lesions. BC has important characteristics for a dressing, but has no antimicrobial capacity, requiring the addition of pharmacological agents. An alternative is the incorporation of natural oils, such as copaiba essential oil (OEC), geranium essential oil (OEG) and buriti vegetable oil (OVB), which have antibacterial effect, analgesic and anti-inflammatory properties. However, the hydrophilicity characteristic of BC makes it impossible to incorporate these oils, being an alternative to chemical modification of the BC suspension by silanization using methyltrimethoxysilane (MTMS), obtaining a hydrophobic matrix. In this work, BC membranes were deconstructed, added with carboxymethylcellulose (CMC) and defibrillated in a colloid mill to obtain the BC suspension. The suspension was hydrophobized and lyophilized to obtain the hydrophobic airgel. The modified BC airgel showed a high degree of hydrophobization with a contact angle of 127.9° with water. This modification can also be proved by the FTIR analysis in which it was possible to observe the vibration bands at 780 cm^{-1} , 905 cm^{-1} , and 1275 cm^{-1} regarding the connections made between the silicon derived from the MTMS reagent with the methyl group ($-\text{CH}^3$), carbon and oxygen in the cellulosic chain. The silanized airgel was able to absorb 1.76 times more oil than the standard BC airgel. The cytotoxicity tests demonstrated that the silanized airgel was not toxic to fibroblast cells (L929) and keratinocytes (HaCat), allowing cell viability of 85% and 95% after 48 hours, respectively. The GC-EM analyzes of the oils showed that the major constituents of the OEC are sesquiterpenes (77%), while that of OEG are monoterpenes (48%), and OVB are fatty acids (86%). Regarding antimicrobial activity, only OEG showed bactericidal action for *E. coli* and *S. aureus* at a concentration of 16 mg.mL^{-1} and fungicidal action for *C. albicans* at a concentration of 4 mg.mL^{-1} . In the cytotoxicity analysis, the OVB presented the best results of cell viability for both strains. After 48 hours of cell culture, the concentration of $100\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$ allowed the viability of approximately 142% and 174% of fibroblast cells (L929) and keratinocytes (HaCat), respectively. Thus, the results obtained in this work make promising the use of silanized BC airgel incorporated with oils for the treatment of wounds.

Keywords: Bacterial cellulose. Silanization. Natural oils. Healing.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Composição da pele	17
Figura 2 – Representação esquemática do processo de silanização da CB utilizando solução de MTMS	26
Figura 3 – <i>Copaifera officinalis</i> (folhas e frutos)	30
Figura 4 – <i>Pelargonium graveolens</i> (folhas e flores)	31
Figura 5 – <i>Mauritia flexuosa</i> (árvore, lado esquerdo e frutos, lado direito)	32
Figura 6 – Fluxograma das etapas desenvolvidas nesse trabalho	33
Figura 7 – Representação esquemática do processo de produção e purificação das membranas de celulose bacteriana	35
Figura 8 – Representação esquemática do processo de obtenção de celulose bacteriana desfibrilada	36
Figura 9 – Representação esquemática do processo de silanização da suspensão de celulose bacteriana	37
Figura 10 – Representação esquemática do processo de obtenção dos aerogéis de CB padrão e CB silanizada	38
Figura 11 – Representação esquemática do processo de funcionalização dos aerogéis de CB padrão e silanizada em água, em óleo essencial de copaíba (OEC), em óleo essencial de gerânio (OEG) e em óleo vegetal de buriti (OVB)	39
Figura 12 – Fotografias dos aerogéis a) CB padrão e b) CB silanizada	48
Figura 13 – Padrões de Difração de Raios-X dos aerogéis de CB padrão e CB silanizada	50
Figura 14 – FTIR dos aerogéis de CB padrão e CB silanizada	51
Figura 15 – Curvas a) termogravimétricas e suas b) derivadas dos aerogel de CB padrão e do aerogel de CB silanizada	52
Figura 16 – Curvas de DSC dos aerogéis de CB padrão e CB silanizada	54
Figura 17 – MEV dos aerogéis de CB padrão (a e b) e CB silanizada (c e d)	56

Figura 18 – Micrografias e espectro de EDS para os aerogéis de a) CB padrão e b) CB silanizada	57
Figura 19 – Imagem dos aerogéis de CB padrão (CBP) e CB silanizada (CBS) em diferentes condições: a) secos, b) após contato com água, c) após contato com óleo natural	60
Figura 20 – Capacidade de absorção dos aerogéis de CB padrão e CB silanizada de absorver água, óleo essencial de copaíba (OEC), óleo essencial de gerânio (OEG) e óleo vegetal de buriti (OVB)	61
Figura 21 – Gráficos de viabilidade celular dos aerogéis de celulose bacteriana padrão (CBP) e CB silanizada (CBS) em relação à a) fibroblastos de ratos (L929) e b) queratinócitos humanos (HaCat) pelo método indireto (n=3)	63
Figura 22 – Cromatograma CG-EM do óleo essencial de copaíba	64
Figura 23 – Cromatograma CG-EM do óleo essencial de gerânio	65
Figura 24 – Cromatograma CG-EM do óleo vegetal de buriti	65
Figura 25 – Avaliação da citotoxicidade de diferentes concentrações dos óleos concentrações para as células a) fibroblastos e b) queratinócitos	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Densidade aparente, densidade real, porosidade e encolhimento dos aerogéis de celulose bacteriana (CB padrão) e celulose bacteriana silanizada	48
Tabela 2 – Dados de termogravimetria para os aerogéis de CB padrão e CB silanizada	52
Tabela 3 – Temperatura de fusão cristalina (T_m) e entalpia das reações endotérmicas (ΔH_m) observadas nas curvas de DSC dos aerogéis de CB padrão e aerogel de CB silanizada	54
Tabela 4 – Principais componentes encontrados nos aerogéis de CB padrão e CB silanizada a partir da análise de EDS	57
Tabela 5 – Ângulo de contato dos aerogéis de CB padrão e CB silanizada com a água, e imagens obtidas da interação	58
Tabela 6 – Composição percentual dos principais constituintes dos óleos analisados no CG-EM	66
Tabela 7 – Atividade antimicrobiana do óleo essencial de copaíba, óleo essencial de gerânio e do óleo vegetal de buriti	68

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo geral	16
2.2	Objetivos específicos	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1	Lesões na pele	17
3.2	Curativos	19
3.3	Biomateriais	20
3.4	Celulose Bacteriana (CB).....	21
3.4.1	<i>Silanização</i>	24
3.5	Aerogeis	26
3.6	Óleos Naturais	28
3.6.1	<i>Óleo essencial de Copaíba (Copaífera officinalis)</i>	29
3.6.2	<i>Óleo essencial de Gerânio Bourbon (Pelargonium graveolens)</i>	31
3.6.3	<i>Óleo vegetal de Buriti (Mauritia flexuosa)</i>	32
4	MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1	Materiais	33
4.2	Métodos	34
4.2.1	<i>Produção e purificação da celulose bacteriana (CB)</i>	34
4.2.2	<i>Desfibrilação das membranas de CB</i>	35
4.2.3	<i>Modificação química da CB desfibrilada</i>	36
4.2.4	<i>Preparo dos aerogeis a partir das suspensões de CB padrão e CB silanizada</i> .	37
4.2.5	<i>Incorporação dos óleos naturais nos aerogeis de CB padrão e CB silanizada</i>	38
4.3	Caracterizações	39
4.3.1	<i>Medidas de porosidade e densidade</i>	39
4.3.2	<i>Grau de encolhimento</i>	40
4.3.3	<i>Difração de raios-X (DRX)</i>	41
4.3.4	<i>Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</i>	41
4.3.5	<i>Análise Termogravimétrica (ATG)</i>	41
4.3.6	<i>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</i>	42

4.3.7	<i>Microscopia de Eletrônica de Varredura / Espectroscopia de Energia Dispersiva (MEV/EDS)</i>	42
4.3.8	<i>Ângulo de contato</i>	42
4.3.9	<i>Absorção de líquidos</i>	43
4.3.10	<i>Viscosidade absoluta</i>	43
4.3.11	<i>Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (CG-EM)</i>	43
4.3.12	<i>Atividade antimicrobiana</i>	44
4.3.13	<i>Citotoxicidade</i>	46
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1	Obtenção dos aerogéis de CB padrão e CB silanizada	48
5.2	Caracterização dos aerogéis	48
5.2.1	<i>Porosidade e Densidade</i>	48
5.2.2	<i>Difração de raios-X (DRX)</i>	49
5.2.3	<i>Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)</i>	51
5.2.4	<i>Análise Termogravimétrica (ATG)</i>	51
5.2.5	<i>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</i>	53
5.2.6	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura / Espectroscopia de Energia Dispersiva (MEV/EDS)</i>	55
5.2.7	<i>Ângulo de contato</i>	58
5.2.8	<i>Capacidade de absorção de líquidos</i>	59
5.2.9	<i>Viabilidade celular</i>	62
5.3	Caracterização dos Óleos	64
5.3.1	<i>Caracterização dos óleos por Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massa (CG-EM)</i>	64
5.3.2	<i>Atividade antimicrobiana</i>	68
5.3.3	<i>Citotoxicidade</i>	69
	CONCLUSÃO	73
	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	74
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

1 INTRODUÇÃO

A pele, o maior órgão do corpo humano, tem papel crucial no processo de equilíbrio e na proteção dos outros órgãos, está sujeita a diversos tipos de lesões e traumas (KIM *et al.*, 2019). O processo de cicatrização depende de diversos fatores, como profundidade da ferida (superficial, dérmica ou espessura completa), risco de infecção (limpas, contaminadas ou sujas) e sua complexidade (simples, complexa ou complicada). Além disso, fatores inerentes ao organismo do portador da lesão, como idade, excesso de peso e ocorrência de doenças crônicas, como a diabetes (AMBEKAR; KANDASUBRAMANIAN, 2019) podem dificultar o processo cicatricial, sendo necessário o uso de medicamentos e/ou curativos.

O uso excessivo de antibióticos e drogas sintéticas para o tratamento de feridas pode desencadear resistência de bactérias, tornando o medicamento ineficaz no tratamento, além de poder causar reações alérgicas ao paciente e reduzir a umidade no leito da ferida (CHIN *et al.*, 2019). Portanto, curativos bioativos é uma alternativa promissora e necessária a muitos pacientes, principalmente para aqueles que já apresentem comorbidades, tendo em vista que eles podem acelerar e promover ativamente o processo de cicatrização.

Diferentes materiais poliméricos são estudados visando aplicações biomédicas, especialmente os polímeros naturais devido a biocompatibilidade e similaridade estrutural com a pele (NASERI-NOSAR; ZIORA, 2018). Dentre esses destaca-se a celulose bacteriana (CB), que possui elevada pureza por não apresentar em sua composição lignina e hemicelulose, frequentemente, associadas à celulose de origem vegetal. A CB possui características que são desejáveis a um curativo de pele, dentre elas biocompatibilidade, elevada resistência a tração e flexibilidade, permeabilidade a vapores e absorvidade de fluidos (SULAEVA *et al.*, 2015), biodegradável, elevada porosidade e cristalinidade (SHAH *et al.*, 2013).

A CB é sintetizada por bactérias aeróbicas e não patogênicas, que podem ter suas propriedades adaptadas durante sua biossíntese. Após a formação da membrana tratamentos físicos e/ou químicos podem ser empregados, afim de modificar, aprimorar e/ou agregar características específicas e desejáveis ao material celulósico. O aerogel de CB é obtido pela desconstrução física do material celulósico, seguido de liofilização, o qual deixa espaços vazios no material, formando uma estrutura interconectada altamente porosa (KARADAGLI *et al.*, 2015; HU *et al.*, 2014), que pode ser utilizada para incorporar/armazenar substâncias bioativas/fármacos, ao mesmo tempo que pode evitar a acelerada degradação dos compostos e sua dosagem descontrolada (ESQUIVEL-CASTRO *et al.*, 2019). Nesse sentido, o aerogel de

CB pode servir como matriz para carrear propriedades específicas destinadas a auxiliar o processo de cicatrização de lesões cutâneas.

A desconstrução física da CB realizada através de processos mecânicos tem como finalidade obter uma suspensão aquosa de celulose. A estabilidade e a homogeneidade dessa suspensão interferem diretamente na obtenção do aerogel, aditivos químicos com elevada densidade de carga podem ser adicionados à suspensão, a fim de impedir a agregação e decantação das fibrilas e para melhorar a desconstrução do material celulósico. Um reagente químico muito utilizado é o radical 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinoxilo (TEMPO), que tem a desvantagem do elevado custo. Uma alternativa é a utilização de carboximetilcelulose (CMC), que é um derivado solúvel da celulose, de baixo custo, ecológico, não tóxico que pode ser usado como alternativa promissora para melhorar a estabilidade das suspensões de CB, favorecendo a obtenção de aerogéis com elevada porosidade e uniformidade (TSHILOVHI, MISHRA, MISHRA, 2020; XIANG *et al.*, 2018).

Diversos bioativos de origem natural, como os óleos (vegetal ou essencial), podem apresentar propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas e antioxidantes importantes para a cicatrização tecidual. Além dessas propriedades, alguns são capazes de promover a proliferação de células epiteliais (PÉREZ-RECALDE; ARIAS; HERMIDA, 2018). Assim, a utilização dos óleos naturais mostra-se alternativa promissora ao tratamento de diversas injúrias infecciosas, por sua biodisponibilidade, menor probabilidade de efeitos colaterais (quando comparados as drogas sintéticas) e por evitar a resistência dos microrganismos (JJI *et al.*, 2019). Diante disso, destacam-se os óleos de copaíba (*Copaifera officinalis*), gerânio (*Pelargonium graveolens*) e buriti (*Mauritia flexuosa*) que apresentam propriedades anti-leshmanicida, antimicrobiano, anti-inflamatório e antioxidantes, podendo atuar como cicatrizantes naturais (RAHMAN *et al.*, 2020; DEBONE *et al.*, 2019; NOBRE *et al.*, 2018).

Para se obter aerogéis de CB com propriedades oleofílicas, modificação química com intuito de diminuir a alta hidrofiliabilidade inerente do material celulósico, pode ser realizada utilizando derivados do silício (SALAKHOVÁ, 2012). A hidrofobização do material celulósico por silanização utilizando o reagente trimetilmtoxissilano (MTMS) ocorre através da inserção de moléculas hidrofóbicas de silício na molécula D-glicopiranosose (unidade formadora da celobiose, monômero da celulose) (ZHANG *et al.*, 2014).

Diante dos assuntos expostos, o presente trabalho teve como objetivo produzir aerogel de celulose bacteriana silanizada para a incorporação de óleos naturais com propriedades bioativas visando desenvolver um curativo de pele capaz de auxiliar no processo de cicatrização de feridas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver aerogéis de celulose bacteriana silanizada incorporados com óleos vegetais e essenciais, visando obter um curativo bioativo para aplicação no tratamento de lesões cutâneas.

2.2 Objetivos Específicos

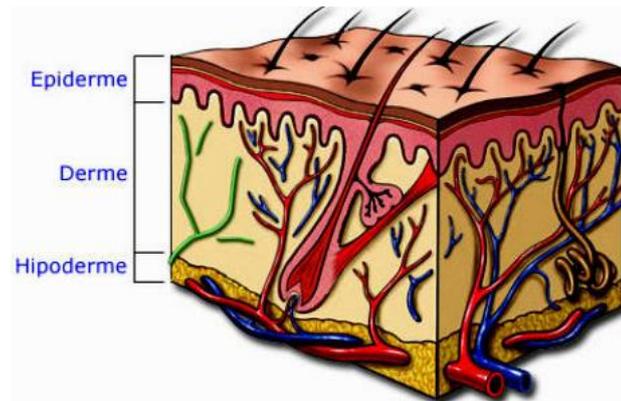
- Desenvolver um processo para obtenção de suspensão estável de celulose bacteriana (CB), utilizando carboximetilcelulose (CMC) e homogeneizador de alta rotação;
- Modificar quimicamente a suspensão de CB desfibrilada via reação de silanização;
- Determinar as propriedades físico-químicas, morfológicas e citotóxicas do aerogel de CB silanizada;
- Determinar as características biológicas dos óleos essenciais de copaíba e gerânio e do óleo vegetal de buriti;
- Incorporar por absorção os óleos naturais na matriz de aerogel de CB silanizada.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Lesões na pele

A pele, maior órgão do corpo, responsável por desempenhar múltiplas funções, como capa protetora dos órgãos internos e de músculos e barreira contra agentes externos. (BOLZINGER *et al.*, 2012). Além disso, a pele evita a desidratação corporal, participando dos processos de regulação térmica, e possui mecanismos próprios de produção, ativação e disseminação de hormônios, além de possuir proteção contra microrganismos (CASTAÑO *et al.*, 2018). Esse órgão é composto por três camadas sobrepostas, a hipoderme, derme e epiderme, que desempenham papéis distintos.

Figura 1 - Composição da pele



Fonte: PELE (2020).

A hipoderme é a camada mais interna, composta por adipócitos, responsável pela reserva energética e plasticidade da pele. A derme, camada intermediária, é formada por tecido conjuntivo, onde estão presentes os fibroblastos, responsáveis pela síntese de colágeno e elastina, conferindo rigidez ao tecido. Já a epiderme, a camada mais externa, está em contato direto com o ambiente externo, e é responsável pelo processo regenerativo devido a presença de células estaminais, responsáveis pela manutenção da temperatura corporal e pelo processo de reparação de feridas (ROLIN *et al.*, 2012; MOGOSANU e GRUMEZESCU, 2014). É na epiderme, camada que faz fronteira com o ambiente externo, que estão presentes os queratinócitos, células responsáveis pela estrutura estratificada da pele (CASTAÑO *et al.*, 2018).

Dependendo do tempo necessário para que haja o reparo do tecido lesionado, as feridas podem ser classificadas como crônicas ou agudas. As feridas crônicas, também chamadas de úlceras, são caracterizadas pela profundidade da lesão (atingindo a derme e hipoderme) e pelo longo tempo de cicatrização, podendo levar mais de 12 semanas para que complete todo o processo de regeneração tecidual (JARBRINK *et al.*, 2016). Esse longo tempo pode ocorrer devido às condições fisiológicas, inerentes a cada paciente, como no caso de infecções persistentes, diabetes, precariedade e autocuidado no tratamento da lesão. As feridas denominadas agudas levam menos tempo para o processo total de cicatrização, normalmente são causadas devido a traumas ou cirurgias. A reparação do tecido passa por todas as etapas de cicatrização de maneira ordenada sem a necessidade de intervenções (KIM *et al.*, 2019).

Logo após ocorrer injúrias ao tecido celular inicia-se o processo de cicatrização. Esse é um processo dinâmico, que é realizado em quatro fases consecutivas: hemostasia, inflamação, proliferação celular e remodelação do tecido (MOEINI *et al.*, 2020). Na hemostasia há um estímulo de atividade celular e formação de coágulo para reduzir a perda de sangue, formado através da aglomeração de plaquetas e por fibras de fibrinas. Na fase inflamatória há a liberação de sinais químicos que fazem com que diferentes células de defesa migrem para o local lesionado. Os neutrófilos seguidos pelos macrófagos, são as primeiras células a chegarem e realizarem o processo de limpeza da ferida pela remoção dos patógenos e detritos celulares, seguida pelos queratinócitos, fibroblastos e células endoteliais (GUERRA; BELINHA; JORGE, 2018). Na fase de proliferação ocorre a re-epitelização do tecido lesionado, pelo influxo de queratinócitos, preenchendo os defeitos ocasionados pela lesão. Essa reepitelização confere proteção à ferida contra infecções e evita a dessecação do tecido. Neste caso, parte do exsudado não infectado está sobre a ferida, mantendo a umidade da lesão e fornecendo fatores de crescimento celular necessários à cicatrização. A última fase, a de remodelação tecidual, é caracterizada pelo aumento da resistência à tração dos tecidos e pela retração do excesso de vasos sanguíneos presentes na lesão, devido a mudança na estrutura do colágeno que preenche as células de fibroblastos. Essa última fase é responsável pelo aspecto final da cicatriz após o processo de cicatrização (GANTWERKE e HOM, 2012).

A complexidade do mecanismo de cicatrização dá-se devido à grande variedade de feridas e suas possíveis causas. As condições da lesão e do paciente devem ser levadas em consideração para a escolha correta do curativo (MOEINI *et al.*, 2020). Esses devem facilitar o tratamento e diminuir os riscos ao paciente. Embora o tecido da pele seja capaz de realizar o auto reparo, algumas feridas como as úlceras diabéticas, as queimaduras, e as feridas

profundas não se curam de maneira espontânea. Nesse caso, fazem-se necessários a intervenção de natureza cirúrgica ou a utilização de materiais com componentes bioativos que estimulem o mecanismo de regeneração, desencadeando a cascata de cicatrização (CHOUHAN; MANDAL, 2020).

3.2 Curativos

O curativo ideal deve auxiliar na cura da lesão, mantendo a umidade na ferida, conferindo proteção contra choques mecânicos, impedindo a contaminação microbiana, permitindo a troca gasosa, absorvendo o exsudado e não aderindo à ferida, para permitir fácil e indolor remoção (WIEGAND e HIPLER, 2010; JAYAKUMAR et al., 2011), e minimizar a formação de quelóides (VOWDEN e VOWDEN, 2017). Além disso, é necessário que o curativo seja flexível e tenha certa resistência à ruptura, para evitar nova abertura da ferida durante os dias de tratamento e os processos de troca (MOEINI *et al.*, 2020).

A classificação dos curativos pode ser dada por diferentes maneiras, como sua função que esse desempenhará na ferida (desbridamento, ação bactericida, ação anti-inflamatória, absorvente e aderente); seus constituintes utilizados em sua fabricação (hidrocoloides, alginato, celulose bacteriana, e biopolímeros); sua forma física (podendo ser apresentados na forma de espuma, filme, gel ou pomada). Esses dispositivos, por sua vez, podem ser classificados em primários, secundários, ou do tipo ilha. Os primários possuem contato físico direto com a lesão, enquanto os secundários revestem os primários. Já os curativos do tipo ilha são caracterizados por possuírem uma região central cercada por revestimento adesivo, tipo o BandAid® (BOATENG *et al.*, 2007).

Segundo Sezer e Cevher (2011) os curativos podem ser distribuídos em três categorias: tradicionais, biológicos ou artificiais. Os curativos tradicionais compreendem as gazes e bandagens à base de algodão, que são comumente utilizados em queimaduras. A desvantagem do uso desse tipo de material está no fato de que eles se aderem facilmente ao local lesionado, podendo gerar desconforto, e sangramento devido nova ruptura do tecido no momento da sua remoção. Os biológicos, que são fragmentos oriundos de pele humana ou animal, empregados como enxertos de pele. Embora apresentem boa adesão ao local da ferida, bem como teor de macromoléculas que constituem o tecido epitelial, o uso desse tipo de material pode ocasionar sua rejeição pelo organismo e aumentar o risco de inflamação. Além disso, necessita de doadores o que dificulta e aumenta o custo do processo.

Os curativos tradicionais e biológicos apresentam a problemática de estabilidade associada aos riscos de infecções, dificultando seu uso, sendo necessário o uso de dispositivos alternativos que evitem ou minimizem esses problemas, como os curativos artificiais. Os curativos artificiais podem ser feitos a partir de polímeros naturais, como alginato, celulose bacteriana, colágeno, quitosana ou polímeros sintéticos, como no caso de poliuretano, teflon e silicone (SEZER e CEVHER, 2011), sendo preferíveis no tratamento de feridas por possuírem características específicas para cada tratamento.

A interação entre os componentes presentes no curativo e na ferida deve ser levada em consideração na seleção do curativo para o tratamento tópico da lesão. Isso inclui as características e o potencial de liberação dos agentes cicatrizantes, a aderência do curativo à ferida, a capacidade de tal produto ligar-se às bactérias, a absorção/retenção do exsudado e doação de fluídos (VOWDEN e VOWDEN, 2017). Como a principal função do curativo é assumir temporariamente as funções fisiológicas do tecido lesionado, o processo de seleção do material, bem como sua fabricação, são etapas que devem ser levadas em consideração. Devem, portanto, simular as características físicas e químicas dos tecidos danificados, de modo que a resposta do corpo ao dispositivo seja mínima (OTHMAN *et al.*, 2018).

Compostos de origem natural estão recebendo maior atenção para aplicação de biomateriais em curativos, devido a sua alta biocompatibilidade e boa interação celular (BAI *et al.*, 2016). Biomateriais a base de polissacarídeos são usados no tratamento de feridas devido as suas propriedades físico-químicas, bem como alta biocompatibilidade e elevada biodegradabilidade (CHAUDHARI *et al.*, 2016). Além disso, para que esses polissacarídeos possam ser usados como curativos, eles devem favorecer o crescimento das camadas da pele (JAYAKUMAR, 2011). Pode-se utilizar um biomaterial como matriz para incorporação e liberação controlada de fármaco, de modo que as biomoléculas a serem liberadas gradativamente não sofram degradação enzimática. Portanto, é importante que as características físico-química sejam levadas em conta (PASCUAL-GIL *et al.*, 2015).

