

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE MATERIAIS E
PROCESSOS INDUSTRIAIS
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

ANA CRISTINA DA SILVA REINALDO

**ANÁLISE DO POTENCIAL BIOMÉDICO DE FILMES DE QUITOSANA
INCORPORADOS COM ÓLEO DE SEMENTES DE *Tamarindus indica* L.**

ANA CRISTINA DA SILVA REINALDO

**ANÁLISE DO POTENCIAL BIOMÉDICO DE FILMES DE QUITOSANA
INCORPORADOS COM ÓLEO DE SEMENTES DE *Tamarindus indica* L.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais e Processos Industriais do Instituto Federal do Piauí, como parte integrante dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Materiais e Processos Industriais.

Área de concentração:

Orientador: Prof. Dr. Haroldo Reis Alves de Macêdo

TERESINA – PI

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Reinaldo, Ana Cristina da Silva

R364a Análise do potencial biomédico de filmes de quitosana incorporados com óleo de sementes de Tamarindus indica L. / Ana Cristina da Silva Reinaldo. - 2025.

116 f.: il. color.

Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Campus Teresina Central, 2025.

Orientador : Prof Dr. Haroldo Reis Alves de Macedo.

1. Óleo da sementes de Tamarindus indica L . 2. Isolamento . 3. Quitosana . 4. Planejamento experimental . I.Título.

CDD - 620.1

Elaborado por Maria Rosismar Farias CRB 3/631

ANA CRISTINA DA SILVA REINALDO

ANÁLISE DO POTENCIAL BIOMÉDICO DE FILMES DE QUITOSANA
INCORPORADOS COM ÓLEO DE SEMENTES DE Tamarindus indica L.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais e Processos Industriais do Instituto Federal do Piauí, como parte integrante dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Materiais e Processos Industriais.

Aprovada em: 15 de setembro de 2025.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Haroldo Reis Alves de Macêdo
Instituto Federal do Piauí – IFPI

Prof. Dr. Vicente Galber Freitas Viana
Instituto Federal do Piauí – IFPI

Prof^a. Dr^a. Marina de Oliveira Cardoso Macêdo
Instituto Federal do Piauí – IFPI

Prof^a. Dr^a. Rafaela Luiz Pereira Santos
Universidade Federal do Piauí – UFPI

*Dedico este trabalho aos meus pais e amigos,
que sempre me incentivaram.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço ao meu professor orientador, Dr. Haroldo Reis Alves de Macêdo, pelo apoio e pela orientação no desenvolvimento deste trabalho. Sou igualmente grata a todas as parcerias e incentivos que me auxiliaram a completar esta jornada, bem como pelas valiosas lições aprendidas ao longo do caminho.

Agradeço também aos meus amigos de turma, Terciana, Laila, Lucileide, Joerdson e Wanderson, que foram verdadeiros pilares de suporte, compreensão e carinho. Aos meus amigos de laboratório, Teresa, Leandro, Diego, Renato e Poliana, pela colaboração e pelas trocas de ideias, que foram fundamentais para o meu aprendizado.

Agradeço, profundamente, à minha família, em especial a meus pais, Teodoro Reinaldo Neto (*in memoriam*) e Iraci Pereira da Silva Reinaldo, que sempre estiveram ao meu lado, incentivando-me e oferecendo suporte, mostrando-me que não estou sozinha nesta caminhada.

Agradeço à presença e ao incentivo de meus irmãos Sheila Maria, Leila Maria, Márcia Fernanda, Mauricélia Reinaldo, Teodoro Reinaldo, Clebert e Hebert (*in memoriam*), que foram fundamentais para que eu pudesse alcançar este objetivo.

Por fim, gostaria de agradecer a Deus, que me inspira e me dá perseverança. Cada conquista, cada aprendizado e cada desafio superado são reflexo de Sua presença em minha vida.

Só sei que nada sei.

– Sócrates (470 – 399 a.C)

RESUMO

O tamarindo (*Tamarindus indica*), originário da África equatorial e da Índia, é amplamente empregado na medicina tradicional devido às suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antibacterianas. O óleo extraído de suas sementes (OST), rico em ácidos graxos, apresenta reconhecido potencial cicatrizante e antimicrobiano. A quitosana, por sua vez, é um polissacarídeo de elevada biocompatibilidade, cuja associação ao OST representa uma estratégia promissora para a produção de filmes bioativos voltados a aplicações biomédicas. Neste estudo, objetivou-se isolar e caracterizar o OST, avaliando parâmetros físico-químicos como cor, índice de acidez, índice de refração e índice de peróxido, além de incorporá-lo a filmes de quitosana obtidos pelo método de evaporação de solvente. Utilizou-se um delineamento Box–Behnken (15 ensaios), com três fatores independentes (concentração de quitosana, concentração de OST e tempo de agitação) e três variáveis resposta (pH, ângulo de contato e permeabilidade ao vapor de água – PVA). Os resultados indicaram que o aumento da concentração de quitosana reduziu o pH dos filmes ($\approx 4,0$), enquanto maiores teores de OST elevaram a hidrofobicidade, com ângulos de contato próximos de 90° ($\theta \approx 90^\circ$). No que se refere à barreira, a formulação Q2OST5 (2% de quitosana, 5% de OST e 22,5 min de agitação) apresentou a menor PVA ($0,02 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{dia}^{-1}$), sendo classificada como excelente barreira, embora com maior acidez. A análise conjunta dos resultados revelou uma janela ótima de formulação em 1% de quitosana, 3% de OST e 22,5 min de agitação, obtendo-se pH fisiológico (5), hidrofobicidade moderada ($\theta = 70^\circ$), permeabilidade controlada ($3,6 \text{ g}\cdot\text{mm}/\text{m}^2\cdot\text{dia}$), morfologia homogênea, transparência associada à proteção UV e atividade antifúngica frente a *Candida albicans*. Filmes com maiores teores de OST (3% e 5%) apresentaram estabilidade térmica superior (TGA/DTG), interações químicas confirmadas por FTIR e atividade antimicrobiana mais expressiva. Conclui-se que a incorporação de OST em filmes de quitosana resultou em materiais com propriedades adequadas de biocompatibilidade, barreira e ação antimicrobiana, reforçando seu potencial de aplicação em produtos biomédicos, como curativos e sistemas de liberação tópica controlada.

Palavras-chave: óleo da sementes de *Tamarindus indica* L.; isolamento; quitosana; planejamento experimental; otimização; caracterização; aplicações biomédicas.

ABSTRACT

Tamarindus indica, originally from equatorial Africa and India, has been widely used in traditional medicine due to its antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial properties. The oil extracted from its seeds (OST), rich in fatty acids, exhibits well-recognized healing and antimicrobial potential. Chitosan, in turn, is a polysaccharide with high biocompatibility, and its association with OST represents a promising strategy for producing bioactive films for biomedical applications. This study aimed to isolate and characterize OST by evaluating physicochemical parameters such as color, acid value, refractive index, and peroxide index, as well as incorporating it into chitosan films obtained by the solvent evaporation method. A Box–Behnken design (15 runs) was employed with three independent factors (chitosan concentration, OST concentration, and stirring time) and three response variables (pH, contact angle, and water vapor permeability – WVP). The results showed that increasing the chitosan concentration decreased the film pH (≈ 4.0), whereas higher OST levels increased hydrophobicity, with contact angles close to 90° ($\theta \approx 90^\circ$). Regarding barrier properties, the Q2OST5 formulation (2% chitosan, 5% OST, 22.5 min) exhibited the lowest WVP ($0.02 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{day}^{-1}$), being classified as an excellent barrier, albeit more acidic. A combined analysis of the results revealed an optimal formulation window at 1% chitosan, 3% OST, and 22.5 min of stirring, achieving physiological pH (5), moderate hydrophilicity ($\theta = 70^\circ$), controlled permeability ($3.6 \text{ g}\cdot\text{mm}/\text{m}^2\cdot\text{day}$), homogeneous morphology, transparency with UV protection, and antifungal activity against *Candida albicans*. Films with higher OST levels (3% and 5%) showed superior thermal stability (TGA/DTG), chemical interactions confirmed by FTIR, and more pronounced antimicrobial activity. In conclusion, incorporating OST into chitosan films resulted in materials with suitable biocompatibility, barrier properties, and antimicrobial performance, reinforcing their potential for biomedical applications, such as wound dressings and controlled topical delivery systems.

Keywords: *Tamarindus indica* L. seed oil; isolation; chitosan; experimental design; optimization; characterization; biomedical applications.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura morfológica do fruto do tamarindeiro (<i>Tamarindus indica</i> L.)....	20
Figura 2 – Algumas imagens de <i>Tamarindus indica</i> L.: (A) árvore contendo grande quantidade de vagens, (B) vagem de tamarindo, (C) variação no tamanho das vagens, (D) variação no comprimento da seiva, (E) sementes, (F) plântula.....	21
Figura 3 – Caracterização do fruto integral <i>Tamarindus indica</i> L.....	24
Figura 4 – Comparação entre as estruturas moleculares da celulose e da quitosana	28
Figura 5 – Reação de desacetilação da quitina em quitosana.....	29
Figura 6 – Representação de um sistema com variáveis de entrada (fatores) e saída (respostas)	39
Figura 7 – Representação gráfica do experimento Box-Behnken de três fatores	42
Figura 8 – Localização do ponto de coleta das sementes de <i>Tamarindus indica</i> L...	45
Figura 9 – Etapas do experimento em laboratório	47
Figura 10 – Procedimento experimental.....	50
Figura 11 – Parâmetro do ângulo de contato verificado no image J pelo método Dropsnake	53
Figura 12 – (a) Dessecador com 15 células; (b) 15 filmes em placas petri.....	54
Figura 13 – Valores de pH dos filmes de quitosana/OST	63
Figura 14 – Ângulos de contato dos filmes de quitosana/OST	65
Figura 15 – Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA) dos filmes de quitosana/OST	68
Figura 16 – Superfícies de resposta (2D e 3D) representando a influência das variáveis independentes (concentração de quitosana, concentração de óleo e tempo de agitação) sobre o pH dos filmes de quitosana/OST	72
Figura 17 – Superfícies de resposta (2D e 3D) representando a influência das variáveis independentes (concentração de quitosana, concentração de óleo e tempo de agitação) sobre o ângulo de contato dos filmes de quitosana/OST	74
Figura 18 – Superfícies de resposta (2D e 3D) representando a influência das variáveis independentes (concentração de quitosana, concentração de óleo e tempo de agitação) sobre a permeabilidade de vapor da água dos filmes de quitosana/OST ..	76
Figura 19 – Parâmetros de formulação otimizada do OST associado ao filme de quitosana com a superfície de resposta.....	77

Figura 20 – Produção de filmes de quitosana variando as concentrações de OST (A: OST 1%, B: OST 3% e C: OST 5%) para análise comparativa.....	78
Figura 21 – Valores médios do permeação de vapor dos filmes formulados com diferentes concentrações de OST, incluindo o filme controle (puro, sem óleo).....	83
Figura 22 – Valores médios do ângulo de contato (°) dos filmes produzidos com diferentes concentrações de OST, incluindo o filme controle (puro, sem óleo).....	83
Figura 23 – Curvas de análise termográfica do filme Q1P	86
Figura 24 – Curvas de análise termográfica do filme Q1OST1	87
Figura 25 – Curvas de análise termográfica do filme Q1OST3	87
Figura 26 – Curvas de análise termográfica do filme Q1OST5	88
Figura 27 – Micrografias das superfícies filme de quitosana (a) Q1OST1; (b) Q1OST3; (c) Q1OST5	90
Figura 28 – Espectros de FTIR da quitosana pura e dos filmes contendo diferentes concentrações de OST (1%, 3% e 5%).	91
Figura 29 – Espectros de absorção UV–Vis da quitosana pura e dos filmes contendo diferentes concentrações de OST (1%, 3% e 5%).	94
Figura 30 – Placas em triplicata do meio de cultura com <i>Candida albicans</i>	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Perfil de ácidos graxos presentes na fração lipídica das sementes de <i>Tamarindus indica</i> L.	26
Tabela 2 – Valores médios obtidos na caracterização físico-química do OST	59
Tabela 3 – Parâmetros de formulação de OST associado a solução de quitosana com suporte no software Design Expert 13.....	61
Tabela 4 – Valores de pH dos filmes de quitosana/OST	62
Tabela 5 – Valores dos ângulos de contato nos 15 filmes analisados.....	65
Tabela 6 – Espessura dos filmes de quitosana/OST	67
Tabela 7 – Matriz experimental do delineamento Box–Behnken (3 fatores) para filmes de quitosana/OST: fatores (quitosana, óleo, tempo) e respostas (pH, ângulo de contato e permeabilidade ao vapor de água)	70
Tabela 8 – Comparação entre os filmes formulados com diferentes concentrações de OST e quitosana pura, com base nos valores finais de pH, ângulo de contato e permeabilidade ao vapor de água.	80
Tabela 9 – Halos de inibição medidos da <i>Candida albicans</i>	96

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Projeto Box-Behnken em três fatores codificados.....	43
Quadro 2 – Classificação da atividade antimicrobiana de acordo com o tamanho do halo de inibição do crescimento microbiano.....	58
Quadro 3 – Principais bandas observadas nos espectros de FTIR dos filmes de quitosana com OST.....	93

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OST	Óleo das Sementes de <i>Tamarindus indica</i> L.
XG	Xiloglucano
BBD	Delineamento Box–Behnken (<i>Box–Behnken Design</i>)
RSM	Metodologia de Superfície de Resposta (<i>Response Surface Methodology</i>)
UV-Vis	Espectroscopia de Absorção no Ultravioleta–Visível
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
TGA	Análise Termogravimétrica (<i>Thermogravimetric Analysis</i>)
DTG	Termogravimetria Derivada (<i>Derivative Thermogravimetry</i>)
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura (<i>Scanning Electron Microscopy – SEM</i>)
pH	Potencial hidrogeniônico
WVP	Taxa de permeabilidade ao vapor de água (<i>Water Vapor Permeability</i>)
TSA	Ágar Trípico de Soja (<i>Tryptic Soy Agar</i>)
Q1P	Filme de quitosana 1%
Q1OST1	Filme de quitosana 1% incorporada com 1% de OST
Q1OST3	Filme de quitosana 1% incorporada com 3% de OST
Q1OST5	Filme de quitosana 1% incorporada com 5% de OST
Q1,5OST1	Filme de quitosana 1,5% incorporada com 1% de OST
Q1,5OST3	Filme de quitosana 1,5% incorporada com 3% de OST
Q1,5OST5	Filme de quitosana 1,5% incorporada com 5% de OST
Q2OST1	Filme de quitosana 2% incorporada com 1% de OST
Q2OST3	Filme de quitosana 2% incorporada com 3% de OST
Q2OST5	Filme de quitosana 2% incorporada com 5% de OST
Sol.1%	Solução com 1% de quitosana
Sol.1,5%	Solução com 1,5% de quitosana
Sol.2%	Solução com 2% de quitosana
TG	Termogravimetria

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
2.1	O TAMARINDO DOCE (<i>Tamarindus indica</i> L.).....	20
2.2	A QUITOSANA E SUAS PROPRIEDADES	27
2.3	FILMES DE QUITOSANA E DERIVADOS DE <i>Tamarindus indica</i> L.....	32
2.4	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE DE MULTIVARIAVEIS	38
2.4.1	Delineamento Experimental Box-Behnken (BBD)	41
3	METODOLOGIA DA PESQUISA	45
3.1	PROCEDIMENTOS DE COLETA, PREPARO DAS SEMENTES E EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE <i>Tamarindus indica</i> L.	45
3.2	ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO OST	47
3.2.1	Índice de Acidez.....	47
3.2.2	Índice de Peróxido.....	48
3.2.3	Índice de Refração.....	49
3.3	OBTENÇÃO DA QUITOSANA.....	49
3.4	PARÂMETROS DE FORMULAÇÃO E PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DOS FILMES DE QUITOSANA/OST	50
3.5	PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DE QUITOSANA PURA E OST	51
3.6	CARACTERIZAÇÕES DOS FILMES.....	52
3.6.1	pH	52
3.6.2	Ângulo de Contato.....	52
3.6.3	Permeação ao Vapor de Água.....	53
3.7	OTIMIZAÇÃO UNIVARIANTE DA CONCENTRAÇÃO DE OST EM FILMES DE QUITOSANA PARA FINS BIOMÉDICOS.....	55
3.7.1	Análise Termogravimétrica e Termogravimetria Derivada (TGA/DTG)...	56
3.7.2	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	57
3.7.3	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier	57
3.7.4	Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível.....	57
3.7.5	Atividade Antimicrobiana	58
4	ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	59
4.1	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO OST	59
4.2	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DOS FILMES DE QUITOSANA/OST ..	60

4.2.1	pH	61
4.2.2	Ângulo de Contato.....	64
4.2.3	Permeabilidade ao Vapor de Água.....	66
4.3	RESULTADO PREDITIVO DA MELHOR SUPERFÍCIE RESPOSTA DOS FILMES DE QUITOSANA/OST	69
4.3.1	Otimização Univariada da Concentração do OST na Composição de Filmes de Quitosana para Fins Biomédicos	78
4.3.1.2	Análise Térmica – TG	86
4.3.1.3	Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV	89
4.3.1.4	Infravermelho por Transformada de Fourier – FTIR.....	91
4.3.1.5	Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível – UV–Vis	93
4.3.1.6	Atividades Antimicrobianas	95
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	99
5.1	PERSPECTIVAS FUTURAS	100
	REFERÊNCIAS	101
	ANEXO A – CARACTERÍSTICAS INFORMADAS PELO FABRICANTE ...	118

1 INTRODUÇÃO

O uso de produtos naturais na medicina tem se consolidado como uma alternativa promissora para o desenvolvimento de aplicações biomédicas, sobretudo no tratamento de diversas enfermidades. Nesse contexto, *Tamarindus indica* L., árvore leguminosa da família Fabaceae, nativa da África Equatorial, da Índia e do Sudeste Asiático, destaca-se entre as espécies de uso tradicional (Matias, 2024; Silva *et al.*, 2011).

Em consonância, a espécie apresenta relevância alimentar e medicinal, sendo tradicionalmente aproveitada em sementes, folhas, frutos e raízes; os ácidos graxos presentes nas sementes exibem atividades anti-inflamatória e antibacteriana, além de propriedades biológicas e farmacológicas associadas a funções protetoras e metabólicas no organismo (Martins, 2022).

Nesse sentido, o óleo das sementes de *Tamarindus indica* L. (OST) se destaca por apresentar composição rica em ácidos graxos, contendo pelo menos 32 componentes hidrofóbicos catalogados, sendo 21 ácidos saturados e 11 ácidos insaturados.

Entre eles, encontram-se em maior concentração o ácido palmítico (C16:0), o ácido esteárico (C18:0), o ácido oleico (C18:1), o ácido linoleico (C18:2), o ácido icosanoico (C20:0), o ácido behênico/docosanoico (C22:0) e o ácido lignocérico (C24:0) (Xie *et al.*, 2020; Guerendiain Margni, 2013; Chisaguano Tonato, 2014).

Considerando esse potencial, o uso do filme de quitosana apresenta-se como um promissor carreador do OST (Queiroz, 2018). A quitosana, por se tratar de um polissacarídeo obtido da parede celular de fungos, de exoesqueletos de crustáceos, como o siri, e de outros materiais biológicos, pode ser utilizada na forma de solução filmogênica, à qual se adicionam óleos e proteínas para conferir diferentes funcionalidades (Azevedo *et al.*, 2007).

Dessa forma, é possível produzir filmes com aplicações variadas, tais como a liberação controlada de fármacos, revestimentos alimentares, sistemas de entrega de nanopartículas e curativos biodegradáveis. Ou seja, sua associação com o OST pode potencializar atividades anti-inflamatória e antimicrobiana, além de favorecer a entrega de fármacos, a proteção e cobertura de feridas e o uso como aditivo em biomateriais (Brixner *et al.*, 2022).

Ademais, o potencial citado está diretamente relacionado às propriedades

intrínsecas da quitosana, que apresenta capacidade de formar películas com características mecânicas, químicas e estruturais relevantes em virtude de seu caráter policatiônico. Esse perfil permite a ocorrência de interações hidrofóbicas e eletrostáticas, uma vez que suas cadeias carregadas positivamente interagem com os componentes aniônicos, como os ácidos graxos presentes no OST (Gomes, 2018).

Especificamente, a combinação desses materiais, em distintas concentrações, mostra-se promissora na área biomédica, uma vez que a atividade antimicrobiana é intrínseca tanto à quitosana quanto ao OST., o que possibilita sua aplicação em campos como a conservação de alimentos, a indústria farmacêutica e a biomedicina (Brixner *et al.*, 2022).

Cabe ressaltar que a incorporação do OST à matriz de quitosana promove modificações estruturais e funcionais dependentes de fatores como o teor de óleo, a acidez da solução e o tempo de agitação, os quais influenciam diretamente as propriedades finais do filme (Brixner *et al.*, 2022; Panchal; Deshmukh; Sharma, 2014).

Dessa forma, essa associação requer um planejamento experimental bem definido. Por planejamento experimental entende-se a utilização de métodos estatísticos que possibilitam organizar, conduzir e interpretar ensaios, visando identificar a influência de variáveis independentes sobre respostas de interesse (Schiefer; Schiefer, 2021).