3.3 Biomateriais

Biomateriais são materiais compatíveis com o organismo, projetados para suprir as necessidades bioquímicas e biofísicas do corpo, interagindo com o sistema biológico, tendo como finalidade tratar, substituir e/ou potencializar funções, tecidos e/ou órgãos (XU *et al.*, 2019; MANAM *et al.*, 2017). Esses materiais tomam forma, de maneira sozinha ou como parte de um sistema complexo, e são usados para controlar as interações entre os componentes

vivos de um sistema (CHEN e THOUAS, 2014). De origem natural ou sintética podem ser utilizados para melhorar as funções de órgãos e tecidos (LABUS; KAWECKI; NOWAK, 2012), bem como para substituir um componente corporal ou auxiliar funções fisiológicas (BOSE *et al.*, 2018).

A biocompatibilidade é requisito essencial para que determinado material seja considerado biomaterial, ou seja, ele deve corresponder adequadamente às necessidades do hospedeiro sem causar prejuízo, toxicidade ou rejeição ao mesmo. A ausência de reações imuno-inflamatórias e a não rejeição são evidências de que o material é biocompatível com o local a qual foi submetido (GHASEMI-MOBARAKEH *et al.*, 2019; PANG *et al.*, 2020). Para isso devem ser levadas em consideração as propriedades químicas, físicas e biológicas dos materiais. No caso de materiais biodegradáveis, a biocompatibilidade é avaliada no decorrer do tempo, havendo a possibilidade de ocorrer a formação de produtos de degradação, que deverão ser levados em consideração (NAIR e LAURENCIN, 2007).

Segundo Wang e colaboradores (2016), a bioadaptabilidade dos biomateriais está relacionada aos microambientes em que estão inseridos, onde tanto o formato do biomaterial quanto as características dos tecidos que serão reparados, devem ser harmonizados. As propriedades fornecidas pelo biomaterial devem atender as necessidades da regeneração tecidual, sejam elas físicas, químicas, biológicas ou mecânicas. Com isso, para a bioadaptabilidade, os biomateriais devem se moldar e complementar a estrutura do tecido lesionado.

Alguns biomateriais baseados em polímeros naturais vêm sendo utilizados no processo de regeneração óssea e na engenharia de tecidos devido a possibilidade de modificação das propriedades dos mesmos, afim de obter características desejadas e específicas de acordo com cada aplicação (TORGBO; SUKYAI, 2018). Dentre tais polímeros, destaca-se a celulose bacteriana (CB) com suas particularidades, que a torna um material bastante atrativo no tratamento de lesões cutâneas.

3.4 Celulose bacteriana (CB)

A celulose é considerada uma das macromoléculas poliméricas mais abundante do planeta. Embora ela esteja presente, majoritariamente, na composição de plantas vasculares, tal componente pode ser encontrado em algas e pode ainda ser sintetizado por bactérias (SAXENA; BROWN, 2005). A celulose bacteriana (CB) foi reportada pela primeira vez em

1988 por Brown que verificou o crescimento de um tipo de uma película com composição química semelhante à celulose das plantas (ESA; TASIRIN; RAHMAN, 2014).

As bactérias aeróbicas e não patogênicas, produtoras de ácido acético, do gênero *Agrobacterium*, *Ribozium* e *Sarcina* são as que produzem a celulose de origem bacteriana, porém a maior produtora do exopolissacarídeo são as bactérias do gênero *Acetobacter* (renomeada recentemente de *Komagataeibacter*). A maior vantagem da celulose produzida por esses microrganismos está no fato dela não possuir lignina e hemicelulose em sua composição (FANG; CATCHMARK, 2015), sendo assim consideradas uma celulose com elevada pureza.

Para a biossíntese, a bactéria utiliza o nitrogênio e carbono presentes no meio nutricional, havendo então a excreção e polimerização da celulose na forma de cadeias β -1,4-glucanas, que são cadeias lineares. A formação da estrutura polimérica da celulose ocorre no interior da bactéria, em seguida é excretada, na forma de microfibrilas, para o substrato até que seja formada uma estrutura tridimensional (3D) de redes ultrafinas e entrelaçadas de nanofibras (VAN ZYL; COBURN, 2019).

A celulose produzida por bactérias apresenta diversas vantagens dentre elas, a reprodutibilidade do material, que pode ser requerida em qualquer período, já que não há a dependência das condições territoriais e climáticas. Ainda há a possibilidade de modificação genética dos microrganismos produtores de modo que eles sintetizem quantidades de celulose desejadas (SHI *et al.*, 2014). Possui também alta resistência à tração, elevada cristalinidade, alta capacidade de absorção de líquidos e a forma adaptável durante sua síntese (LIN *et al.*, 2013; UL-ISLAM; KHAN; PARK, 2012). A degradação da CB ocorre em temperaturas superiores à 300°C. Além disso, ela não pode ser biodegradada no corpo humano, pois nele não há a presença de enzimas e/ou ácidos suficientemente fortes que tenham a capacidade de decompô-la (ZANG *et al.*, 2015).

A modificação no polímero de CB pode ocorrer *in situ* ou *ex situ*. No método *in situ* a modificação é simples e uniforme, ao passo que produtos desejáveis são adicionados ao meio de cultivo durante a síntese da CB. A desvantagem desse tipo de modificação encontra-se na obtenção de material de estrutura menos rígida devido a menor quantidade de interações intermoleculares. A modificação *ex situ* usada para modificar a superfície da CB, embora seja mais complexa, têm a vantagem de não se limitar a modificações no meio de crescimento bacteriano, ampliando assim as possibilidades e por consequência a gama de aplicações, através da obtenção de diferentes materiais com estruturas e propriedades distintas (PANG *et al.*, 2020).

As características de biocompatibilidade, elevada pureza e versatilidade inerentes da celulose de origem bacteriana permitem com que ela seja utilizada em diferentes dispositivos médicos. Sendo exemplos de tais aplicações, como curativos de pele, sanguíneos, terapia ocular, sistemas de liberação de drogas, sensores de diagnóstico de doenças, materiais odontológicos e regeneração de tecidos ósseos (PICHETH *et al.*, 2017). Além disso, a CB é um polímero versátil e pode apresentar-se de diferentes formas, como por exemplo na forma de aerogeis, criogéis, espumas, membranas, de acordo com as características desejadas e finalidades de seu uso.

Para se obter essas diferentes formas, tratamentos químicos e/ou enzimáticos podem ser aplicados para enfraquecer as fibras e facilitar a desintegração do material celulósico, diminuindo a energia necessária para que tal processo ocorra (ROL *et al.*, 2019). Um tratamento muito comum é a oxidação utilizando o radical 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinoxilo (TEMPO), sendo esse um catalisador de oxidação eficiente e estabilizador de suspensão. Quando comparado a oxidação enzimática ou a oxidação catalisada por metais, o TEMPO apresenta as vantagens de ter elevadas taxas de reação e conversão, alta seletividade e baixo custo quando utilizado como oxidante. Para que a reação de desfibrilação da celulose utilizando o radical TEMPO seja realizada com sucesso, a reação deve ocorrer em meio básico. Embora o processo seja eficiente, a desvantagem é que tal processo tem elevado custo agregado (PIERRE *et al.*, 2017).

A carboximetilcelulose (CMC) é um derivado da celulose obtido na forma de sal sódico, que possui elevada densidade de carga negativa quando dissociado em água, é não tóxico, não alergênico, de baixo custo e biodegradável. Quando presente em suspensão de CB favorece a formação de gel, conferindo estabilidade ao material, impedindo que haja a divisão entre as fases sólida e líquida da suspensão desconstruída (ANDRADE *et al.*, 2019; JAVANBAKHT; SHAABANI, 2019). A presença da CMC junto das fibras de celulose antes da desfibrilação mecânica melhora a solubilidade em água, estabilizando a suspensão e diminuindo o consumo de energia para a realização da desconstrução do material (ROL *et al.*, 2019; VASCONCELOS *et al.*, 2019). Assim, a CMC é uma alternativa promissora para a estabilização da suspensão de CB e economicamente viável quando comparada aos reagentes tradicionais, como o TEMPO.

Métodos físicos de desintegração mecânica associados a pré-tratamentos químicos são aplicados para a desconstrução da CB, como por exemplo para a obtenção de nanofibrilas de celulose (NFC). As principais operações mecânicas são homogeneização, moagem ou refinação ultrafina, *cryocrushing*, ultrassom de alta potência, microfluidizadores e mistura de

alta velocidade. Dependendo da técnica utilizada, devido as características de cisalhamento e energia aplicadas ao material celulósico, as fibras na escala nanométrica poderão apresentar diferentes características morfológicas, dificultando a padronização do material final (QING *et al.*, 2013).

Equipamentos que utilizam alta pressão e a passagem do material celulósico por orifícios pequenos, são capazes de reduzir as nanofibras para um comportamento em escala nano, como os microfluidizadores à alta pressão. A desvantagem está no possível entupimento desses canais, sendo necessário uma etapa anterior, um pré-tratamento, de moagem e refino para a redução do tamanho das fibras do material antes do mesmo ser submetido ao processamento final. No método de *cryocrushing*, as fibras de celulose encharcadas de água são colocadas em contato com nitrogênio líquido e, em seguida, é realizada maceração do material. A liberação das nanofibras por esse método ocorre através da aplicação de força de corte sobre as fibras congeladas, que acarretará no rompimento da estrutura fibrilar pela pressão dos cristais de gelo formados durante o congelamento. A desvantagem de tal método encontra-se na dificuldade de padronização do processo e, por consequência, do material obtido. Além das desvantagens específicas apresentadas para o uso do microfluidizador e do *Cryocrushing*, ambos requerem elevado consumo de energia, possuem a limitação de volume a ser submetido ao tratamento mecânico e produzem dispersão aquosa com baixo teor de sólidos (ROL *et al.*, 2019; ABDUL KHALIL *et al.*, 2014).

Em outra vertente, tem-se o moinho coloidal de alta rotação, que é um equipamento robusto empregado na desfibrilação de materiais celulósicos, sendo capaz de produzir fibras de celulose com diâmetro inferior a 10 nm. Nele a moagem ocorre pela passagem do material, disperso em água, através de discos ajustáveis de pedras, fazendo com que a CB seja desfibrilada por grandes forças de cisalhamento quando a rotação é gerada. Diferente dos equipamentos citados anteriormente, o moinho coloidal apresenta as vantagens de ter menor custo agregado ao processo, operar com elevado volume (acima de 1,5 litros) e facilidade de desmontagem/montagem do equipamento (RIBES *et al.*, 2018; MAGALHÃES *et al.*, 2017).

3.4.1 Silanização

A CB é um polímero insolúvel hidrofílico apesar de sua elevada afinidade por tal solvente. Para a efetiva incorporação de substâncias hidrofóbicas em sua estrutura, modificações químicas podem ser realizadas para superar tal limitação. Diferentes reações químicas de modificação podem ser realizadas nas fibras de CB, dentre elas tem-se a

acetilação, cationização, oxidação, adição de enxerto polimérico (como a policaprolactona, um polímero biodegradável utilizado para melhorar propriedades mecânicas, de processamento e permeabilidade do material ao qual é agregado) e silanização. Essas modificações quando realizadas no material celulósico devem preservar ao máximo a integridade de sua estrutura. Dentre essas técnicas, a silanização apresenta ser vantajosa pela diversidade de reagentes derivados do silício disponível no mercado. Além do mais, estudos mostram a melhoria das propriedades térmicas dos produtos submetidos a tal tratamento sem alterações indesejáveis na estrutura do material polimérico (KHANJANZADEH *et al.*, 2018).

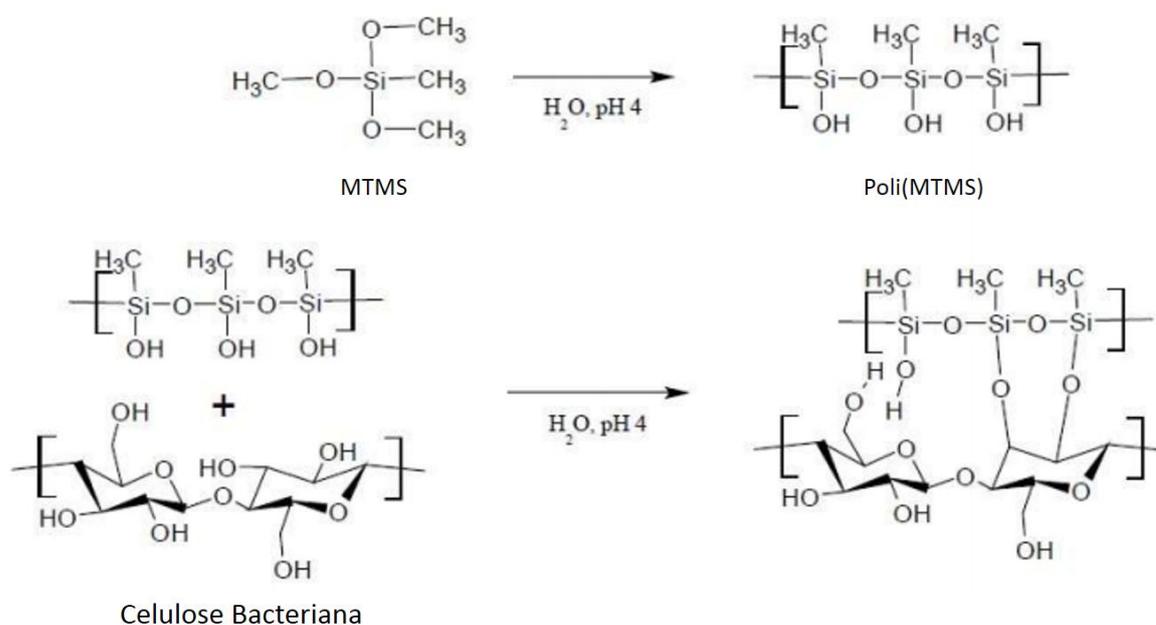
A silanização consiste na modificação química da β -glicopirranose, inserindo moléculas hidrofóbicas ou substituindo grupos funcionais que alterem a polaridade da β -glicopirranose tornando o material oleofílico, ou seja, com afinidade química para óleo. (PEREIRA, 2018).

Diferentes estudos vêm sendo realizados utilizando reagentes derivados do silício. A utilização de vapor químico com octiltriclorossilano é uma alternativa para tal finalidade, porém a distribuição no material ocorre de maneira não homogênea (CERVIN *et al.*, 2011). Compostos de organossilício, como os clorosilanos e os alcoxissilanos, derivados do silício (Si), foram testados e o ônus está no fato de que os clorosilanos são rapidamente hidrolisados em meio aquoso, promovendo baixo grau de silanização. Além disso, a deposição química de vapores de alcoxissilanos e clorosilanos como o metiltrimetoxissilano e metiltriclorossilano apresenta riscos devido a inflamabilidade e ao serem inalados são prejudiciais ao organismo (ZHOU; XU, 2020). Em contrapartida, a utilização de solução aquosa de trimetilmtoxissilano (MTMS) mostra-se vantajosa em relação as outras, visto que consiste em uma única etapa de execução em meio aquoso, levemente acidificado até pH 4,0 e sem a formação de sub-produtos tóxicos (ZHANG *et al.*, 2014).

Para avaliar a melhor condição de silanização das suspensões de celulose nanofibrilada (NFC), Zhang e colaboradores (2015) investigaram o processo de hidrofobização utilizando meio ácido, com valores de pH variando de 0,4 a 4,0. O resultado satisfatório foi obtido em pH 4,0, no qual foi alcançado um material com alta hidrofobicidade, maior estabilidade térmica e mecânica. Além do pH, a agitação e a temperatura interferem diretamente no processo de silanização da CB, pois favorecem a ligação do reagente às fibras de celulose da suspensão. Segundo Pereira (2018), no método de hidrofobização da celulose utilizando MTMS, a solução desse reagente sofre polimerização, ou seja, diversas unidades de MTMS unem-se formando uma cadeia maior, que passa a receber o nome de polimetilsiloxano. Esse, por sua vez, ao entrar em contato com a suspensão ácida de NFC

haverá a ligação covalente entre grupos derivados do silício e as hidroxilas da β -glicopirranose. Esse processo faz com que ocorra a hidrofobização da suspensão de NFC de forma mais efetiva e homogênea ao longo da estrutura. A Figura 2 representa esquematicamente o que foi descrito acima.

Figura 2 - Representação esquemática do processo de silanização da CB utilizando solução de MTMS.



Fonte: Pereira (2018)

Diversos pesquisadores têm estudado tal modificação visando a remoção seletiva de solventes orgânicos e material oleoso de soluções aquosas. Porém, tal modificação pode ser uma alternativa ao processo de entrega de óleos naturais, utilizando matrizes de CB, para o tratamento de feridas, desde que o produto seja biocompatível.

3.5 Aerogéis

Os aerogéis são materiais ultraleves, porosos e de grande área superficial, obtidos pela substituição dos agentes de intumescimento, de uma suspensão aquosa (na forma de hidrogel/gel) por ar (WEI *et al.*, 2020). O tipo de secagem envolvida na transformação do hidrogel/gel em aerogel têm influência direta em suas propriedades, podendo alterar sua morfologia, porosidade e densidade. Tal processo de secagem do aerogel ocorre em duas

etapas distintas, na primeira há o congelamento da água presa na matriz, e no processo seguinte, a água congelada é removida por sublimação (técnica conhecida como liofilização), obtendo-se uma estrutura seca e porosa. A velocidade do congelamento é de extrema importância, visto que terá impactos na microestrutura, pois está diretamente relacionada ao tamanho dos cristais de gelo formado nessa etapa. Assim, quanto mais rápida for a etapa de congelamento, maior será a preservação da estrutura porosa do aerogel (CIFTCI *et al.*, 2017).

Os aerogéis podem ser produzidos a partir de diferentes fontes de matérias-primas, como: albumina, gelatina, celulose, materiais inorgânicos (como a sílica, óxidos de alumínio) e carbono. Esses materiais podem ser utilizados como suportes em vazamentos químicos/óleos, catalisadores, armazenadores de energia, isolante térmico, material filtrante para o tratamento de águas residuais, dispositivos biomédicos, biosensores, dentre outras. Além do mais, compostos funcionais podem ser inseridos afim de adicionar novas funcionalidades, propriedades físico-químicas e mecânicas desejadas (WEI *et al.*, 2020; SMIRNOVA; GURIKOV, 2018). A impregnação com substâncias bioativas pode ser feita na solução inicial (antes de haver a formação do hidrogel e posteriormente do aerogel) ou após a formação do aerogel através de impregnação supercrítica ou por adsorção (UBEYITOGULLARI; CIFTCI, 2016).

O diferencial em utilizar polímeros naturais, como é o caso da celulose bacteriana, para a produção de aerogéis está na associação vantajosa de agregar as propriedades inerentes do biopolímero de CB (como biocompatibilidade e adaptabilidade) com a elevada porosidade e baixa densidade dos aerogéis (SMIRNOVA; GURIKOV, 2018). Os aerogéis de celulose bacteriana além de serem produzidos a partir de um material de fácil obtenção e renovável, possuem boa capacidade de absorção de líquidos devido sua porosidade, sendo capazes de absorver e reter elevadas quantidades de diferentes fluídos. Porém, o caráter hidrofílico da cadeia de celulose provoca o rompimento da estrutura porosa do material em contato com a água, gerando aerogéis de baixa performance (ELLEBRACHT; JONES, 2020; ZHANG *et al.*, 2019). Para solucionar esse problema, reações de hidrofobização da CB podem ser empregadas, como a silanização, discutida anteriormente (item 3.3.2).

Na área biomédica, os aerogéis são utilizados após processos de funcionalização para o tratamento de feridas da pele ou na engenharia de tecidos. O desafio encontra-se na manutenção da porosidade e densidade desses materiais (DARPENTIGNY *et al.*, 2020; WAN *et al.*, 2019). A estrutura porosa tridimensional do aerogel é vantajosa para a fixação celular, pois a rede de poros interconectados é favorável para a incorporação de compostos bioativos, podendo funcionar como suprimento de oxigênio para as células e ainda pode ser via de

absorção de subprodutos metabólicos. Além disso, a alta porosidade permite absorver elevada quantidade de exsudato, evitando que o local lesionado seja acometido por infecções. Tais propriedades tornam o aerogel um material em potencial para a aprimorada entrega de bioativos/fármacos para as células na cultura de tecidos (EL-NAGGAR *et al.*, 2019; HALIB *et al.*, 2019). Segundo Manoukian e colaboradores (2016) o contato direto de material nanofibroso, incorporado de substâncias com propriedades cicatrizantes, com a ferida favorece o processo de cicatrização da lesão e diminui o tamanho da cicatriz. Nesse contexto, derivados de plantas incorporados nos aerogéis de CB podem conferir propriedades antioxidantes e antimicrobianas, que auxiliarão no processo de vascularização, contração da ferida e de re-epitelização. Sendo que a liberação controlada dessas substâncias naturais pode desempenhar papéis importantes no processo cicatricial, agindo na supressão do processo inflamatório e estimulando a síntese de colágeno (GASPAR-PINTILIESCU; STANCIUC; CRACIUNESCU, 2019).

3.6 Óleos naturais

A medicina popular utiliza diversos compostos naturais para o tratamento empírico de diversas doenças (ALERICO *et al.*, 2015). Pesquisas e comprovações experimentais confirmam que algumas plantas apresentam propriedades benéficas para o tratamento de feridas. A eficácia dos princípios ativos presentes nessas plantas é demonstrada através de estudos bioquímicos, farmacológicos e moleculares (PÉREZ-RECALDE; ARIAS; HERMIDA, 2018).

O uso de plantas ditas como medicinais no tratamento de feridas, seja na forma de chá, cocção, xaropes, pomadas, óleos, entre outras não é apenas economicamente vantajosa, mas é também um recurso renovável acessível e confiável, além de apresentar menos efeitos colaterais ao organismo (JARIC *et al.*, 2018). A utilização de óleos naturais no tratamento de lesões tem a vantagem de que eles possuem ampla gama de ação contra bactérias, sem que o microrganismo desenvolva mecanismos de resistência (SIENKIEWICZ *et al.*, 2017). Diversos estudos associaram o uso de óleos naturais com propriedades importantes ao processo de cicatrização, como anti-inflamatórias, antioxidantes e antimicrobianas (PÉREZ-RECALDE; ARIAS; HERMIDA, 2018).

As plantas produzem metabólitos secundários, que agem como mecanismo de defesa contra agentes externos, herbívoros e microrganismos de sinalização à estímulos ambientais. Fazem parte desse grupo de metabólitos secundários, as enzimas, taninos, flavonoides, óleos

essenciais (OE), óleos vegetais (OV) e outros. Cada planta sintetiza sua própria “mistura” química de constituintes que farão parte da composição desses subprodutos (BLOWMAN *et al.*, 2018). Vale ressaltar que a bioatividade dos óleos naturais está relacionada ao conjunto de diferentes moléculas que os compõem, podendo essas não apresentarem atividades quando avaliadas isoladamente (RAUT; KARUPPAYIL, 2014).

Ambos os óleos (essencial e vegetal) são extraídos da estrutura das plantas, a diferença entre eles é a parte usada para sua extração. Enquanto o óleo vegetal é extraído de sementes e frutos, o óleo essencial é extraído de folhas, flores e caules. O óleo essencial, representa pequena parte da composição das plantas (cerca de 5%) e são substâncias líquidas de baixa viscosidade, voláteis e de aroma forte.

Os óleos são compostos por uma mistura complexa, contendo mais de 20 componentes diferentes, de massas moleculares e quantidades distintas. Embora a composição química varie de acordo com as espécies e com o tipo de extração, de modo geral, os principais constituintes pertencem a mesma classe química, sendo eles: aldeídos, cetonas, éteres, ésteres, álcoois, hidrocarbonetos saturados e/ou insaturados, monoterpenos e sesquiterpenos, sendo esses últimos os componentes majoritários responsáveis pela volatilidade acentuada dos óleos essenciais. Além disso, vale ressaltar que condições como espécie, clima, origem, sazonalidade, fase de desenvolvimento da planta, dentre outros fatores, implicam diretamente nas características químicas dos óleos (SHARIFI-RAD *et al.*, 2017; PÉREZ-RECALDE; ARIAS; HERMIDA, 2018; GURGEL *et al.*, 2019).

As moléculas aromáticas que compõem os óleos essenciais são usadas a muito tempo ao longo da história da humanidade e recebem atenção especial na área de cuidados com a pele. Porém, são escassos os estudos sobre os efeitos biológicos desses óleos em relação as células que compõem a pele humana (HAN; BEAUMONT; STEVENS, 2017).