Dentre os principais delineamentos experimentais utilizados em pesquisas de otimização destaca-se o Delineamento Box-Behnken (BBD), pertencente à metodologia de Superfície de Resposta (*Response Surface Methodology* – RSM). O BBD é um delineamento de três níveis (-1, 0, +1) que distribui os pontos experimentais nos centros das arestas do espaço fatorial e no ponto central, excluindo as combinações extremas de cada fator; foi concebido para ajustar modelos quadráticos (de segunda ordem) com um número reduzido de ensaios, permitindo estimar efeitos lineares, quadráticos e de interação com boa precisão e menor risco operacional quando condições extremas são indesejáveis (Szpisják-Gulyás, 2023).

Assim, definiu-se como objetivo geral desta pesquisa isolar o OST e incorporá-lo em filmes de quitosana, utilizando planejamento experimental para otimizar sua produção e caracterização, com enfoque em aplicações biomédicas.

Para tanto, definiram-se como objetivos específicos: realizar a coleta e a extração do OST, seguida da caracterização físico-química do óleo obtido; aplicar o planejamento experimental, especificando a variação dos fatores em três níveis

(máximo, intermediário e mínimo), a saber: concentração do óleo, concentração da solução de quitosana e tempo de agitação; caracterizar as quinze formulações obtidas, por meio da medição do pH, da avaliação do ângulo de contato e da análise da permeação ao vapor d'água.

Além disso, buscou-se avaliar a influência da concentração do OST sobre as propriedades térmicas, morfológicas e estruturais dos filmes, por meio de Termogravimetria (TGA), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis); e investigar a atividade antimicrobiana dos filmes de quitosana associados ao OST frente a microrganismos de interesse biomédico, como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*.

A metodologia desta pesquisa consistiu, primeiramente, na coleta e extração do OST, seguida de sua caracterização físico-química por meio da determinação de parâmetros como densidade, índice de refração e índice de peróxido. Para complementar essa etapa, o óleo foi submetido à Análise de Espectrofotometria de Absorção no Ultravioleta-Visível (UV-Vis), utilizando alíquotas de 2,5 µL e 5 µL.

Na sequência, foi desenvolvido o planejamento experimental contemplando a variação sistemática de três fatores, sendo: concentração do óleo, concentração da solução de quitosana e tempo de agitação, definidos em níveis máximo, intermediário e mínimo, de modo a otimizar a formulação dos filmes.

Por meio desse delineamento, foram produzidos quinze filmes, posteriormente caracterizados quanto ao pH, ao ângulo de contato e à permeação ao vapor d'água. Por fim, realizaram-se análises complementares de Termogravimetria (TGA), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis) e ensaios de atividade antimicrobiana, com o propósito de correlacionar as condições de síntese às propriedades estruturais e funcionais dos filmes obtidos.

A estrutura desta dissertação está organizada em cinco capítulos. O primeiro capítulo apresenta a introdução, na qual foram delineados o problema de pesquisa, a justificativa e os objetivos. No segundo capítulo, desenvolve-se uma revisão da literatura, na qual se discutem os conceitos e fundamentos relativos aos materiais investigados.

Os capítulos 3 e 4 são dedicados aos aspectos experimentais. O terceiro

capítulo descreve a metodologia de coleta, extração e caracterização físico-química do OST; o preparo das soluções e a incorporação do OST em filmes de quitosana; e o planejamento experimental pelo delineamento Box–Behnken (BBD).

Além disso, explica as técnicas de caracterização complementares (TGA, MEV, FTIR e UV-Vis) e os ensaios de atividade antimicrobiana. O quarto capítulo apresenta os resultados obtidos e a respectiva discussão. Por fim, o quinto capítulo reúne as conclusões, explicita as limitações e propõe perspectivas futuras.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Este capítulo apresenta uma revisão bibliográfica sobre os conceitos empregados neste estudo, proporcionando ao leitor um embasamento teórico sobre a temática abordada.

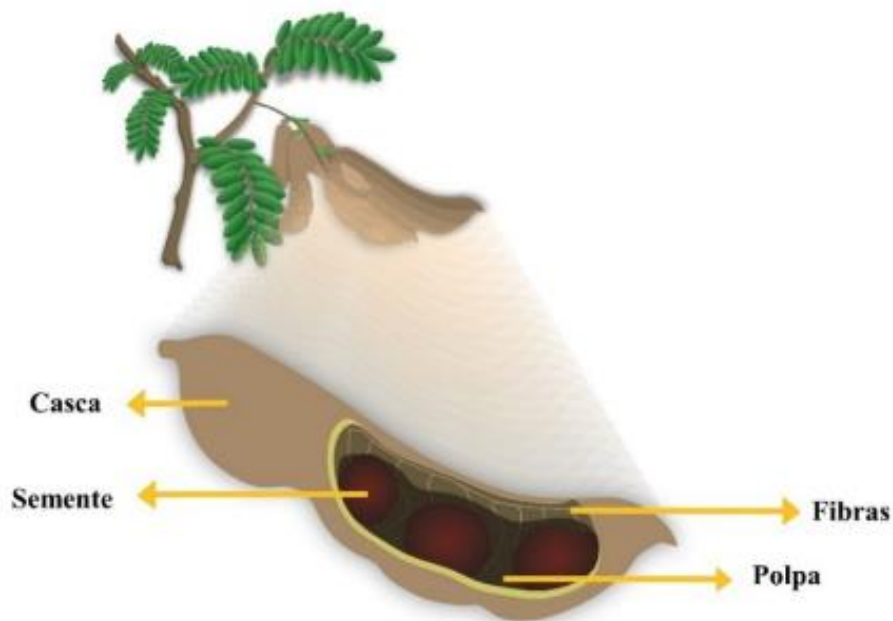
2.1 O TAMARINDO DOCE (*Tamarindus indica* L.)

O tamarindeiro (*Tamarindus indica* L.) é uma planta frutífera da família Fabaceae, nativa da África Equatorial, da Índia e do Sudeste Asiático, que se desenvolve em regiões tropicais e subtropicais, com temperatura média ideal em torno de 25 °C. Popularmente, recebe diferentes denominações: *tsamiya* ou *okpa* na Nigéria, *tamarinde* na África do Sul e *tamarindo* na Índia (Olagunju *et al.*, 2018). A espécie é considerada apropriada para ambientes semiáridos, pois suporta períodos de seca de cinco a seis meses, embora não tolere baixas temperaturas (Reis, 2013).

O tamarindeiro é uma árvore alta e de crescimento lento, podendo atingir cerca de 30 m de altura e copa de até 12 m de diâmetro. Especificamente, o fruto é uma vagem lenhosa castanho-escura, de 5 a 15 cm, com 3 a 8 sementes envoltas por polpa marrom de sabor ácido-adocicado (Reis, 2013).

A **Figura 1** e a **Figura 2** ilustram o exposto.

Figura 1 – Estrutura morfológica do fruto do tamarindeiro (*Tamarindus indica* L.)



Fonte: Martins, 2022.

Figura 2 – Algumas imagens de *Tamarindus indica* L: (A) árvore contendo grande quantidade de vagens, (B) vagem de tamarindo, (C) variação no tamanho das vagens, (D) variação no comprimento da seiva, (E) sementes, (F) plântula.



Fonte: Azad, 2018.

De aroma e sabor marcantes, o tamarindo se destaca entre as frutas exóticas tropicais por seu valor nutricional e versatilidade culinária. Sua polpa é usada na produção de sucos, sorvetes, doces, geleias, licores, molhos e condimentos (Gurjão, 2006). No Brasil, é consumida principalmente como suco, mas também serve de base para balas, doces, bebidas engarrafadas e alcoólicas (Caluwé; Halamová; Damme, 2009).

No Brasil, existem duas variedades comerciais de tamarindo: a ácida, mais comum e cultivada em regiões de clima quente como Ceará e Goiás, e a adocicada, produzida em menor escala, especialmente no litoral da Bahia. Esta última, conhecida

como tamarindo-doce, apresenta acidez bem mais baixa que a variedade tradicional (Reis et al., 2016).

Contudo, independente da variedade, o processamento do fruto gera subprodutos, como: sementes, casca e fibras. Segundo Martins (2022):

O tamarindo é estruturalmente separado em quatro partes: a casca, marrom escuro ou cinza, composta por rachaduras dispostas longitudinal e horizontalmente; as fibras, lenhosas ramificadas que aderem na polpa; a polpa, parte comestível e marrom, doce ou ácida; e as sementes, internas ao endocarpo, de forma oval e marrom longo e brilhante. Cerca de 30-50% do tamarindo corresponde à polpa, 11 a 30% corresponde a casca/fibra, e 25 a 40% corresponde a semente, sendo a polpa a parte do tamarindo mais utilizada industrialmente. Em alguns países, como no Brasil, os subprodutos gerados ainda são subutilizados, sendo descartados no meio ambiente ou incorporados na alimentação animal (Martins, 2022, p. 28).

Na região do Vale do São Francisco (Pernambuco e Bahia) – maior polo produtor de frutas tropical do país – a industrialização de frutas movimentou bilhões de reais, o que motiva o interesse em agregar valor aos subprodutos. Todavia, em muitas propriedades, o aproveitamento das sementes e cascas do tamarindo ainda é limitado, sendo frequentemente destinado à compostagem (Reis, 2013).

Especificamente, as sementes de tamarindo são fonte de diversos nutrientes. Elas compreendem um revestimento (testa) concentrado em fibras e taninos (~20% de cada) e um endosperma rico em reservas nutritivas (Oluseyi; Temitayo, 2015; Bagul; Sonawane; Arya, 2018).

Em termos de composição proximal, amostras de sementes inteiras (com casca) apresentam proteína entre 13,3 e 52,4 g/100 g de matéria seca e lipídios de 1,7 a 19,0 g/100 g (Ferreira et al., 2019; Oluseyi; Temitayo, 2015). Esses teores são elevados quando comparados a outras partes da fruta, refletindo a função da semente como órgão de reserva. As sementes também são ricas em minerais, destacando-se o potássio, fósforo, magnésio e cálcio, além de conterem boas quantidades de aminoácidos essenciais (Bagul; Sonawane; Arya, 2018).

Quanto aos carboidratos, a matéria seca da semente é constituída em grande parte por polissacarídeos (65–70%, incluindo amilopectina) (Trzeciak et al., 2007). Estudos indicam que o conteúdo total de carboidratos nas sementes varia muito, por exemplo, de 17,4 a 59,3 g/100 g em diferentes regiões de origem (Ferreira et al., 2019; Mohamed; Mohamed; Ahmed, 2015), refletindo diferenças de cultivar e clima.

Além dos nutrientes primários, os resíduos de tamarindo são fontes de diversos

compostos bioativos. Dentre eles, destacam-se os polifenóis presentes nas sementes e cascas. As sementes contêm flavonoides e fenolácidos como catequina, (-)-epicatequina, procianidinas (B2 e outros oligômeros), miricetina, quercetina e ácidos fenólicos (gálico, clorogênico, cafeico etc.). A (-)-epicatequina, em especial, tem sido identificada como principal composto, com reconhecidas atividades antioxidante, antiviral, antimalárica e anticancerígena (Rekshmyd'Dharan; Roy, 2013; Prakash *et al.*, 2019).

As proantocianidinas (derivadas da epicatequina) também estão presentes e contribuem para a adstringência e amargor característicos do tamarindo, além de efeitos fisiológicos benéficos (cardiopreventivos, anti-inflamatórios, antioxidantes, antialérgicos, antitrombóticos, antibacterianos e anticarcinogênicos) (Muñoz-Labrador; Prodanov; Villamiel, 2019).

Os polissacarídeos constituem outro grupo importante: cerca de 70–75% da semente é mucilagem (Manchanda *et al.*, 2014). Após hidrólise, essa mucilagem libera monossacarídeos (glicose, xilose, arabinose, galactose) e açúcares ácidos (como ácidos urônicos).

Dentre os polissacarídeos, o xiloglucano (XG) é o principal. Sua estrutura básica consiste em um esqueleto de β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-glicose ramificado por unidades de α -(1 $\rightarrow$ 6)-xilose e β -(1 $\rightarrow$ 2)-galactose. Unidades repetitivas do XG do tamarindo podem formar estruturas de heptassacarídeos (Glc_4Xyl_3), octassacarídeos ($\text{Glc}_4\text{Xyl}_3\text{Gal}$) e nonassacarídeos ($\text{Glc}_4\text{Xyl}_3\text{Gal}_2$) (Martins, 2022).

Diferentes padrões de ramificação na cadeia do xiloglucano afetam suas propriedades físico-químicas, como solubilidade em água e grau de auto associação molecular. Além disso, a semente contém tocoferóis (formas de vitamina E: α , β , γ , δ) em quantidades notáveis e pigmentos naturais (antocianidinas) e taninos na casca. Esses compostos fenólicos e antioxidantes reforçam ainda mais o potencial funcional dos resíduos (Martins, 2022).

Na **Figura 3** apresenta-se a caracterização estrutural do fruto, evidenciando de forma tradicional o rendimento global do extrato obtido a partir de cada um de seus componentes, com a devida descrição referente ao resíduo, à classe química, ao composto identificado e à respectiva referência.

Figura 3 – Caracterização do fruto integral *Tamarindus indica* L.

Resíduo	Classe Química	Composto	Referência
Semente	Polifenóis	(+)-catequina; (-)-epicatequina; procyanidina B2; procianidina tetramica oligomérica (hexâmero de procianidina; trímero de procianidina; pentâmero de procianidina; arecatamina B1)	(SUDJAROEN et al., 2005; SINCHAIYAKIT et al., 2011; SOLE; SRINIVASAN; AKARTE, 2013; NAKCHAT; MEKSURIYEN; PONGSAMART, 2014; SUNDARAM et al., 2015)
		Mirecetina; quercetina; kaempferol; ácido gálico; ácido clorogênico; ácido vanílico; ácido p-cumárico; ácido felúrico; ácido cafeico; cloranfenicol; ácido elágico; ácido cinâmico; luteolina; apigenina; isorhamnetina; taxifolina; morina; rutina; narigenina	(LUZIA; JORGE, 2011; RAZALI et al., 2015; SUNDARAM et al., 2015)
	Ácidos graxos	Ácido 3-metil,etil butanóico; etil benzeno; o-Xileno; 3-metil 1-butanol; dodecano; 1,2,4-trimetil benzeno; decano; ácido 2-etilhexil oxálico; 1,2,3-trimetil benzeno; ácido palmítico; ácido 14-metil pentadecanóico; ácido hexadecanóico; ácido linoléico; ácido oléico; ácido cis vacênico; ácido cis-10-heptadecenóico; trans ácido 13 - octadecenóico; ácido 16-metil heptadecanóico; ácido esteárico; 17-cloro 7-heptadecino; etil 9-hexadecenoato; oleato de etila; ácido 3-metil butil pentadecanóico; 10,1-biciclo tridec-1-eno; tetratriacontano; ácido araquídico; ácido lignocérico; ácido beênico	(AJAYI et al., 2006; LUZIA; JORGE, 2011; REIS et al., 2016)
	Polissacarídeos	Ramnose; arabinose; galactose; glicose; manose; xilose; frutose	(SHAO et al., 2019)
	Tocoferóis	α -tocoferol; p-tocoferol; γ -tocoferol; δ -tocoferol; vitamina E	(LUZIA; JORGE, 2011)
	Pigmentos	Leucoantocianidina; antocianina	(SHANKARACHARYA, 1998; RAO; MATHEW, 2012)
	Terpenos	Cantaridina	(SHIRISHA; VARALAKSHMI, 2016)
Casca	Polifenóis	(-)-epicatequina	(GANESAPILLAI; VENUGOPAL; SIMHA, 2017)
	Outros	Saponina; galactosil glicerol; ácido treó-isocítrico	(SONI; SINGH; SINGH, 2018)

Fonte: Martins, 2022.

Nessa perspectiva, Martins (2022) acrescenta:

Os ácidos graxos são normalmente identificados na fração lipídica extraída da semente de tamarindo. Essas substâncias, dependendo do número de ligações duplas em sua cadeia molecular, são classificadas como saturadas, monoinsaturadas, polinsaturadas e insaturadas (combinação de ácidos graxos monoinsaturados e polinsaturados). O consumo de ácidos graxos saturados e trans está associado a doenças cardíacas nas coronárias. No entanto, certos ácidos graxos têm o potencial de serem utilizados como funcionais em alimentos e medicamentos, como os ácidos graxos insaturados (Martins, 2022, p. 33).

Em pesquisa sobre extração, Banerjee *et al.* (2017) evidenciaram que a fração majoritária dos compostos oleosos presentes nas sementes de *Tamarindus indica* L. corresponde a ácidos graxos insaturados. Entre estes, sobressaem os ácidos linoleico e oleico, não apenas por representarem os percentuais mais elevados, mas também por sua reconhecida atividade antioxidante e antimicrobiana. Além disso, o OST também contém ácidos monoglicéridos e compostos aromáticos, como naftalenos (Kumar *et al.*, 2011). Nesse sentido, o óleo tem um grande potencial bioativo de essencial interesse nas indústrias (Okello *et al.*, 2018).

Corroborando com o supracitado, Luzia e Jorge (2011) realizaram um estudo com o propósito de caracterizar as sementes de *Tamarindus indica* L. quanto à sua

composição centesimal, perfil de ácidos graxos, teor de tocoferóis e atividade antioxidante. Para tanto, as sementes foram previamente desidratadas, trituradas e submetidas à extração etanólica, sendo os extratos analisados por diferentes métodos físico-químicos, espectrofotométricos e cromatográficos, de modo a avaliar tanto a composição nutricional quanto o potencial funcional do material obtido.

Os resultados apontaram que as sementes apresentam elevado teor de carboidratos totais, correspondendo a 71,91% da composição, seguidos por 12,74% de proteínas, 3,41% de lipídios e 2,16% de cinzas. Apesar da fração lipídica relativamente baixa, o óleo extraído demonstrou propriedades notáveis em termos de estabilidade e composição, evidenciando sua relevância do ponto de vista nutricional e tecnológico (Luzia; Jorge, 2011).

No que se refere à atividade antioxidante, o extrato etanólico apresentou desempenho significativo, com valor máximo de 75,93% e concentração elevada de compostos fenólicos totais, atingindo 49,30 mg equivalentes de ácido gálico por grama de extrato. O valor de EC₅₀ (do inglês *Effective Concentration 50%*) obtido (204,72 µg.mL⁻¹) reforça a boa eficiência antioxidante, comparável a extratos de outras sementes tropicais (Luzia; Jorge, 2011).

O óleo das sementes apresentou estabilidade oxidativa de 15,83 horas, superior a óleos comumente utilizados na alimentação, como os de soja e girassol, e próxima à encontrada em óleos de maracujá e tomate. O perfil de ácidos graxos revelou predominância de insaturados (73,94%), sendo o linoleico o principal componente (59,61%), seguido do oleico (14,33%) e do palmítico (10,07%).

Esses resultados encontram-se detalhados na **Tabela 1**, que demonstra a composição percentual dos principais ácidos graxos identificados na fração lipídica das sementes de *Tamarindus indica* L., bem como as relações entre ácidos saturados/insaturados e oleico/linoleico.

Tabela 1 – Perfil de ácidos graxos presentes na fração lipídica das sementes de *Tamarindus indica* L.

ÁCIDOS GRAXOS (%)	MÉDIA	DESVIO PADRÃO
Palmítico (C 16:0)	10.07	0.09
Esteárico (C18:0)	2.82	1.77
Oleico (C18:1)	14.33	0.03
Linoleico (C18:2)	59.61	0.12
Ácido icosanóico (C20:0)	1.82	0.03
Beênico ou Ác.docosanóico (C22:0)	4.13	0.03
Lignocérico (C24:0)	6.21	0.04
Saturado	26.06	0.16
Monoinsaturados	14.33	0.03
Polinsaturado	59.61	0.12
Sat/Insat*	1/2.84	-
Ole/Lin**	1/4.16	-

*Relação entre o total de ácidos graxos saturados e insaturados.

**Relação entre os ácidos oleico e linoleico totais

Fonte: Luzia; Jorge, 2011.

Além disso, o óleo mostrou-se uma importante fonte de tocoferóis, com conteúdo total de 57,77 mg.kg⁻¹, destacando-se a presença de γ -tocoferol (38,22 mg.kg⁻¹) e α -tocoferol (12,36 mg.kg⁻¹). Essa composição contribui para a estabilidade oxidativa e reforça o potencial antioxidante do óleo, associando-o também a benefícios fisiológicos relacionados à vitamina E (Luzia; Jorge, 2011).

Conclui-se, portanto, que as sementes de *Tamarindus indica* L. constituem uma fonte promissora de compostos bioativos, apresentando propriedades nutricionais e funcionais de interesse. O elevado teor de ácidos graxos insaturados, somado à presença de fenólicos e tocoferóis, sugere sua aplicabilidade tanto no setor alimentício quanto em formulações farmacêuticas e oleoquímicas (Luzia; Jorge, 2011).

Diante do exposto acerca do potencial bioativo e funcional das sementes de *Tamarindus indica* L., especialmente no que tange à riqueza em ácidos graxos insaturados, compostos fenólicos e tocoferóis, torna-se relevante considerar a possibilidade de associação desses extratos a biopolímeros de interesse tecnológico (Gomes, 2018).