3.6.1 Óleo essencial de Copaíba (*Copaifera officinalis*)

A árvore do gênero *Copaifera*, pertencente à família *Leguminosae*, é popularmente conhecida como “copaíba”, “copaibeira”, “pau-de-óleo”, “pau-de-bálsamo”, “cupa-yba” (Figura 3). Esta última denominação foi oriunda da língua indígena tupi, que significa árvore de reservatório ou árvore de depósito, denominada assim por armazenar em oleoresina em seu tronco. Tal árvore pode alcançar até 40 metros de altura, com diâmetro de tronco de até 4 metros (ARRUDA *et al.*, 2019). É relatada a existência de 72 espécies, sendo que 16 delas são, exclusivamente, brasileiras, localizadas nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e na floresta

Amazônica. As espécies mais comuns no território brasileiro são: *Copaifera officinalis* L., *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera reticulata* Ducke, *Copaifera multijuga* Hayne, *Copaifera confertiflora* Bth., *Copaifera langsdorffi* Desf., *Copaifera coriacea* Mart. e a *Copaifera cearensis* Huber (TOBOUTI *et al.*, 2017).

Figura 3 - *Copaifera officinalis* (folhas e frutos)



Fonte: Ferquima (2020).

O óleo essencial da copaíba (OEC) é obtido pela destilação da resina extraída diretamente do tronco da planta, de coloração variando do amarelo ao marrom. Seu uso tem sido relatado desde a chegada dos portugueses ao Brasil, para diversas finalidades, dentre elas para o tratamento de feridas. Tal produto teve seu uso aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration) em 1972, sendo utilizado até os dias de hoje como produto medicinal (PIERI; MUSSI; MOREIRA, 2009).

Os principais componentes bioativos do óleo proveniente da copaíba são os compostos fenólicos, principalmente, os sesquiterpenos, predominantes em óleos essenciais, e os diterpenos que estão em maior quantidade no óleo resina (PATITUCCI *et al.*, 1995; GALÚCIO *et al.*, 2016). Na literatura há relatos de cicatrização de feridas de diferentes origens relacionados ao uso do óleo de copaíba, o qual foi capaz de promover a contração da ferida e de acelerar o processo cicatricial. Além disso, propriedade leshimanicida também foi reportada ao uso desse óleo (ALBUQUERQUE *et al.*, 2017). As propriedades anti-inflamatorias e antimicrobianas (principalmente contra bactérias gram-positivas) tornam esse óleo promissor para aplicação em lesões cutâneas infeccionadas, pois ele age na parede celular dos microrganismos, liberando os componentes citoplasmáticos, causando assim, sua destruição e, conseqüentemente, mantendo a ferida protegida contra patógenos (MOURA *et al.*, 2017).

3.6.2 Óleo essencial de Gerânio Bourbon (*Pelargonium graveolens*)

O gênero *Pelargonium*, pertencente à família *Geraniaceae* é uma planta aromática de elevado valor financeiro, nativa da África do Sul. No Brasil, a espécie *Graveolens* é conhecida como “*malva com cheiro*” (Figura 4). Ela é cultivada principalmente para finalidade de ornamentação e para a extração do seu óleo e posterior aplicação na indústria cosmética, para produção de perfumes e essências. (BOUKHATEM; KAMELI; SAIDI, 2013; MARTINS *et al.*, 2017). Logo antes das plantas florescerem, elas são colhidas e processadas, sendo o óleo essencial de gerânio (OEG) obtido por destilação a vapor das partes herbáceas, tais como as flores (LALLI, 2006).

Figura 4 - *Pelargonium graveolens* (folhas e flores).



Fonte: Lush (2020).

As espécies perfumadas de *Pelargonium* são, principalmente, exploradas na África do Sul como remédio fitoterápico para tratamento de diversas enfermidades, por exemplo, feridas, febre, supressão de urina, resfriado e dor de garganta. É utilizado também para estimular a produção de leite em lactantes, como inseticida e para tratar parasitoses (LALLI *et al.*, 2008).

Os constituintes majoritários presentes no óleo de gerânio são os álcoois: citronelol, geraniol e linalol. Esses, por sua vez, podem se apresentar na forma isolada ou combinada a ésteres, sendo responsáveis por 60-70% da composição química do óleo de gerânio (LALLI, 2006). Diversas propriedades biológicas atribuídas aos seus constituintes foram comprovadas, dentre elas destacam-se antibacterianas, antifúngicas, anti-inflamatória, efeitos hipoglicêmicos e espasmolítico. Além disso, foram associadas a ele funções antialérgicas, tônicas e diuréticas (BOUKHATEM; KAMELI; SAIDI, 2013; MAHBOUBI *et al.*, 2018). Tais propriedades tornam seu uso farmacologicamente vantajoso.

3.6.3 Óleo vegetal de Buriti (*Mauritia flexuosa*)

O gênero botânico *Mauritia*, pertencente à família *Palmae*, é uma palmeira facilmente encontrada em regiões alagadas e úmidas no Brasil, como os mangues (Figura 5, lado esquerdo). Essa planta apresenta como fruto o buriti (Figura 5, lado direito) que, por sua vez, também é conhecido como “coqueiro-buriti”, “miriti”, “muriti”, “palmeira dos brejos” (ALMEIDA, 1998). Esse fruto é comumente utilizado como alimento por ser rico em vitaminas (A, B, C) e nutrientes (como cálcio e ferro), que são essenciais para o bom funcionamento do organismo (BARROS *et al.*, 2014). Além do mais, o buriti tem aplicação na indústria de cosméticos e farmacêutica através do uso do óleo que é extraído. A extração do óleo vegetal de buriti (OVB) é feita por prensagem a frio ou por extração supercrítica do mesocarpo (NERI-NUMA *et al.*, 2018).

Figura 5 - *Mauritia flexuosa* (árvore, lado esquerdo e frutos, lado direito).



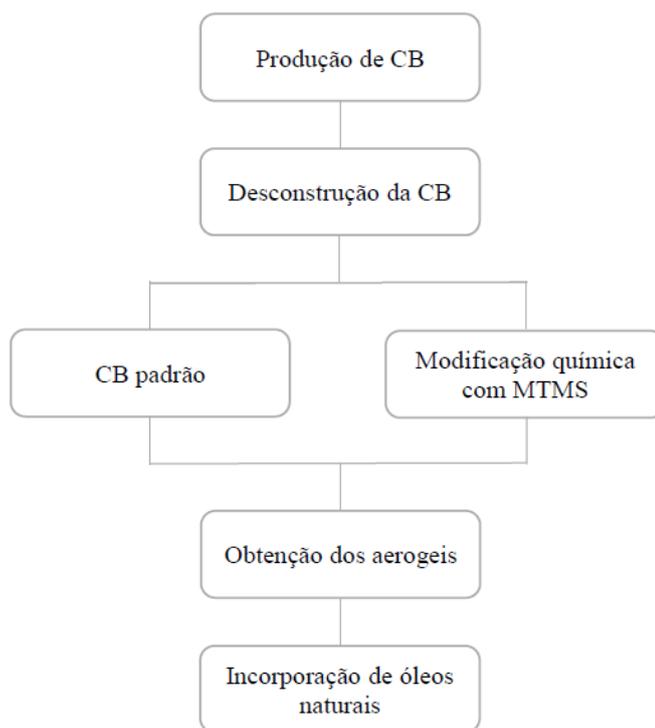
Fonte: Toda fruta (2020).

Quimicamente o óleo vegetal de buriti, é composto por ácidos graxos (ácidos oleico e palmítico), ácido ascórbico e carotenoides, o que o torna aplicável como produto bioativo, principalmente, no que diz respeito a cicatrização cutânea. Tal aplicabilidade pode ser associada ao buriti, pois seus constituintes são capazes de lubrificar e regenerar o manto hidrolipídico que protege a epiderme (BATISTA *et al.*, 2011).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A Figura 6 apresenta um panorama geral das etapas desenvolvidas no presente trabalho. De modo geral, a primeira etapa consiste na produção, purificação e neutralização da CB. A segunda etapa consiste na desconstrução do material celulósico e adição do CMC. A terceira etapa consiste na modificação química utilizando MTMS para hidrofobizar as fibrilas desconstruídas. A etapa seguinte consiste na liofilização do material silanizado e não silanizado (apenas a suspensão de CB desfibrilada adicionada de CMC, considerada como padrão) com a obtenção dos aerogéis de estudo: aerogel de CB e aerogel de CB silanizada. A última etapa consiste na incorporação dos óleos nas matrizes desenvolvidas.

Figura 6 - Fluxograma das etapas desenvolvidas nesse trabalho.



4.1 Materiais

Os reagentes utilizados neste trabalho: hidróxido de sódio (NaOH), ácido clorídrico (HCl), carboximetilcelulose (CMC), trimetilmtoxissilano (MTMS), caldo infusão, cérebro e coração (BHI), soro fetal bovino (SFB), Meio de Eagles modificado de Dulbecco - alta glicose (DMEM), penicilina-estreptomicina e a resazurina, foram adquiridos da

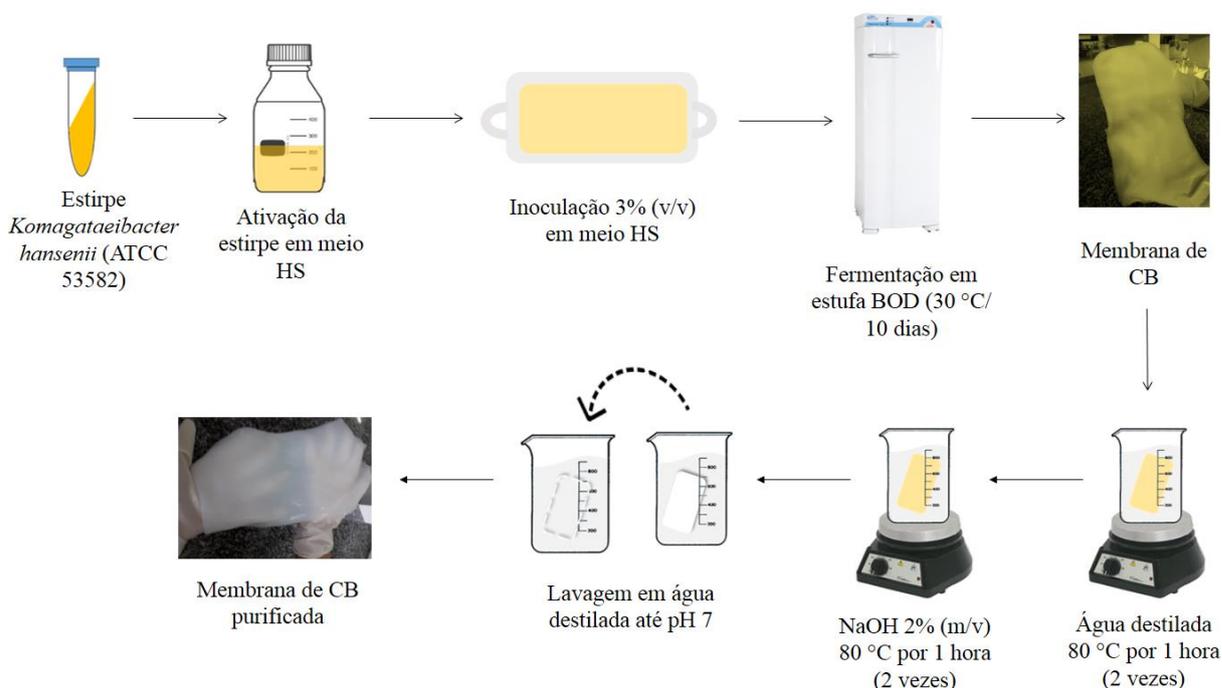
Vetec®/Sigma-Aldrich. Já os óleos estudados foram adquiridos da Ferquima Ind. e Com. LTDA (São Paulo, Brasil). Segundo a empresa, o Óleo Essencial de Copaíba (*Copaifera officinalis*) foi obtido pela destilação a vapor do óleo de copaíba bálsamo da própria empresa, o Óleo Essencial de Gerânio Bourbon (*Pelargoniumx ssp*) pela destilação a vapor das flores da planta, e o Óleo Vegetal de Buriti (*Mauritia flexuosa*) foi obtido por prensagem da polpa e sementes do fruto.

4.2 Métodos

4.2.1 Produção e purificação da celulose bacteriana

As membranas de CB foram produzidas pela estirpe *Komagataeibacter hansenii* (ATCC 53582) em meio de cultivo sintético HS (SCHRAMM; HESTRIN, 1954), composto por glicose ($20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), peptona ($5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), extrato de levedura ($5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), ácido cítrico ($1,15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) e fosfato de sódio dibásico ($2,7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$). O pH do meio foi ajustado para 5 com adição de ácido cítrico na proporção de 1:1 (v/v). O inóculo (3% v/v) foi preparado em tigelas de vidro de 500 mL, pela adição de 3 mL da cultura contendo a bactéria produtora, sendo esta previamente ativada em 120 mL do meio de cultura esterilizado em autoclave ($121 \text{ }^\circ\text{C}/20 \text{ min}$). Em seguida, o material foi cultivado em incubadora (BOD) a $30 \text{ }^\circ\text{C}$, pelo período de 10 dias. Após a fermentação, as membranas foram purificadas em água a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ por 1 hora, por duas vezes. Em seguida, as membranas foram imersas em NaOH (2% m/v) à $80 \text{ }^\circ\text{C}$ por 1 hora, por duas vezes. Após o tratamento alcalino, as membranas foram lavadas sucessivas vezes com água destilada à temperatura ambiente, até que as mesmas tivessem pH neutro. A Figura 7 esquematiza todo processo descrito acima.

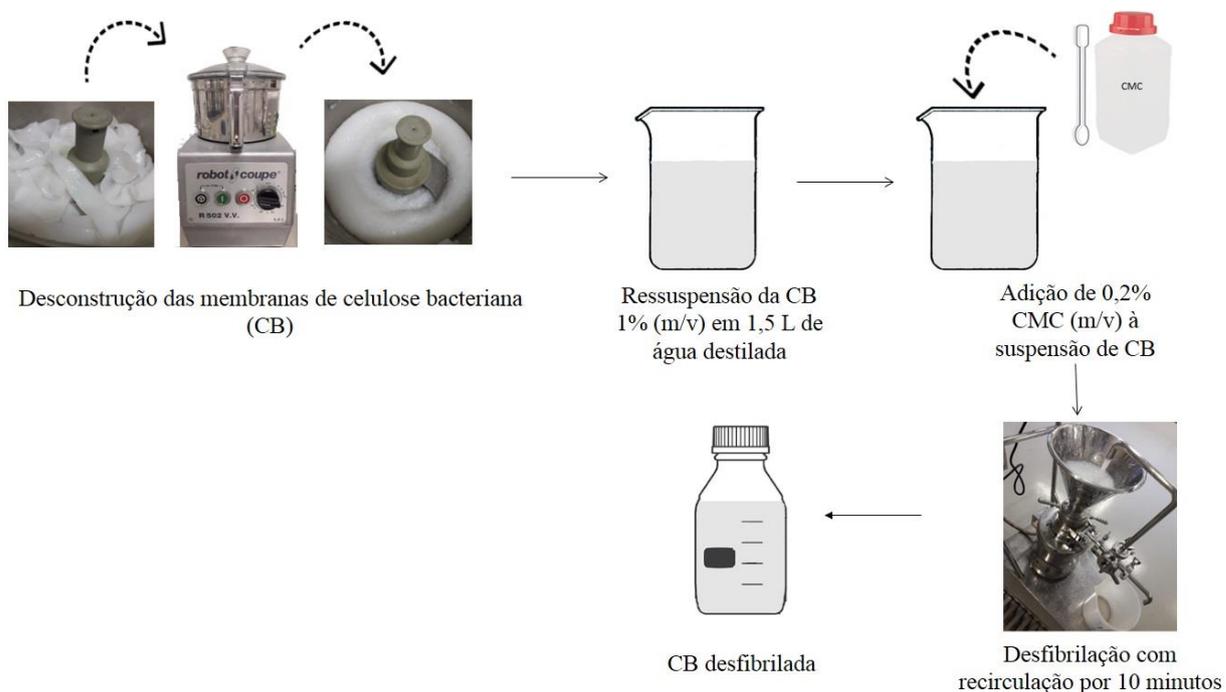
Figura 7 - Representação esquemática do processo de produção e purificação das membranas de celulose bacteriana.



4.2.2 Desfibrilação das membranas de CB

As membranas de CB de tamanho 20 x 30 cm foram cortadas em tiras de 5 x 30 cm e desconstruídas em equipamento de alta rotação (Robot coupe R502). O material desconstruído foi ressuspensionado em 1,5 L de água destilada, para se obter uma concentração de 1% (m/v). Na suspensão obtida foi adicionado 0,2% (m/v) de carboximetilcelulose (CMC) para melhorar sua homogeneidade e estabilidade. Essa metodologia foi adaptada de Andrade *et al.*, 2019. Em seguida, a suspensão de 1,5 litros foi processada em moinho coloidal (Meteor Rex Inox I-V-N) com recirculação, durante 10 minutos à temperatura ambiente para que fosse realizado a desfibrilação do material celulósico. Por fim, a suspensão desfibrilada foi armazenada em geladeira para posterior utilização. As etapas mencionadas acima estão ilustradas na Figura 8.

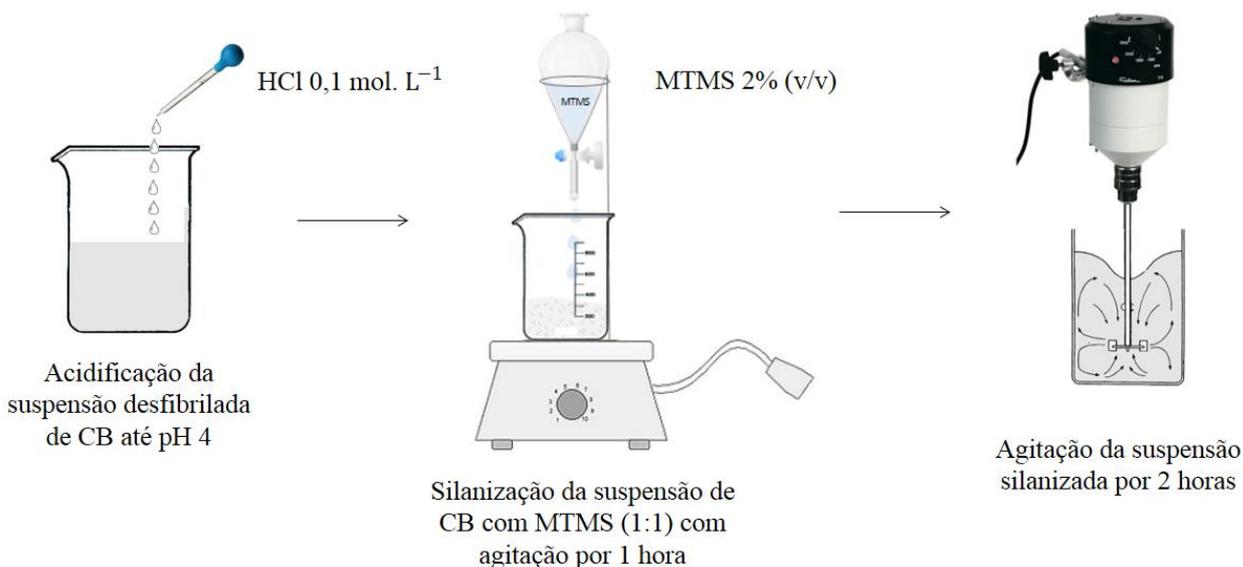
Figura 8 – Representação esquemática do processo de obtenção de celulose bacteriana desfibrilada.



4.2.3 Modificação química da CB desfibrilada

A funcionalização por silanização da suspensão de CB foi realizada utilizando o reagente trimetilmtoxissilano (MTMS) 2% (v/v). 500 mL da suspensão de fibrilas de CB foi colocada em béquer de 2 litros, sob agitação mecânica constante à 450 rpm e à temperatura ambiente. Conforme procedimento adotado por Zhang e colaboradores (2015), o material foi acidificado utilizando HCl 0,1 mol. L⁻¹ até pH 4.0. Em seguida, 500 mL do reagente MTMS 2% (v/v) foi adicionado gota a gota (na proporção de 1:1) por, aproximadamente, 1 hora. Após completa adição do reagente, o sistema continuou sob agitação mecânica por mais 2 horas. Por fim, a suspensão modificada por silanização foi armazenada e mantida em recipiente de vidro fechado e sob refrigeração (~4 °C) até seu uso. O processo de funcionalização por MTMS da suspensão de CB está representado na Figura 9.

Figura 9 - Representação esquemática do processo de silanização da suspensão de celulose bacteriana.



4.2.4 Preparo dos aerogéis a partir das suspensões de CB padrão e CB silanizada

Aproximadamente 1g das suspensões de fibrilas de CB padrão (não modificada) e CB silanizada foram colocadas em placas de 24 poços, sendo o diâmetro de cada poço de 16,25mm e submetidas ao congelamento rápido em ultra-freezer regulado a -80 °C. Em seguida, o material disposto na placa de poços foi liofilizado (K105Liotop) à pressão de 1000-1200 μ Hg e temperatura de -100 a -30 °C por 48 horas. Por fim, os aerogéis foram removidos da placa de poços, estocados em placas de petri vedadas com Parafilm e armazenadas a temperatura ambiente. A Figura 10 esquematiza as etapas de preparo dos aerogéis.

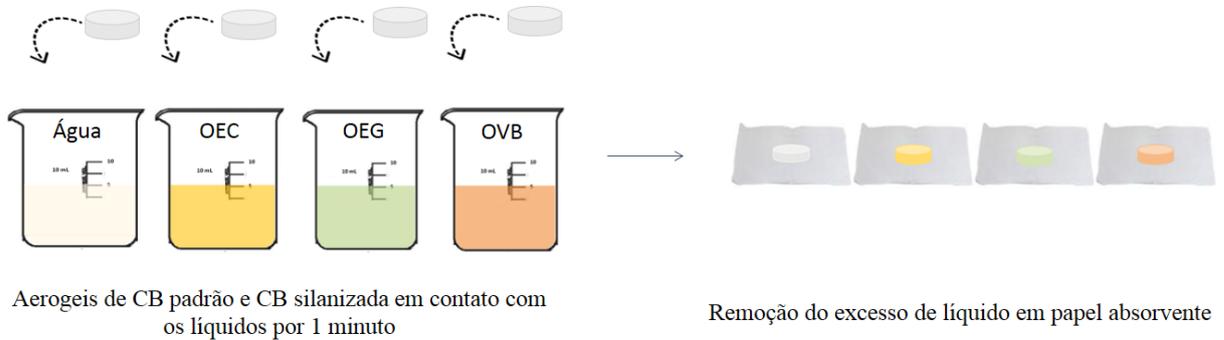
Figura 10 - Representação esquemática do processo de obtenção dos aerogéis de CB padrão e CB silanizada.



4.2.5 Incorporação dos óleos naturais nos aerogéis de CB padrão e CB silanizada

Para incorporar os óleos naturais (óleo essencial de copaíba (OEC), óleo essencial de gerânio (OEG) e óleo vegetal de buriti (OVB) nos aerogéis desenvolvidos, 5 mL de cada óleo foi adicionado em béquer de vidro de 10 mL. Em seguida, os aerogéis de CB padrão e CB silanizada (cujos diâmetros médios eram de 14,21 mm e 14,89 mm, respectivamente), foram imersos nos béqueres contendo os óleos por 1 minuto para completa absorção e saturação do material. O óleo presente na superfície dos aerogéis foi removido cuidadosamente com o auxílio de papel filtro absorvente. Os aerogéis funcionalizados com os óleos foram armazenados em placas de petri à temperatura ambiente. A Figura 11 representa o procedimento de funcionalização dos aerogéis de CB padrão e CB silanizada.

Figura 11 - Representação esquemática do processo de funcionalização dos aerogéis de CB padrão e silanizada em água, em óleo essencial de copaíba (OEC), em óleo essencial de gerânio (OEG) e em óleo vegetal de buriti (OVV).



4.3 Caracterizações

4.3.1 Medidas de porosidade e densidade

Os cálculos de densidade e porosidade dos aerogéis foram medidos de acordo com a metodologia proposta por Zhang e colaboradores (2014). A densidade aparente dos aerogéis foi calculada a partir da altura/espessura, diâmetro utilizando régua gradua e massa das amostras utilizando balança de precisão, em triplicata ($n=3$), utilizando a Equação 1:

$$\rho_A = \frac{m}{V} \quad (1)$$

Onde:

ρ_A = densidade aparente ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$)

m e V = massa (g) e volume (mL) da amostra, respectivamente

A densidade do material sólido (ρ_S) foi calculada com a Equação 2:

$$\rho_S = \frac{1}{\left(\frac{m_{\text{celulose}}}{\rho_{\text{celulose}}}\right) + \left(\frac{m_{\text{poli (MTMS)}}}{\rho_{\text{poli (MTMS)}}}\right)}$$

$$\rho_S = \frac{1}{\left(\frac{(1 - m_{\text{poli (MTMS)})}{\rho_{\text{celulose}}}\right) + \left(\frac{m_{\text{poli (MTMS)}}}{\rho_{\text{poli (MTMS)}}}\right)}$$

(2)

Onde:

m_{celulose} = massa da celulose na amostra (g)

m_{poliMTMS} = massa da fração de polimetilsiloxano

Tendo a celulose e o MTMS densidades de 1500 (ρ_{celulose}) e 1900 kg.m^{-3} ($\rho_{\text{poli(MTMS)}}$), respectivamente, pode-se calcular a massa da fração de polimetilsiloxano, substituindo na seguinte Equação 3:

$$W_{\text{poli(MTMS)}} = \left(\frac{w_A - w_{FC}}{w_A} \right) \times 100 \quad (3)$$

Onde:

m_A = massa da amostra

m_{FC} = massa das fibrilas de celulose na amostra

Por fim, a densidade relativa é então calculada através da Equação 4:

$$\text{densidade relativa} = \frac{\rho_A}{\rho_S} \quad (4)$$

Para os aerogéis de CB padrão que não foram quimicamente modificados com MTMS, deve-se substituir ρ_S pela densidade da celulose, 1500 kg.m^{-3} (PEREIRA, 2018).