Em especial, materiais de origem natural como o amido, a gelatina e a pectina

já vêm sendo empregados na elaboração de filmes e revestimentos biodegradáveis que, quando enriquecidos com compostos bioativos, passam a desempenhar função antioxidante e antimicrobiana, com ampla aplicação no setor alimentício e biomédico (Rosetto *et al.*, 2021; Bodini, 2011; Ribeiro, 2022)

O uso de amido modificado, por exemplo, tem sido explorado na formulação de filmes flexíveis para embalagens sustentáveis; a gelatina, por sua vez, é aproveitada na produção de cápsulas e sistemas de liberação controlada; enquanto a pectina destacam-se na produção de hidrocolóides e matrizes para imobilização de compostos bioativos (Rosetto *et al.*, 2021; Bodini, 2011; Ribeiro, 2022)

Nesse contexto, a incorporação de extratos do tamarindo em tais matrizes poderia agregar funcionalidade e valor agregado, resultando em embalagens ativas capazes de retardar a oxidação lipídica em alimentos, em curativos com maior potencial de cicatrização pela ação antioxidante, ou mesmo em biomateriais com propriedades fisiológicas benéficas (Rodrigues, 2019).

Entre os diversos biopolímeros disponíveis, destaca-se a quitosana, cuja estrutura catiônica, biocompatibilidade e capacidade de formar filmes transparentes e estáveis a tornam particularmente atrativa (Barboza *et al.*, 2022). Nesse sentido, o próximo capítulo abordará especificamente as propriedades, potencialidades e usos da quitosana, estabelecendo o elo entre suas características estruturais e as possibilidades de associação com compostos bioativos provenientes das sementes de *Tamarindus indica* L.

2.2 A QUITOSANA E SUAS PROPRIEDADES

A quitosana é um polissacarídeo de natureza catiônica, obtido principalmente por meio do processo de desacetilação alcalina da quitina, a qual representa o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, ficando atrás apenas da celulose. A quitina, por sua vez, compõe a estrutura fundamental dos exoesqueletos de crustáceos e insetos, além de estar presente na parede celular de diversos fungos e microrganismos (De Azevedo *et al.*, 2007).

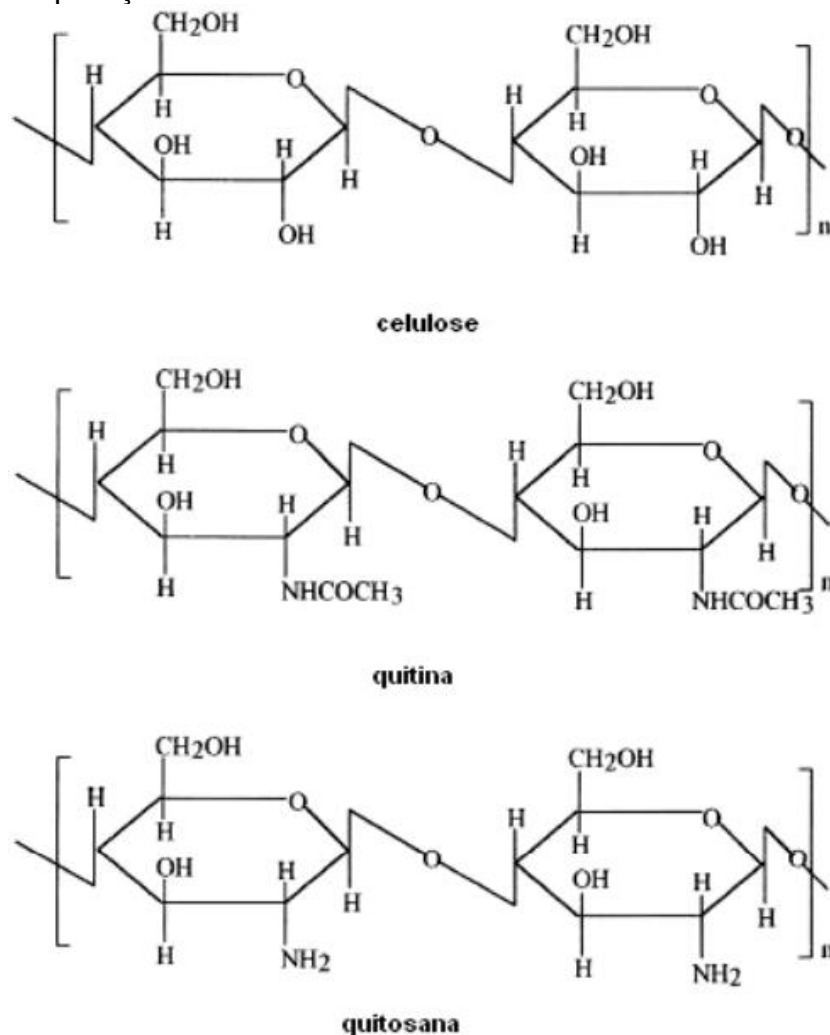
Destarte, a quitina e a quitosana são polímeros naturais, atóxicos, biodegradáveis e biocompatíveis, derivados de fontes renováveis, cuja utilização em aplicações industriais e tecnológicas tem sido explorada há aproximadamente setenta anos. Ambas possuem estruturas formadas por unidades de 2-acetamido-2-deoxi-D-

glicopirranose e 2-amino-2-deoxi-D-glicopirranose, ligadas por meio de ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow4)$ (De Azevedo *et al.*, 2007).

Contudo, diferenciam-se quanto à proporção dessas unidades e à solubilidade. A quitina, caracterizada pela predominância de unidades de 2-acetamido-2-deoxi-D-glicopirranose, mostra-se insolúvel na maioria dos solventes. Em contrapartida, a quitosana, cuja estrutura contém majoritariamente unidades de 2-amino-2-deoxi-D-glicopirranose, é solúvel em soluções aquosas diluídas de ácidos orgânicos e inorgânicos (De Azevedo *et al.*, 2007).

A **Figura 4** apresenta a comparação entre as estruturas moleculares da celulose e da quitosana, evidenciando que, enquanto na celulose predominam grupos hidroxila (OH) distribuídos ao longo da estrutura do carboidrato, na quitosana destacam-se grupos amino (NH_2).

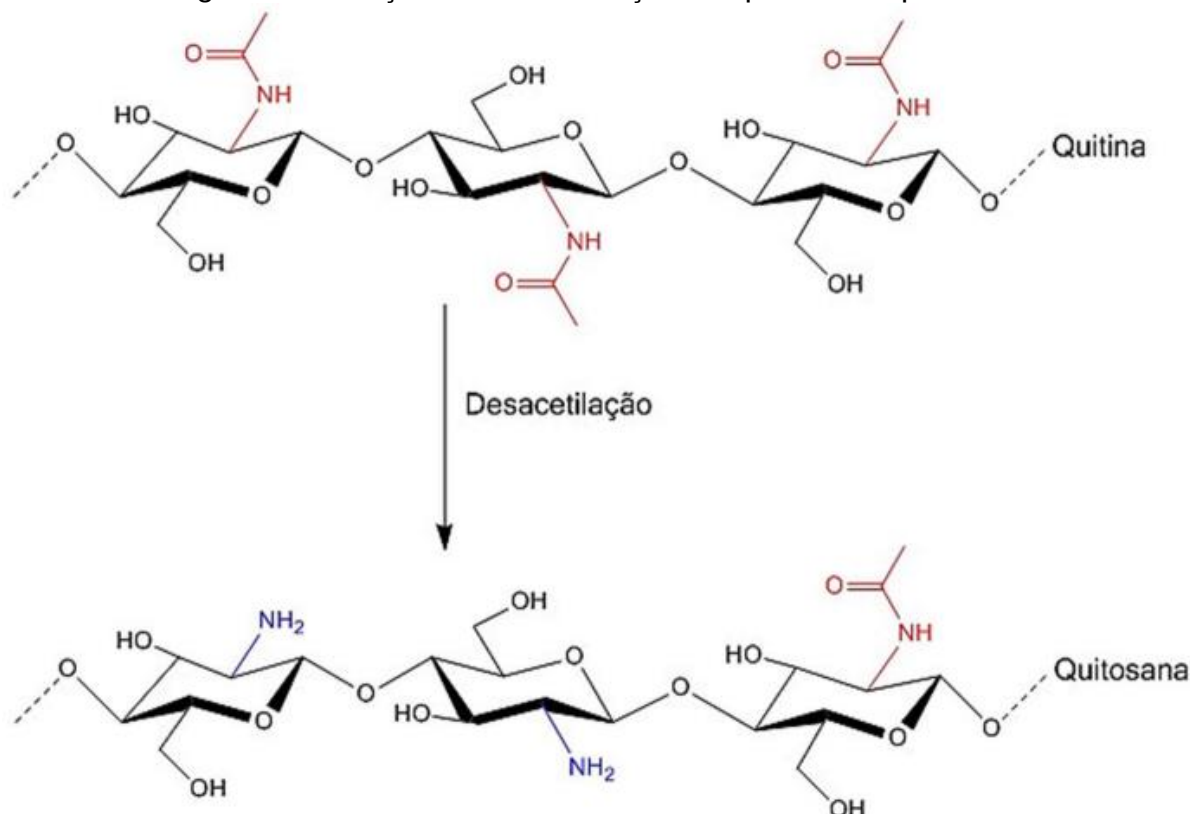
Figura 4 – Comparação entre as estruturas moleculares da celulose e da quitosana



Fonte: De Azevedo *et al.*, 2007.

Conforme já mencionado, a quitosana, embora presente naturalmente em determinados fungos, é comumente obtida por meio do processo de desacetilação da quitina. No decorrer da reação, os grupamentos acetamido ($-\text{NHCOCH}_3$) presentes na quitina são convertidos, em diferentes graus, em grupos amino ($-\text{NH}_2$), resultando na formação da quitosana, conforme **Figura 5**.

Figura 5 – Reação de desacetilação da quitina em quitosana



Fonte: Rodrigues, 2017.

Como nota complementar, há três formas polimórficas para a quitina: α , β e γ . A forma α é a mais abundante, sendo encontrada em estruturas rígidas e resistentes. A β -quitina, por sua vez, ocorre na forma de microfibrilas ligadas a proteínas, constituindo estruturas também resistentes, mas com maior flexibilidade. A principal diferença entre essas duas formas está no empacotamento no estado sólido: na α -quitina, as cadeias apresentam emparelhamento antiparalelo, resultando em maior densidade e favorecendo a formação de ligações de hidrogênio entre as cadeias; já na β -quitina, o emparelhamento é paralelo.

Essa distinção estrutural confere à β -quitina maior acessibilidade a reagentes, o que se traduz em maior reatividade e, conseqüentemente, em mais possibilidades

de obtenção de derivados modificados. Por fim, a γ -quitina é descrita como resultante de um arranjo intermediário entre as formas α e β , podendo também ser interpretada como uma simples distorção dessas estruturas (Rodrigues, 2017).

Além do exposto, sabe-se que, embora a quitina seja solúvel apenas em poucos solventes, a quitosana apresenta solubilidade em soluções diluídas de ácidos orgânicos, em razão da protonação dos grupos amino presentes nas unidades de D-glucosamina (GlcN). Essa característica decorre da desacetilação parcial da quitina, na qual as unidades de N-acetil-D-glicosamina (GlcNAc) são convertidas em GlcN, conferindo à quitosana propriedades catiônicas (Rodrigues, 2017).

Essa modificação estrutural possibilita que a quitosana se apresente em diferentes formas e, conseqüentemente, dê origem a derivados com ampla diversidade de propriedades e aplicações. Entre eles, destacam-se a remoção de metais em águas residuárias, a imobilização de enzimas, o revestimento de alimentos e, sobretudo, sua utilização em pesquisas voltadas para biomedicina (Rodrigues, 2017).

Exemplos incluem o uso em suturas cirúrgicas, implantes dentários, reconstituição óssea, lentes de contato (como agente hidratante) e sistemas de liberação controlada de fármacos em animais e humanos, podendo ser administrados por diferentes vias, como tópica, oral ou retal (Rinaudo, 2006; Ahn; Choi; Cho, 2001).

Corroborando com o assunto, Silva (2005 *apud* Rodrigues *et al.*, 2020) diz, à respeito das propriedades catiônicas da quitosana, que:

Fazem dela um polissacarídeo de grande interesse para um número expressivo de aplicações: pode ser quimicamente modificada; ser biodegradável e biocompatível; ser processada em diferentes formas (soluções, blendas, esponjas, filmes, membranas, gel, pasta, tabletes, microesferas, microgrânulos e fibras, entre outros), além de ser um polieletrólito catiônico em meio ácido (Silva, 2005 *apud* Rodrigues *et al.*, 2020, p. 227).

Nesses meios, a quitosana comporta-se como um polieletrólito com elevada densidade de carga positiva, em razão da protonação dos grupos amina em grupos NH_3^+ , o que lhe permite interagir com moléculas de carga negativa, como proteínas e lipídios. Assim, a quitosana apresenta solubilidade em soluções fracamente ácidas (como ácido fórmico, ácido acético e ácido clorídrico), em função da quantidade de grupos amino disponíveis, sendo, entretanto, insolúvel em água pura e em soluções de caráter alcalino (Berscht *et al.*, 1994).

Por essa razão, a quitosana pode ser considerada um material dependente do pH, sendo fundamental levar em conta o seu grau de desacetilação. Isso porque a extensão da protonação da quitosana em diferentes meios ácidos está diretamente relacionada ao pH e ao valor de pK do ácido (Krajewska, 2004).

Por fim, tem-se que, em virtude de suas características físico-químicas, a quitosana apresenta propriedades relevantes, como a facilidade na formação de filmes finos, os quais têm sido, há algum tempo, objeto de avaliações práticas (Assis *et al.*, 2003; Kostaneski, 2023).

De modo geral, os filmes de quitosana têm sido obtidos por métodos simples, consistindo na dissolução do polímero em meio apropriado e posterior vertimento sobre superfície plana, seguido da evaporação do solvente e destacamento do filme. No entanto, esse procedimento frequentemente resulta em filmes de espessura irregular e estrutura fibrosa heterogênea (Assis *et al.*, 2003; Kostaneski, 2023).

Como alternativa, destaca-se a técnica de automontagem (*self-assembly*), baseada na adsorção decorrente de interações eletrostáticas, a qual permite maior controle estrutural. Esse processo ocorre por meio da imersão de um substrato sólido carregado em solução contendo material de carga oposta, o que induz a formação inicial de uma monocamada sobre a superfície (Assis *et al.*, 2003; Kostaneski, 2023).

A principal vantagem dessa metodologia reside no fato de não exigir equipamentos sofisticados. Considerando que, em meio ácido, a quitosana apresenta cargas positivas em razão da protonação dos grupos amino (NH_3^+), substratos com alta densidade de sítios negativos constituem suportes adequados para a atração eletrostática e subsequente formação de filmes homogêneos (Assis *et al.*, 2003; Kostaneski, 2023).

Entretanto, uma limitação importante desses filmes refere-se à sua hidrofiliabilidade. Devido à predominância de grupos amino com ligações covalentes (N–H), cuja eletronegatividade cria sítios altamente polares, há favorecimento do rearranjo de moléculas de água ao redor desses sítios. Essa característica, somada à presença de grupos acetamido, também polares, confere ao material elevado grau de afinidade e retenção de água.

Essa intensa absorção hídrica implica efeitos indesejáveis, como a diminuição da estabilidade estrutural do polímero. A constante presença de umidade provoca o intumescimento da matriz, acarretando desagregação das fibras, destacamento do filme e aceleração da degradação por ação microbiana (Assis *et al.*, 2003; Kostaneski,

2023).

Assim, a produção de filmes não apenas envolve a aplicação de agentes, como a quitosana, para formação da película, mas também pode abranger a utilização de solventes, plastificantes e outros reagentes. Nos últimos anos, verificou-se que o aprimoramento das propriedades dos filmes de quitosana pode ser alcançado por meio da adição de aditivos naturais, como óleos essenciais, extratos vegetais e extratos de frutas. Essas combinações têm demonstrado grande potencial para ampliar as funcionalidades dos filmes, especialmente no que se refere às atividades antioxidante, antimicrobiana e às aplicações em biomedicina (Assis *et al.*, 2003; Kostaneski, 2023).

Neste sentido, considerando o tema desta dissertação, que trata da investigação de filmes poliméricos de quitosana associados ao *Tamarindus indica* L., ressalta-se que a combinação desses materiais apresenta elevado potencial científico e tecnológico, aspecto que será abordado em detalhe no próximo subcapítulo.

2.3 FILMES DE QUITOSANA E DERIVADOS DE *Tamarindus indica* L.

Conforme já explorado nos subcapítulos anteriores, a combinação de polímeros naturais como a quitosana com óleos vegetais bioativos tem sido explorada em biomateriais avançados. Nos últimos 20 anos, poucos estudos investigaram diretamente a combinação de quitosana com óleo de *Tamarindus indica* L. em filmes finos. No entanto, trabalhos que utilizam derivados da tamarindeira em conjunto com quitosana fornecem pistas sobre a preparação, estrutura e propriedades desses sistemas.

Como por exemplo, o estudo de Malviya *et al.* (2021), intitulado *Fabrication and Characterization of Chitosan—Tamarind Seed Polysaccharide Composite Film for Transdermal Delivery of Protein/Peptide* teve como propósito desenvolver e caracterizar filmes compósitos à base de quitosana e polissacarídeo de sementes de tamarindo, com vistas à sua aplicação como sistemas de liberação transdérmica de proteínas e peptídeos terapêuticos (Malviya *et al.*, 2021).

A pesquisa fundamenta-se no fato de que a administração oral dessas biomoléculas é frequentemente inviabilizada pela degradação enzimática e pelas baixas taxas de absorção intestinal, enquanto a via parenteral, embora eficaz, é invasiva e pouco atrativa sob o ponto de vista da adesão do paciente (Malviya *et al.*,

2021).

Os filmes foram obtidos a partir da dispersão dos polissacarídeos em meio aquoso, seguida da incorporação do fármaco e posterior secagem controlada em moldes. Os resultados revelaram que os filmes apresentaram espessura média entre $1,00 \pm 0,001$ e $1,04 \pm 0,03$ mm, pH superficial de 5,7 a 6,7 – dentro de uma faixa compatível com aplicação cutânea – e elevado conteúdo de fármaco, variando entre $96,0 \pm 1,43\%$ e $98,0 \pm 1,33\%$ (Malviya *et al.*, 2021).

A absorção de umidade permaneceu baixa (2,83–3,76%), ao passo que a captação oscilou entre 5,33% e 10,02%, indicando estabilidade satisfatória frente à umidade ambiental. A resistência mecânica mostrou-se notável, com todas as formulações suportando mais de 300 dobras sucessivas sem ruptura, o que denota elevada flexibilidade. As análises de FTIR demonstraram ausência de interações químicas indesejadas entre os constituintes, enquanto as imagens de MEV evidenciaram superfícies homogêneas antes dos testes de permeação, ainda que fissuras tenham surgido após os ensaios de liberação (Malviya *et al.*, 2021).

No que concerne ao desempenho funcional, os testes *in vitro* de liberação, conduzidos com membrana de ovo como barreira biológica simulada, mostraram que nos primeiros quatro dias a liberação cumulativa situou-se entre 13,75% e 22,54%, enquanto entre o quinto e o sexto dia os valores alcançaram 72,67% a 78,33%, caracterizando perfil de liberação sustentada.

Estudos de permeação transdérmica realizados em células de difusão de Franz, empregando membrana abdominal de frango, confirmaram comportamento semelhante, com taxas de permeação próximas a 78% após seis dias de ensaio (Malviya *et al.*, 2021). Diante desses achados, os autores concluíram que os filmes compósitos de quitosana e polissacarídeo de sementes de tamarindo apresentaram potencial como sistemas inovadores para administração transdérmica de proteínas e peptídeos.

Por sua vez, o estudo intitulado *Preparation, characterization, and antimicrobial activity of xyloglucan-chitosan film from tamarind (Tamarind indica L.) seed kernel* (Adair *et al.*, 2023) teve como objetivo desenvolver e caracterizar filmes compósitos a partir de xiloglucana extraída do endosperma da semente de tamarindo e quitosana, explorando suas propriedades físico-químicas, estruturais, mecânicas e antimicrobianas, de modo a avaliar sua aplicabilidade como material biodegradável em embalagens alimentícias e outros usos biomédicos.

A xiloglucana foi obtida por extração do pó do caroço de tamarindo (TKP), submetido a desengorduramento e posterior tratamento hidrotérmico em meio aquoso acidificado, seguido de precipitação alcoólica. O polímero resultante apresentou pureza de 90% e massa molar entre 342 e 1010 kDa. A ligação com a quitosana foi promovida pela ação do ácido acético (4% v/v), que induziu hidrólise ácida na estrutura da xiloglucana, gerando grupos aldeído (-CHO) capazes de reagir covalentemente com grupos amino (-NH₂) da quitosana, formando ligações amida secundária (Adair *et al.*, 2023).

A confirmação da formação de ligações covalentes convencionais foi obtida por diferentes técnicas analíticas. O teste de Benedict indicou a presença de açúcares redutores, corroborando a formação de aldeídos após a hidrólise da xiloglucana. As análises por FTIR revelaram o desaparecimento dos picos característicos de amins primárias (quitosana) e amidas primárias (xiloglucana), sendo substituídos por bandas de amida secundária (1635–1637 cm⁻¹).

Os difratogramas de raios X mostraram padrão amorfo tanto para filmes individuais quanto para os compósitos, mas com aumento da intensidade do pico em $2\theta = 20^\circ$ à medida que a proporção de xiloglucana se elevava, evidenciando maior densidade de ligações intermoleculares. A análise térmica indicou que os filmes compósitos apresentaram maiores picos endotérmicos e valores de entalpia (60–140 J/g), superiores aos de quitosana ou xiloglucana isoladas, demonstrando maior estabilidade térmica das matrizes híbridas (Adair *et al.*, 2023).