A porosidade (P) das amostras foi calculada pela Equação 5:

$$P (\%) = \left(1 - \frac{\rho_{\text{Aparente}}}{\rho_S} \right) \times 100 \quad (5)$$

Onde, ρ_A e ρ_S referem-se a densidade aparente (g.cm^{-3}) e a densidade do material sólido (g.cm^{-3}), respectivamente.

4.3.2 Grau de encolhimento

O grau de encolhimento mensura a porcentagem de redução no diâmetro que o material sofreu após a liofilização, sendo calculado a partir da Equação 6:

$$\text{Encolhimento} (\%) = \frac{(d_p - d_a)}{d_p} \times 100 \quad (6)$$

Onde, d_p e d_a referem-se as diâmetros da placa de 24 poços (16,25 mm) e do aerogel, ambos medidos utilizando régua graduada, respectivamente.

4.3.3 Difração de raios-X (DRX)

A análise de difração de Raios-x das amostras em pó foi realizada em difratômetro PANalytical, modelo Xpert Pro MPD, operando a 40kV e 40mA com tubo de cobalto (Co), λ de 1,789Å. A análise foi realizada utilizando varredura de 10° a 50°, a uma velocidade de varredura de 0.13°/min. Os gráficos foram desenhados utilizando o Software OriginPro 8.5.

A partir dos espectros obtidos, o índice de cristalinidade (I_c) dos aerogéis foram determinados através do método empírico proposto por SEGAL (1959), utilizando a Equação 7:

$$I_c (\%) = \frac{I_{110} - I_{am}}{I_{110}} \times 100 \quad (7)$$

Onde:

I_{110} = referente a intensidade máxima, relacionada ao pico que representa a região cristalina da celulose, localizada no ângulo de $2\theta \sim 26,7^\circ$;

I_{am} = referente a intensidade mínima, relacionada ao início do pico que representa a região amorfa da celulose, localizado no ângulo de $2\theta \sim 22,5^\circ - 23^\circ$.

4.3.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A análise de FTIR foi realizada em equipamento Perkin Elmer, modelo Spectrum Two. As amostras em pó dos aerogéis foram misturadas com KBr, na proporção de 3% (m/m) e, posteriormente, prensadas (3 toneladas) para obtenção das pastilhas. A leitura varreu uma faixa de número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} , em modo transmitância.

4.3.5 Análise Termogravimétrica (ATG)

A análise de termogravimetria foi realizada no equipamento TGA-QMS, modelo STA 409. Para essa análise foi utilizada atmosfera de ar sintético (O_2 e N_2), com fluxo de gás constante a uma vazão de 40 mL/min. As amostras em pó dos aerogéis ($\cong 5$ mg) foram

submetidas a faixa de temperatura de 50 ° a 600 °C, sob taxa de aquecimento de 10 °/min. Os gráficos foram desenhados utilizando o software OriginPro 8.5.

4.3.6 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de DSC foram obtidas utilizando equipamento da TA Instrument, modelo DSC Q20, sob atmosfera de nitrogênio, com fluxo de gás constante de 50mL/min. As amostras em pó (\cong 4 mg) foram colocadas em panela de alumínio herméticas e aquecidas a uma faixa de temperatura de -50° a 350°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min. Os gráficos foram desenhados utilizando o software OriginPro 8.5. A variação de entalpia da reação de decomposição foi calculada a partir da área do pico endotérmico através do programa OriginPro 8.5.

4.3.7 Microscopia eletrônica de varredura//Espectroscopia de energia dispersiva (MEV/EDS)

Para as análises microscópicas pequenos pedaços dos aerogéis foram cuidadosamente cortados para manter intacta sua estrutura e colocadas em “*stubs*”, e metalizados, com fina camada de ouro, em equipamento Emitech, modelo K550. Após, os materiais foram colocados em microscópio com dispositivo de energia dispersiva (EDS) FEG/Quanta-250, operando a 15kV sob vácuo. A partir das micrografias obtidas o tamanho de poro dos aerogéis foram medidos pelo Software ImageJ.

4.3.8 Ângulo de Contato

As medições do ângulo de contato foram realizadas utilizando o software GBX Instrumentation Specifique. As gotas de água destiladas foram depositadas diretamente sobre a superfície das amostras de tamanho 1 cm x 1 cm. Os ângulos de contato com a água foram medidos através do programa Angle Calculator. As imagens do contato da gota com a superfície das amostras foram capturadas por câmara Nikon. Tal análise foi feita em triplicata (n=3), para cálculo de média e desvio padrão.

4.3.9 Absorção de líquidos

A capacidade de absorção de líquidos nos aerogéis foi medida por imersão das amostras em béquer à temperatura ambiente, com aproximadamente, 20 mL do líquido (água e dos óleos naturais). A imersão das amostras (1,5 cm x 1,5 cm) ocorreu até a saturação delas, por aproximadamente, 1 minuto. A saturação foi observada pela mudança no aspecto visual dos aerogéis. Após completa saturação, os materiais foram retirados do béquer e o excesso de líquido na superfície foi delicadamente removido com auxílio de papel filtro. O grau de absorção de líquidos pelos aerogéis foi calculado a partir das massas iniciais e finais das amostras, como mostrada na Equação 8. A análise foi realizada em triplicata (n=3) para o cálculo da média e desvio padrão.

$$C_{\text{Absorção}} = \frac{M_s - M_o}{M_o} \quad (8)$$

Onde: M_s é a massa final da amostra, em mg.

M_o é a massa inicial da amostra ($0,005 \pm 0,002$ mg).

4.3.10 Viscosidade absoluta

A viscosidade dos óleos naturais (Pa.s) foi determinada em viscosímetro Anton Paar, modelo Stabinger SVM 3000. Para a análise, aproximadamente, 5 mL da amostra foi injetada no equipamento, passando através de uma célula de viscosidade, com temperatura regulada de 26 °C.

4.3.11 Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (CG-EM)

Os óleos naturais foram analisados por cromatografia gasosa acoplada com espectrômetro de massa (CG-EM) em equipamento Shimadzu, modelo QP - 2010 Ultra. A coluna Rtx-5MS (5% difenil e 95% dimetil polissiloxano), com 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, com aquecimento programado de 35 °C a 180 °C, a uma taxa de aquecimento de 4 °C/min, seguida de 180 °C a 280 °C, a uma taxa de aquecimento de 17°C/min e mantendo a temperatura de 280°C por 10 minutos. O gás hélio (He) foi utilizado como meio carreador de

voláteis regulado a uma vazão de 24,2 mL/min, sendo o injetor operado à temperatura de 250 °C.

Em especial, para a análise do óleo de buriti foi necessário fazer, previamente a transmetilação do óleo, conforme método estabelecido pela IUPAC (1987). Para isso, 500 mg do óleo foi solubilizado em 5 mL de hexano P.A e KOH 0,1mol/L (5,6 mg) preparado em metanol 5,0 mL. A solução foi transferida para tubo de ensaio e colocado em banho maria a 50 °C por 1 hora. Em seguida, adicionou-se mais 5 mL de hexano P.A e 15 mL de HCl 5% (v/v). A mistura foi transferida para funil de decantação para separação da fase hexânica ou transmetilada (fase que contém os ésteres metílicos) da fase aquosa. A análise química dos constituintes presentes no óleo de buriti foi realizada na mesma coluna utilizada para determinação dos constituintes dos óleos essenciais, diferindo nas temperaturas de operação. A rampa de aquecimento para análise do óleo vegetal de buriti foi 140 °C por 10 minutos, seguido de aquecimento de 140 °C a 250 °C, à taxa de 7 °C/min e 250°C por 10 minutos. A vazão do gás He utilizado como carreador foi de 24,9 mL/min, sendo as temperaturas do injetor e do detector de 250 °C.

Os compostos foram identificados a partir dos tempos de retenção relativos obtidos na análise e pela comparação dos espectros de massa com os presentes no banco de dados do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST).

4.3.12 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi realizada no Laboratório de Microbiologia e Parasitologia da UFC (*Campus Sobral*), os óleos naturais foram testados para as bactérias gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC15442), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e gram-positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC 25925). As bactérias foram reativadas a partir da inoculação de 50 µL da cultura estoque em um tubo de ensaio contendo 5 mL de caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI) que, posteriormente, foram incubadas a 37 °C por 18 horas em aerobiose. Após o crescimento da cultura bacteriana, sua concentração foi ajustada para 10⁸ UFC/mL, em escala 0,5 de McFarland. Em seguida, a solução obtida foi diluída em caldo BHI na proporção de 1:10 mL. Para o teste, foi utilizado 5 µL da solução com concentração final de 5x10⁴ UFC/mL. A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada segundo metodologia da microdiluição em placas de poliestireno de 96 poços padronizada de acordo com a norma do

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI, 2018). As placas foram analisadas pelo leitor de Elisa (BIO Trak II – Plate Reader®), no modo absorvância e pelo comprimento de onda $\lambda = 620$ nm.

Para os fungos, o teste foi realizado com *Candida albicans* (ATCC 90028), que foi reativada em Caldo Sabouraud Dextrose por 48 horas a 25°C e o ajuste com escala 0,5 de McFarland com posterior diluição de 1:2000 μL em meio RPMI-1640. Para o teste foi utilizada 100 μL da solução ajustada, obtendo-se uma concentração final de $0,5 \times 10^3$ a $2,5 \times 10^3$ UFC/mL. A determinação da concentração fungicida mínima (CFM) seguiu a metodologia da microdiluição em placas conforme o documento NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards - NCCLS, 2002). As placas foram analisadas pelo leitor de Elisa (BIO Trak II – Plate Reader®), no modo absorvância e pelo comprimento de onda $\lambda = 620$ nm.

O teste foi realizado com 4 repetições para cada microrganismo, da seguinte forma: para bactérias, foi adicionado 100 μL de caldo BHI nos poços das colunas 1 a 11, em seguida os poços da coluna 1 receberam 100 μL do respectivo óleo na concentração de 32.000 $\mu\text{g/mL}$, posteriormente foi realizada a diluição seriada, ou seja, foram retirados 100 μL dos poços da coluna 1 passando para os poços das colunas subsequentes fazendo movimento de “*up and down*” para obtenção das seguintes concentrações: 16000 $\mu\text{g/mL}$; 8000 $\mu\text{g/mL}$; 4000 $\mu\text{g/mL}$; 2000 $\mu\text{g/mL}$; 1000 $\mu\text{g/mL}$; 500 $\mu\text{g/mL}$; 250 $\mu\text{g/mL}$; 125 $\mu\text{g/mL}$; 62,5 $\mu\text{g/mL}$; 31,25 $\mu\text{g/mL}$ e 15,6225 $\mu\text{g/mL}$. Ao finalizar esta etapa de diluição cada poço recebeu 5 μL da suspensão bacteriana previamente ajustada. Na última coluna da placa ficaram os controles: negativo (meio BHI), turbidez (meio BHI+ óleo teste) e o controle positivo (cultura bacteriana).

Para *C. albicans* foi adicionado 100 μL de meio RPMI-1640 das colunas 2 até 11, a coluna 1 recebeu 200 μL de óleo, o qual foi diluído de forma seriada, as concentrações obtidas foram as mesmas descritas anteriormente. A placa foi finalizada com 100 μL de solução com o fungo devidamente ajustada e a última coluna abordou os controles.

Após finalizar a montagem da placa foi realizada uma leitura inicial (tempo zero) através de um leitor de ELISA em comprimento de onda de 620 nm. Em seguida, a microplaca foi incubada a 37°C por 24 horas e após esse período foi realizada uma nova leitura no Elisa para quantificar o crescimento microbiano.

A determinação da concentração bactericida mínima (CBM) foi realizada utilizando-se o método proposto por Courvalin *et al.* (1985). Após a determinação da CIM, foi transferido 10 μL dos poços onde não houve crescimento microbiano visível para placas de Petri contendo meio Ágar Muller Hinton, para as bactérias, e em seguida foram incubadas a 37 °C por 24 horas em estufa de aerobiose. Meio Ágar Sabouraud foi utilizado para *C. albicans*

incubadas a 25 °C por 48 horas em aerobiose. A CBM e CFM foram consideradas como a menor concentração do óleo essencial onde não houve crescimento celular sobre a superfície do ágar inoculado (99,9% de morte microbiana).

4.3.13 Citotoxicidade

Os aerogeis produzidos foram submetidos ao teste de viabilidade celular utilizando o método indireto, no qual as células são colocadas em contato com o meio de cultura DMEM por 24 horas para obtenção do extrato desses materiais. As células utilizadas nesse teste foram as células de fibroblastos de camundongo (linhagem L929) e queratinócitos de pele humana (linhagem HaCat). Para esse ensaio os aerogeis foram esterilizados em autoclave, 121 °C por 15 minutos. Tal processo é considerado seguro, rápido, econômico e não tóxico (Andrade *et al.*, 2019). Para obtenção do extrato, os aerogeis foram colocados em placas de 6 poços, adicionado 1 mL de meio DMEM e esperado, aproximadamente, 1 minuto para saturação do material. Em seguida, o restante do meio não absorvido foi removido e foi adicionado mais 1 mL de meio. O DMEM utilizado para ambas as linhagens contém 1% (v/v) de penicilina-estreptomicina e 10% (v/v) de soro fetal bovino (FBS), diferindo apenas na adição de 100 mM de piruvato de sódio para o meio destinado a linhagem HaCat. As placas foram incubadas pelo período de 24 horas à 37 °C, seguindo a recomendação da Organização Internacional de Padronização (ISO 10993-12). Após esse período, os extratos foram coletados para o ensaio.

Para os óleos naturais, os extratos contendo o óleo a ser analisado foi preparado uma “solução mãe” constituída por 10 mg do óleo, sendo esse dissolvido em 100 µL de DMSO e 900µL de meio DMEM completo. Para completa homogeneização dos constituintes, o material foi homogeneizado em agitador Vortex. A partir dessa solução foram feitas diversas diluições para que os óleos fossem testados nas seguintes concentrações: 10, 50, 100, 500 e 1000 µg/mL. Para o controle negativo foi utilizado meio DMEM contendo DMSO nas mesmas concentrações em que os óleos foram testados. Para o controle positivo o DMEM suplementado foi utilizado.

A análise de viabilidade celular com os fibroblastos (L929) foi realizada utilizando 5×10^3 células/poço, já a densidade de células utilizadas para a análise com queratinócitos (HaCat) foi de 10×10^3 células/poço. As linhagens foram semeadas em meio DMEM suplementado, em placa de poliestireno de 96 poços, sendo incubadas a 37 °C por 24 horas,

em atmosfera controlada contendo 5% de CO₂ e 95% de ar. Após esse período de incubação, o meio de cultura foi removido dos poços e 100 µL dos extratos dos aerogéis foram adicionados em cada poço. As placas foram novamente incubadas, sob as mesmas condições descritas anteriormente, sendo submetidas a 24 e 48 horas de incubação. Após os referidos períodos, os extratos foram removidos dos poços e foi adicionado 130 µL do meio DMEM suplementado adicionado de 10% (v/v) de rezasurina estoque (10x). Esse novo meio foi distribuído nos poços e as placas incubadas por 4 horas sob as mesmas condições descritas acima. Decorrido tal período, foi feito *up-down* para garantir a homogeneização e 100 µL do meio metabolizado pelas células foi transferido para nova placa de poliestireno de 96 poços. A viabilidade celular foi medida em leitor de microplacas (SpectraMax i3x, Molecular Device, Sunnyvale, USA) pelo modo de fluorescência, usando os comprimentos de ondas de $\lambda_{excitação}$ = 560 nm e $\lambda_{excitação}$ = 590 nm. Foram utilizados controles positivo e negativo, para o primeiro foi utilizado apenas meio de cultura DMEM suplementado e para o último DMEM contendo 40% (v/v) de DMSO. A viabilidade do controle positivo foi ajustada para 100%. Foi feito o cálculo dos valores médios e o desvio padrão dos resultados.

A viabilidade celular foi medida através da Equação 9:

$$\text{Viabilidade Celular (\%)} = \left(\frac{F_{amostra}}{F_{controle\ positivo}} \right) \times 100 \quad (9)$$

Onde: $F_{amostra}$ = é referente a leitura de fluorescência do poço no qual as células foram colocadas em contato com o extrato dos materiais.

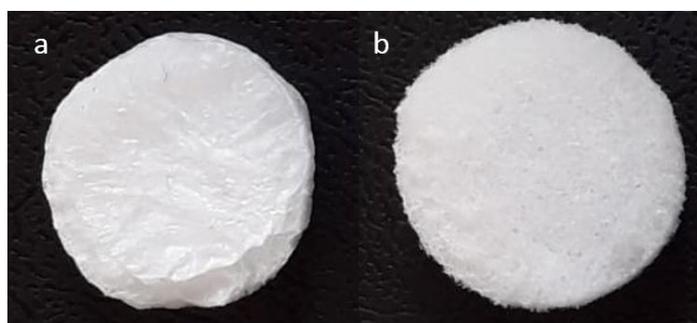
$F_{controle\ positivo}$ = é referente a leitura de fluorescência dos poços de células expostas apenas ao meio de cultura DMEM suplementado.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Obtenção dos aerogéis de CB padrão e CB silanizada

Após a liofilização das suspensões de CB padrão e CB silanizada foram obtidos seus respectivos aerogéis, como mostrado na Figura 12. O aerogel de CB padrão apresenta estrutura irregular, provavelmente pelo fato de apresentar apenas material celulósico desconstruído, no qual as fibrilas estão dispersas na suspensão celulósica. Por outro lado, o obtido da CB silanizada apresentou estrutura visualmente mais uniforme, com aspecto esponjoso e maleável.

Figura 12 - Fotografias dos aerogéis a) CB padrão e b) CB silanizada.



5.2 Caracterização dos aerogéis

5.2.1 Porosidade e Densidade

Para serem considerados aerogéis, os materiais devem apresentar valores de densidade real entre $0,004 - 0,5 \text{ g.cm}^{-3}$, porosidade superior a 85%, tamanho de poro entre 0,2-50 nm e grau de encolhimento inferior a 35% (ZAMAN *et al.*, 2020). Os aerogéis de CB obtidos nesse estudo apresentaram propriedades físicas que os enquadram como aerogel. Os valores de densidades, porosidade e grau de encolhimento estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Densidade aparente, densidade real, porosidade e encolhimento dos aerogéis de celulose bacteriana (CB padrão) e celulose bacteriana silanizada.

	Aerogel de CB padrão	Aerogel de CB silanizada
Densidade aparente (g.cm^{-3})	0,016	0,013
Densidade real	0,012	0,009
Porosidade (%)	98,7±0,1	99,0±0,1
Encolhimento (%)	12,5±0,2	8,3±0,1

Pelos resultados mostrados na tabela acima nota-se que o aerogel de CB padrão foi mais denso do que o aerogel obtido após a silanização da suspensão de CB. Ao avaliar, pela primeira vez, a hidrofobização de suspensões de nanocelulose utilizando solução de MTMS e secagem por congelamento, Zhang e colaboradores (2015) obtiveram aerogel com porosidade superior a 99%, ultraleve, com valores de densidade inferiores a $0,017 \text{ g.cm}^{-3}$. Tais valores são próximos aos obtidos no presente estudo.

A elevada porosidade de ambos os materiais pode ser relacionada a etapa de congelamento, visto que durante esse processo cristais de gelo são formados deslocando as fibras presentes no material para outras regiões. Durante a liofilização do material a água é removida, deixando espaços vazios na estrutura (ZHANG *et al.*, 2015) e com isso forma uma estrutura porosa e ultraleve. Vale ressaltar que a porosidade é uma característica importante para os curativos, pois é através dela que o material é capaz de absorver o exsudato, realizar trocas gasosas entre o ambiente externo e o leito da ferida e ainda servir como meio de absorção de exsudato, armazenamento e liberação controlada de fármacos e/ou compostos naturais (CAO *et al.*, 2017).

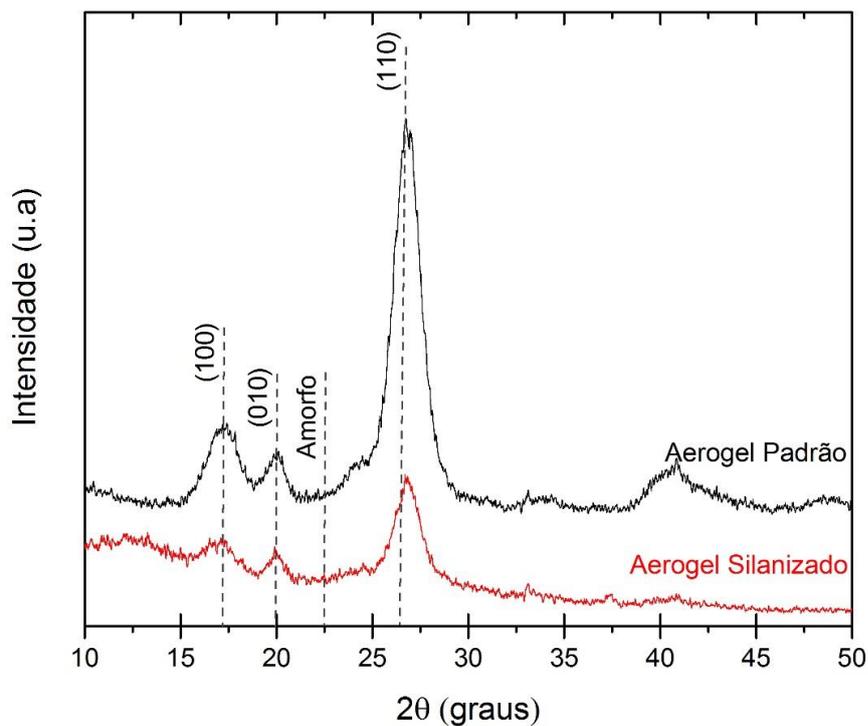
Quanto ao teor de encolhimento, o aerogel de CB padrão apresentou teor de encolhimento superior após o processo de liofilização. A dispersão uniforme do material celulósico no aerogel é capaz de inibir o encolhimento do material, conferindo ao mesmo maior porosidade e menor densidade (ZHANG *et al.*, 2020). A hidrofobização da suspensão de CB pode estar diretamente relacionada ao menor grau de encolhimento sofrido pelo material silanizado, visto que no processo de congelamento da água, ela não está diretamente ligada ao material. Assim, a modificação química da estrutura de celulose impediu ou dificultou a interação da água com o material, fazendo com que menos cristais de gelo fossem formados na estrutura. Também pode ter ocorrido a estabilização da estrutura pelas interações entre as cadeias laterais da celulose, resultando assim em menor encolhimento do material como observado.

5.2.2 Difração de raios-X (DRX)

Os padrões de DRX de ambos os aerogéis mostraram os picos característicos de celulose tipo Ia, tendo 2θ ângulos de $17,3^\circ$, 20° e 26° , correspondendo aos respectivos planos cristalográficos com índices de Miller (100), (010), (110) que não foram afetados pelo processo de silanização. O aerogel de CB silanizada apresentou picos com menor intensidade quando comparados ao aerogel de CB padrão, isto ocorreu devido a inserção de moléculas de

silício à cadeia celulósica no local onde antes havia hidroxilas (OH), ocasionando ligeira diminuição do índice de cristalinidade do material. Segundo Vasconcelos e colaboradores (2019) a intensidade dos picos está relacionada com o empacotamento cristalino da célula unitária. A inserção de grupamentos químicos volumosos como o MTMS faz com que a célula unitária tenha nova conformação, alterando assim o empacotamento da estrutura. Tal fato é observado pelo valor do I_c , que foi menor para o aerogel de CB silanizada. Os difratogramas de raios X dos aerogéis em estudo encontram-se na Figura 13. Pode-se observar que a inserção de grupos hidrofóbicos à cadeia de celulose não alterou a cristalinidade do material. O índice de cristalinidade (I_c) obtido pelo aerogel de CB padrão foi de 74,8%, enquanto que o I_c para o aerogel de CB silanizada foi de 72,2%.

Figura 13 - Padrões de Difração de Raios-X dos aerogéis de CB padrão e CB silanizada.

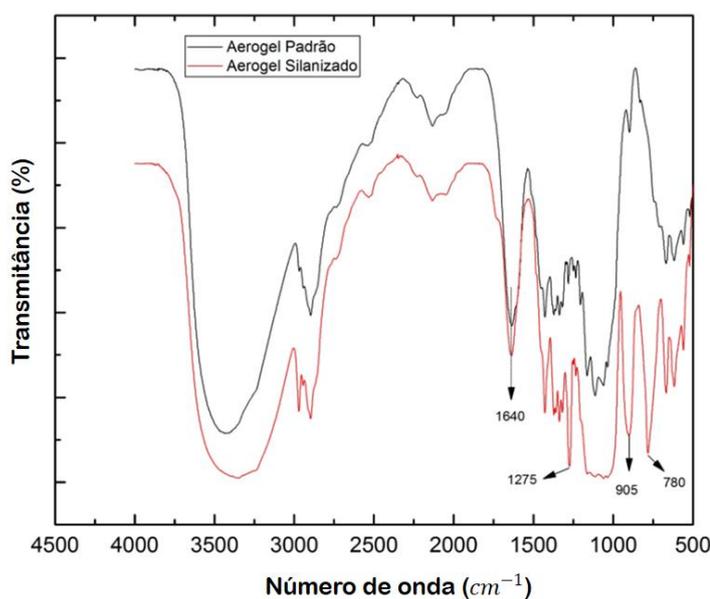


O grau de cristalinidade diminui à medida que processos mecânicos e químicos são aplicados ao material celulósico, como ocorre no processo de desfibrilação, fazendo com que ocorra a diminuição na intensidade dos picos (IWAMOTO; NAKAGAITO; YANO, 2007). Os resultados de DR-X mostram que a modificação química feita nas fibrilas desconstruídas da celulose não afetou os picos característicos do material, indicando que a integridade do arranjo da célula unitária não foi modificada.

5.2.3 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A modificação química da CB pode ser confirmada pela análise de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Os espectros na região do infravermelho dos aerogéis em estudo estão representados na Figura 14 e confirmam que o processo de hidrofobização da CB foi realizado com sucesso devido ao aparecimento das bandas de vibração: 780 cm^{-1} , 905 cm^{-1} , e 1275 cm^{-1} . O número de onda de 780 cm^{-1} refere-se à deformação que ocorre para fora do plano devido as ligações que o silício é capaz de fazer com o grupo metil ($-\text{CH}_3$), polimerizando o reagente MTMS havendo deformação para fora do plano. É atribuída também ao estiramento que ocorre entre o silício e o carbono (Si-C) e o silício e o oxigênio (Si-O-Si). Sendo a ligação Si-O referente a formação da ligação covalente entre o reagente modificador (MTMS) e a β -glicopirranose. O número de onda de 905 cm^{-1} diz respeito ao estiramento da ligação do silício à hidroxila (Si-OH) também associada ao material celulósico. Assim como o número de onda de 1275 cm^{-1} que é referente a ligação que acontece entre silício e o átomo de carbono e hidrogênio (Si-C-H), havendo deformação em plano (Zhang *et al.*, 2015). Tais picos não são observados no aerogel padrão.

Figura 14 - FTIR dos aerogéis de CB padrão e CB silanizada.



5.2.4 Análise Termogravimétrica (ATG)

A análise termogravimétrica (ATG) reflete a estabilidade térmica dos aerogéis, os dados são mostrados na Figura 15 e na Tabela 2. De modo geral, os aerogéis apresentaram

perfis de degradação semelhantes, apresentando três eventos térmicos de perda de massa. O primeiro evento ocorre entre 50 – 150 °C e é referente a perda de água. O segundo evento ocorre entre 150 – 400 °C, que é referente a degradação da celulose. O terceiro evento ocorre entre 400 – 600 °C, é referente a decomposição do material inorgânico. Os aerogéis são estáveis até 150 °C, a partir desse ponto nota-se que ambos os materiais começam a ter considerável perda de massa, sendo estas mais acentuada em 200°C como observado na Figura 15a e 15b. A perda de massa significativa caracteriza a temperatura *Onset* (T_{Onset}). Assim, os valores de T_{Onset} para o aerogel de CB padrão e para o aerogel de CB silanizada foram 211 °C e 241 °C, respectivamente.

Figura 15 - Curvas a) termogravimétricas e suas b) derivadas dos aerogel de CB padrão e do aerogel de CB silanizada.

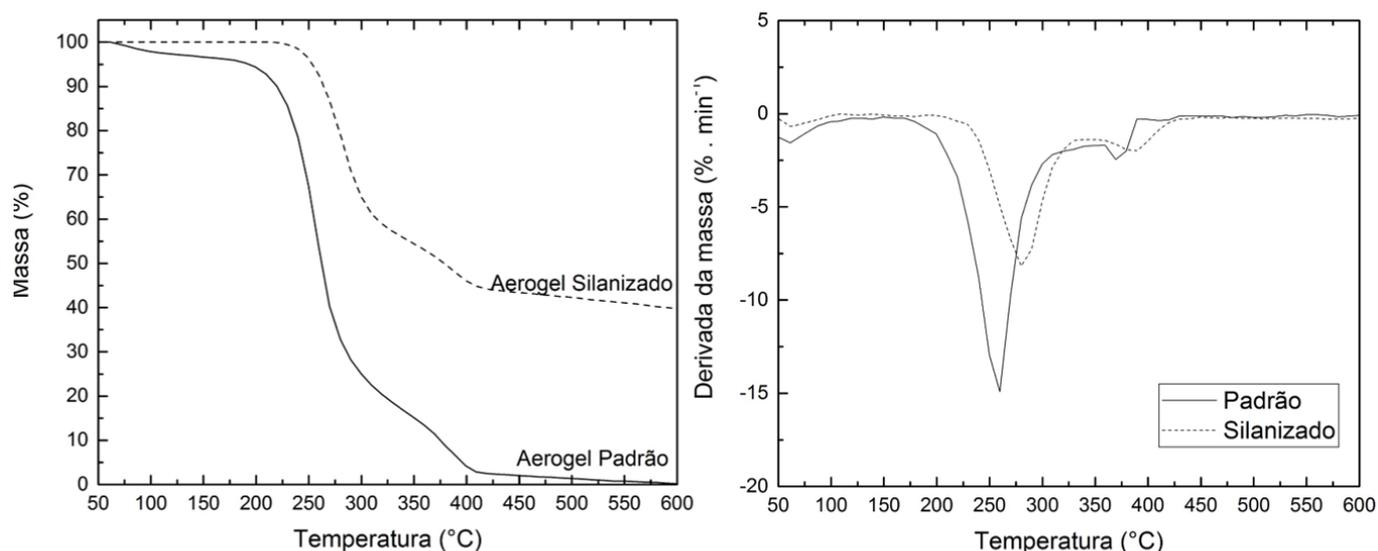


Tabela 2 - Dados de termogravimetria para os aerogéis de CB padrão e CB silanizada.

Aerogel	T_{ONSET} (°C)	1° Evento (°C)	2° Evento (°C)	3° Evento (°C)	Massa residual (%)
CB Padrão	211	60	260	370	0,9
CB Silanizada	241	65	279	390	38

Segundo Vasconcelos e colaboradores (2020) a perda de massa acentuada no material celulósico a partir da temperatura de 150°C dá-se pela despolimerização e decomposição das unidades glicosídicas da CB. Além disso, temperaturas próximas a 400°C dá-se devido a degradação dos produtos carbonizados. O aerogel de CB silanizada apresentou maior estabilidade térmica, quando comparado ao aerogel de CB padrão, visto que o mesmo

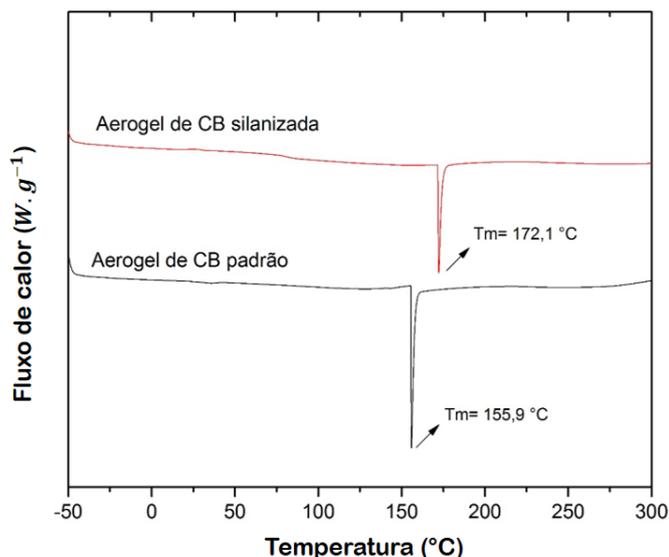
manteve a perda de massa em torno de 60% mesmo em temperaturas superiores a 400°C. Tal fato não aconteceu com o aerogel padrão, que na temperatura referida estava completamente degradado.

A estabilidade térmica melhorada do material silanizado é atribuída à ligação do polimetilsiloxano às fibrilas de CB. A presença de silício na estrutura melhorou a estrutura do material diminuindo a degradação térmica do mesmo, pois a ligação Si-O é uma ligação forte como pode ser vista no FTIR (ZHANG *et al.*, 2015). Ao utilizar trimetilclorosilano para modificar nanofibrilas de CB Sai e colaboradores (2015) constataram deslocamento na temperatura de decomposição do material, indicando que a silanização das nanofibras com modificador derivado do silício tem efeito estabilizador na cadeia do polímero de CB, sendo anteriormente constatado em aerogéis de sílica. Tal resultado é semelhante ao observado no presente estudo, indicando que o material pode ser esterilizado utilizando vapor e alta pressão (em autoclavagem). A presença de derivados do silano no material celulósico também influenciou na quantidade de massa residual da amostra, os valores podem ser observados na Tabela 2.

5.2.5 Análise Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Os aerogéis foram caracterizados por análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) com o intuito de investigar as mudanças calorimétricas ocorridas na rede polimérica quando submetidas a temperatura. É possível observar a ocorrência de apenas um evento endotérmico, de primeira ordem na temperatura próxima a 160 °C. Os materiais cristalinos apresentam perfis de curvas de picos estreitos e com grande amplitude, como os observados na Figura 16. O pico de caráter endotérmico é relacionado a temperatura de fusão cristalina (T_m) dos aerogéis. É possível observar que a entalpia de reação foi maior para o aerogel que não houve modificação química, isso porque a adição do reagente MTMS diminui a interação entre as cadeias da celulose bacteriana, requerendo menor energia para quebra-las.

Figura 16 - Curvas de DSC dos aerogéis de CB padrão e CB silanizada.



As T_m e os valores de entalpia da reação dos aerogéis estão descritas na Tabela 3. O aerogel silanizado apresenta aumento no valor de T_m de, aproximadamente, 18°C quando comparado ao aerogel de CB padrão. Isso pode ser atribuído à mudança na cristalinidade que o material silanizado sofre, como observado no resultado de TGA, apresentado no item anteriormente. Tal resultado indica que o aerogel de CB silanizada tem estabilidade térmica superior ao aerogel de CB padrão, corroborando com os resultados obtidos na análise termogravimétrica e discutidos anteriormente. A entalpia de fusão da reação foi maior para o aerogel de CB padrão, conforme pode ser observado na Tabela 3. Isso acontece pois o aerogel padrão não sofreu modificação química, através da inserção de grupamentos hidrofóbicos, em sua estrutura, sendo então necessário maior energia para quebrar tal estrutura.

Tabela 3 – Temperatura de fusão cristalina (T_m) e entalpia das reações endotérmicas (ΔH_m) observadas nas curvas de DSC dos aerogéis de CB padrão e aerogel de CB silanizada.

Aerogel	T_m ($^\circ\text{C}$)	ΔH_m ($\text{J}\cdot\text{g}^{-1}$)
CB padrão	155,91	52,72
CB silanizada	172,15	28,92

Não é possível observar a temperatura de transição vítrea (T_g) dos materiais. Segundo Vasconcelos et al., (2019) a ausência de constatação de tal ponto dá-se devido as ligações intermoleculares presentes na cadeia de CB, que fazem com que os monômeros da cadeia polimérica sofram um movimento rotacional das ligações químicas, fazendo com que a

decomposição do material ocorra antes mesma da constatação de tal evento (ZHOU, CHENG, JIANG, 2014).

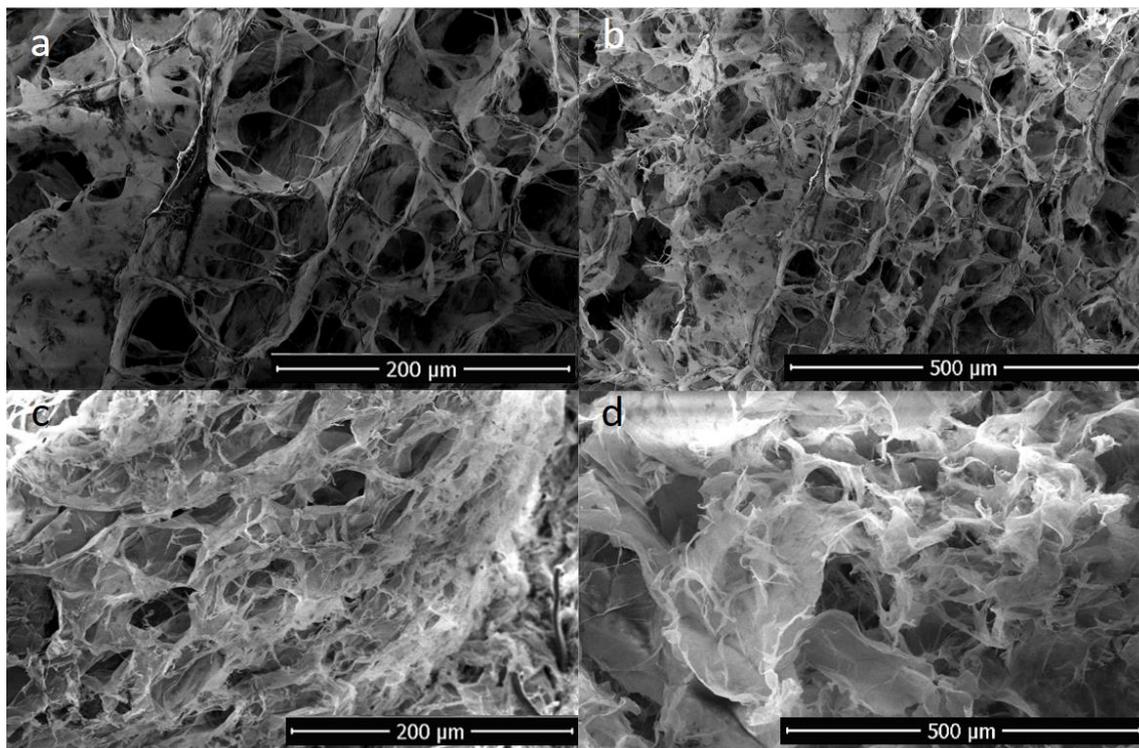
5.2.6 Microscopia Eletrônica de Varredura/Espectroscopia de energia dispersiva (MEV/EDS)

A morfologia dos aerogéis podem ser observadas nas micrografias de MEV da Figura 17. Ambos os materiais apresentaram uma estrutura porosa, com rede de fibras conectadas entre si. Porém, nota-se que o aerogel de CB padrão apresentou estrutura lamelar organizada, composta por fibras maiores, o que não ocorreu no aerogel de CB silanizada. Essa por sua vez, apresenta uma rede tridimensional (3D) mais espessa e irregular. O aerogel de CB padrão apresentou tamanho médio de poros de $68,5 \pm 2,6 \mu\text{m}$, enquanto que o tamanho médio dos poros do aerogel de CB silanizada foi de $117,45 \pm 5 \mu\text{m}$.

O tamanho ideal dos poros depende da aplicação a qual o biomaterial será destinado de acordo com as necessidades das células que ele deve restaurar. Poros na faixa de 20 a 125 μm tornam o material adequado para uso no processo de regeneração tecidual. Poros maiores são indicados ao processo de regeneração óssea (de 100 a 350 μm). Já locais de células transplantadas, que necessitem de vascularização rápida, poros de 500 μm são mais adequados. (YANG et al., 2001). Dessa forma, os aerogéis desenvolvidos apresentam características de tamanho de poros ideais para facilitar a cicatrização de feridas.

Comparado à curativos em forma de membranas e espumas, os curativos obtidos a partir de fibras são mais porosos, como constatados no presente trabalho pelo percentual de porosidade dos materiais e comprovados pelo MEV a seguir. Segundo Khan e Ahmad (2013) para substitutos temporários da pele como os curativos, é desejável porosidade superior a 90%, como obtido pelos aerogéis apresentados nesse trabalho e discutidos anteriormente. Tal característica permite que água e oxigênio permeiem melhor através do material, permite também a absorção de resíduos metabólicos do leito da ferida. O tamanho de poros pequeno pode proteger a ferida contra infecções, impossibilitando que bactérias tenham acesso ao local lesionado (HOMAEIGO HAR; BOCCACCINI, 2020).

Figura 17 - MEV dos aerogéis de CB padrão (a e b) e CB silanizada (c e d).



O polissiloxano tende a cobrir as fibras de celulose à medida que são adicionados mais grupamentos hidrofóbicos à suspensão de nanofibrilas, de modo que é formado um filme em cima das fibrilas (ZHANG et al., 2014), como observadas pela micrografia acima (Figuras 17c e 17d).

Nas micrografias é possível visualizar espaços entre as estruturas do material que são características de aerogéis obtidos pelo processo de liofilização. Tais espaços foram, anteriormente, ocupados por cristais de gelo, formados durante o processo de congelamento, que, em seguida, foram sublimados por secagem à vácuo e baixa temperatura (PINTO, ATHANASSIOU, FRAGOULI, 2016). Poros maiores que 50 μm , os macroporos favorecem a sorção de óleos, enquanto que poros menores contribuem com a sorção de moléculas menores. Além disso, poros menores interferem diretamente na velocidade de penetração do óleo no material (WANG et al., 2016), sendo necessário maior tempo para preencher por completo todos os espaços vazios da estrutura.

Zhou e colaboradores (2014) ao trabalhar a modificação superficial das nanofibras de celulose utilizando silanos, observou que o silano interage e modifica o aspecto da superfície do material, formando uma espécie de película. Ao hidrofobizar nanofibras de CB com dímeros alquil cetona, Tarrés et al. (2016) obteve resultado semelhante ao encontrado na

modificação química com silanos. É reportado que o material modificado apresentou um tipo de revestimento em sua estrutura, o que seria responsável pela oleofilicidade do mesmo e por consequência, pela diminuição da interação do material com a água.

A quantificação dos compostos químicos presentes nos aerogéis foi realizada por espectroscopia de energia dispersiva (EDS) e o resultado pode ser visualizado na Figura 18 e a quantificação de cada átomo é mostrado na Tabela 4.

Figura 18 - Micrografias e espectro de EDS para os aerogéis de a) CB padrão e b) CB silanizada.

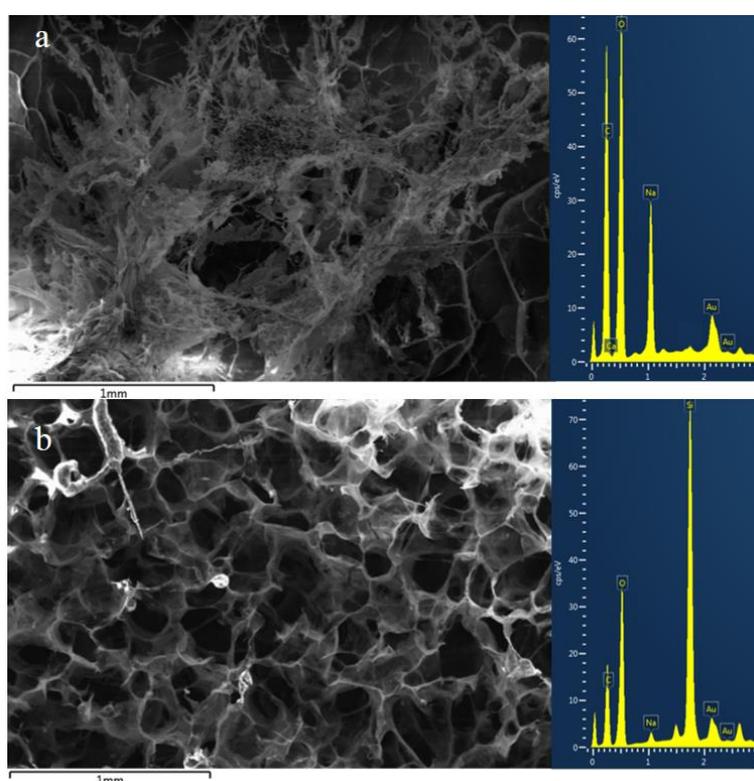


Tabela 4 - Principais componentes encontrados nos aerogéis de CB padrão e CB silanizada a partir da análise de EDS.

Composição atômica	(%) Aerogel de CB padrão	(%) Aerogel de CB silanizada
Carbono (C)	44,4	32,7
Oxigênio (O)	44,2	34,0
Silício (Si)	n.d*	31,2
Sódio (Na)	10,6	1,0

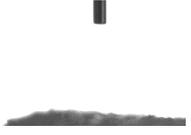
n.d* = não identificado

Quimicamente, o polímero de celulose apresenta fórmula química $(C_6H_{10}O_5)_n$ (ABDUL KHALIL et al., 2014). Já o MTMS é composto de organosilício, que possui fórmula química $CH_3Si(OCH_3)_3$ (BRINKER, 1988). De modo geral, os aerogéis de CB padrão e CB silanizada são compostos pelos elementos químicos carbono, hidrogênio e oxigênio, diferindo apenas na presença do silício no material silanizado como já era esperado. O elemento químico Na encontrado em ambos os aerogéis pode ter sido incorporado ao polímero durante o processo de purificação das membranas de CB. Tais resultados mostram que o Si de fato se encontra no aerogel modificado, sendo responsável por 31,2% da composição química do aerogel de CB silanizada. Tal resultado corrobora ao encontrado pela análise de FTIR, que revelou picos característicos de ligação com o Si.

5.2.7 Ângulo de Contato

A hidrofobização do material celulósico pode ser observada pelo ângulo de contato, mostrado na Tabela 5, comprovando, que a modificação química das fibras de CB desfibriladas foi bem-sucedida. O aerogel não modificado absorveu imediatamente a gota de água, fato esse que pode ser visualizado pela imagem presente na tabela a seguir, a qual não foi possível registrar o momento exato do contato da água com a superfície do material. O aerogel de CB padrão obteve ângulos de contato menores que 10° ao contrário dos ângulos medidos para o aerogel de CB silanizada. Esse, por sua vez, formou ângulos na faixa de 127 a 129° imediatamente após o contato da água com a superfície do aerogel silanizado. Vale ressaltar, que o aerogel de CB silanizada não absorveu a gota de água ao longo de 3 minutos, indicando assim que o material de fato se encontra hidrofóbico.

Tabela 5 - Ângulo de contato dos aerogéis de CB padrão e CB silanizada com a água, e imagens obtidas da interação.

Aerogel	Ângulo	Interação com a água
CB padrão	$<10,0$	
CB silanizada	$127,9 \pm 1,1$	

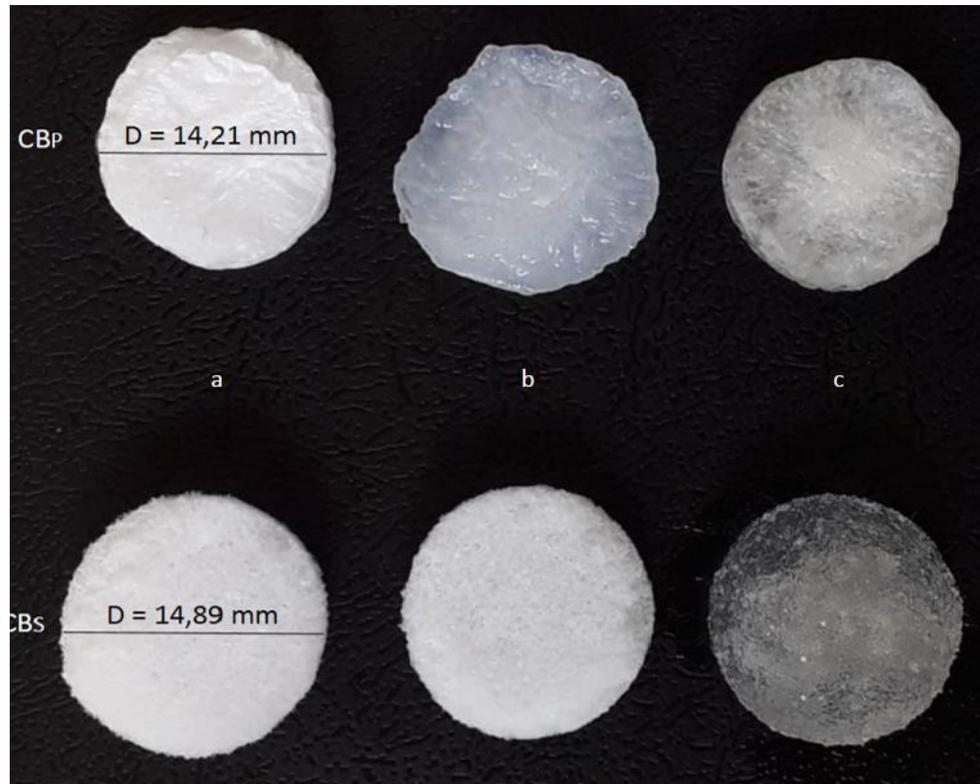
Ao estudar a modificação das nanofibras de celulose bacteriana, submetidas ou não ao processo de oxidação, utilizando solução de MTMS, Pereira (2018) obteve ângulos médios de contato com a água de 120 e 115° para o material oxidado e não oxidado submetidos ao processo de silanização, respectivamente. Tais valores comprovam que houve a efetiva modificação química com hidrofobização das nanofibras de celulose. Já o aerogel de nanofibrilas de CB padrão, não submetido a nenhum tratamento químico, mostrou caráter hidrofílico ao formar ângulo de 54° e absorver a água.