Por fim, os testes de atividade antimicrobiana revelaram que a incorporação de xiloglucana potencializou o efeito inibitório natural da quitosana. Enquanto filmes de quitosana isolada apresentaram crescimento microbiano de $2,5 \times 10^4$ UFC/g, os compósitos em diferentes proporções (1:1, 2:1, 3:1 e 4:1) exibiram contagens <30 UFC/g, evidenciando atividade antimicrobiana intensa. Essa ação foi atribuída à combinação entre o efeito quelante e de interação de membrana da quitosana e à modulação estrutural conferida pela xiloglucana, além da redução da atividade de água promovida pelo glicerol (Adair *et al.*, 2023).

Em síntese, o trabalho demonstrou que a associação de xiloglucana e quitosana, promovida por meio de ácido acético, resulta em filmes biodegradáveis com propriedades mecânicas superiores, menor permeabilidade ao vapor de água e notável atividade antimicrobiana (Adair *et al.*, 2023).

As análises físico-químicas dos filmes evidenciam que a associação entre

quitosana e derivados do tamarindo resulta em interações essencialmente físicas, as quais repercutem diretamente em suas propriedades estruturais, mecânicas e de barreira. Os espectros de FTIR confirmam a manutenção das bandas características de ambos os componentes, sem modificações significativas, o que sugere ausência de reações químicas de maior intensidade, prevalecendo mecanismos de interpenetração polimérica e a formação de ligações de hidrogênio. Paralelamente, os ensaios de espessura e resistência indicam que os filmes híbridos tendem a ser mais espessos e menos rígidos quando comparados àqueles obtidos exclusivamente de quitosana.

Nesse sentido, Malviya *et al.* (2021) reportaram valores de espessura variando entre 1,00 e 1,04 mm, associados a notável durabilidade frente à flexão, resistindo a mais de 300 dobras sucessivas. Outro efeito observado é a redução da cristalinidade da matriz polimérica com a adição de tamarindo, fenômeno que promove maior flexibilidade e elevação da capacidade de alongamento.

De forma ilustrativa, Ning *et al.* (2024) demonstraram que, ao entrecruzar quitosana com polissacarídeo extraído de tamarindo, a elongação máxima das películas aumentou substancialmente de cerca de 3,2% em filmes não reticulados para aproximadamente 77,5% nos filmes reticulados, revelando impacto expressivo na ductilidade do material.

No que concerne às propriedades de barreira, observa-se que os filmes obtidos a partir da associação entre quitosana e derivados de tamarindo apresentam elevada resistência à permeação tanto de vapor d'água quanto de gases. Evidências experimentais, como as relatadas por Ning *et al.* (2024), demonstram que esses materiais exibem baixa permeabilidade à água e ao oxigênio, efeito atribuído à formação de uma rede tridimensional entrecruzada capaz de restringir a difusão molecular através da matriz. Em termos estruturais, tais filmes configuram-se como materiais semicristalinos, dotados de capacidade de deformação e de morfologia homogênea, sem indícios de fases separadas perceptíveis.

Ademais, nos trabalhos analisados, os filmes híbridos constituídos por quitosana e componentes de *Tamarindus indica* L. revelaram propriedades biológicas de grande relevância para aplicações biomédicas. As películas exibiram atividade antimicrobiana, destacando-se os resultados de Ning *et al.* (2024), que relataram zonas de inibição em torno de 24 mm contra microrganismos modelo. Esse efeito foi atribuído à ação sinérgica dos grupos amino da quitosana, responsáveis por

interações eletrostáticas com membranas bacterianas, e de fitoquímicos residuais presentes nos extratos do tamarindo (Ning *et al.*, 2024).

Paralelamente, ensaios de biocompatibilidade evidenciaram alta viabilidade celular e ausência de atividade hemolítica, reforçando o caráter não tóxico e compatível desses filmes com células animais. Ressalte-se ainda que a quitosana, isoladamente, já é reconhecida por sua biocompatibilidade e até por propriedades hemostáticas, ao passo que os aditivos do tamarindo, sejam polissacarídeos ou óleos ricos em ácidos graxos insaturados como oleico e linoleico, não apenas preservam, como possivelmente incrementam tais características, adicionando potenciais efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios (Malviya *et al.*, 2021).

Um aspecto adicional que merece destaque é o papel da concentração de quitosana em formulações contendo óleo. A literatura aponta que pequenas proporções de quitosana em sistemas oleosos auxiliam na manutenção da estabilidade estrutural do filme, assegurando melhor dispersão e formação de matriz contínua. Em geral, a concentração empregada situa-se entre 0,1% e 1% (Bonila *et al.*, 2011, 2012; Pereda; Amica; Marcovich, 2012), embora em alguns casos possa alcançar valores de até 3% (Sánchez-González, 2010).

Convém ressaltar, ainda, que a atividade antimicrobiana dos óleos está intrinsecamente relacionada à sua composição química, sendo cada constituinte capaz de atuar por mecanismos específicos sobre a célula bacteriana. A eficácia desses mecanismos depende também da estrutura da membrana celular microbiana, diferenciando-se de modo significativo entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas¹ (Aljaafari *et al.*, 2019, 2021, 2022; Wińska *et al.*, 2019). Dentre os diversos

¹ As bactérias são tradicionalmente classificadas em Gram-positivas e Gram-negativas, a partir do método de coloração de Gram, desenvolvido por Hans Christian Gram em 1884. Essa distinção decorre de diferenças estruturais na parede celular, que condicionam a capacidade de retenção dos corantes aplicados durante o ensaio. As bactérias Gram-positivas apresentam uma parede celular espessa, constituída predominantemente por peptidoglicano (ou mureína), que pode corresponder a até 90% de sua estrutura. Essa característica permite que retenham o corante cristal violeta-iodo, resultando em coloração roxa quando observadas ao microscópio. Além disso, essas bactérias possuem ácidos teicoicos e lipoteicoicos, que contribuem para a rigidez estrutural e para a adesão a superfícies. Exemplos clássicos incluem *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Listeria monocytogenes*. Já as bactérias Gram-negativas apresentam uma parede celular mais complexa e delgada, com uma fina camada de peptidoglicano localizada entre a membrana citoplasmática e uma membrana externa adicional. Esta última contém lipopolissacarídeos (LPS), moléculas que, além de atuarem como barreira protetora contra diversas substâncias antimicrobianas, desempenham papel fundamental na patogenicidade, podendo desencadear respostas inflamatórias no hospedeiro. Durante a coloração de Gram, o cristal violeta é facilmente removido, e as células acabam restando apenas o contracorante (safranina), o que lhes confere coloração rosa ou avermelhada. Entre seus representantes, destacam-se *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella enterica* (Souza; Avancini; Wiest, 2000; Barreiras *et al.*, 2020; Aljaafari *et al.*, 2019, 2021, 2022; Wińska *et al.*, 2019).

mecanismos de ação propostos, o principal envolve a desestabilização da estrutura celular causada pelos compostos dos óleos, resultando na ruptura da membrana e no aumento da permeabilidade, o que interrompe atividades celulares essenciais, como a produção de energia e o transporte de membrana (Saad; Muller; Lobstein, 2013; Tariq *et al.*, 2023; Martínez *et al.*, 2021).

Dessa forma, os estudos revisados evidenciam que os filmes de quitosana incorporados a componentes do tamarindo, sejam polissacarídeos ou óleos, apresentam propriedades físico-químicas, mecânicas, de barreira e biológicas relevante.

Contudo, diante do exposto, impõe-se enfatizar que, apesar da relevância crescente da utilização de biopolímeros naturais na engenharia de materiais, a literatura científica não aborda de maneira aprofundada as propriedades físico-químicas e estruturais dos filmes híbridos constituídos por quitosana e derivados de *Tamarindus indica* L..

Grande parte dos trabalhos existentes concentra-se predominantemente em análises superficiais de desempenho funcional, negligenciando pesquisas detalhadas sobre fenômenos fundamentais como estabilidade térmica, cristalinidade, interações intermoleculares e capacidade de barreira. Essas variáveis, entretanto, são determinantes para a compreensão e o aprimoramento das propriedades tecnológicas e biomédicas desses sistemas poliméricos.

A avaliação dessas propriedades permite identificar a influência de diferentes proporções e métodos de incorporação dos componentes sobre a organização molecular da matriz híbrida. Por exemplo, técnicas como a calorimetria exploratória diferencial (DSC) e a análise termogravimétrica (TGA) podem revelar o comportamento térmico e a estabilidade das redes poliméricas, enquanto espectroscopias vibracionais, como o FTIR, fornecem evidências diretas da formação de ligações de hidrogênio e possíveis interações covalentes secundárias.

De igual modo, difração de raios X (DRX) permite avaliar mudanças nos padrões de cristalinidade, que impactam diretamente a flexibilidade e a resistência mecânica do material. Paralelamente, técnicas morfológicas, como microscopia eletrônica de varredura (MEV), viabilizam a análise da homogeneidade superficial e da dispersão de fases.

No que concerne às propriedades funcionais, torna-se indispensável destacar que barreiras eficientes à permeação de vapor d'água e de gases, associadas à

estabilidade térmica e à interação molecular bem definida, são fatores críticos para a viabilidade tecnológica dos filmes de quitosana e tamarindo. Entretanto, observa-se que, até o presente momento, poucos estudos correlacionam de forma sistemática as propriedades moleculares e estruturais desses compósitos com seu desempenho prático.

Neste diapasão, a presente investigação ancora-se nos fundamentos da Engenharia de Materiais, buscando suprir esse problema ao explorar, de forma integrada, análises físico-químicas, térmicas, estruturais e funcionais desses sistemas.

Pretende-se, assim, oferecer conhecimento científico para a compreensão dos mecanismos que regem seu comportamento e, simultaneamente, estabelecer uma base experimental que favoreça o desenvolvimento de materiais poliméricos com desempenho controlado e aplicações direcionadas em áreas biomédicas e tecnológicas.

Todavia, a variabilidade das formulações, a influência das diferentes proporções de componentes e os múltiplos parâmetros envolvidos na preparação desses filmes tornam necessária a utilização de metodologias experimentais consistentes.

Nesse contexto, a aplicação de planejamentos experimentais em conjunto com técnicas de análise multivariada apresenta-se como estratégia para investigar de maneira sistemática a influência de cada variável, promover a otimização das formulações e garantir maior precisão e confiabilidade nos resultados alcançados. Tais temáticas serão aprofundadas no subcapítulo subsequente.

2.4 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE DE MULTIVARIAVEIS

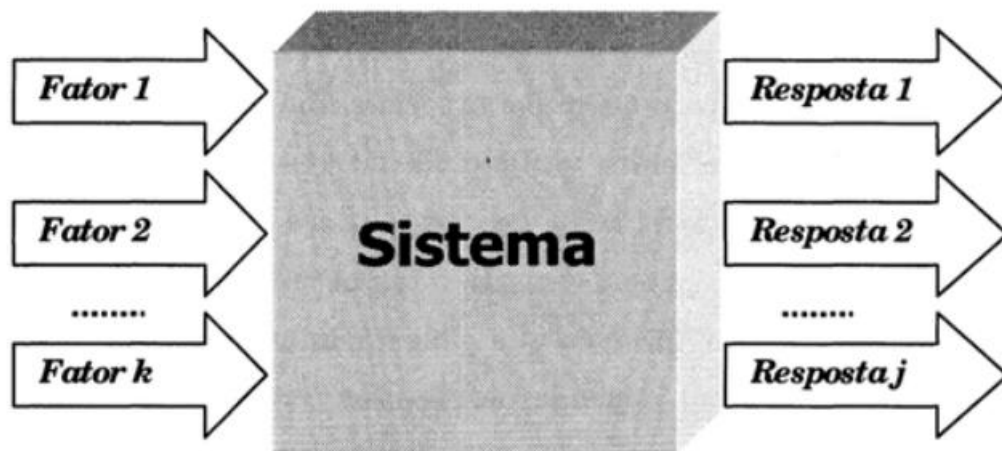
A essência da análise estatística consiste em extrair conclusões acerca de uma população a partir de dados obtidos de uma amostra representativa. Esses dados podem derivar tanto de estudos observacionais quanto de experimentos planejados (Barbetta; Reis; Bornia, 2004).

Neste contexto, um dos problemas mais comuns, para quem faz experimentos, é determinar a influência de uma ou mais variáveis sobre outra variável de interesse. Assim, a essência de um bom planejamento consiste em projetar um experimento de forma que ele seja capaz de fornecer exatamente o tipo de informação necessária

para responder ao problema de pesquisa proposto (Barros Neto; Scarminio; Bruns, 2003).

No planejamento de um experimento, o primeiro passo consiste em definir claramente quais serão os fatores e as respostas de interesse. Os fatores correspondem às variáveis que o pesquisador tem a possibilidade de controlar, podendo ser de natureza qualitativa ou quantitativa. As respostas, por sua vez, representam as variáveis de saída do sistema, sobre as quais recai o interesse da investigação, e que podem ser influenciadas ou não pelas modificações impostas aos fatores. Para a construção de um planejamento fatorial, é necessário realizar ensaios e registrar as respostas obtidas em todas as combinações possíveis dos níveis previamente estabelecidos. O conjunto dessas combinações constitui o chamado sistema de planejamento (Barros Neto; Scarminio; Bruns, 2003). A **Figura 6** representa o exposto.

Figura 6 – Representação de um sistema com variáveis de entrada (fatores) e saída (respostas)



Fonte: Barros Neto; Scarminio; Bruns, 2003.

Todo planejamento fatorial inicia-se com uma etapa preliminar de simulações ou experimentos, cujo propósito é identificar as variáveis relevantes e os respectivos níveis de interesse. Quando se estabelece um experimento fatorial em que k fatores são avaliados em n níveis (isto é, valores de referência definidos para teste e análise), este é denominado planejamento fatorial n^k .

No caso específico em que apenas dois níveis são considerados, usualmente representados pelos sinais superior (+) e inferior (–), o experimento recebe a denominação de planejamento fatorial 2^k (Araújo; Nunes; Silva, 2016). Essa

representação, por exemplo, evidencia que, ao se escolherem dois níveis distintos para três fatores em um planejamento fatorial (2^3), o número de experimentos necessários será igual a oito (Cunico *et al.*, 2008).

Embora os planejamentos fatoriais do tipo 2^k sejam os mais utilizados, é importante destacar que, com um número reduzido de níveis, torna-se praticamente inviável explorar de forma abrangente uma região extensa do espaço experimental (quando >4 variáveis). Ainda assim, tais planejamentos são vantajosos, pois possibilitam a identificação de tendências relevantes que orientam investigações subsequentes (Cunico *et al.*, 2008).

Nesse tipo de planejamento, conforme já citado anteriormente, os níveis são tradicionalmente codificados pelos sinais (+) e (–), cuja atribuição, superior ou inferior, ocorre de maneira arbitrária, sem afetar a execução dos experimentos ou a interpretação dos resultados. Esses sinais também permitem organizar as variáveis em matrizes de planejamento e, por meio de cálculos, estimar os efeitos principais e as interações no sistema (Cunico *et al.*, 2008).

Além disso, ressalta-se que a realização de réplicas ou repetições é fundamental, pois permite estimar o erro experimental associado à resposta analisada, bem como verificar a reprodutibilidade do esquema experimental adotado (metodologia e equipamento) (Cunico *et al.*, 2008).

Outro ponto relevante consiste em diferenciar o número de experimentos do número de condições experimentais. Isso porque, ao conjunto de condições experimentais previamente definido, deve-se acrescentar a quantidade de réplicas para se obter o total de experimentos a serem realizados. Ademais, todos os ensaios e replicatas devem ser conduzidos de forma aleatória, a fim de evitar distorções estatísticas que possam comprometer a confiabilidade dos resultados e a correta avaliação dos efeitos das variáveis estudadas (Cunico *et al.*, 2008).

De modo geral, o delineamento fatorial completo é empregado como fundamento para os métodos de superfície de resposta quando o objetivo é ajustar modelos quadráticos. Contudo, observa-se que, ao se considerar mais de três fatores ou níveis elevados, o número de experimentos exigidos torna-se impraticável (Araújo; Nunes; Silva, 2016; Cunico *et al.*, 2008).

Nesse cenário, destacam-se os delineamentos de superfície de resposta, entre os quais o Box–Behnken, que possibilita a estimação de modelos de segunda ordem com um número reduzido de ensaios. Especificamente, o delineamento Box–Behnken

será analisado na próxima seção.

2.4.1 Delineamento Experimental Box-Behnken (BBD)

O delineamento Box–Behnken (BBD), desenvolvido por Box e Behnken em 1960 (Beg; Akhter, 2021), é um arranjo experimental especialmente concebido para o ajuste de modelos quadráticos, caracterizando-se por não incluir os pontos extremos (“cantos”) do hipercubo de fatores (Biedermann *et al.*, 2018; Beg; Akhter, 2021).

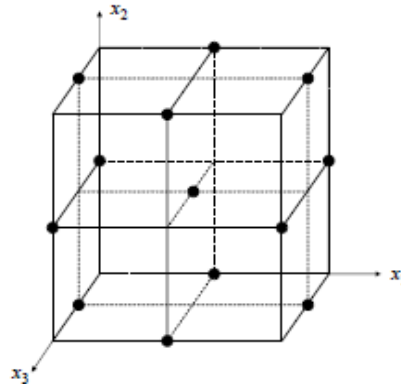
No delineamento Box–Behnken (BBD), cada fator é codificado em três níveis igualmente espaçados (-1 , 0 e $+1$), o que possibilita a estimação de um modelo de regressão de segunda ordem, contemplando termos quadráticos e de interação. A construção do BBD baseia-se na combinação de blocos fatoriais incompletos: em cada bloco, um subconjunto de fatores é variado em dois níveis, enquanto os demais permanecem fixados no nível central (0) (Arshad; Akhtar; Gilmour, 2012; Abd-El-Aziz, 2022; Beg; Akhter, 2021).

Por exemplo, em um BBD com três fatores, formam-se três blocos, nos quais dois fatores são combinados em um arranjo 2^2 , mantendo-se o terceiro no nível central. Assim, os pontos não centrais localizam-se nos centros das arestas do cubo dos fatores, sendo que todos apresentam ao menos um fator fixado no nível médio (Ferreira *et al.*, 2007; Nam *et al.*, 2018; Szpisják-Gulyás *et al.*, 2023).

Adicionalmente, incluem-se pontos no centro do arranjo experimental (todos os fatores em 0), os quais permitem estimar o erro experimental e testar a presença de falta de ajuste. Dessa forma, o BBD é classificado como “independente quadrático”, pois não contém um planejamento fatorial de dois níveis completo embutido, embora mantenha a propriedade de ser rotacionável ou quase-rotacionável no espaço experimental (Sibanda; Pretorius, 2013; Nam *et al.*, 2018; Beg; Akhter, 2021).

Sendo assim, o BBD não inclui pontos de canto nem pontos estrela (axiais); seus ensaios situam-se somente nos pontos médios das arestas do hipercubo experimental e no ponto central. Em termos geométricos, esses pontos ficam sobre a superfície de uma esfera inscrita no cubo, tangente aos centros das arestas. A **Figura 7** ilustra esse arranjo para três fatores: cada face do cubo exibe um ensaio no centro de cada aresta, e há três replicações no centro do cubo (origem).

Figura 7 – Representação gráfica do experimento Box-Behnken de três fatores



Fonte: Pérez, 2024.

No caso de k fatores, o número de pontos experimentais em um delineamento Box–Behnken (BBD) é expresso por:

$$N = 2 * \frac{k}{2} * C_0 \quad (1)$$

Onde: k = o número de fatores ou variáveis independentes; C_0 = número de pontos centrais adicionados ao planejamento, utilizados para estimar o erro experimental e verificar a falta de ajuste (Pérez, 2024)

Sendo assim, o BBD calcula o número de ensaios a partir das combinações de pares de fatores $\frac{k}{2}$, cada um formando um bloco fatorial 2^2 com quatro pontos, acrescidos de repetições no centro (C_0). Assim, por exemplo, para quatro fatores ($k = 4$) obtêm-se 24 pontos nas arestas mais 3 centrais, totalizando 27 corridas, enquanto para cinco fatores ($k = 5$), têm-se 40 pontos nas arestas e, tipicamente, 6 no centro, chegando a 46 ensaios.

Esse número é muito inferior ao de um fatorial completo de três níveis (3^k), que exigiria 81 e 243 experimentos para $k = 4$ e $k = 5$, respectivamente, mostrando que o BBD é uma alternativa mais econômica e eficiente, além de demandar menos recursos do que o delineamento composto central (CCD) para a mesma quantidade de variáveis (Pérez, 2024). Um exemplo de projeto Box-Behnken em três fatores codificados é mostrado no **Quadro 1**.

Quadro 1 – Projeto Box-Behnken em três fatores codificados

EXPERIMENTOS	X1	X2	X3
1	-1	-1	0
2	1	-1	0
3	-1	1	0
4	1	1	0
5	-1	0	-1
6	1	0	-1
7	-1	0	1
8	1	0	1
9	0	-1	-1
10	0	1	-1
11	0	-1	1
12	0	1	1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

Fonte: Pérez, 2024.