Ao avaliar a efetividade da hidrofobização superficial de nanofibras de celulose, oriundas de resíduos da indústria moveleira, pelo método de deposição a vapor de metiltriclorosilano, Oliveira (2017) obteve ângulos de contato 138,7° para o material modificado. Em contrapartida, não foi possível obter valores de ângulo de contato para o material padrão não submetido ao tratamento químico. Esse último fato é semelhante ao obtido nesta pesquisa. Zhang et al. (2014) obteve ângulo mínimo de 105° ao analisar diferentes graus de silanização de celulose nanofibrilada com MTMS, obtendo maior hidrofobicidade para o aerogel sendo composto de 18,9% em massa de Si, apresentando esse ângulo de contato pela interação com a água em torno de 135,0°.

5.2.8 Capacidade de Absorção de Líquidos

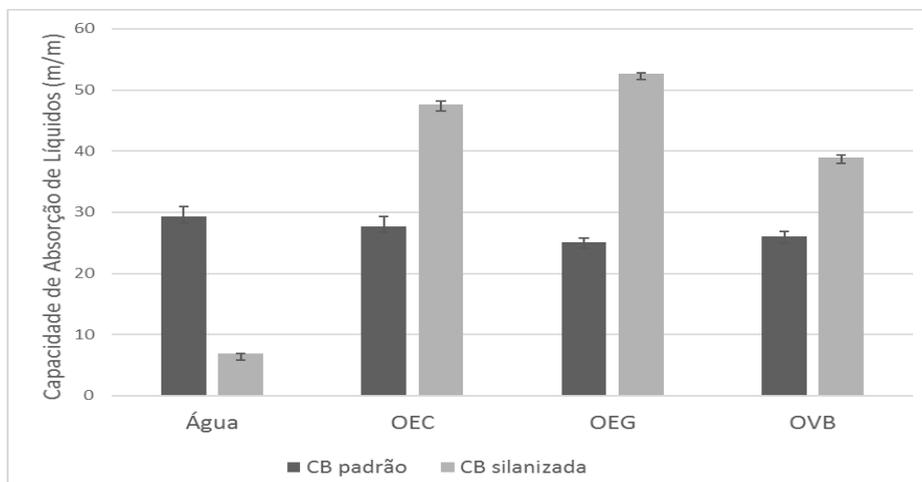
Os aerogéis em estudo foram submetidos ao contato com a água e com os óleos naturais de copaíba, gerânio e buriti. Visualmente, percebe-se que ao entrar em contato com a água e óleo o aerogel de CB padrão absorve os fluídos, perdendo a opacidade e o aspecto seco, apresentando semi-transparência e umidade. Vale ressaltar que tal material tem comportamento diferente para os líquidos, a água fez com que o aerogel perdesse sua estrutura, passando a ter uma consistência pastosa e desintegrando-se, podendo ser constatado pela Figura 19b. Isso ocorreu devido a hidrofiliicidade, que faz com que haja o rompimento da estrutura do material. Ao contrário do comportamento que teve com a água, ao absorver óleo o aerogel de CB padrão não teve colapso estrutural.

Figura 19 - Imagem dos aerogéis de CB padrão (CB_P) e CB silanizada (CB_S) em diferentes condições: a) secos, b) após contato com água, c) após contato com óleo natural.



O aerogel silanizado (CB_S) não apresentou mudanças perceptíveis após o contato do mesmo com a água como pode ser observado na figura 19b. Já em contato com os óleos, os aerogéis de CB padrão e CB silanizada, ao absorver o produto notou-se mudanças como a perda de opacidade da estrutura e da coloração branca, ao adquirir maior transparência. As imagens podem ser observadas na Figura 19. Assim, é possível notar que o aerogel não modificado absorve ambos os líquidos, enquanto que o aerogel silanizado absorve apenas óleo, como era esperado, devido sua modificação química com o MTMS.

Figura 20 - Capacidade de absorção dos aerogéis de CB padrão e CB silanizada de absorver água, óleo essencial de copaíba (OEC), óleo essencial de gerânio (OEG) e óleo vegetal de buriti (OVB).



A capacidade de absorção dos aerogéis de CB padrão e CB silanizada encontra-se representada na Figura 20. Em contato com a água, o aerogel padrão e o aerogel silanizado, foi capaz de absorver 29 e 6 vezes sua massa seca, respectivamente. Pelo caráter hidrofóbico do aerogel silanizado, esperava-se que esse aerogel não absorvesse água. Entretanto, a elevada porosidade do material, 99% de sua estrutura é constituída de poros, tem efeito significativo na difusão de líquidos. Entretanto, essa característica é importante para os curativos, pois apresenta uma superfície úmida capaz de evitar o ressecamento do leito da lesão, e de absorver o exsudado da ferida (VALENCIA-GÓMEZ *et al.*, 2016). Assim, a pequena capacidade de absorção de água pelo aerogel de CB silanizada é valiosa visando o tratamento de feridas.

Em relação a absorção de óleos, os aerogéis silanizados absorveram quantidades elevadas, em média foram capazes de absorver de 39 a 52 vezes sua massa inicial. Além disso, notou-se que o aerogel modificado retém os óleos dentro da matriz sem que haja prejuízos à mesma, o que não ocorre com o aerogel de CB padrão, que tem sua estrutura colapsada após a saturação com seu líquido de afinidade, a água.

Em estudo utilizando modificação superficial do aerogel de celulose bacteriana utilizando fase líquida de trimetilclorosilano, Sai e colaboradores (2015) reportaram que o aerogel de celulose bacteriana não modificado também foi capaz de absorver outros produtos (solventes orgânicos e óleos) além da água. Além disso, foi visto que o aerogel hidrofóbico de celulose bacteriana produzido absorveu diferentes quantidades de acetona, hexano,

clorobenzeno, clorofórmio, tolueno, diesel, gasolina, óleo naturais e parafina. Tais diferenças foram atribuídas às viscosidades e tamanhos das moléculas dos produtos, que afetam a velocidade de deslocamento e o preenchimento da estrutura no aerogel. Zhang *et al.*, (2014) obtiveram capacidade de absorção, para os aerogéis de nanocelulose bacteriana silanizados com MTMS, variando de 49 a 102 vezes o valor em relação a massa do aerogel obtido. Tais valores variaram de acordo com os líquidos testados, sendo eles solventes orgânicos e óleos minerais.

De modo geral, a maior capacidade de absorção dos materiais hidrofobizados pelo método de silanização são relacionados proporcionalmente à densidade dos líquidos testados. Porém nesse trabalho observou-se o inverso. O aerogel silanizado absorveu os óleos na seguinte ordem: óleo essencial de gerânio > óleo essencial de copaíba > óleo vegetal de buriti. Sendo que a densidade dos óleos tem ordem inversa. O óleo de buriti apresenta a maior densidade ($0,9078 \text{ g.cm}^{-3}$), o óleo de copaíba tem densidade de ($0,8976 \text{ g.cm}^{-3}$), enquanto que o óleo de gerânio tem o menor valor ($0,8888 \text{ g.cm}^{-3}$).

A capacidade de absorção, portanto, não depende exclusivamente da densidade dos líquidos, mas também dos seus valores de viscosidade (DONG *et al.*, 2012). Assim, deve-se levar em consideração a viscosidade dos óleos estudados neste trabalho, que interferem diretamente nos volumes absorvidos dos mesmos pelo aerogel silanizado. A viscosidade do OEC é de $6,3818 \text{ mPa.s}^{-1}$, do OEG de $3,9092 \text{ mPa.s}^{-1}$ e do OVB de $63,439 \text{ mPa.s}^{-1}$. Assim, observou-se que o OEG por apresentar o menor valor de viscosidade foi o óleo mais absorvido pela matriz modificada, cerca de 52 vezes mais do que a massa inicial. O óleo de copaíba foi absorvido cerca de 48 vezes pelo aerogel de CB silanizado. Enquanto que o óleo de buriti, por possuir maior valor de viscosidade que os demais óleos, foi absorvido pelo aerogel de CB silanizado cerca de 39 vezes mais.

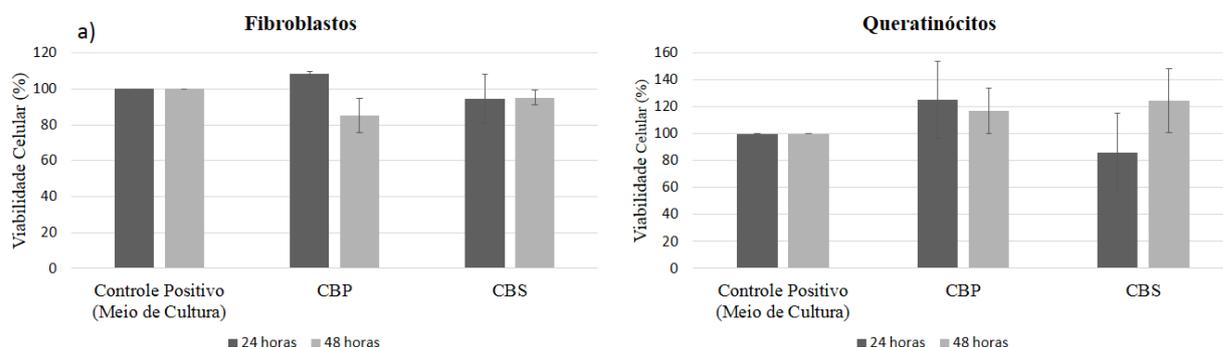
5.2.9 Viabilidade celular

Os sistemas de cultura de células mais comuns para o estudo de viabilidade *in vitro* são as células imortalizadas de queratinócitos e fibroblastos humanos (KEMPF; KIMBLE; CUTTLE, 2011), que podem ser mantidas e renovadas em cultura celular por tempo indeterminado. Isso porque tais células migram para o local lesionado, durante o processo de regeneração tecidual, mantendo a continuidade do tecido da pele.

A utilização do aerogel produzido como carreador de óleos naturais para tratamento de lesões cutâneas só é possível se o mesmo for citocompatível, ou seja, se não apresentar efeitos

tóxicos às células que fazem parte do processo de reparação tecidual, como os queratinócitos e os fibroblastos. A biocompatibilidade dos aerogéis produzidos foi analisada avaliando a citotoxicidade pelo método indireto, os resultados obtidos encontram-se na Figura 21.

Figura 21 - Gráficos de viabilidade celular dos aerogéis de celulose bacteriana padrão (CBP) e CB silanizada (CBS) em relação à a) fibroblastos de ratos (L929) e b) queratinócitos humanos (HaCat) pelo método indireto (n=3).



Os resultados mostraram que os aerogéis não apresentam citotoxicidade às células de fibroblastos e queratinócitos humanos. Em contato por 24 horas com os extratos obtidos dos aerogéis de CB padrão e CB silanizada. Os fibroblastos apresentaram viabilidade celular para o aerogel de CB padrão e o aerogel de CB silanizada de 108 % e 94 %, respectivamente. Após 48 horas, a viabilidade de fibroblastos passou para 85 % e 95 %.

As células de queratinócitos humanos (HaCat) responderam de maneira geral melhor ao estudo com os extratos dos aerogéis de CB padrão e CB silanizada do que as células de fibroblastos. Pela Figura 21b pode-se perceber que a viabilidade celular aumentou consideravelmente após o cultivo por 24 e 48 horas, quando comparado ao controle positivo para ambos os aerogéis estudados. Para aplicação como curativos a redução de até 15% na viabilidade celular é aceitável (LIN *et al.*, 2013) e os aerogéis produzidos são considerados de baixa toxicidade.

O aerogel de celulose não modificada, favoreceu o crescimento de 125 % e 116 % da cultura celular após 24 e 48 horas, respectivamente. Já o aerogel silanizado permitiu a proliferação das células de queratinócitos de 85 % e 124 % após 24 e 48 horas de ensaio. Tais valores são superiores aqueles obtidos no controle negativo (células foram expostas somente ao meio de cultivo, DMEM).

Foi observada melhor fixação e proliferação de fibroblastos e queratinócitos na superfície de curativo de celulose bacteriana adicionado de queratina (KESKIN; URKMEZ; HAMES, 2017). Aerogéis ultrapuros de celulose nanofibrilada de madeira, mediadas pelo oxidante TEMPO, promoveram ligeira diminuição da atividade metabólica em comparação ao grupo controle AcuaCel, porém tal decréscimo não foi atribuído à morte celular, mas sim à redução da proliferação celular, sendo que para as células de queratinócitos nenhum efeito tóxico foi reportado (NORDLI *et al.*, 2016).

A fabricação de nanofios de carbono dopados com oxicarboneto de silício, obtido pelo processo de pirólise, foi avaliada quanto aos efeitos na adesão e na proliferação celular pelo método direto e indireto de cultivo de células de fibroblastos L929. Os resultados obtidos mostraram que o material produzido não apresentou toxicidade as células, tornando-o assim, um material promissor ao processo de regeneração tecidual (LAGONEGRO *et al.*, 2017). Tais resultados são semelhantes aos obtido nesse trabalho, no qual o aerogel de CB silanizada não apresentou toxicidade as células.

5.3 Caracterização dos Óleos

5.3.1 Caracterização dos óleos por Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa

A composição química dos óleos utilizados nesse trabalho foi obtida por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa. As Figuras 22 a 24 mostram os cromatogramas obtidos para os óleos essenciais de copaíba e gerânio e para o óleo vegetal de buriti, respectivamente.

Figura 22 - Cromatograma CG-EM do óleo essencial de copaíba.

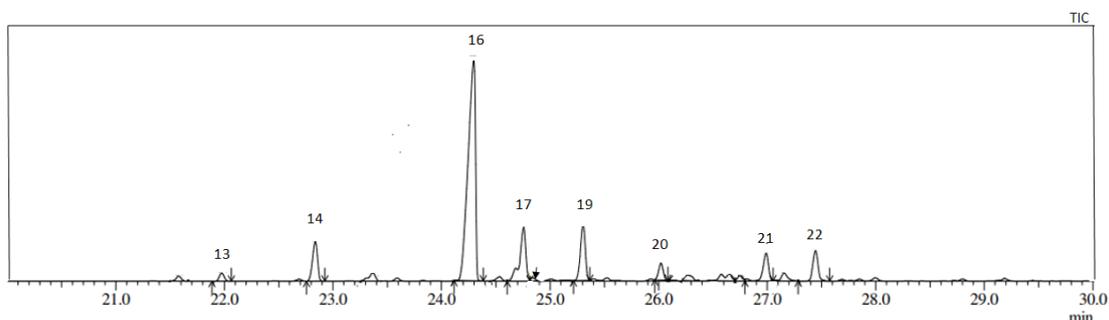
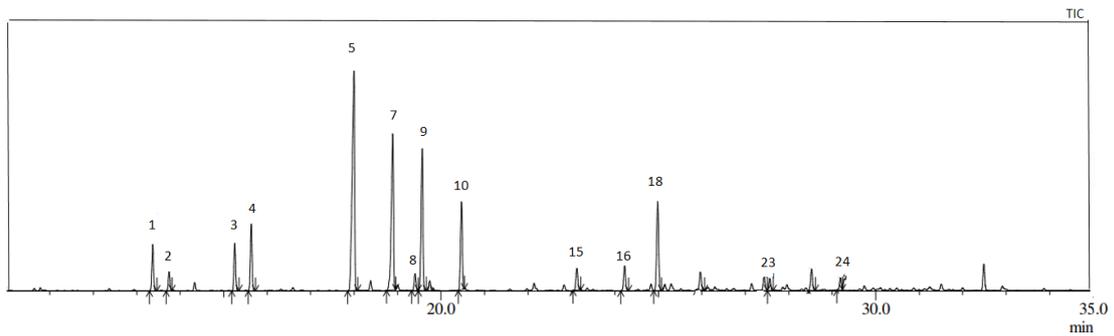
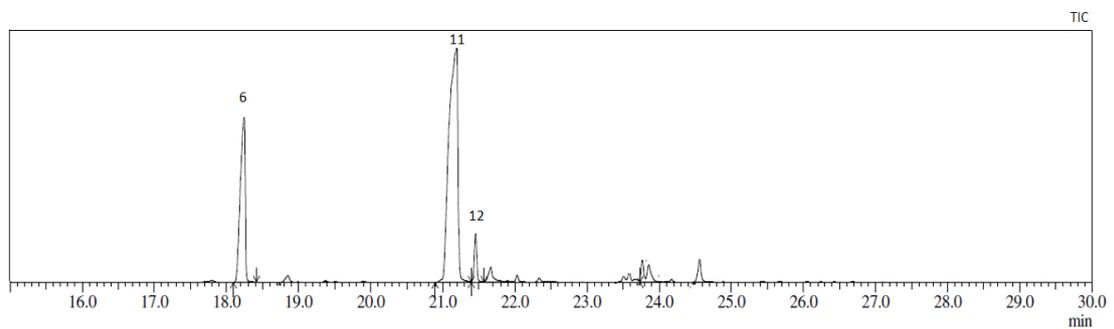


Figura 23 - Cromatograma CG-EM do óleo essencial de gerânio.**Figura 24** - Cromatograma CG-EM do óleo vegetal de buriti.

A Tabela 6 mostra os principais constituintes químicos identificados em cada óleo, com seus respectivos tempos de retenção (TR) na coluna cromatográfica e a massa de cada componente em percentual.

Tabela 6 - Composição percentual dos principais constituintes dos óleos analisados no CG-EM.

Picos	Componentes	TR (min)	OEC (%)	OEG (%)	OVB (%)
1	Linalol	13,371	-	3,62	-
2	Óxido de rosa	13,747	-	1,49	-
3	Trans-mentona	15,258	-	3,82	-
4	Cis-mentona	15,637	-	5,46	-
5	Citronelol	17,999	-	24,53	-
6	Ácido palmítico	18,247	-	-	32,05
7	Geraniol	18,892	-	15,57	-
8	Geranial	19,406	-	1,43	-
9	Formiato de citronelila	19,570	-	12,31	-
10	Formiato de geranila	20,474	-	7,25	-
11	Ácido oleico	21,187	-	-	46,28
12	Ácido esteárico	21,455	-	-	8,14
13	α -cubebeno	21,978	1,21	-	-
14	α -copaeno	22,830	6,11	-	-
15	β -bourboneno	23,128	-	1,96	-
16	β -cariofileno	24,226	51,49	2,27	-
17	α -bergamoteno	24,758	10,33	-	-
18	γ -muroleno	24,986	-	8,03	-
19	β -humuleno	25,288	8,58	-	-
20	α -muroleno	26,024	2,4	-	-
21	β -bisaboleno	26,993	4,63	-	-
22	δ -cadineno	27,436	4,79	-	-
23	butanoato de citronelila	27,565	-	1,06	-
24	óxido de cariofileno	29,191	-	1,11	-
Total (%)			89,5	89,91	86,47

(-) Componente não foi identificado; TR – tempo de retenção; OEC – Óleo Essencial de Copaíba; OEG – Óleo Essencial de Gerânio; OVB – Óleo Vegetal de Buriti.

Pelos cromatogramas obtidos pode-se perceber que o OEG apresentou uma maior variedade de componentes (14 constituintes) em comparação com os OEC e OVB, que apresentaram 8 e 3 constituintes, respectivamente. O óleo de gerânio tem o citrionelol (23,52 %) e o geraniol (15,57 %) em maiores quantidades. Já para o OEC, o β -cariofileno, um sesquiterpeno, é responsável por 51,49% da composição do óleo, seguido pelo α -bergamoteno em concentração de 10,33 %. Para o OVB os ácidos oléico, palmítico e esteárico são responsáveis por 86,47% da composição desse óleo.

A copaíba coletada em Belém do Pará apresentou o β -cariofileno como principal constituinte (25,1 – 50,2 %), seguido do trans- α -bergamoteno (6,4-12 %) e β -bisaboleno (5,2-17,4 %) (SACHETTI et al., 2011). Herrero-Jáuregui e colaboradores (2011) analisaram amostras de copaíba oriundas de Belterra (Belém do Pará) e constataram a predominância de β -bisaboleno, trans- α -bergamoteno e β -cariofileno nas seguintes proporções: 0,92 %, 21,8 % e 17,4 % respectivamente. O β -cariofileno é reportado como constituinte responsável pelas atividades farmacológicas, como a atividade anti-inflamatória, reportada ao óleo de copaíba (BECKER et al., 2020).

O gerânio cultivado na região da Argélia foi analisado e apresentou um total de 45 componentes químicos, sendo os compostos principais, o citrionelol (30,2 %), citrionelil (9,3 %) e geraniol (7,6 %). Os demais constituintes apresentaram concentrações abaixo de 3 % (BOUKHATEM; KAMELI; SAIDI, 2013). Ao avaliar as propriedades organolépticas, físico-químicas e químicas de óleos essenciais de gerânio provenientes de diferentes regiões da África, foi constatado que suas composições químicas eram diferentes (JULIANI et al., 2006). Embora os principais constituintes encontrados no óleo analisado nesse trabalho sejam os mesmos daqueles reportados na literatura (citrionelol, linalol e geraniol), houve divergência dos valores referentes às concentrações destes. O citrionelol, principal componente do óleo de gerânio, é responsável pela atividade antibacteriana, antifúngica e antiespasmódica (BASTOS et al., 2010).

Ácidos graxos insaturados são os principais componentes encontrados no óleo de buriti, sendo responsável por 78 % da composição. Dentre esses ácidos, destaca-se o ácido oléico, constituinte majoritário (72,14 %), seguido pelo ácido palmítico (aproximadamente 20 %), um ácido graxo de cadeia saturada, composta por 16 átomos de carbono (NOBRE et al., 2018). Elevadas concentrações de ácidos graxos insaturados ajudam na formação e deposição das fibras de colágeno, promovem e estimulam a proliferação celular durante o processo de regeneração tecidual (BATISTA et al., 2012).

Levando em consideração os fatores bióticos e abióticos, bem como época de análise, geografia e as demais condições que impactam diretamente na composição química dos óleos, os resultados da composição química obtidos, pelas análises de CG-EM todos os óleos estão de acordo com a literatura.

5.3.2 Atividade Antimicrobiana

Os óleos foram analisados quanto suas atividades microbianas, os resultados encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7 - Atividade antimicrobiana do óleo essencial de copaíba, óleo essencial de gerânio e do óleo vegetal de buriti.

Microrganismos	Categoria	Óleo Essencial de Copaíba		Óleo Essencial de Gerânio		Óleo Vegetal de Buriti	
		CIM (mg.mL ⁻¹)	CBM/CFM (mg.mL ⁻¹)	CIM (mg.mL ⁻¹)	CBM/CFM (mg.mL ⁻¹)	CIM (mg.mL ⁻¹)	CBM/CFM (mg.mL ⁻¹)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 15442)	Bactéria	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 700603)	Bactéria	-	-	16	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	Bactéria	-	-	16	16	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25925)	Bactéria	-	-	8	16	-	-
<i>Candida albicans</i> (ATCC 90028)	Fungo	-	-	4	4	-	-

*CIM: Concentração Inibitória Mínima; CFM: Concentração Fungicida Mínima; CBM: Concentração Bactericida Mínima;

No presente estudo o óleo de copaíba e o óleo de buriti não apresentaram atividade microbiana contra as bactérias e fungo. A ausência de atividade microbiana pode ser atribuída a condições geográficas e formas de manejo e tratamento a que o óleo foi submetido. As diferenças existentes dentro da mesma espécie podem diferir não apenas quimicamente, mas também, podem apresentar comportamentos antimicrobianos diferentes dependendo da região, das espécies de árvores, local e período da coleta (TOBOUTI et al., 2017). Segundo Nazif (2002) a ausência de atividade do OVB pode ter relação direta com a falta ou a baixa concentração de compostos de baixa polaridade no óleo testado. Sendo o modo de preparo dos

extratos, extração do óleo e forma de armazenamento etapas cruciais que afetam diretamente a concentração de ácidos graxos insaturados com propriedades antimicrobianas.