O objetivo do BBD é permitir o ajuste de um modelo polinomial quadrático completo (segunda ordem) da resposta em função das variáveis independentes (Maran *et al.*, 2015). Para k fatores, esse modelo tem a forma:

$$\hat{y} = b_0 + \sum_{i=1}^k b_i x_i + \sum_{i < j} b_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^k b_{ii} x_i^2 \quad (2)$$

Onde x_i representam as variáveis codificadas nos níveis -1, 0 e +1; b_i correspondem aos coeficientes lineares; b_{ij} aos coeficientes de interação; e b_{ii} , aos coeficientes quadráticos. Assim, com três variáveis, o modelo pode ser expresso da seguinte forma:

$$\hat{y} = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + b_3 x_3 + b_{12} x_1 x_2 + b_{13} x_1 x_3 + b_{23} x_2 x_3 + b_{11} x_1^2 + b_{22} x_2^2 + b_{33} x_3^2 \quad (3)$$

A estrutura do delineamento Box–Behnken foi concebida de modo a permitir a estimação de regressões de segunda ordem sem colinearidade entre os termos, garantindo uma ortogonalidade praticamente completa e um número adequado de graus de liberdade. Box e Behnken selecionaram as combinações de níveis de forma a alcançar a rotatibilidade, isto é, que a variância da predição dependa unicamente da distância em relação ao ponto central (Pérez, 2024; Maran *et al.*, 2015; Agadaga,

2024; Ghoreishi, 2000).

Os coeficientes do modelo ajustado são estimados por meio de regressão linear múltipla a partir dos pontos experimentais. Em seguida, aplica-se a análise de variância (ANOVA) para avaliar tanto a significância global do modelo quanto a relevância individual de cada termo. De maneira semelhante ao que ocorre em outros delineamentos de superfície de resposta, examina-se se o modelo completo é estatisticamente significativo e se os termos lineares, quadráticos e de interação representam adequadamente a variação observada na resposta (Pérez, 2024; Maran *et al.*, 2015; Agadaga, 2024; Ghoreishi, 2000).

Destarte, com a fundamentação teórica devidamente delineada, passa-se à descrição da metodologia adotada nesta pesquisa, contemplando a coleta e extração do óleo, o preparo das soluções filmogênicas, a aplicação do planejamento experimental e as técnicas de caracterização utilizadas.

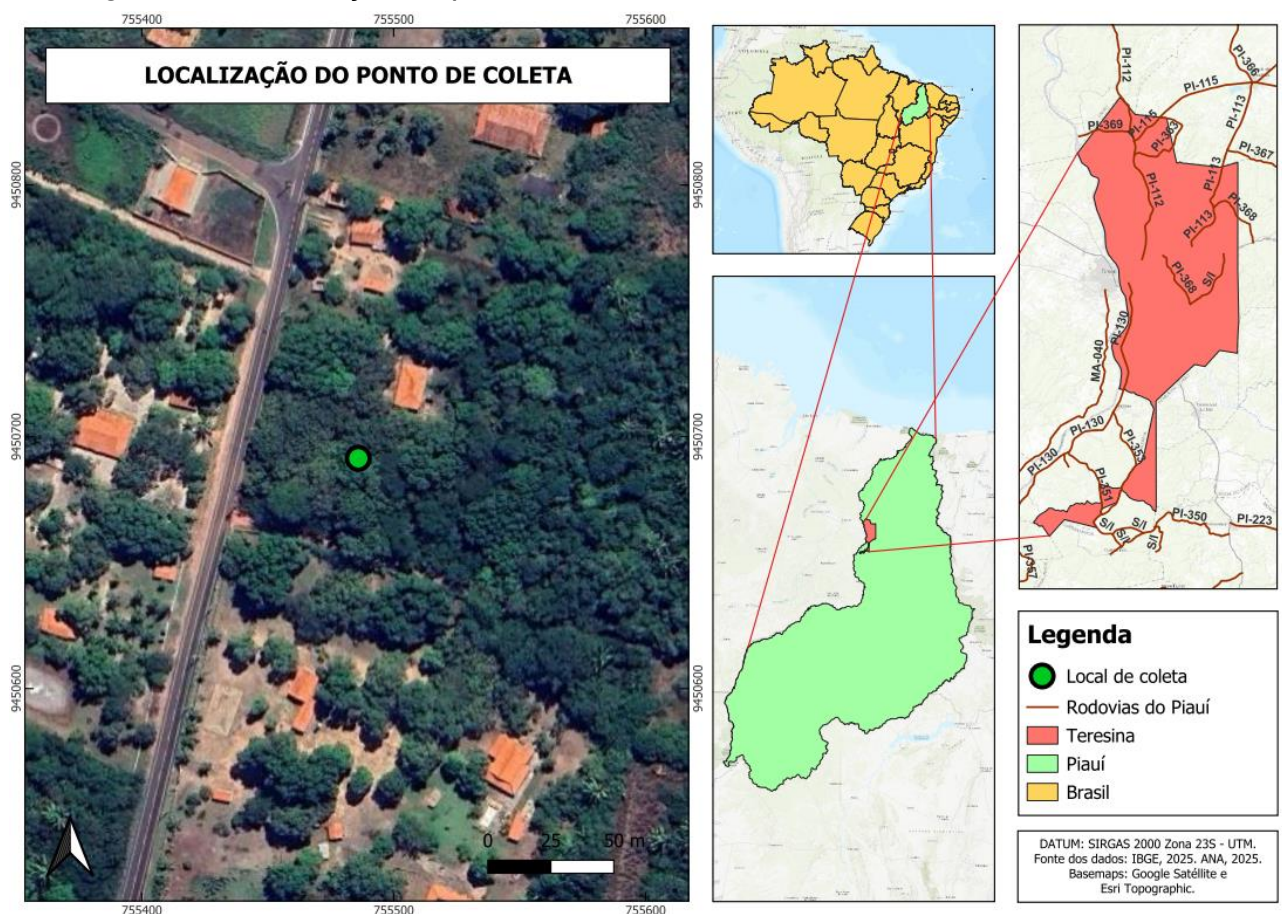
3 METODOLOGIA DA PESQUISA

O presente capítulo tem por finalidade descrever os materiais e métodos empregados na execução da etapa experimental deste trabalho de mestrado, abrangendo desde as fases iniciais até os procedimentos finais adotados.

3.1 PROCEDIMENTOS DE COLETA, PREPARO DAS SEMENTES E EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE *Tamarindus indica* L.

As sementes de *Tamarindus indica* L. utilizadas como matéria-prima foram coletadas na região de Santa Teresa, Teresina – Piauí, especificamente no Sítio Taboca (coordenadas geográficas: latitude $-4,9656250$; longitude $-42,6960640$), durante o mês de novembro de 2024. A **Figura 8** apresenta a localização do ponto de coleta das sementes.

Figura 8 – Localização do ponto de coleta das sementes de *Tamarindus indica* L.



Fonte: Autoria própria, 2025.

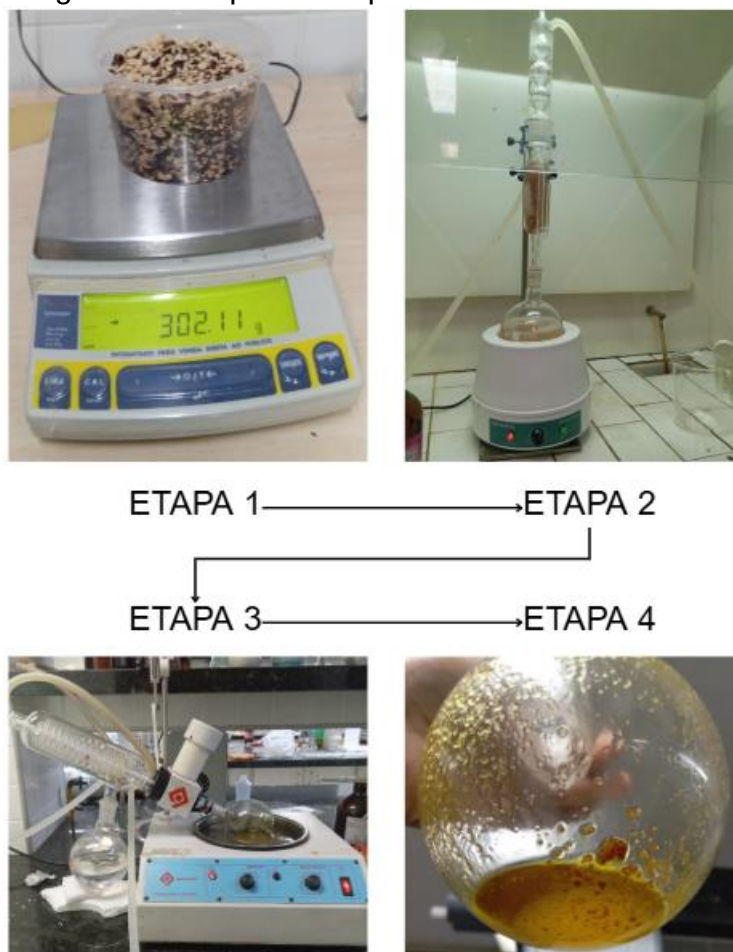
Inicialmente, as sementes foram submetidas à secagem em temperatura ambiente controlada (38 °C). Posteriormente, procedeu-se à trituração em moinho de facas/martelos, obtendo-se cerca de 300 g de material. A pesagem foi realizada em balança semi-analítica da marca Shimadzu (modelo UW8200S), garantindo precisão no preparo da amostra.

O processo de extração do óleo foi conduzido em sistema Soxhlet, composto por extrator, condensador de Allihn, suporte de amostras, balão de fundo redondo e manta de aquecimento, seguindo o método oficial AOAC 930.39 (AOAC, 2012). As sementes trituradas (300 g) foram acondicionadas em cartucho de tecido filtrante e introduzidas no balão de destilação contendo 500 mL de hexano (solvente extrator). A extração foi realizada à temperatura de ebulição do solvente (65 °C), com taxa de aproximadamente 6 a 8 ciclos por hora, durante 24 h consecutivas.

Após a extração, a solução óleo/solvente foi concentrada a vácuo em evaporador rotativo da marca QUIMIS (modelo Q344B1), operando à temperatura de 50 °C, com o objetivo de remover o excesso de hexano e concentrar o extrato lipídico. Ao final do procedimento, foram obtidos aproximadamente 30 mL OST, que foi armazenado em frasco âmbar sob refrigeração até sua utilização nas etapas subsequentes.

A **Figura 9** apresenta o fluxograma do experimento em laboratório, representando as etapas de coleta, preparo das sementes e extração do óleo.

Figura 9 – Etapas do experimento em laboratório



Fonte: Autoria própria, 2025.

3.2 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO OST

Após a extração, o OST foi submetido às análises físico-químicas, sendo a determinação da acidez, do índice de peróxido e do índice de refração, realizadas no Laboratório de Alimentos do IFPI.

3.2.1 Índice de Acidez

A determinação do índice de acidez do OST foi conduzida por titulação ácido-base, de acordo com metodologia clássica adaptada. Inicialmente, foram pesados 2 g da amostra de óleo em frasco Erlenmeyer de 125 mL, utilizando-se balança semi-analítica da marca Shimadzu (modelo UW8200S). Em seguida, a amostra foi diluída em 25 mL de solução de éter-álcool (2:1, v/v), previamente neutralizada.

Os reagentes empregados foram: solução de éter-álcool (2:1, v/v) neutra,

solução alcoólica de fenolftaleína (indicador, 2 gotas) e soluções padronizadas de hidróxido de sódio (NaOH) nas concentrações de 0,1 M ou 0,01 M. A titulação foi realizada por meio de bureta de 10 mL, sob agitação contínua, até o aparecimento de coloração rósea, que deve persistir por 30 segundos, definindo o ponto final da reação.

O cálculo do índice de acidez foi realizado com base na Equação 4.

$$\text{Índice de Acidez} = \frac{v \cdot f \cdot 56,1}{P} \quad (4)$$

Onde v corresponde ao volume (mL) de solução de NaOH consumido na titulação, f representa o fator de correção da solução de hidróxido de sódio (0,9579) e P indica a massa da amostra (g).

3.2.2 Índice de Peróxido

A determinação do índice de peróxido do OST foi conduzida por meio de titulação iodométrica, método clássico e padronizado para a avaliação do grau de oxidação primária de óleos e gorduras. Inicialmente, foram pesados 2 g da amostra de óleo em balança semi-analítica da marca Shimadzu (modelo UW8200S).

A amostra foi então transferida para um frasco de Erlenmeyer de 125 mL com tampa esmerilhada, ao qual se adicionaram 50 mL de solução alcoólica de hidróxido de potássio (KOH) a 4% (m/v). Em seguida, o sistema foi acoplado a um condensador e submetido a aquecimento controlado, permanecendo em ebulição até que a completa saponificação do óleo fosse atingida.

Concluída a saponificação, adicionou-se 1 mL de solução indicadora, procedendo-se à titulação com solução de ácido clorídrico (HCl) até a observação do ponto final, caracterizado pela mudança de coloração. Para a execução desse procedimento, foram utilizados como materiais de apoio um frasco de Erlenmeyer de 125 ou 250 mL com tampa esmerilhada, uma proveta de 50 mL, uma pipeta graduada de 1 mL e uma bureta de 10 mL com subdivisões de 0,05 mL, de forma a garantir a precisão volumétrica necessária.

Os reagentes empregados incluíram ácido acético e clorofórmio, que atuaram como meio reacional, além de iodeto de potássio (KI), utilizado como fonte de íons iodeto suscetíveis à oxidação pelos peróxidos presentes no óleo. O amido solúvel foi

adicionado como indicador, formando um complexo azul com o iodo liberado e permitindo a identificação visual do ponto final da titulação. A quantificação dos peróxidos foi realizada mediante titulação com solução de tiossulfato de sódio, preparada em duas possíveis concentrações (0,1 N ou 0,01 N), responsável por reduzir o iodo a iodeto, até o desaparecimento da coloração azul característica. Adicionalmente, utilizou-se solução de ácido acético–clorofórmio (3:2, v/v) como sistema solvente complementar, favorecendo a estabilidade da reação.

Por fim, o índice de peróxido (IP) foi calculado conforme a Equação 5.

$$IP(meq/kg) = \frac{(a - b) \cdot N \cdot 1000}{P} \quad (5)$$

Onde: *a* representa o volume de solução de tiossulfato de sódio gasto na titulação da amostra (mL), *b* corresponde ao volume consumido no ensaio em branco (mL), *N* é a normalidade real da solução de tiossulfato de sódio e *P* indica a massa da amostra em gramas. O resultado foi expresso em miliequivalentes de oxigênio ativo por quilograma de óleo.

3.2.3 Índice de Refração

O índice de refração do OST foi determinado utilizando um Refratômetro ABBE de bancada, marca Quimis (modelo Q767B), operado à temperatura de 30 °C, conforme os procedimentos descritos pela metodologia oficial da *American Oil Chemists' Society* (AOCS, Cc 7-25, 1993).

Esse parâmetro é de grande relevância nas análises físico-químicas, pois fornece informações sobre a identidade e a pureza do óleo, uma vez que o índice de refração está diretamente associado à estrutura molecular e às propriedades ópticas do meio atravessado pela luz. Assim, valores alterados podem indicar impurezas, adulterações ou modificações químicas decorrentes de processos de oxidação, sendo, portanto, um indicativo confiável da qualidade do óleo (Cecchi, 2003).

3.3 OBTENÇÃO DA QUITOSANA

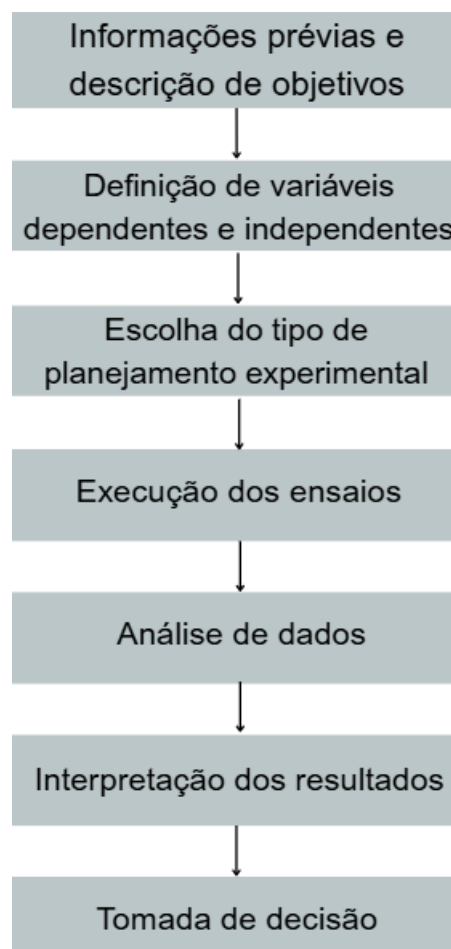
O material de quitosana empregado neste estudo foi adquirido da empresa

ORIGINALIS BIOTECH (Indústria e Comércio de Produtos Naturais Ltda. – Patense Agroecologia, Brasil), fornecido em pó e identificado pelo lote ORI.QT.ET001. As características do material informadas pelo fabricante encontram-se apresentadas no **Anexo A**.

3.4 PARÂMETROS DE FORMULAÇÃO E PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DOS FILMES DE QUITOSANA/OST

Para a produção das soluções destinadas à formação dos filmes, seguiu-se o procedimento experimental ilustrado na **Figura 10**.

Figura 10 – Procedimento experimental



Fonte: Autoria própria, 2025.

O delineamento adotado seguiu o modelo Box–Behnken, o qual permite avaliar os efeitos principais, as interações bilaterais e os termos quadráticos dos fatores

investigados.

Nesse delineamento, foram consideradas como variáveis independentes o **OST** e a **quitosana**, enquanto as variáveis de processo incluíram a **acidez da solução de quitosana** (1,0%, 1,5% e 2,0% em ácido láctico), a **concentração de OST** (1,0%, 3,0% e 5,0%) e o **tempo de agitação** (15, 22,5 e 30 minutos). A seleção dessas variáveis foi fundamentada nas características físico-químicas dos materiais e em evidências reportadas na literatura.

Como variáveis de resposta, foram avaliados o rendimento da formulação, o pH das soluções, o ângulo de contato dos filmes e a permeabilidade ao vapor de água. Esses parâmetros foram escolhidos por refletirem propriedades críticas de desempenho dos filmes, tanto em termos de estabilidade físico-química quanto de aplicabilidade em contextos biomédicos.

Em seguida, os dados experimentais foram inseridos no *software Design-Expert® 13*, com o objetivo de determinar os parâmetros de formulação que conferissem maior eficiência ao processo de produção dos filmes.

3.5 PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DE QUITOSANA PURA E ASSOCIADA AO OST

O preparo dos filmes deu-se por meio do método de evaporação de solvente, conforme descrito por Macedo (2013). Para tanto, a quitosana foi solubilizada em solução aquosa de ácido láctico nas concentrações de 1%, 1,5% e 2%, sob agitação contínua durante 24 horas. A solução resultante foi posteriormente submetida a um processo de filtração em duas etapas, visando à eliminação de impurezas: a primeira realizada com tela de nylon e a segunda com filtro Millipore de porosidade de 45 µm.

Após a segunda etapa de filtração, foram separados 60 mL da solução de quitosana para o preparo das membranas puras (Qui). As formulações contendo adição de OST foram elaboradas segundo a metodologia descrita por Oliveira *et al.* (2012). Para tanto, 600 mL da solução de quitosana foram divididos em três alíquotas iguais de 200 mL, destinadas à preparação das dispersões do óleo em concentrações de 1%, 3% e 5%. Em seguida, cada dispersão foi submetida à centrifugação (600 rpm, por 15, 22,5 ou 30 minutos), de acordo com o planejamento experimental.

Posteriormente, 15 soluções filmogênicas foram vertidas em placas de Petri, utilizando-se 30 mL por placa. As amostras foram mantidas em estufa a 50 °C por 24 horas, sendo, em seguida, submetidas a secagem adicional em temperatura ambiente

por mais 24 horas, até completa formação e estabilização dos filmes.

3.6 CARACTERIZAÇÕES DOS FILMES

3.6.1 pH

O pH das 15 soluções foi avaliado no Laboratório de Alimentos do IFPI, utilizando-se um medidor digital de pH, modelo PH-1900. As formulações contendo OST nas concentrações de 1%, 3% e 5% foram submetidas à imersão em fluidos simulados, sendo posteriormente analisadas quanto às variações de pH.