Dos óleos em estudo, o único que apresentou efeitos microbianos foi o OEG contra as bactérias gram-negativas *K. pneumoniae*, com CIM de $16 \mu\text{g.mL}^{-1}$, e *E.coli* com CIM e CBM de $16 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Contra a bactéria gram-positiva *S. aureu*, o OEG foi bacteriostático à concentração de $8 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e bactericida em concentração de $16 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Já contra o fungo *C. albicans* o óleo de gerânio teve ação fungistática e fungicida à concentração de $4 \mu\text{g.ml}^{-1}$. Tais resultados são importantes para o tratamento de lesões, tendo em vista, as consequências das infecções ocasionadas por tais patógenos, caso esses acometam a ferida.

A bactéria *Klebsiella pneumoniae* ocasiona infecções em feridas causadas por queimaduras e é responsável pela maior causa de morbidade em pacientes queimados, é capaz de multiplicar-se rapidamente, dificultando o tratamento eficaz da lesão. Além disso, apresenta-se como desafio no tratamento de queimados visto que tem capacidade de desenvolver resistência aos medicamentos usuais (CHADHA; KATARE; CHHIBBER, 2017). As cepas de *Escherichia coli* podem causar infecções e comprometer a saúde da pele e de tecidos moles, impedindo a cicatrização da lesão, podendo ocasionar necrose além de desencadear resistência aos tratamentos (ALHARBI et al., 2019).

O *Staphylococcus aureus*, é uma bactéria gram-negativa, mais comumente encontrada em lesões, sendo capaz de agravar a ferida pela formação de biofilme sobre a área lesionada, desenvolvendo feridas de natureza crônica, não cicatrizáveis. Além disso, é resistente à resposta imunológica do hospedeiro (DEMIR et al., 2020). O fungo *Candida albicans* é responsável por causar infecções persistentes de natureza fúngica, principalmente, em feridas de queimaduras, dificultando o processo de cicatrização, podendo até levar a perda do enxerto de pele. Em casos mais graves, o paciente pode desenvolver candidemia, mortalidade atribuída à *Candida spp.* em casos de queimaduras graves (ACAR et al., 2011).

Propriedades antibacterianas são atribuídas a composição de ácidos graxos presentes em óleos vegetais devido a capacidade solubilizante desses compostos contra as estruturas anfipática da membrana celular de bactérias. Os detergentes solubilizam lipídeos e proteínas das membranas afetando processos metabólicos, causando assim danos irreversíveis (NOBRE et al., 2018).

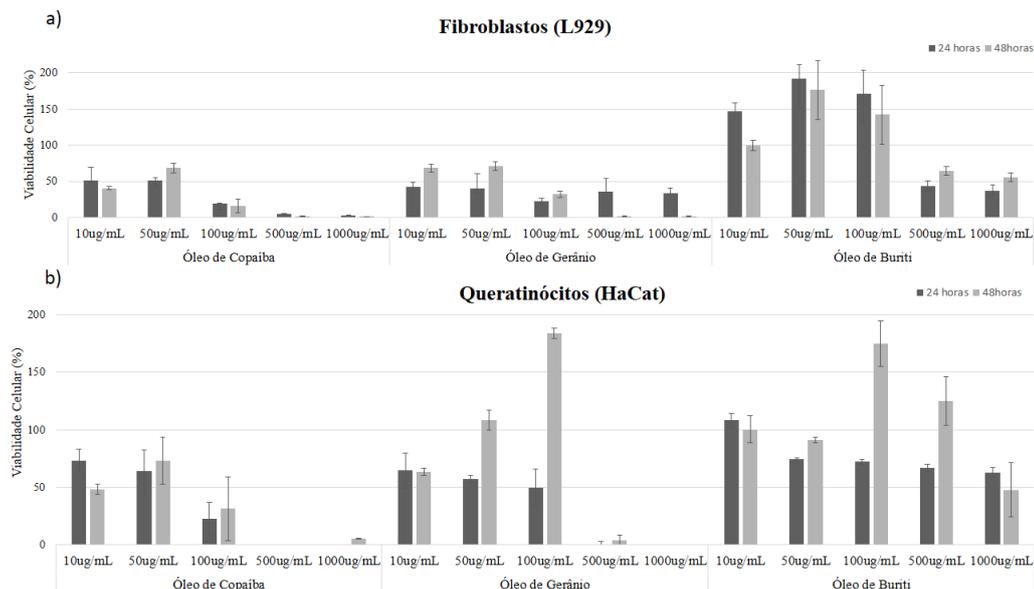
5.3.3 Citotoxicidade

A toxicidade está relacionada ao potencial de determinada substância causar danos aos seres vivos. Portanto, para garantir a plena segurança dos produtos (cosméticos, farmacológicos e alimentícios) são realizados testes *in vivo* e *in vitro*, devendo abranger desde a matéria-prima, formulações testes e até o produto acabado. Nos ensaios *in vitro* são realizadas avaliações em sistemas de cultura de células, que por ser um método sensível, reprodutível, de baixo custo e fácil de conduzir, fornece resultados de grande importância ao estudo biológico (PINTO; KANEKO; PINTO, 2016).

No processo de reparação tecidual, componentes que estimulem tal processo são de grande valia para a rápida cicatrização dos tecidos. A incorporação de tais componentes bioativos em matrizes biocompatíveis favorece as fases de angiogênese, reepitelização e neovascularização dos tecidos danificados (SELVAN; SHANMUGARAJAN; UPPULURI, 2020). Os componentes a serem utilizados no processo de reparo tecidual devem ser atóxicos ou de baixa toxicidade às células.

A viabilidade celular para os fibroblastos de rato (L929) e queratinócitos humanos (HaCat) foram avaliadas sob diferentes concentrações dos OEC, OEG e OVB. Os resultados dos ensaios encontram-se na Figura 25.

Figura 25 - Avaliação da citotoxicidade de diferentes concentrações dos óleos concentrações para as células a) fibroblastos e b) queratinócitos.



Os óleos essenciais de copaíba e gerânio foram tóxicos às células de fibroblastos mesmo quando testados em baixas concentrações (10 – 50 µg/mL), além disso, o aumento da concentração diminuiu a viabilidade celular. Entre os dois óleos, apenas o óleo de gerânio na concentração de 50 µg/mL permitiu a viabilidade de, aproximadamente, 70 % das células de fibroblastos cultivadas por 48 horas.

Ao contrário do que aconteceu com os óleos essenciais, o OVB não apresentou toxicidade às células de L929 e favoreceu sua proliferação. Decorridas 24 horas de cultivo com os fibroblastos, o óleo de buriti nas concentrações de 10, 50 e 100 µg/mL, a viabilidade celular foi de 147 %, 192 % e 171 % respectivamente. Após 48 horas foi observada redução na viabilidade celular, passando para 99 %, 176 % e 142 %, para as mesmas concentrações citadas anteriormente.

De modo geral, as células de queratinócitos reagiram melhor aos óleos em estudo, apresentando percentual de células viáveis maior do que no ensaio com os fibroblastos. O óleo de copaíba, na concentração de 50 µg/mL, após 48 horas de cultivo com as células, permitiu a viabilidade de aproximadamente 72% das células. O óleo de gerânio apresentou taxas de viabilidade celular inferiores a 70% após o cultivo por 24 horas. Porém, após esse período as células voltaram a proliferar, chegando a viabilidade de 183 % com 48 horas de cultivo com o extrato. Uma possível causa para esse fato pode ser o período de adaptabilidade ao meio, ao qual as células ficaram expostas. Após esse período e encontrando condições favoráveis, as células voltam a multiplicar-se. O óleo de buriti não apresentou efeitos negativos à viabilidade celular quando testado concentrações inferiores a 500 µg/mL. Porém, a partir dessa concentração o OVB apresentou toxicidade.

Existe uma escassez de estudos sobre os efeitos de cicatrização das diferentes espécies existentes do gênero *Copaifera*. Sendo esses de extrema importância, já que variações na composição química são encontradas entre as diferentes espécies de copaíba, estando associados diretamente aos efeitos biológicos (LIMA SILVA *et al.*, 2008). O contrário foi obtido no atual trabalho no qual a linhagem de fibroblastos L929 não respondeu bem aos níveis de óleo essencial de copaíba testados, podendo então ser atribuído a composição química do mesmo. Embora o componente majoritário do óleo essencial de copaíba em estudo seja o β-cariofileno, e a esse é reportado efeito anti-inflamatório segundo VEIGA e colaboradores (2007), é possível que os demais constituintes apresentem efeitos tóxicos para as células, sendo mais prejudicial à linhagem de fibroblastos do que à linhagem de queratinócitos.

Boukhathem e colaboradores (2013) avaliaram *in vivo* a atividade anti-inflamatória do óleo essencial de gerânio proveniente da Argélia. Ao utilizar doses de 5 e 10 mL do óleo no edema na orelha de ratos, obteve-se redução de 73 % e 88%, respectivamente da inflamação. Em análise histológica, foi confirmado a inibição das respostas inflamatórias da pele ao observar redução do edema da orelha semelhante ao observado com o controle positivo (diclofenaco).

Ao avaliar a toxicidade de emulsões produzidas com óleo de buriti, Zanatta e colaboradores (2008) reportaram ausência de toxicidade para fibroblastos (linhagem 3T3) e queratinócitos (HaCat) para concentrações variando de 31,25 mg/mL a 1000 mg/mL. Ao trabalharem com concentrações inferiores a essas foi reportado a obtenção de resultados inexpressíveis. O contrário foi observado no presente trabalho ao ser obtido resultados promissores em concentrações na faixa de microgramas (μg). Dentre os resultados de citotoxicidade, o óleo vegetal de buriti destacou-se dos demais não só por apresentar ausência de toxicidade, mas também por promover a proliferação de células de fibroblastos e queratinócitos, até as concentrações de 100 $\mu\text{g/mL}$ e 500 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente, mostrando-se promissor ao tratamento de lesões.

6 CONCLUSÃO

A utilização de carboximetilcelulose permitiu a estabilização da suspensão de celulose bacteriana para a desfibrilação do material em moinho de alta rotação. Sendo esta combinação de métodos uma alternativa eficiente e promissora uma vez que possibilita a operação de volumes maiores de processamento (no mínimo 1,5L) em equipamento robusto, resistente e de fácil operação.

A hidrofobização da suspensão de CB utilizando o reagente trimetilmtoxssilano foi capaz de produzir aerogel hidrofóbico capaz de absorver quantidades significativas de óleo, cerca de 20 vezes mais do que o aerogel de CB padrão (não silanizado). Além disso, notou-se que a silanização aumentou a estabilidade térmica do aerogel hidrofóbico produzido. Tal resultado é de extrema importância para a utilização do mesmo como curativo visto que é indispensável garantir que o material produzido possa ser submetido a processos seguros de esterilização, podendo então ser submetido a esterilização por autoclave.

O aerogel de celulose bacteriana silanizada mostra-se ser um veículo promissor para a incorporação de óleos naturais de potencial farmacológico para o processo de regeneração tecidual, visto que ele se mostrou estruturalmente mais estável e foi capaz de absorver elevadas quantidades de óleo. Essa característica pode ser vista como uma vantagem para posterior liberação no leito da ferida sem que haja a necessidade de trocas diárias do curativo. Os aerogéis testados apresentaram baixa toxicidade celular para as células de fibroblastos de ratos (L929) e queratinócitos humanos (HaCat). Esses dados sustentam que o material pode ser considerado seguro e confiável, fornecendo uma matriz estável para novos estudos.

Afim de promover a cicatrização e proteção da ferida contra possíveis infecções, os óleos de copaíba, gerânio e buriti foram avaliados quanto sua atividade microbiana e citotóxica. O óleo de copaíba não apresentou atividade microbiana e apresentou-se citotóxico as células de fibroblastos e queratinócitos. O óleo essencial de gerânio foi o único óleo que teve ação contra bactéria gram-positiva (*Staphylococcus aureus*) e gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*), e contra o fungo *Candida albicans*. No teste de citotoxicidade o óleo vegetal de buriti mostrou ser o óleo mais promissor ao tratamento de feridas cutâneas ao favorecer o crescimento de células de fibroblastos e queratinócitos, característica importante para o tratamento de lesões cutâneas.

Os resultados obtidos demonstram que aerogéis de celulose bacteriana silanizados podem ser utilizados para a absorção de óleos naturais como alternativa no tratamento de lesões cutâneas.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Sugere-se:

- a) Avaliar a incorporação conjunta dos óleos de gerânio e de buriti, com o objetivo de agregar as características antimicrobianas e de proliferação celular em um único produto.
- b) Realizar ensaio de citotoxicidade e atividade antimicrobiana para o aerogel incorporado com os óleos.
- c) Avaliar as propriedades dos aerogéis após a incorporação com os óleos naturais.
- d) Realizar análise do perfil de liberação do produto final.
- e) Realizar teste *in vivo*.
- f) Análise de vida de prateleira do produto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL KHALIL, H. P. S.; DAVOUDPOUR, Y.; ISLAM, Md. N.; MUSTAPHA, A.; SUDESH, K.; DUNGANI, R.; JAWAID, M. Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p.649-665, 2014.

ACAR, A.; DIKTAS, H.; EVINÇ, R.; ULKUR, E.; ONCUL, O.; GORENEK, L. Comparison of silver-coated dressing (Acticoat®), chlorhexidine acetate 0.5% (Bactigrass®) and nystatin for topical antifungal effect in *Candida albicans*-contaminated, full-skin-thickness rat burn wounds. **Burns**, v. 37, n. 5, p.882-885, 2011.

ALBUQUERQUE, K. C. O.; VEIGA, A. S. S.; SILVA E SILVA, J. V.; BRIGIDO, H. P. C.; FERREIRA, E. P. R.; COSTA, E. V. S.; MARINHO, A. M. R.; PERCÁRIO, S.; DOLABELA, M. F. Brazilian Amazon Traditional Medicine and the Treatment of Difficult to Heal Leishmaniasis Wounds with *Copaifera*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, p. 1-9, 2017.

ALERICO, G. C.; BECKENKAMP, A.; VIGNOLI-SILVA, M.; BUFFON, A.; POSER, G. L. Proliferative effect of plants used for wound healing in Rio Grande do Sul state, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 176, p.305-310, 2015.

ALHARBI, N. S.; KHALED, J. M.; KADAIKUNNAN, G.; ALOBAIDI, A. S.; SHARAFADDIN, A. H.; ALYAHYA, S. A.; ALMANAA, T. N.; ALSUGHAVIER, M. H.; SHEHU, M. R. Prevalence of *Escherichia coli* strains resistance to antibiotics in wound infections and raw milk. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 7, p.1557-1562, 2019.

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. Cerrado: espécies vegetais úteis. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 464p.

AMBEKAR, R. S.; KANDASUBRAMANIAN, B. Advancements in nanofibers for wound dressing: A review. **European Polymer Journal**, v. 117, p.304-336, 2019.

ANDRADE, F. K.; MORAIS, J. P. S.; MUNIZ, C. R.; NASCIMENTO, J. H. O.; VIEIRA, R. S.; GAMA, F. M. P.; ROSA, M. F. Stable microfluidized bacterial cellulose suspension. **Cellulose**, v. 26, n. 10, p.5851-5864, 2019.

ARRUDA, C. MEJÍA, J. A. A.; RIBEIRO, V. P.; BORGES, C. H. G.; MARTINS, C. H. G.; VENEZIANI, R. C. S.; AMBRÓSIO, S. G.; BASTOS, J. K. Occurrence, chemical composition, biological activities and analytical methods on *Copaifera* genus - A review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 109, p.1-20, 2019.

BAI, M. Y.; CHEN, M. C.; YU, W. C.; LIN, J. Y. Foam dressing incorporating herbal extract: An all-natural dressing for potential use in wound healing. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, v. 32, n. 3, p. 293-308, 2016.

BARROS, E. M. L.; LIRA, S. R. S.; LEMOS, S. I. A.; BARROS, T. L.; RIZO, M. S. Estudo do creme de buriti (*Mauritia flexuosa* L.) no processo de cicatrização. **ConScientiae Saúde**, v. 13, n. 4, p. 603-610, 2014.

BASTOS, J. F. A.; MOREIRA, I. J. A.; RIBEIRO, T. P.; MEDEIROS, I. A.; ANTONIOLLI, A. R.; DE SOUZA, D. P.; SANTOS, M. R. V. Hypotensive and Vasorelaxant Effects of Citronellol, a Monoterpene Alcohol, in Rats. **Basico & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 106, n. 4, p. 331-337, 2010.

BATISTA, J. S.; OLINDA, R. G.; MEDEIROS, V. B.; RODRIGUES, C. M. F.; OLIVEIRA, A. F.; PAIVA, E. S.; FREITAS, C. I. A.; MEDEIROS, A. C. Atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti *Mauritia flexuosa* L. **Ciência Rural**, v. 42, n. 1, p. 136-141, 2011.

BECKER, G.; BRUSCO, I.; CASOTI, R.; MARCHIORI, M. C. L.; CRUZ, L.; TREVISAN, G.; OLIVEIRA, S. M. Copaiba oleoresin has topical antinociceptive activity in a UVB radiation-induced skin-burn model in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 250, p. 112476, 2020.

BLOWMAN, K.; MAGALHÕES, M.; LEMOS, M. F. L.; CABRAL, C.; PIRES, I. M. Anticancer properties of essential oils and other natural products. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2018, p.1-12, 2018.

BOATENG, J. S.; MATTHEWS, K. H.; STEVENS, H. N. E.; ECCLESTON, G. M. Wound healing dressings and drug delivery systems: A review. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, p. 2892-2923, 2008.

BOLZINGER, M. A.; BRIANÇON, S.; PELLETIER, J.; CHEVALIER, Y. Penetration of drugs through skin, a complex rate-controlling membrane. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v.17, p.156-165, 2012.

BOSE, S.; KE, D.; SAHASRABUDHE, H.; BANDYOPAHYAY, A. Additive manufacturing of biomaterials. **Progress in Materials Science**, v. 93, p.45-111, 2018.

BOUKHATEM, M. N.; KAMELI, A.; SAIDI, F. Essential oil of Algerian rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*): Chemical composition and antimicrobial activity against food spoilage pathogens. **Food Control**, v. 34, n. 1, p.208-213, 2013.

BOUKHATEM, M. N.; KAMELI, A.; FERHAT, M. A.; SAIDI, F.; MEKARNIA, M. Rose geranium essential oil as a source of new and safe anti-inflammatory drugs. **Libyan Journal of Medicine**, v. 8, n. 1, p. 22520, 2013.

BRINKER, C. J. Hydrolysis and condensation of silicates: effects on structure. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v.100, p. 31-50, 1988.

CAO, Z.; SHEN, Z.; LUO, X.; ZHANG, H.; LIU, Y.; CAI, N.; XUE, Y.; YU, F. Citrate-modified maghemite enhanced binding of chitosan coating on cellulose porous membranes for potential application as wound dressing. **Carbohydrate Polymers**, v. 166, p.320-328, 2017.

CASTAÑO, O.; AMODIO, S. P.; REQUENA, C. N.; TIMONEDA, M. A. M.; ENGEL, E. Instructive microenvironments in skin wound healing: Biomaterials as signal releasing platforms. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 129, p. 95-117, 2018.

CERVIN, N. T.; AULIN, C.; LARSSON, P. T.; WAGBERG, L. Ultra porous nanocellulose aerogels as separation medium for mixtures of oil/water liquids. *Cellulose*, v. 19, n. 2, p.401-410, 2011

CHADHA, P.; KATARE, O. P.; CHHIBBER, S. Liposome loaded phage cocktail: Enhanced therapeutic potential in resolving *Klebsiella pneumoniae* mediated burn wound infections. *Burns*, v. 43, n. 7, p.1532-1543, 2017.

CHAUDHARI, A. A.; VIG, K.; BAGAZINI, D. R.; SAHU, R.; DIXIT, S.; DENNIS, V.; SINGH, S. R.; PILLAI, S. R. Future Prospects for Scaffolding Methods and Biomaterials in Skin Tissue Engineering: A Review. *International Journal of Molecules*, v. 17, p. 1974, 2016.

CHEN, Q.; THOUAS, G. **Biomaterials: A basic introduction**. New York: Crc Press, p. 706, 2014.

CHIN, J. S.; MADDEN, L.; CHEW, S. Y.; BECKER, D. L. Drug therapies and delivery mechanisms to treat perturbed skin wound healing. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 149-150, p. 2-18, 2019.

CHOUHAN, D.; MANDAL, B. B. Silk biomaterials in wound healing and skin regeneration therapeutics: From bench to bedside. *Acta Biomaterialia*, v. 103, p.24-51, 2020.

CIFTCI, D.; UBEYITOGULLARI, A.; HUERTA, R. R.; CIFTCI, O. N.; FLORES, R. A.; SALDAÑA, M. D. Lupin hull cellulose nanofiber aerogel preparation by supercritical CO₂ and freeze drying. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 127, p.137-145, 2017.

COURVALIN, P.; GOLDSTEIN, F.; PHILIPPON, A.; SIROT, J. **L'antibiogramme**, Ed. MPC – Videom, Paris, France, 1985.

DARPENTIGNY, C.; NONGLATON, G.; BRAS, J.; JEAN, B. Highly absorbent cellulose nanofibrils aerogels prepared by supercritical drying. *Carbohydrate Polymers*, v. 229, p.115560-115583, 2020.

DEBONE, H. S.; LOPES, P. S.; SEVERINO, P.; YOSHIDA, C. M. P.; SOUTO, E. B.; SILVA, C. F. Chitosan/Copaiba oleoresin films for wound dressing application. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 555, p.146-152, 2019.

DEMIR, C.; DEMIRCI, M.; YIGIN, A.; TOKMAN, H. B.; YILDIZ, S. C. Presence of biofilm and adhesin genes in *Staphylococcus aureus* strains taken from chronic wound infections and their genotypic and phenotypic antimicrobial sensitivity patterns. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, v. 29, p.101584-101598, 2020.

DONG, X.; CHEN, J.; MA, Y.; WANG, J.; CHAN-PARK, M. B.; LIU, X.; WANG, L.; HUANG, W.; CHEN, P. Superhydrophobic and superoleophilic hybrid foam of graphene and carbon nanotube for selective removal of oils or organic solvents from the surface of water. *Chemical Communications*, v. 48, n. 86, p.10660-10662, 2012.

ELLEBRACHT, N. C.; JONES, C. W. Functionalized cellulose nanofibril aerogels as cooperative acid–base organocatalysts for liquid flow reactions. **Carbohydrate Polymers**, v. 233, p.115825-115855, 2020.

EL-NAGGAR, M. E. OTHMAN, S. I.; ALLAM, A. A.; MORSY, O. M. Synthesis, drying process and medical application of polysaccharide-based aerogels. *International Journal of Biological Macromolecules*, p.1-38, 2019.

ESA, F.; TASIRIN, S. M.; RAHMAN, N. A. Overview of Bacterial Cellulose Production and Application. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 2, p.113-119, 2014.

ESQUIVEL-CASTRO, T. A.; IBARRA-ALONSO, M. C.; OLIVA, J.; MARTÍNEZ-LUÉVANOS, A. Porous aerogel and core/shell nanoparticles for controlled drug delivery: A review. **Materials Science and Engineering: C**, v. 96, p.915-940, 2019.

FANG, L.; CATCHMARK, J. M. Characterization of cellulose and other exopolysaccharides produced from *Gluconacetobacter* strains. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p.663-669, 2015.

GALÚCIO, C. S.; BENITES, C. I.; RODRIGUES, R. A. F.; MACIEL, M. R. W. Recuperação de sesquiterpenos do óleo-resina de copaíba a partir da destilação molecular. **Química Nova**, v. 39, n. 7, p. 795-800, 2016.

GANTWERKER, E. A.; HOM, D. B. Skin: Histology and Physiology of Wound Healing. *Clinics in Plastic Surgery*, v. 39, n. 1, p.85-97, 2012.

GASPAR-PINTILIESCU, A.; STANCIUC, A. M.; CRACIUNESCU, O. Natural composite dressings based on collagen, gelatin and plant bioactive compounds for wound healing: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 138, p.854-865, 2019.

GHASEMI-MOBARAKEH, L. KOLAHREEZ, D.; RAMAKRISHNA, S.; WILLIAMS, D. Key terminology in biomaterials and biocompatibility. *Current Opinion in Biomedical Engineering*, v. 10, p.45-50, 2019.

GUERRA, A.; BELINHA, J.; JORGE, R. N. Modelling skin wound healing angiogenesis: A review. *Journal of Theoretical Biology*, v. 459, p.1-17, 2018.

GURGEL, E. S. C.; OLIVEIRA, M. S.; SOUZA, M. C.; SILVA, S. G.; MENDONÇA, M. M.; SOUZA FILHO, A. P. S. Chemical compositions and herbicidal (phytotoxic) activity of essential oils of three *Copaifera* species (Leguminosae-Caesalpinoideae) from Amazon-Brazil. **Industrial Crops and Products**, v. 142, p.111850-111874, 2019.

HALIB, N.; AHMAD, I.; GRASSI, M.; GRASSI, G. The remarkable three-dimensional network structure of bacterial cellulose for tissue engineering applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 566, p.631-640, 2019.

HAN, X.; BEAUMONT, C.; STEVENS, N. Chemical composition analysis and in vitro biological activities of ten essential oils in human skin cells. **Biochimie Open**, v. 5, p.1-7, 2017.