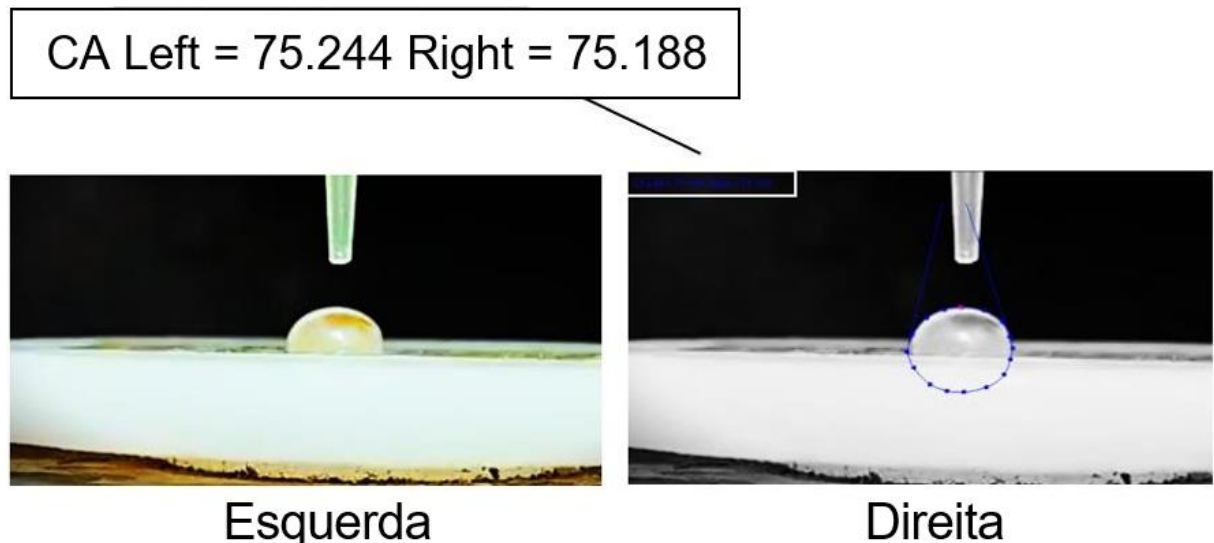
3.6.2 Ângulo de Contato

O ângulo de contato dos filmes foi determinado em cada amostra pelo método da gota séssil. Para isso, depositou-se uma gota de 0,05 mL de água destilada sobre a superfície dos filmes, permanecendo por 60 segundos, com o escopo de registrar o ângulo formado entre o substrato polimérico e a gota de água.

A análise do ângulo de contato foi realizada por meio do *software ImageJ*, utilizando-se o *plugin DropSnake*, baseado em curvas de contato do tipo *B-spline* (contornos ativos), que permite medições de alta precisão (**Figura 11**). Esse método evita suposições físicas prévias, modelando o contorno da gota como uma curva *B-spline* flexível. Quando necessário, aplica-se a extensão simétrica por espelhamento, de modo a explorar a reflexão da gota no substrato e identificar com maior precisão os pontos de contato.

Para manter uma ampla gama de aplicabilidade, evita-se discretizar o contorno da gota e opta-se por otimizar um termo avançado de energia da imagem para orientar a evolução da curva (Stalder *et al*, 2006).

Figura 11 – Parâmetro do ângulo de contato verificado no *imageJ* pelo método *Dropsnake*



Fonte: Autoria própria, 2025.

3.6.3 Permeação ao Vapor de Água

A permeabilidade ao vapor de água corresponde ao processo de transferência de massa através de um filme polimérico e pode ser compreendida por meio das propriedades de transporte de gases, vapores ou outros solutos no interior da matriz polimérica. Esse fenômeno é diretamente dependente do coeficiente de difusão e da solubilidade do permeante no filme.

Ademais, diversos fatores estruturais exercem influência sobre esse parâmetro, incluindo as características intrínsecas do polímero (como estrutura química, polaridade e volume livre) e aspectos relacionados ao próprio filme (grau de cristalinidade, temperatura de transição vítrea, presença de aditivos e combinação com outros polímeros), os quais modificam as propriedades de transporte e, consequentemente, a permeabilidade (De Oliveira *et al.*, 2012; Bunhak *et al.*, 2007; Velasco *et al.*, 2022).

A taxa de permeabilidade ao vapor de água (WVP) foi determinada segundo o método descrito pela norma ASTM E96-80 (*American Society for Testing and Materials*). Para o ensaio, utilizaram-se células plásticas cilíndricas com diâmetro interno de 4,0 cm. No interior de cada célula foi adicionada sílica previamente seca em estufa por 2 horas a 50 °C, com o objetivo de garantir ambiente de baixa umidade. Em seguida, com auxílio de tesoura, recortaram-se 15 amostras de cada filme, com

aproximadamente 1,0 cm de diâmetro. Cada filme foi posicionado sobre a abertura superior da célula, atuando como barreira, células plásticas devidamente identificada de 1 a 15. Para evitar vazamentos entre o corpo da célula e a tampa, a vedação foi reforçada com parafilm, de modo que o filme constituísse a única fronteira entre os ambientes interno e externo da célula (**Figura 12**).

Figura 12 – (a) Dessecador com 15 células; (b) 15 filmes em placas petri.



Fonte: Autoria própria, 2025.

Posteriormente, o processo de permeação foi monitorado por meio de pesagens realizadas em intervalos de 24 horas, ao longo de um dia. A permeabilidade ao vapor de água foi determinada a partir da declividade da curva obtida pela plotagem da massa em função do tempo, sendo os resultados expressos em $\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1}$.

Os ensaios foram conduzidos em temperatura ambiente, valor adotado como referência para os cálculos. A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi determinada conforme a relação:

$$PVA = \frac{G}{t \cdot A} \quad (6)$$

Em que: PVA é o coeficiente de permeação ao vapor de água ($\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1}$); G/t é a taxa de variação da massa de água do sistema ao longo do tempo ($\text{g} \cdot \text{dia}^{-1}$); A é a área permeável da membrana (m^2), determinada com base na média das espessuras medidas em quatro pontos distintos de cada amostra.

A saturação da sílica utilizada no interior das células pôde ser constatada visualmente pela alteração de cor do material – azul quando seco e rosa quando

úmido. A sílica foi empregada como agente dessecante, responsável por manter o gradiente de pressão de vapor durante o ensaio. A saturação, portanto, indica o estado no qual a sílica absorveu a quantidade máxima de vapor de água possível, deixando de atuar como barreira de umidade.

3.7 OTIMIZAÇÃO UNIVARIANTE DA CONCENTRAÇÃO DE OST EM FILMES DE QUITOSANA PARA FINS BIOMÉDICOS

A otimização univariante é uma estratégia experimental na qual se avalia o efeito de um único fator, enquanto os demais parâmetros permanecem constantes. Essa abordagem possibilita compreender de forma como as variações em um determinado parâmetro interferem nas propriedades de interesse do sistema, sobretudo quando direcionado a aplicações biomédicas. No presente estudo, essa metodologia foi empregada para examinar a influência da concentração do OST sobre as características dos filmes de quitosana previamente otimizados por meio da superfície de resposta.

A análise dos resultados experimentais foi conduzida por meio de métodos estatísticos adequados para avaliar a qualidade do modelo obtido. Neste sentido, o coeficiente de determinação (R^2) foi utilizado para mensurar a proporção da variabilidade total explicada pelo modelo, permitindo avaliar seu ajuste aos dados experimentais. Valores de R^2 superiores a 0,90 indicam um bom grau de explicação, sugerindo que a maior parte da variabilidade observada pode ser atribuída aos fatores estudados.

Também foi calculado o R^2 ajustado, que corrige o valor de R^2 de acordo com o número de variáveis independentes, evitando superestimação do ajuste. Por fim, a análise dos resíduos foi empregada para verificar a normalidade, homocedasticidade e independência dos erros, garantindo a validade dos pressupostos estatísticos do modelo.

Após a etapa de otimização, foi identificada como mais adequada a formulação contendo 3% de OST, cuja combinação de pH, permeabilidade e estabilidade estrutural apresentou o melhor desempenho global. No entanto, visando aprofundar a compreensão sobre a influência da concentração de OST nas propriedades dos filmes, decidiu-se selecionar mais duas formulações – contendo 1% e 5% de óleo, respectivamente – para análise comparativa.

Sendo assim, foi selecionada a concentração do OST como variável principal, variando em quatro níveis: 0% (filme puro), 1%, 3% e 5%. Os demais parâmetros foram mantidos constantes, de modo a isolar o efeito da variável em estudo: a concentração da solução de quitosana (1%) e o tempo de agitação (22,5 minutos) permaneceram fixos em todos os ensaios. Dessa forma, assegurou-se que as diferenças observadas nas propriedades dos filmes fossem exclusivamente atribuídas à variação da concentração de óleo.

Foram, então, produzidos quatro filmes distintos, cada um correspondente a uma das concentrações de OST previamente estabelecidas, todos preparados segundo a mesma metodologia experimental. Antes da aplicação das técnicas de caracterização, procedeu-se à mensuração do pH dos filmes obtidos, a fim de complementar e comparar os dados previamente obtidos para as respectivas soluções formadoras. Em seguida, as amostras foram submetidas a diferentes técnicas de caracterização, incluindo Análise Termogravimétrica (TG), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis) e ensaios de atividade antimicrobiana, com o objetivo de identificar a concentração mais adequada de OST para aplicações biomédicas.

3.7.1 Análise Termogravimétrica e Termogravimetria Derivada (TGA/DTG)

O ensaio de análise termogravimétrica (TGA) dos filmes foi conduzido no Laboratório de Análises Térmicas do PPGE-IFPI, *campus* Teresina Central. Para as análises, utilizou-se um equipamento da marca Shimadzu, modelo TGA-51H, empregando amostras de aproximadamente 10 mg. As condições experimentais adotadas foram: faixa de temperatura de 25 °C a 800 °C, taxa de aquecimento de 10 °C·min⁻¹ e atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL·min⁻¹.

A Termogravimetria (TGA) e a Termogravimetria Derivada (DTG) são técnicas de análise térmica utilizadas para monitorar a variação de massa de uma amostra em função da elevação da temperatura. A DTG corresponde à primeira derivada da curva obtida por TGA, permitindo identificar com maior precisão os eventos de degradação. As alterações de massa observadas estão relacionadas, principalmente, à decomposição térmica, à eliminação de solventes residuais e à volatilização de constituintes presentes na amostra.

3.7.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A caracterização microestrutural das membranas foi realizada por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), utilizando-se o equipamento da marca Shimadzu, modelo SSX-550. As análises foram conduzidas no modo de detecção por elétrons secundários (SE), com uma voltagem de 7 kV e sem deposição de ouro.

A técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) utiliza um feixe de elétrons como fonte de "iluminação" sobre a amostra, em substituição à luz visível utilizada em microscopia óptica convencional. A interação dos elétrons com o material analisado gera diferentes sinais, que podem ser coletados e interpretados, permitindo não apenas a formação de imagens de alta resolução, mas também a obtenção de informações adicionais acerca da morfologia, microestrutura e composição das amostras.

3.7.3 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As análises de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) foram realizadas em um espectrofotômetro Shimadzu IRPrestige-21, empregando KBr previamente seco a 100 °C como padrão, com leituras obtidas na faixa de 400 a 2100 cm^{-1} , resolução de 1,0 cm^{-1} e 100 varreduras.

A Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) foi empregada com o objetivo de identificar o espectro de absorção do material em estudo, bem como as principais bandas características associadas aos grupos funcionais presentes em sua estrutura.

3.7.4 Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis)

As análises de Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis) foram realizadas em um espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu, modelo UV-2600, no modo de reflectância difusa, na faixa de 200 a 800 nm, utilizando o sulfato de bário (BaSO_4) como referência.

A Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis) é uma técnica utilizada para a caracterização óptica de materiais, baseada na absorção ou reflexão de radiação eletromagnética nessa faixa do espectro. Essa análise permite identificar

transições eletrônicas associadas a diferentes grupos funcionais e estruturas moleculares, além de fornecer informações sobre *band gap* óptico, estabilidade fotoquímica, dispersão da luz e possíveis interações entre componentes da matriz polimérica.

3.7.5 Atividade Antimicrobiana

Foram utilizadas linhagens padrão de *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Candida albicans* (ATCC 10231) nos ensaios de inibição microbiana. Os testes foram conduzidos em colaboração com a Universidade Federal do Piauí (UFPI).

Em placas de Petri, adicionou-se 15 mL de meio TSA (ágar tríptico de soja), sobre o qual foram inoculados 10^6 UFC·cm⁻² de cada microrganismo testado. Os filmes, previamente recortados em discos circulares de 0,8 cm de diâmetro, foram então depositados sobre a superfície do meio inoculado. As placas foram incubadas por 24 horas, em condições controladas de 35 °C para as bactérias e 25 °C para a levedura.

Após o período de incubação, procedeu-se à medição dos halos de inibição formados em torno de cada amostra, os quais foram registrados e classificados segundo os critérios apresentados na **Tabela 2**.

Quadro 2 – Classificação da atividade antimicrobiana de acordo com o tamanho do halo de inibição do crescimento microbiano

DIMENSÃO DO HALO DE INIBIÇÃO	CLASSIFICAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA
Crescimento intenso sobre ou sob o corpo de prova	Não aceitável (NA)
0 - 1 mm	Aceitável (A)
2-5 mm	Satisfatório (S)
> 6 mm	Altamente satisfatório (AS)

Fonte: Girata, 2011.

4 ANÁLISE DOS RESULTADOS

Nesta seção serão apresentados os resultados obtidos nos experimentos descritos no Capítulo 3. As caracterizações realizadas serão expostas de forma organizada, com o propósito de verificar e discutir os efeitos das variáveis estudadas sobre as propriedades dos filmes.

4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO OST

O primeiro resultado obtido refere-se à caracterização físico-química do OST, cujos dados estão expostos na **Tabela 2**. Foram avaliados três índices principais: índice de refração, índice de acidez e índice de peróxido.

Tabela 2 – Valores médios obtidos na caracterização físico-química do OST

CARACTERÍSTICAS	CHACÓN FERNANDEZ (2019)	OST 1	OST 2	OST 3	VALOR MÉDIO
Fase	Líquido viscoso	Líquido viscoso			-
Cor	Amarelo acastanhado	Amarelo acastanhado			-
Índice de Refração	1,464	1,455	1,467	1,470	1,464
Índices de Acidez	11,159	10,990	11,164	11,151	11,101
Índice de Peróxido	98,900	97,170	98,160	98,380	97,903

Fonte: Autoria própria, 2025.

O índice de refração medido a 25 °C apresentou valores entre 1,455 e 1,467, com média de 1,464, correspondendo a uma diferença de aproximadamente 0,41 % abaixo do valor descrito por Chacón Fernandez (2019) (1,470). Esse resultado confirma a consistência composicional do óleo, uma vez que o índice de refração está diretamente associado à pureza e à presença de compostos insaturados.

O índice de acidez variou entre 10,990 e 11,164 mg KOH/g, com valor médio de 11,101 mg KOH/g, apresentando uma diferença percentual de apenas 0,52 % inferior ao reportado na literatura (11,159 mg KOH/g). Essa proximidade sugere que o óleo apresenta composição estável em termos de ácidos graxos livres, característica comum a óleos vegetais com potencial para aplicações biotecnológicas e biomédicas.

Por sua vez, o índice de peróxido apresentou variação entre 97,170 e 98,900 meq/kg, com média de 97,903 meq/kg, equivalente a uma diferença de cerca de 1,01 % inferior ao valor de referência (98,900 meq/kg).

Esses valores, ainda que relativamente altos, demonstram que o óleo mantém estabilidade oxidativa inicial, embora relativamente elevados, esses valores indicam que o óleo apresenta boa estabilidade oxidativa inicial, sugerindo baixa contaminação e degradação, ainda que evidenciem a importância de condições adequadas de armazenamento para evitar processos oxidativos mais avançados.

Ademais, conforme os parâmetros apresentados na **Tabela 2**, observa-se que o OST apresenta cor amarelo-acastanhada e fase líquida viscosa, características compatíveis com o descrito na literatura. Esses resultados demonstram que o óleo manteve-se em estado puro e estável, sem indícios de degradação significativa, especialmente no que se refere à preservação da fase líquida viscosa.

A coloração amarelo-acastanhada é típica de óleos vegetais ricos em compostos fenólicos e pigmentos naturais, os quais estão diretamente relacionados às suas propriedades antioxidantes e à estabilidade química do material. Já a viscosidade líquida, por sua vez, reflete a composição lipídica característica do OST, assegurando boa fluidez para aplicação em formulações filmogênicas (Yudina *et al.*, 2023).

Sendo assim, ao analisar a cor, a fase e os valores de índice de acidez, índice de peróxido e índice de refração, verifica-se que o OST apresenta comportamento compatível com o reportado na literatura. Esses resultados asseguram que os compostos hidrofóbicos presentes nas sementes, constituídos por ligações saturadas e insaturadas, mantêm-se ativos no óleo extraído, conferindo-lhe propriedades biológicas e farmacológicas relevante.

Isto posto, tendo sido confirmada a qualidade do óleo extraído, passa-se à etapa seguinte, destinada à análise da incorporação do OST em filmes de quitosana.

4.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DOS FILMES DE QUITOSANA/OST

O delineamento Box-Behnken resultou em um total de 15 ensaios experimentais, distribuídos conforme a **Tabela 3**, nos quais foram avaliados o pH, o ângulo de contato e a permeabilidade ao vapor de água. Os experimentos foram realizados de forma aleatória para reduzir possíveis vieses estatísticos.

Tabela 3 – Parâmetros de formulação de OST associado a solução de quitosana com suporte no *software Design Expert 13*

ENSAIOS	TEMPO (min.)	OST (%)	SOL. QUITOSANA (%)
Q1OST1	22,5	1,0	1,0
Q2OST1	22,5	1,0	2,0
Q1OST5	22,5	5,0	1,0
Q2OST5	22,5	5,0	2,0
Q1OST3	15,0	3,0	1,0
Q2OST3	15,0	3,0	2,0
Q1OST3	30,0	1,0	1,0
Q2OST5	30,0	5,0	2,0
Q1,5OST1	15,0	1,0	1,5
Q1,5OST5	15,0	5,0	1,5
Q1,5OST1	30,0	1,0	1,5
Q1,5OST5	30,0	5,0	1,5
Q1,5OST1,5	22,5	1,5	1,5
Q1,5OST3	22,5	3,0	1,5
Q1,5OST3	22,5	3,0	1,5

Fonte: Autoria própria, 2025.

Observou-se que o planejamento experimental foi bem estruturado, abrangendo tanto as condições extremas quanto as intermediárias, o que possibilitou a avaliação dos efeitos principais, das interações bilaterais e dos termos quadráticos entre as variáveis. Os pontos centrais (1,5% de quitosana, 3,0% de OST e 22,5 min de agitação) foram repetidos, o que permitiu estimar o erro do modelo.

4.2.1 pH

A primeira variável de resposta analisada foi o pH das soluções, parâmetro fundamental por refletir diretamente a estabilidade química do sistema e sua compatibilidade com aplicações biomédicas.

Na **Tabela 4** pode-se observar que os 15 filmes avaliados apresentaram valores de pH variando entre 4,0 e 5,0.

Tabela 4 – Valores de pH dos filmes de quitosana/OST

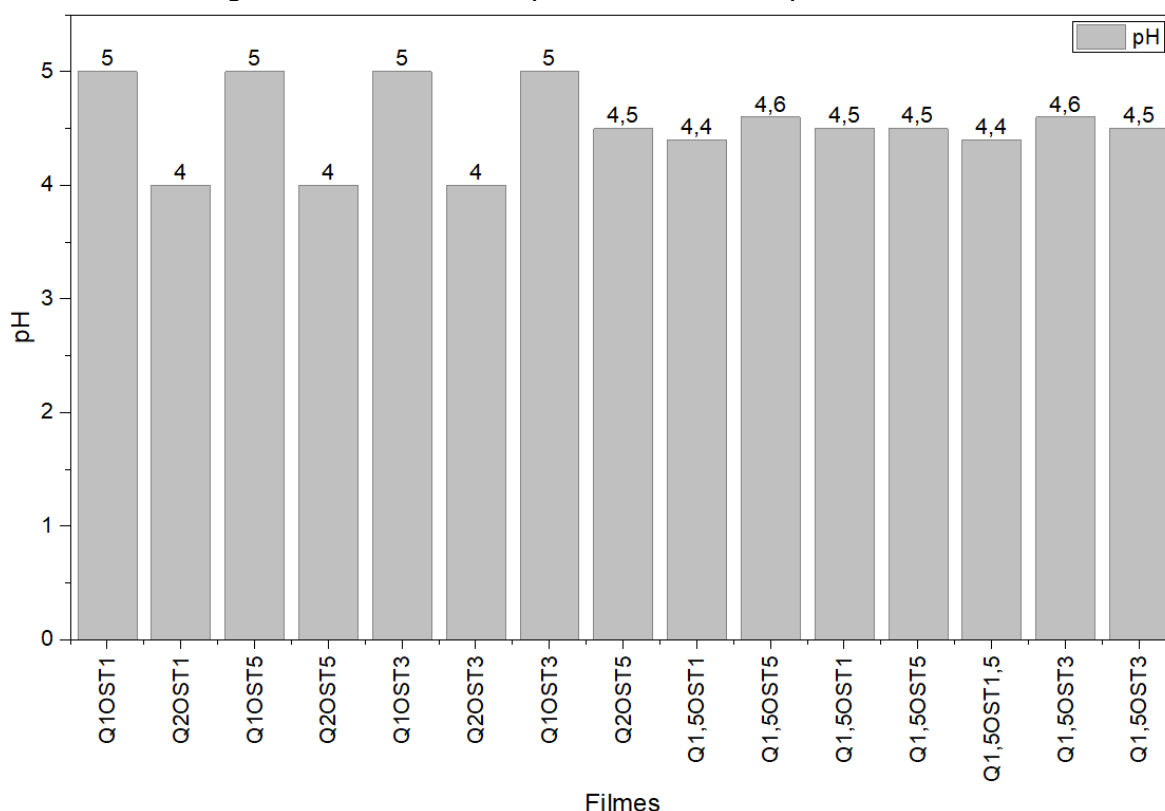
FILME	TEMPO (min.)	pH
Q1OST1	22,5	5,0
Q2OST1	22,5	4,0
Q1OST5	22,5	5,0
Q2OST5	22,5	4,0
Q1OST3	15,0	5,0
Q2OST3	15,0	4,0
Q1OST3	30,0	5,0
Q2OST5	30,0	4,5
Q1,5OST1	15,0	4,4
Q1,5OST5	15,0	4,6
Q1,5OST1	30,0	4,5
Q1,5OST5	30,0	4,5
Q1,5OST1,5	22,5	4,4
Q1,5OST3	22,5	4,6
Q1,5OST3	22,5	4,5

Fonte: Autoria própria, 2025.

Dentre eles, nove formulações mostraram-se promissoras, uma vez que o pH da pele é naturalmente ácido, podendo variar de acordo com fatores como gênero, região do corpo e idade. De acordo com a literatura, quando o pH cutâneo se encontra na faixa de 4,5 a 5,5, há favorecimento da atividade de enzimas envolvidas na cicatrização, além de melhora na absorção de nutrientes essenciais, como vitaminas C e E, colágeno, polifenóis e ácidos graxos (Lopes, 2023; Jiao *et al.*, 2024).

Na **Figura 13**, observa-se que, dentre os 15 filmes produzidos, aqueles formulados nas condições Q1OST1 (22,5 minutos), Q1OST5 (22,5 minutos), Q1OST3 (15 minutos), Q1OST1 (30 minutos), Q1,5OST5 (15 minutos), Q1,5OST1 (30 minutos), Q1,5OST1 (30 minutos), Q1,5OST1,5 (22,5 minutos) e Q1,5OST3 (22,5 minutos) apresentaram valores de pH mais apropriados, favorecendo condições mais compatíveis com o pH fisiológico da pele e, consequentemente, potencializando a aplicabilidade dos filmes em contextos biomédicos.

Figura 13 – Valores de pH dos filmes de quitosana/OST



Fonte: Autoria própria, 2025.

De modo geral, nota-se que os filmes elaborados com maior concentração de quitosana (2%) apresentaram valores de pH mais ácidos, chegando a pH = 4,0, o que pode estar associado tanto à maior influência da acidez da solução polimérica quanto a interações mais intensas entre a quitosana e o óleo em determinadas combinações.

Em contrapartida, os filmes formulados com menor teor de quitosana (1%) alcançaram valores mais elevados e próximos do intervalo fisiológico da pele (pH = 5,0), sugerindo formulações mais equilibradas, nas quais a incorporação do OST atuou como fator de estabilização.

Esse resultado é relevante, pois evidencia que a redução da concentração polimérica favorece a biocompatibilidade cutânea, aproximando os filmes do pH ideal da pele humana (4,5–5,5), o que pode contribuir para aplicações biomédicas. Todavia, é importante destacar que a diminuição da quitosana pode impactar negativamente propriedades mecânicas e de barreira dos filmes.

Ademais, os filmes obtidos nos pontos centrais (1,5% de quitosana, 3% de OST e 22,5 min de agitação) apresentaram valores intermediários de pH (4,4 a 4,6),

com baixa variação entre as repetições, o que demonstra boa reprodutibilidade experimental.

Do ponto de vista biomédico, tais resultados são promissores: nove das quinze formulações encontram-se dentro ou muito próximas da faixa fisiológica da pele (4,5–5,5), favorecendo condições adequadas para aplicações tópicas e transdérmicas, sem provocar alterações significativas no manto ácido cutâneo.

Como ressaltado na literatura, a manutenção dessa faixa de pH é essencial para a preservação da função de barreira da pele, para o equilíbrio microbiológico e para a biocompatibilidade de sistemas de liberação transdérmica (Jiao et al., 2024).

Em síntese, pode-se concluir que a incorporação de OST aos filmes de quitosana não comprometeu a acidez do sistema, mantendo as formulações compatíveis com o pH fisiológico da pele. Destarte, a presença do OST melhora a estabilidade ácido-base e compatibilidade fisiológica, contribuindo para reduzir variações de pH entre as formulações, estabilizando-as em valores mais próximos ao intervalo fisiológico da pele (4,5–5,5).

Ademais, a estabilização do pH promovida pelo OST pode refletir indiretamente em melhor desempenho mecânico e de barreira dos filmes, uma vez que valores mais próximos ao pH fisiológico favorecem maior integridade estrutural do polímero e melhor interação entre seus componentes.

A presença do OST tende a conferir maior coesão à matriz, reduzindo tensões internas decorrentes de variações ácido-base e contribuindo para filmes mais uniformes e menos suscetíveis à degradação. Essa característica é particularmente relevante em aplicações biomédicas, nas quais a resistência mecânica e a capacidade de proteção contra agentes externos são importantes para a eficácia do sistema.

4.2.2 Ângulo de Contato

A segunda variável analisada foi o ângulo de contato dos filmes, parâmetro fundamental para avaliar a molhabilidade da superfície e, consequentemente, a hidrofilicidade ou hidrofobicidade dos materiais. Essa característica está diretamente relacionada à interação do filme com fluidos biológicos e, portanto, representa um indicador para a sua aplicabilidade em contextos biomédicos.

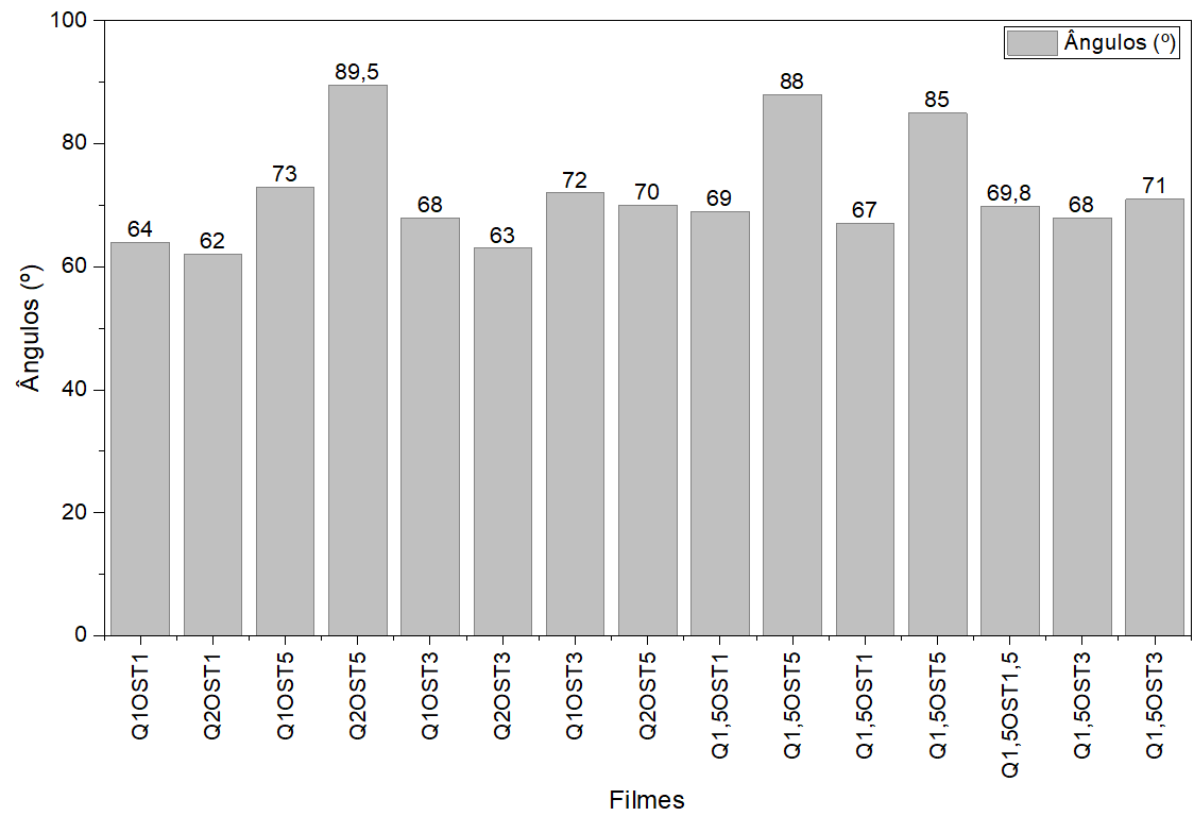
Isto posto, a **Tabela 5** e a **Figura 14** apresentam os resultados obtidos.

Tabela 5 – Valores dos ângulos de contato nos 15 filmes analisados

FILMES	TEMPO (min.)	ÂNGULOS (°)
Q1OST1	22,5	84,0
Q2OST1	22,5	62,0
Q1OST5	22,5	73,0
Q2OST5	22,5	89,5
Q1OST3	15,0	68,0
Q2OST3	15,0	63,0
Q1OST3	30,0	72,0
Q2OST5	30,0	70,0
Q1,5OST1	15,0	69,0
Q1,5OST5	15,0	88,0
Q1,5OST1	30,0	67,0
Q1,5OST5	30,0	85,0
Q1,5OST1,5	22,5	69,8
Q1,5OST3	22,5	68,0
Q1,5OST3	22,5	71,0

Fonte: Autoria própria, 2025.

Figura 14 – Ângulos de contato dos filmes de quitosana/OST



Fonte: Autoria própria, 2025.

De modo geral, os ângulos de contato variaram de 62,0° a 89,5°, revelando

diferenças significativas no comportamento de molhabilidade entre as formulações. O maior valor foi obtido para o filme Q2OST5 (22,5 min; 5% OST), que apresentou 89,5°, indicando menor afinidade com a água e, portanto, maior caráter hidrofóbico relativo entre os filmes analisados. Outros filmes com valores elevados foram Q1,5OST5 (15 min) e Q1,5OST5 (30 min), com 88° e 85°, respectivamente, reforçando a tendência de que maiores concentrações de óleo favorecem o aumento da hidrofobicidade.

Em contrapartida, as formulações Q2OST1 (22,5 min), Q1OST3 (15 min), Q2OST3 (15 min), Q1,5OST1 (15 min), Q1,5OST3 (30 min), Q1,5OST1,5 (22,5 min) e Q1OST1 (22,5 min) exibiram os menores ângulos de contato (<70°), coerentes com concentrações mais baixas de OST (1%–3%), resultando em superfícies mais molháveis e hidrofílicas. Além disso, tempos de agitação menores (15 min) parecem contribuir para valores reduzidos, possivelmente por promover dispersões menos homogêneas do óleo e deixar regiões ricas em quitosana mais expostas, aumentando a afinidade com a água.

Assim, embora todos os filmes apresentem ângulos inferiores a 90° e, portanto, comportamento hidrofílico conforme a literatura, as formulações com maior teor de OST – em especial Q2OST5 – apresentaram a menor afinidade com a água dentro do conjunto experimental, caracterizando-se como as mais hidrofóbicas relativamente (Agrawal *et al.*, 2017; Chenab *et al.*, 2019).

Essa distinção é relevante, pois mesmo variações sutis na hidrofobicidade podem influenciar propriedades de barreira, bioadesividade e liberação controlada, parâmetros críticos para aplicações biomédicas (Agrawal *et al.*, 2017; Chenab *et al.*, 2019).

4.2.3 Permeabilidade ao Vapor de Água

A terceira – e última – variável analisada foi a permeabilidade ao vapor de água, a qual está diretamente relacionada tanto às propriedades estruturais dos curativos quanto às características químicas dos materiais que os compõem (Santos, 2019; Morgado *et al.*, 2014, 2015, 2017). Além disso, condições ambientais, como umidade relativa e temperatura, também exercem influência sobre os valores de permeabilidade (Cherman *et al.*, 2022).

A **Tabela 6** apresenta as espessuras obtidas para os filmes de quitosana e OST, utilizadas para o cálculo da média da área de permeação e a inserção dos dados

na Equação 6.

Tabela 6 – Espessura dos filmes de quitosana/OST

FILME	PONTO 1 (mm)	PONTO 2 (mm)	PONTO 3 (mm)	PONTO 4 (mm)	MÉDIA (mm)
Q1P	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Q1OST1	0,16	0,16	0,17	0,16	0,16
Q2OST1	0,16	0,16	0,16	0,17	0,55
Q1OST5	0,90	0,10	0,90	0,10	0,50
Q2OST5	0,80	0,80	0,90	0,80	0,83
Q1OST3	0,10	0,11	0,11	0,11	0,11
Q2OST3	0,12	0,11	0,10	0,11	0,11
Q1OST3	0,10	0,90	0,90	0,90	0,70
Q2OST5	0,12	0,11	0,11	0,11	0,11
Q1,5OST1	0,10	0,11	0,11	0,12	0,11
Q1,5OST5	0,11	0,13	0,12	0,11	0,12
Q1,5OST1	0,13	0,13	0,13	0,12	0,13
Q1,5OST5	0,12	0,12	0,11	0,15	0,13
Q1,5OST1,5	0,16	0,17	0,19	0,18	0,18
Q1,5OST3	0,17	0,17	0,18	0,17	0,17
Q1,5OST3	0,16	0,17	0,17	0,18	0,17

Nota: As medidas foram realizadas em 4 pontos.

Fonte: Autoria própria, 2025.

A **Tabela 6** apresenta os valores de espessura dos filmes de quitosana/OST, medidos em quatro pontos distintos de cada amostra, a fim de garantir maior representatividade e confiabilidade dos resultados. Observa-se que as espessuras médias variaram entre 0,10 mm e 0,83 mm, indicando diferenças entre as formulações em função da concentração de quitosana e de OST.

Os filmes com menores espessuras foram aqueles contendo baixas concentrações de OST (1% a 3%), como Q1P (0,10 mm), Q1OST3 (0,11 mm) e Q2OST3 (0,11 mm). Em contrapartida, as maiores espessuras foram observadas para formulações com maior teor de óleo, especialmente Q2OST5 (0,83 mm) e Q1OST5 (0,50 mm), sugerindo que a presença de maiores quantidades de OST contribuiu para o aumento da espessura final, possivelmente pela formação de filmes mais densos e com maior retenção de umidade.

Os valores intermediários, observados nos filmes com 1,5% de quitosana, apresentaram menor variação entre os pontos de medição, evidenciando boa homogeneidade estrutural.

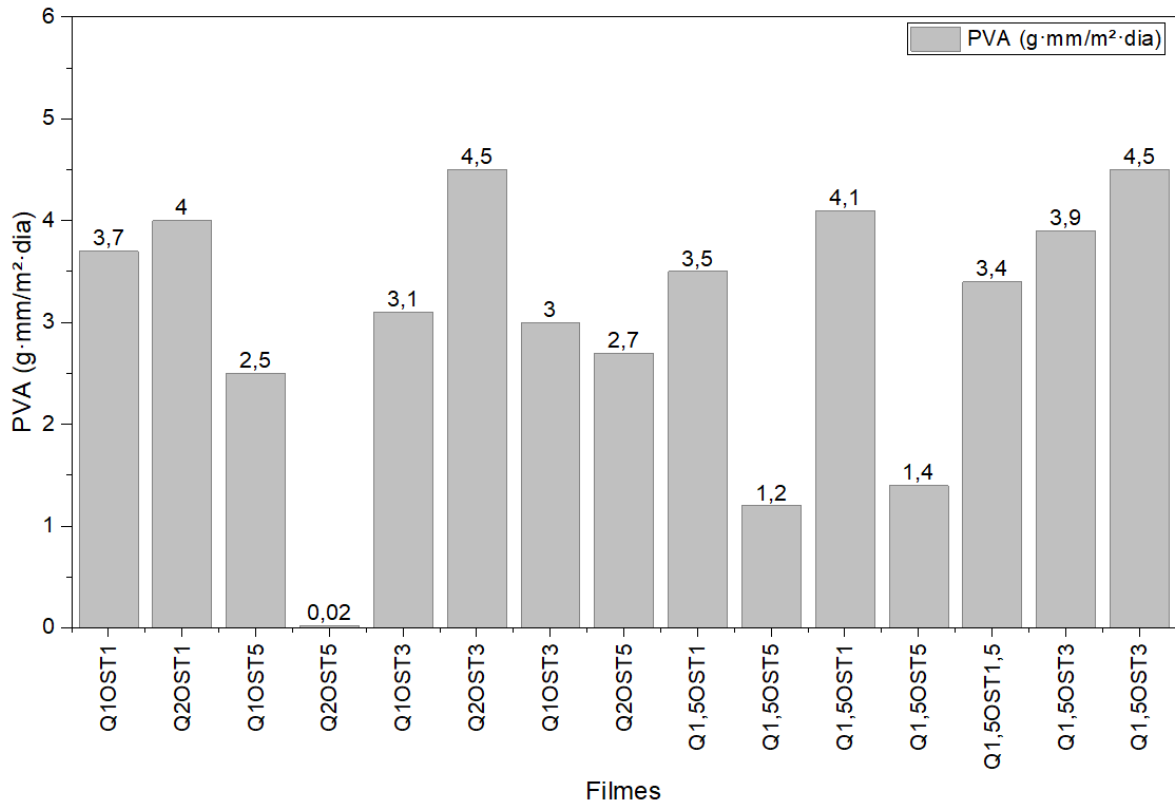
Esses resultados indicam que a composição e a proporção dos componentes influenciam diretamente a espessura dos filmes, um parâmetro importante para o controle da liberação de ativos, da flexibilidade mecânica e da funcionalidade em aplicações biomédicas.

Cabe destcar que uma permeabilidade ao vapor de água excessiva pode ocasionar perda acelerada de fluidos, resultando na desidratação do leito da ferida e na adesão do curativo ao tecido, o que potencialmente causa desconforto e dor durante a sua remoção (Elsner; Zilberman, 2010; Chen *et al.*, 2011).

Em contrapartida, valores muito baixos de permeabilidade podem levar à retenção de exsudato e ao consequente acúmulo de umidade, condição que favorece a maceração dos tecidos sadios adjacentes à lesão (Elsner; Zilberman, 2010; Chen *et al.*, 2011).

Com base nesses dados, os resultados de Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA) foram determinados e estão expostos na **Figura 15**.

Figura 15 – Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA) dos filmes de quitosana/OST



Fonte: Autoria própria, 2025.

De acordo com Cruz (2014 apud Pereira; Souza; Ribeiro, 2024), os filmes são

classificados quanto à taxa de permeabilidade ao vapor de água (PVA) em três categorias: barreira fraca, quando os valores variam entre 9,6 e 100,8 g·mm/m²·dia; barreira moderada, para valores entre 0,096 e 9,6 g·mm/m²·dia; e boa barreira, quando os valores de PVA se encontram na faixa de 0,0096 a 0,096 g·mm/m²·dia.

Os valores de PVA dos quinze filmes testados variaram entre 0,02 e 4,5 g·mm/(m²·dia), estando, portanto, todos os filmes – com exceção de um – classificados na faixa de barreira moderada. O destaque foi o filme Q2OST5, que apresentou o menor valor (0,02 g·mm/(m²·dia)), enquadrando-se como boa barreira à passagem de vapor de água.

Ao se analisar os diferentes percentuais de adição de OST, observa-se uma relação inversamente proporcional entre concentração e permeabilidade: filmes com maiores teores de OST apresentaram menores valores de PVA, enquanto filmes com menores concentrações mostraram maior passagem de vapor de água. Essa tendência pode ser claramente observada na Figura 15, em que Q2OST5 (5%) apresentou a menor permeabilidade, enquanto Q2OST3 (3%) e Q1OST1 (1%) apresentaram os maiores valores.

Essa relação evidencia que o incremento percentual de OST atua como fator determinante na formação de barreiras mais eficientes, provavelmente pela maior hidrofobicidade conferida à matriz polimérica. Em contrapartida, concentrações reduzidas tendem a favorecer a difusão de vapor, resultando em maiores valores de PVA.

Além disso, os filmes formulados com 1% e 1,5% de quitosana apresentaram maior variação nos valores de permeabilidade, indicando que o comportamento do sistema depende não apenas da concentração de quitosana, mas principalmente da proporção de OST associada.

Em síntese, a maioria dos filmes apresentou valores dentro da faixa de barreira moderada, com destaque para o filme Q2OST5, que se classificou como boa barreira, sendo o mais eficiente na redução da permeabilidade ao vapor de água.

4.3 RESULTADO PREDITIVO DA MELHOR SUPERFÍCIE RESPOSTA DOS FILMES DE QUITOSANA/OST

O delineamento Box–Behnken foi aplicado com três fatores independentes, sendo: concentração de quitosana (1,0; 1,5; 2,0% v/v), concentração de óleo das

sementes de *Tamarindus indica* L. (1,0; 3,0; 5,0% v/v) e tempo 15; 22,5; 30 min), e três variáveis resposta: pH, ângulo de contato e permeabilidade ao vapor de água, conforme **Tabela 7**.

Tabela 7 – Matriz experimental do delineamento Box–Behnken (3 fatores) para filmes de quitosana/OST: fatores (quitosana, óleo, tempo) e respostas (pH, ângulo de contato e permeabilidade ao vapor de água)

ENSAIOS	FATOR 1	FATOR 2	FATOR 3	R1	R2	R3
	(%) de quitosana v/v	(%) de óleo v/v	Tempo (min.)	pH	Ângulo de contato	Vapor de água
Q1OST1	1,0	1,0	22,5	5,0	64,0	3,60
Q2OST1	2,0	1,0	22,5	4,0	62,0	4,00
Q1OST5	1,0	5,0	22,5	5,0	73,0	2,50
Q2OST5	2,0	5,0	22,5	4,0	89,5	0,02
Q1OST3	1,0	3,0	15,0	5,0	68,0	3,20
Q2OST3	2,0	3,0	15,0	4,0	63,0	4,50
Q1OST3	1,0	1,0	30,0	5,0	72,0	3,00
Q2OST5	2,0	5,0	30,0	4,0	70,0	2,70
Q1,5OST1	1,5	1,0	15,0	4,4	69,0	3,50
Q1,5OST5	1,5	5,0	15,0	4,6	88,0	1,20
Q1,5OST1	1,5	1,0	30,0	4,5	67,0	4,50
Q1,5OST5	1,5	5,0	30,0	4,5	85,0	1,40
Q1,5OST1,5	1,5	1,5	22,5	4,4	69,8	3,40
Q1,5OST3	1,5	3,0	22,5	4,6	68,0	3,90
Q1,5OST3	1,5	3,0	22,5	4,5	71,0	4,50

Fonte: Autoria própria, 2025.