HERRERO-JÁUREGUI, C.; CASADO, M. A.; ZOGHBI, M. G. B.; MARTINS-DA-SILVA, R. C. Chemical Variability of *Copaifera reticulata* Ducke Oleoresin. **Chemistry & Biodiversity**, v. 8, p. 674-685, 2011.

HOMAEIGO HAR, S.; BOCCACCINI, A. R. Antibacterial Biohybrid Nanofibers for Wound Dressings. **Acta Biomaterialia**, p.1-64, 2020.

HU, W.; CHEN, S.; YANG, J.; LI, Z.; WANG, H. Functionalized bacterial cellulose derivatives and nanocomposites. *Carbohydrate Polymers*, v. 101, p.1043-1060, 2014.

IWAMOTO, S.; NAKAGAITO, A. N.; YANO, H. Nano-fibrillation of pulp fibers for the processing of transparent nanocomposites. *Applied Physics A*, v. 89, n. 2, p. 461-466, 2007.

JARBRINK, K.; NI, G.; SONNERGEN, H.; SCHMIDTCHEN, A.; PANG, C.; BAJPAI, R.; CAR, J. Prevalence and incidence of chronic wounds and related complications: a protocol for a systematic review. **Systematic Reviews**, v. 5(1), p. 152, 2016.

JARIĆ, S.; KOSTIC, O.; MATARUGA, Z.; PAVLOVIC, D.; PAVLOVIC, M.; MITROVIC, M.; PAVLOVIC, P. Traditional wound-healing plants used in the Balkan region (Southeast Europe). *Journal of Ethnopharmacology*, v. 211, p.311-328, 2018.

JAVANBAKHT, S.; SHAABANI, A. Carboxymethyl cellulose-based oral delivery systems. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 133, p.21-29, 2019.

JAYAKUMAR, R.; PRABAHARAN, M.; KUMAR, P. T. S.; NAIR, S. V.; TAMURA, H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing application. **Biotechnology Advances**, v.29, p.322-337, 2011.

JJI, S.; UDHAYAKUMAR, S.; ROSE, C.; MURALIDHARAN, C.; KADIRVELU, K. Thymol enriched bacterial cellulose hydrogel as effective material for third degree burn wound repair. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 122, p.452-460, 2019.

JULIANI, H. R.; KOROCH, A.; SIMON, J. E.; HITIMANA, N.; DAKA, A.; RANARIVELO, L.; LANGENHOVEN, P. Quality of Geranium Oils (*Pelargonium* Species): Case Studies in Southern and Eastern Africa. **Journal of Essential Oil Research**, v. 18, n. 1, p.116-121, 2006.

KARADAGLI, I.; SCHULZ, B.; SCHESTAKOW, M.; MILOW, B.; GRIES, T.; RATKE, L. Production of porous cellulose aerogel fibers by an extrusion process. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 106, p.105-114, 2015.

KEMPF, M.; KIMBLE, R. M.; CUTTLE, L. Cytotoxicity testing of burn wound dressings, ointments and creams: A method using polycarbonate cell culture inserts on a cell culture system. **Burns**, v. 37, n. 6, p.994-1000, 2011.

KESKIN, Z.; URKMEZ, A. S.; HAMES, E. E. Novel keratin modified bacterial cellulose nanocomposite production and characterization for skin tissue engineering. **Materials Science and Engineering: C**, v. 75, p.1144-1153, 2017.

KHAN, F.; AHMAD, S. R. Polysaccharides and Their Derivatives for Versatile Tissue Engineering Application. **Macromolecular Bioscience**, v. 13, n. 4, p. 395-421, 2013.

KHANJANZADEH, H.; BEHROOZ, R.; BAHRAMIFAR, N.; GINDL-ALTMUTTER, W.; BACHER, M.; EDLER, M.; GRIESSER, T. Surface chemical functionalization of cellulose nanocrystals by 3-aminopropyltriethoxysilane. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p.1288-1296, 2018.

KIM, H. S.; SUN, X.; LEE, J. H.; KIM, H. W.; FU, X.; LEONG, K. Advanced drug delivery systems and artificial skin grafts for skin wound healing. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 146, p.209-239, 2019.

ŁABUS, W.; KAWECKI, M.; NOWAK, M. The Role of Tissue Engineering in the Treatment of Burn Wounds. *Polish Journal of Surgery*, v. 84, n. 3, p.167-171, 2012.

LAGONEGRO, P.; ROSSI, F.; GALLI, C.; SMERIERI, A.; ALIVONI, R.; PINELLI, S.; RIMOLDI, T.; ATTOLINI, G.; MACALUSO, G.; SADDOW, S. E.; SALVIATI, G. A cytotoxicity study of silicon oxycarbide nanowires as cell scaffold for biomedical applications. **Materials Science and Engineering: C**, v. 73, p.465-471, 2017.

LALLI, J. Y. Y. **In vitro pharmacological properties and composition of leaf essential oils and extracts of selected indigenous *Pelargonium* (Geraniaceae) species.** MPharm Thesis University of the Witwatersrand, Johannesburg, South Africa, 2006.

LALLI, J. YY.; VAN ZYL, R. L.; VAN VUUREN, S. F.; VILJOEN, A. M. In vitro biological activities of South African *Pelargonium* (Geraniaceae) species. *South African Journal of Botany*, v. 74, n. 1, p. 153-157, 2008.

LIN, W. C.; LIEN, C. C.; YEH, H. J.; YU, C. M.; HSU, S. H. Bacterial cellulose and bacterial cellulose–chitosan membranes for wound dressing applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n.1, p. 603-611, 2013.

LIMA SILVA, J. J.; GUIMARÃES, S. B.; SILVEIRA, E. R.; VASCONCELOS, P. R. L.; LIMA, G. G.; TORRES, S. M.; VASCONCELOS, R. C. Effects of *Copaifera langsdorffii* Desf. on Ischemia-Reperfusion of Randomized Skin Flaps in Rats. **Aesthetic Plastic Surgery**, v. 33, p. 253-268, 2008.

MAGALHÃES, W. L. E.; CLARO, F. C.; MATOS, M.; LENGOWSKI, E. C. **Produção de nanofibrilas de celulose por desfibrilação mecânica em moinho coloidal.** Colombo, EMBRAPA-FLORESTAS, 2017, 5p. (EMBRAPA-FLORESTA. Comunicado Técnico, 404).

MAHBOUBI, M.; TAGHIZADEH, M.; KHAMECHIAN, T.; TAMTAJI, O. R.; MOKHTARI, R.; TALAEI, S. A. The wound healing effects of herbal cream containing *Oliveria Decumbens* and *Pelargonium Graveolens* essential oils in diabetic foot ulcer model. **World Journal Plastic Surgery**, v. 7, n. 1, p. 45-50, 2018.

MANAM, N. S.; HARUN, W. SW.; SHRI, D. NA.; GHANI, S. AC.; KURNIAWAN, T.; ISMAIL, M. H.; IBRAHIM, M. HI. Study of corrosion in biocompatible metals for implants: A review. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 701, p.698-715, 2017.

MANOUKIAN, O. S.; AHMAD, A.; MARIN, C.; JAMES, R.; MAZZOCCA, A. D.; KUMBAR, S. G. Bioactive nanofiber dressings for wound healing. **Wound Healing Biomaterials**, p.451-481, 2016.

MARTINS, C. A. F.; CAMPOS, M. L.; IRIODA, A. C.; STREMEL, D. P.; TRINDADE, A. C. L. B.; PANTAROLO, R. Anti-inflammatory effect of malva sylvestris, sida cordifolia, and pelargonium graveolens is related to inhibition of prostanoid production. **Molecules**, v. 22, p.1-15, 2017.

MOEINI, A.; PEDRAM, P.; MAKVANDI, P.; MALINCONICO, M.; AYALA, G. G. Wound healing and antimicrobial effect of active secondary metabolites in chitosan-based wound dressings: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 233, p.209-239, 2020.

MOURA, L. V.; OLIVEIRA, E. R.; FERNANDES, R. M.; GABRIEL, A. M. A.; SILVA, H. X.; TAKIYA, C. S.; CÔNSOLO, N. R. B.; RODRIGUES, G. C. G.; LEMOS, T.; GANDRA, J. R. Feed efficiency and carcass traits of feedlot lambs supplemented either monensin or increasing doses of copaiba (*Copaifera* spp.) essential oil. **Animal Feed Science and Technology**, v. 232, p.110-118, 2017.

MOGOSANU, G. D.; GRUMEZESCU, A. M. Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. **International Journal of Pharmacology**. v. 463, p. 127–136, 2014.

NAIR, L. S.; LAURENCIN, C. T. Biodegradable polymers as biomaterials. **Progress in Polymer Science**, v. 32, p. 762-798, 2007.

NASERI-NOSAR, M.; ZIORA, Z. M. Wound dressings from naturally-occurring polymers: A review on homopolysaccharide-based composites. **Carbohydrate Polymers**, v. 189, p.379-398, 2018.

NAZIF, N. M. Phytoconstituents of *Zizyphus spina-christi* L. fruits and their antimicrobial activity. **Food Chemistry**, v. 76, n. 1, p.77-81, 2002.

NERI-NUMA, I. A.; SANCHO, R. A. S.; PEREIRA, A. P. A.; PASTORE, G. M. Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. *Food Research International*, v. 103, p.345-360, 2018.

NOBRE, C. B.; SOUZA, E. O.; SILVA, J. M. F. L.; COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M. Chemical composition and antibacterial activity of fixed oils of *Mauritia flexuosa* and *Orbignya speciosa* associated with aminoglycosides. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 23, p.84-89, 2018.

NOBRE, C. B.; SOUSA, E. O.; CAMILO, C. J.; MACHADO, J. F.; SILVA, J. M. F. L.; FILHO, J. M.; COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M. Antioxidative effect and phytochemical profile of natural products from the fruits of “babaçu” (*Orbignya speciosa*) and “buriti” (*Mauritia flexuosa*). **Food and Chemical Toxicology**, v. 121, p.423-429, 2018.

NORDLI, H. R.; CHINGA-CARRASCO, G.; ROKSTAD, A. M.; PUKSTAD, B. Producing ultrapure wood cellulose nanofibrils and evaluating the cytotoxicity using human skin cells. **Carbohydrate Polymers**, v. 150, p.65-73, 2016.

OLIVEIRA, P. B. PRODUÇÃO DE AEROGEL A PARTIR DE NANOFIBRAS DE CELULOSE OBTIDAS DE RESÍDUOS DA INDÚSTRIA MOVELEIRA (*Pinus elliottii* var. *elliottii*) PARA SORÇÃO DE ÓLEOS. 2017. 102 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Processos e Tecnologias, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2017.

OTHMAN, Z.; PASTOR, B. C.; RIJT, S.; HABIBOVIC, P. Understanding interactions between biomaterials and biological systems using proteomics. **Biomaterials**, v. 167, p.191-204, 2018.

PANG, M.; HUANG, Y.; MENG, F.; ZHUANG, Y.; LIU, H.; DU, M.; MA, Q.; WANG, Q.; CHEN, Z.; CHEN, L.; CAI, T.; CAI, Y. Application of bacterial cellulose in skin and bone tissue engineering. **European Polymer Journal**, v. 122, p.109365-109396, 2020.

PASCUAL-GIL, S. et al. Heart regeneration after myocardial infarction using synthetic biomaterials. **Journal of Controlled Release**, v. 203, p.23-38, 2015.

PATITUCCI, M. L.; VF VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; ZOGHBY, M. G. B.; SILVA, J. R. A. Uso de técnicas cromatográficas e espectrométricas para auxiliar na identificação de compostos voláteis. **Química Nova**, v.18, p. 262 – 266, 1995.

PELE. Disponível em: < <https://www.todamateria.com.br/hipoderme/>>. Acesso em: 26 fev. 2020

PEREIRA, A. L. S. AEROGÉIS DE NANOCELULOSE FUNCIONALIZADOS PARA ABSORÇÃO SELETIVA DE SOLVENTES ORGÂNICOS. 2018. 115 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

PÉREZ-RECALDE, M.; ARIAS, I. E. R.; HERMIDA, E. B. Could essential oils enhance biopolymers performance for wound healing? A systematic review. *Phytomedicine*, v. 38, p.57-65, 2018.

PICHETH, G. F.; PIRICH, C. L.; SIERAKOWSKI, M. R.; WOHL, M. A.; SAKAKIBARA, C. N.; SOUZA, C. F.; MARTIN, A. A.; SILVA, R.; FREITAS, R. A. Bacterial cellulose in biomedical applications: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 97-106, 2017.

PIERI, F. A.1; MUSSI, M. C.; MOREIRA, M. A. S. Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.4, p.465-472, 2009.

PIERRE, G.; PUNTA, C.; DELATTRE, C.; MELONE, L.; DUBESSAY, P.; FIORATI, A.; PASTORI, N.; GALANTE, Y. M.; MICHAUD, P. TEMPO-mediated oxidation of polysaccharides: An ongoing story. **Carbohydrate Polymers**, v. 165, p.71-85, 2017.

PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; PINTO, A. F. Ensaios toxicológicos de inocuidade. **Controle Biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. 3 ed. São Paulo: Atheneu, p. 697-772, 2016.

QING, Y.; SABO, R.; ZHU, J. Y.; AGARWAL, U.; CAI, Z.; WU, Y. A comparative study of cellulose nanofibrils disintegrated via multiple processing approaches. **Carbohydrate Polymers**, v. 97, n. 1, p.226-234, 2013.

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, v. 62, p.250-264, 2014.

RAHMAN, A. N. A.; MOHAMED, A. A-R.; MOHAMMED, H. H.; ELSEDDAWY, N. M.; SALEM, G. A.; EL-GHAREEB, W. R. The ameliorative role of geranium (*Pelargonium graveolens*) essential oil against hepato-renal toxicity, immunosuppression, and oxidative stress of profenofos in common carp, *Cyprinus carpio* (L.). **Aquaculture**, v. 517, p.1-30, 2020.

RIBES, D. D.; ZANATTA, P.; GATTO, D. A.; MAGALÃES, W. L. E.; BELTRAME, R. Produção de suspensões nanofibrilares de celulose vegetal por meio de processo combinado – Avaliação do gasto energético. **Revista Matéria**, v. 23, n. 4, p. 1-8, 2018.

ROL, F.; BELGACEM, M. N.; GANDINI, A.; BRAS, J. Recent advances in surface-modified cellulose nanofibrils. *Progress in Polymer Science*, v. 88, p.241-264, 2019.

ROLIN, G.; PLACET, V.; JACQUET, E.; TAUZIN, H.; ROBIN, S.; PAZART, L.; VIENNET, C.; SAAS, P.; MURET, P.; BINDA, D.; HUMBERT, P. “Development and characterization of a human dermal equivalent with physiological mechanical properties”. **Skin Research and Technology**, v.18, p.251-258, 2012.

SACHETTI, C.G.; CARVALHO, R. R.; PAUMGARTTEN, F. J. R.; LAMEIRA, O. A.; CALDAS, E. D. Developmental toxicity of copaiba tree (*Copaifera reticulata* Ducke, Fabaceae) oleoresin in rat. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 5, p.1080-1085, 2011.

SAI, H.; FU, R.; XING, L.; XIANG, J.; LI, Z.; LI, F.; ZHANG, T. Surface Modification of Bacterial Cellulose Aerogels' Web-like Skeleton for Oil/Water Separation. *Acs Applied Materials & Interfaces*, v. 7, n. 13, p.7373-7381, 2015.

SALAKHOVÁ, M. **Nanocelluloses – surface modification and use in functional materials**. [s.l: s.n.].

SAXENA, I. M.; BROWN, R. M. Cellulose Biosynthesis: Current Views and Evolving Concepts. **Annals of Botany**, v. 96, n. 1, p.9-21, 2005.

SCHRAMM, M.; HESTRIN, S. Factors affecting Production of Cellulose at the Air/ Liquid Interface of a Culture of *Acetobacter xylinum*. **Journal of General Microbiology**, v.11, n.1, p. 123–129, 1954.

SEGAL, L. CREELY, J. J.; MARTIN, A. E.; CONRAD, C. M. An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer. **Textile Research Journal**, v. 29, n. 10, p. 786–794, 1959.

SELVAN, N. K.; SHANMUGARAJAN, T. S.; UPPULURI, V. N. V. A. Hydrogel based scaffolding polymeric biomaterials: Approaches towards skin tissue regeneration. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 55, p.101456-101489, 2020.

SEZER, A. D.; CEVHER, E. Biopolymers as wound healing materials - challenges and new strategies. In: Pignatello, R. **Biomaterials Application for nanomedicine**. In Tech, 2011. Cap. 19.

SIENKIEWICZ, M.; LYSAKOWSKA, M.; KOWALCYK, E.; SZYMANSKA, G.; KOCHAN, E.; KRUKOWSKA, J.; OLSZEWSKI, J.; BLIZNIEWSKA, H. Z. The ability of selected plant essential oils to enhance the action of recommended antibiotics against pathogenic wound bacteria. *Burns*, v. 43, n. 2, p.310-317, 2017.

SHAH, N.; UL-ISLAM, M.; KHATTAK, W. A.; PARK, J. K. Overview of bacterial cellulose composites: A multipurpose advanced material. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 98, n. 2, p. 1585-1598, 2013.

SHARIFI-RAD, J.; SUREDA, A.; TENORE, G.C.; DAGLIA, M.; SHARIFI-RAD, M.; TUNDIS, R.; SHARIFI-RAD, M.; LOIZZO, M. R.; ADEMILUYI, A. O.; SHARIFI-RAD, R.; AYATOLLAHI, S. A.; IRITI, M. Biological activities of essential oils: from plant chemoecology to traditional healing systems. **Molecules**, v. 22 (1), p. 1-55, 2017.

SHI, Z.; ZHANG, Y.; PHILLIPS, G. O.; YANG, G. Utilization of bacterial cellulose in food. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p.539-545, 2014.

SMIRNOVA, I.; GURIKOV, P. Aerogel production: Current status, research directions, and future opportunities. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 134, p.228-233, 2018.

SULAEVA, I.; HENNIGES, U.; ROSENAU, T.; POTTHAST, A. Bacterial cellulose as a material for wound treatment: Properties and modifications. A review. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 8, p.1547-1571, 2015.

TARRÉS, Q.; OLIVER-ORTEGA, H.; LLOP, M.; PÈLACH, M. À.; DELGADO-AGUILAR, M.; MUTJÉ, P. Effective and simple methodology to produce nanocellulose-based aerogels for selective oil removal. *Cellulose*, v. 23, n. 5, p.3077-3088, 2016.

TOBOUTI, P. L.; MARTINS, T. C. A.; PEREIRA, T. J.; MUSSI, M. C. M. Antimicrobial activity of copaiba oil: A review and a call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 94, p.93-99, 2017.

TORGBO, S.; SUKYAI, P. Bacterial cellulose-based scaffold materials for bone tissue engineering. *Applied Materials Today*, v. 11, p.34-49, 2018.

TSHIKOVHI, A.; MISHRA, S. B.; MISHRA, A. K. Nanocellulose-based composites for the removal of contaminants from wastewater. **Macromolecules**, v. 152, p-616-632, 2020.

UBEYITOGULLARI, A.; CIFTCI, O. N. Formation of nanoporous aerogels from wheat starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 147, p. 125-132, 2016.

UL-ISLAM, M.; KHAN, T.; PARK, J. K. Water holding and release properties of bacterial cellulose obtained by in situ and ex situ modification. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 2, p.596-603, 2012. VALENCIA-GÓMEZ, L. E.; MARTEL-ESTRADA, S. A.; VARGAS-REQUENA, C.; RIVERA-ARMENTA, J. L.; ALBA-BAENA, N.; RODRÍGUEZ-

GONZÁLEZ, C.; OLIVAS-ARMENDÁRIZ, I. Chitosan/ Mimosa tenuiflora films as potential cellular patch for skin regeneration. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p.1217-1225, 2016.

VAN ZYL, E. M.; COBURN, J. M. Hierarchical structure of bacterial-derived cellulose and its impact on biomedical applications. **Current Opinion in Chemical Engineering**, v. 24, p.122-130, 2019.

VASCONCELOS, N. F.; FEITOSA, J. P. A.; ANDRADE, F. K.; MIRANDA, M. A. R.; SASAKI, J. M.; MORAIS, J. P. S.; SILVA, L. M. A.; CANUTO, K. M.; ROSA, M. F. Chemically modified cellulose nanocrystals as polyanion for preparation of polyelectrolyte complex. **Cellulose**, v. 26, n. 3, p.1725-1746, 2019.

VEIGA, V. F.; ROSAS, E. C.; CARVALHO, M. V.; HENRIQUES, M. G. M. O.; PINTO, A. C. Chemical composition and anti-inflammatory activity of copaiba oils from *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga* Hayne—A comparative study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, n. 2, p.248-254, 2007.

VOWDEN, K.; VOWDEN, P. Wound dressings: principles and practice. **Surgery** (Oxford), v.35, p. 489-494, 2017.

XIANG, C.; WANG, C.; GUO, R.; LAN, J.; LIN, S.; JIANG, S.; LAI, X.; ZHANG, Y.; XIAO, H. Synthesis of carboxymethyl cellulose-reduced graphene oxide aerogel for efficient removal of organic liquids and dyes. **Journal of Materials Science**, v. 54, n. 2, p.1872-1883, 2018.

XU, Y.; CHEN, C.; HELLWARTH, P. B.; BAO, X. Biomaterials for stem cell engineering and biomanufacturing. **Bioactive Materials**, v. 4, p.366-379, 2019.

WAN, C.; JIAO, Y.; WEI, C.; ZHANG, L.; WU, Y.; LI, J. Functional nanocomposites from sustainable regenerated cellulose aerogels: A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 359, p.459-475, 2019.

WANG, Z.; MA, H.; CHU, B.; HSIAO, B. S. Super-hydrophobic polyurethane sponges for oil absorption. **Separation Science and Technology**, v. 52, n. 2, p.221-227, 2016.

WEI, S.; CHING, Y. C.; CHUAH, C. H. Synthesis of chitosan aerogels as promising carriers for drug delivery: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 231, p.115744-115783, 2020.

WIEGAND, C.; HIPLER, U. C. Polymer-based biomaterials as dressings for chronic stagnating wounds. **Macromolecular Symposia**, v. 294-II, p. 1-13, 2010.

YANG, S.; LEONG, K. F.; DU, Z.; CHUA, C. K. The Design of Scaffolds for Use in Tissue Engineering. Part I. Traditional Factors. **Tissue Engineering**, v. 7, n. 6, p.679-689, 2001.

ZAMAN, A.; HUANG, F.; JIANG, M.; WEI, W.; ZHOU, Z. Preparation, Properties, and Applications of Natural Cellulosic Aerogels: A Review. **Energy and Built Environment**, v. 1, n. 1, p.60-76, 2020.

ZANATTA, C. F.; MITJANS, M.; URGATONDO, V.; ROCHA-FILHO, P. A.; VINANDERLL, M. P. Low cytotoxicity of creams and lotions formulated with Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) assessed by the neutral red release test. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 8, p.2776-2781, 2008.

ZANG, S.; ZHANG, R.; CHEN, H.; YUDONG, L.; ZHOU, J.; CHANG, X.; QIU, G.; WU, Z.; YANG, G. Investigation on artificial blood vessels prepared from bacterial cellulose. **Materials Science and Engineering: C**, v. 46, p.111-117, 2015.

ZHANG, Y.; YIN, M.; LIN, X.; REN, X.; HUANG, T.; KIM, I. S. Functional nanocomposite aerogels based on nanocrystalline cellulose for selective oil/water separation and antibacterial applications. **Chemical Engineering Journal**, v. 371, p.306-313, 2019.

ZHANG, Z.; SÈBE, G.; RESTCH, D.; ZIMMERMANN, T.; TINGAUT, P. Ultralightweight and flexible silylated nanocellulose sponges for the selective removal of oil from water. **Chemistry of Materials**, v. 26, n. 8, p. 2659–2668, 2014.

ZHANG, Z.; TINGAUT, P.; RENTSCH, D.; ZIMMERMANN, T.; SÈBE, G. Controlled Silylation of Nanofibrillated Cellulose in Water: Reinforcement of a Model Polydimethylsiloxane Network. **ChemSusChem**, v.8, n.16, p.2681–2690, 2015.

ZHANG, Z.; ZHAO, X.; XUE, T.; YANG, F.; LIU, T. Bidirectional anisotropic polyimide/bacterial cellulose aerogels by freeze-drying for super-thermal insulation. **Chemical Engineering Journal**, v. 385, p.60-76, 2020.

ZHOU, F.; CHENG, G.; JIANG, B. Effect of silane treatment on microstructure of sisal fibers. *Applied Surface Science*, v. 292, p.806-812, 2014.

ZHOU, L.; XU, Z. Ultralight, highly compressible, hydrophobic and anisotropic lamellar carbon aerogels from graphene/polyvinyl alcohol/cellulose nanofiber aerogel as oil removing absorbents. **Journal of Hazardous Materials**, v. 388, p.121804-12828, 2020.