A análise de variância (ANOVA) e os modelos quadráticos permitiram a construção das superfícies de resposta, tanto em gráficos de contorno (2D) quanto em superfícies tridimensionais (3D), possibilitando a interpretação integrada do comportamento dos filmes poliméricos (Singh; Chatli; Sahoo, 2015; Khan *et al.*, 2025).

A representação gráfica das superfícies de resposta requer a avaliação das interações entre os fatores dois a dois, mantendo o terceiro no ponto central. Isso ocorre porque os gráficos de superfície e de contorno são bidimensionais, de modo que apenas duas variáveis podem ser exibidas simultaneamente nos eixos cartesianos. O fator remanescente é fixado em seu nível médio (0, codificado),

garantindo uma visualização das interações principais sem que tenha sobreposição de efeitos (Singh; Chatli; Sahoo, 2015; Khan *et al.*, 2025).

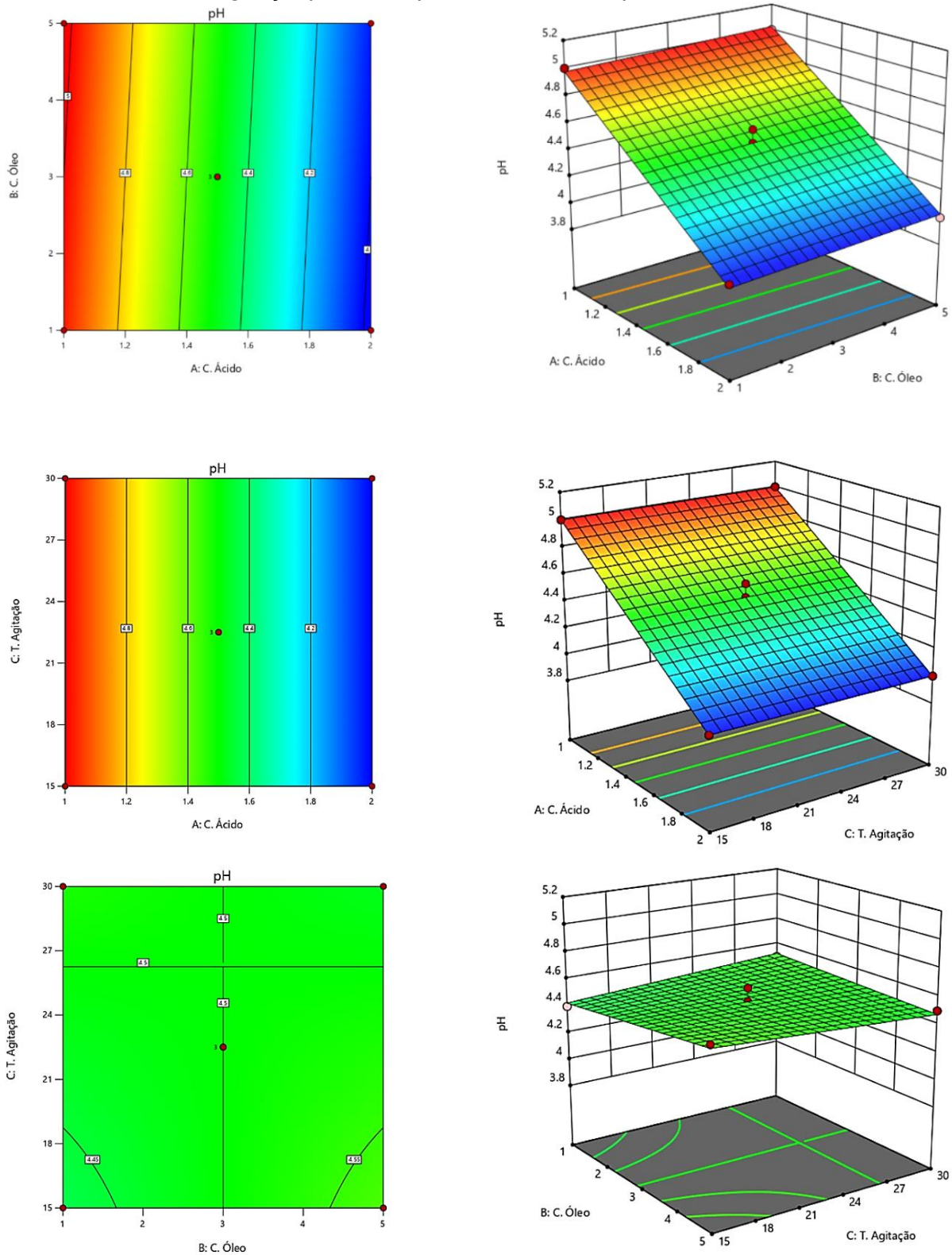
Assim, para cada variável resposta (pH, ângulo de contato e permeabilidade ao vapor de água), foram geradas três superfícies distintas: quitosana *versus* óleo (com tempo fixo), quitosana *versus* tempo (com óleo fixo) e óleo *versus* tempo (com quitosana fixa) (Singh; Chatli; Sahoo, 2015; Khan *et al.*, 2025).

No presente estudo, os fatores experimentais foram representados em suas formas codificadas como x1, x2 e x3. Nesse contexto, x1 corresponde à concentração de quitosana (%), x2 à concentração de OST (%) e x3 ao tempo de agitação (minutos). O valor -1 representa o nível baixo de cada fator (1,0% de quitosana, 1,0% de óleo e 15 minutos), o valor 0 refere-se ao nível central (1,5% de quitosana, 3,0% de óleo e 22,5 minutos) e o valor +1 indica o nível alto (2,0% de quitosana, 5,0% de óleo e 30 minutos).

Neste contexto, a análise das superfícies de resposta relativas ao pH evidencia que a variável mais determinante para essa resposta foi a concentração de quitosana. Nos gráficos 2D e 3D (**Figura 16**), observou-se uma inclinação acentuada no eixo correspondente à quitosana, indicando que o aumento de sua concentração resulta em valores progressivamente mais ácidos do pH dos filmes. Em contrapartida, a variação do teor de OST apresentou impacto menos expressivo, limitando-se a ajustes sutis na estabilidade da resposta (Singh; Chatli; Sahoo, 2015; Khan *et al.*, 2025).

A superfície tridimensional (3D), especificamente, reforça essa interpretação, revelando uma queda do pH em direção aos níveis mais elevados de quitosana, ao passo que a contribuição do óleo aparece apenas como modulação secundária. Assim, a manutenção de concentrações reduzidas de quitosana, em torno de 1,0 a 1,5%, favorece valores de pH situados no intervalo fisiológico da pele (4,5–5,5), condição essencial para a biocompatibilidade cutânea (Singh; Chatli; Sahoo, 2015; Khan *et al.*, 2025).

Figura 16 – Superfícies de resposta (2D e 3D) representando a influência das variáveis independentes (concentração de quitosana, concentração de óleo e tempo de agitação) sobre o pH dos filmes de quitosana/OST



Fonte: Autoria própria, 2025.

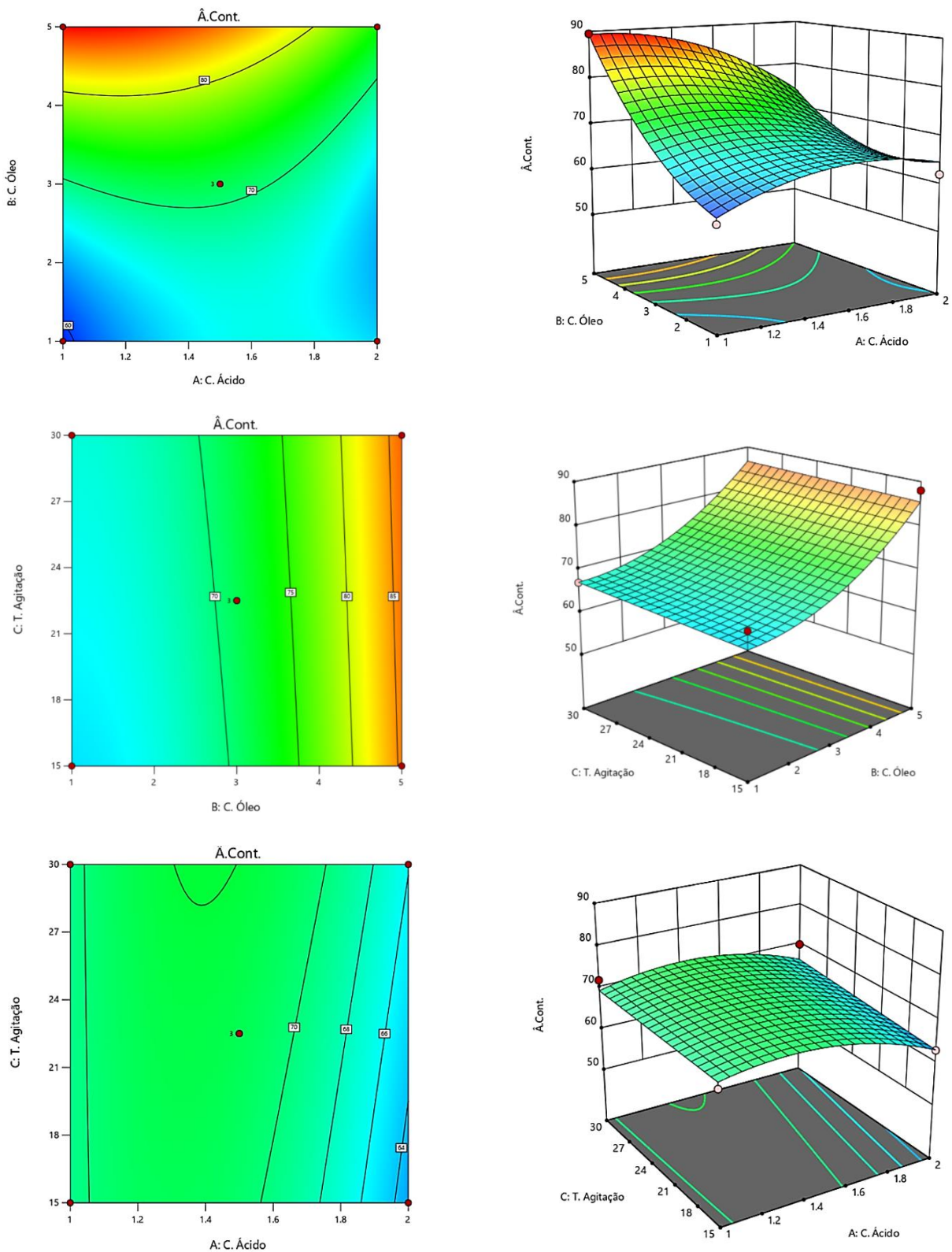
Em relação ao ângulo de contato, os gráficos bidimensionais demonstram que

tanto a concentração de óleo quanto o tempo de agitação exercem influência significativa sobre a resposta. Constatou-se que o aumento do teor de óleo promoveu elevação dos ângulos, indicando maior hidrofobicidade da superfície polimérica. Por outro lado, tempos mais prolongados tenderam a reduzir os ângulos de contato, favorecendo maior molhabilidade e, portanto, maior interação com líquidos.

A análise das superfícies tridimensionais confirmou a presença de uma interação entre os fatores óleo e quitosana, além de um efeito quadrático do óleo, resultando em uma curva ascendente que eleva o ângulo de contato em concentrações mais altas. Tais achados apontam que formulações intermediárias de óleo, em torno de 3%, em associação a tempos de processamento controlados, promovem valores próximos a 70°, considerados ideais para uma condição de hidrofiliabilidade moderada, propícia à adesão celular e ao desempenho biomédico.

A **Figura 17** ilustra o exposto.

Figura 17 – Superfícies de resposta (2D e 3D) representando a influência das variáveis independentes (concentração de quitosana, concentração de óleo e tempo de agitação) sobre o ângulo de contato dos filmes de quitosana/OST



Fonte: Autoria própria, 2025.

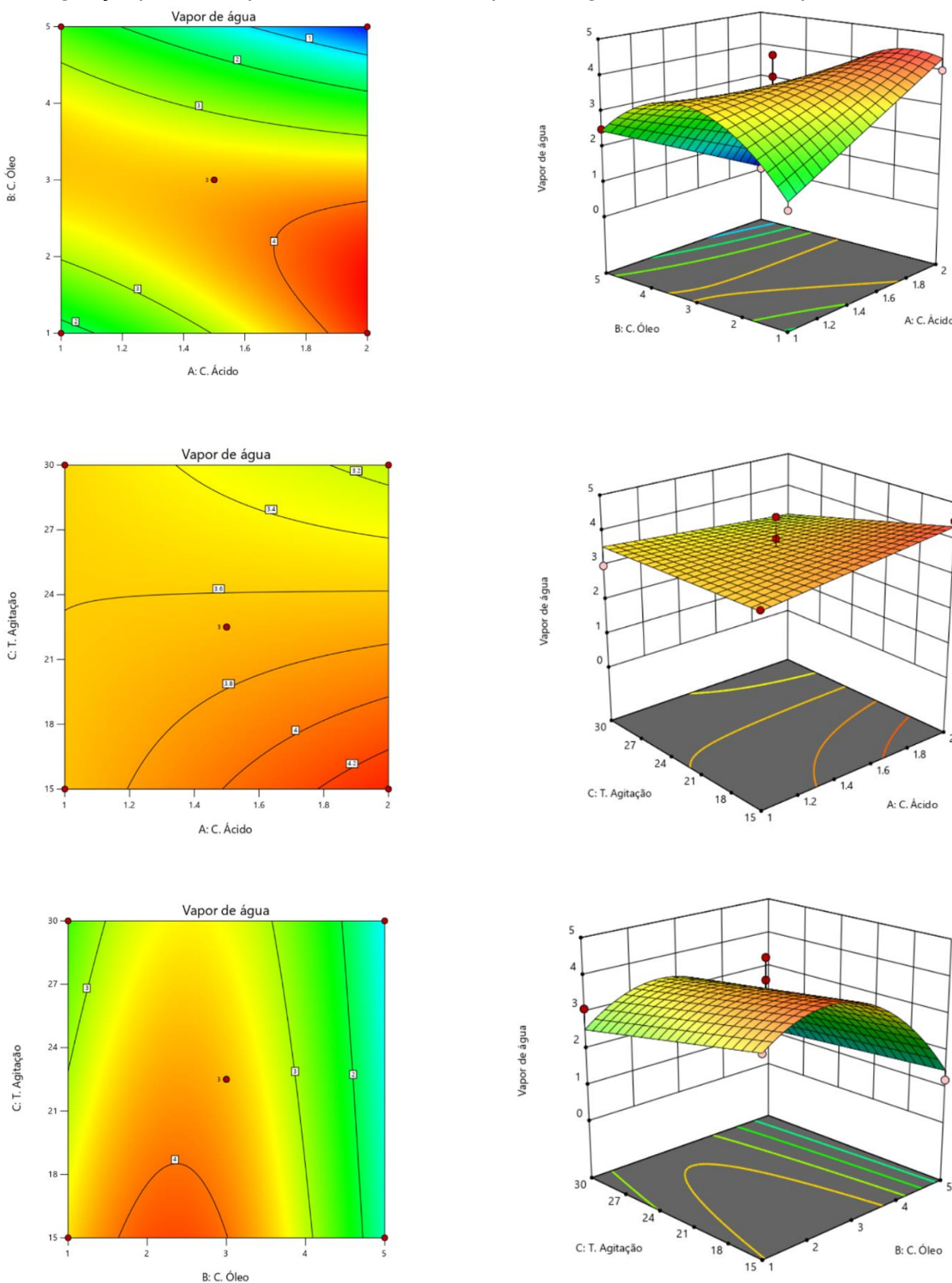
No tocante à permeabilidade ao vapor de água, as superfícies de resposta revelaram comportamento inversamente proporcional em relação ao teor de óleo. Os mapas de contorno demonstraram que concentrações mais elevadas de óleo reduziram expressivamente a taxa de permeabilidade, atribuindo-lhe um efeito de barreira, típico de componentes lipídicos. Em contrapartida, filmes produzidos com menores teores de óleo apresentaram valores mais altos de permeabilidade, possibilitando maior troca de vapor.

A superfície tridimensional evidenciou esse efeito quadrático negativo do óleo, que se mostra o principal regulador da propriedade. A quitosana, embora apresente leve interação com o óleo, não se configurou como fator isoladamente determinante. Em termos práticos, concentrações intermediárias de óleo (3 a 3,5%) resultaram em valores de permeabilidade situados na faixa moderada ($\approx 3,0$ a $3,5 \text{ g.mm/m}^2\cdot\text{dia}$), o que conforme já discutido, é considerada ideal por assegurar a manutenção de um microambiente úmido sem provocar acúmulo excessivo de exsudato.

De forma geral, o aumento da concentração de óleo reduz a permeação de vapor de água, tornando o filme como uma barreira. No entanto, essa relação nem sempre é linear e pode apresentar um ponto ótimo. Percebe-se que apesar da baixa concentração de óleo, tem-se o aumento da concentração do pH e isso permite que a permeação seja maior.

A **Figura 18** demonstra o supracitado.

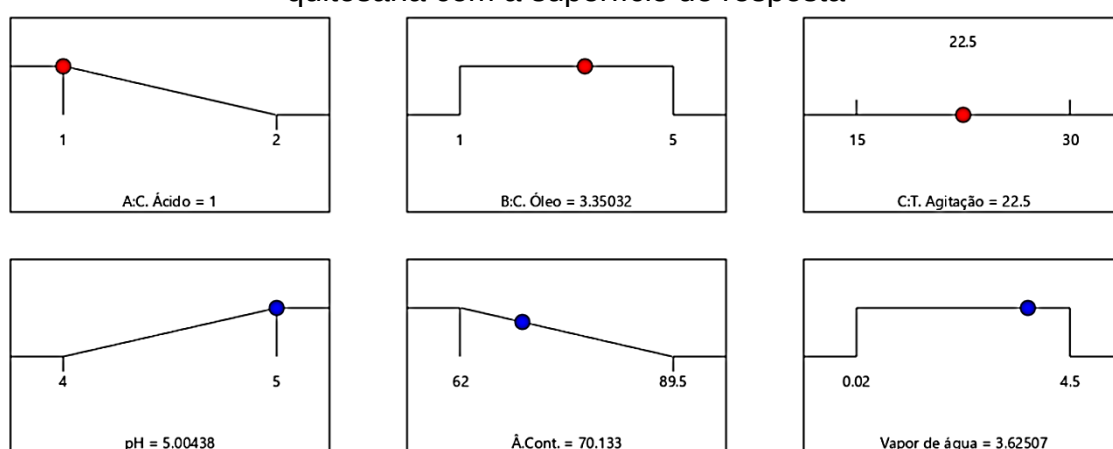
Figura 18 – Superfícies de resposta (2D e 3D) representando a influência das variáveis independentes (concentração de quitosana, concentração de óleo e tempo de agitação) sobre a permeabilidade de vapor da água dos filmes de quitosana/OST



Fonte: Autoria própria, 2025.

Dessa forma, após a análise das superfícies de resposta e mapas de contorno, procedeu-se à etapa de otimização global. Essa etapa integra simultaneamente todas as respostas avaliadas, atribuindo um índice de desejabilidade que representa o equilíbrio entre as variáveis dependentes. O gráfico de otimização (**Figura 19**) sintetiza visualmente essa condição, evidenciando os níveis ideais de quitosana, óleo e tempo de agitação para a formulação dos filmes, os quais resultaram na solução de maior desejabilidade global (Singh; Chatli; Sahoo, 2015; Khan *et al.*, 2025).

Figura 19 – Parâmetros de formulação otimizada do OST associado ao filme de quitosana com a superfície de resposta



Fonte: Autoria própria, 2025.

O gráfico está estruturado em seis painéis, cada um representando uma variável independente (fatores de processo) ou dependente (respostas do sistema), com o intuito de mostrar as condições que maximizam a função de desejabilidade global (*desirability* = 0,890) (Singh; Chatli; Sahoo, 2015; Khan *et al.*, 2025).

No primeiro painel, observa-se o fator *A.C. Ácido* (concentração de ácido para solubilização da quitosana), cujo valor ótimo foi fixado em 1,0. Em seguida, no segundo painel, o fator *B.C. Óleo* (percentual de óleo adicionado) apresenta o ponto ótimo em aproximadamente 3,35%. O terceiro painel mostra o fator *C.T. Agitação* (tempo de agitação durante a síntese), que foi otimizado em 22,5 minutos, correspondente ao nível central do experimento.

Os três painéis da parte inferior do gráfico correspondem às variáveis resposta. O quarto painel indica o pH ótimo de 5,0, dentro da faixa fisiológica da pele humana (4,5–5,5), o que assegura a biocompatibilidade dos filmes. O quinto painel mostra o ângulo de contato ($\approx 70,13^\circ$), valor que caracteriza o material como moderadamente

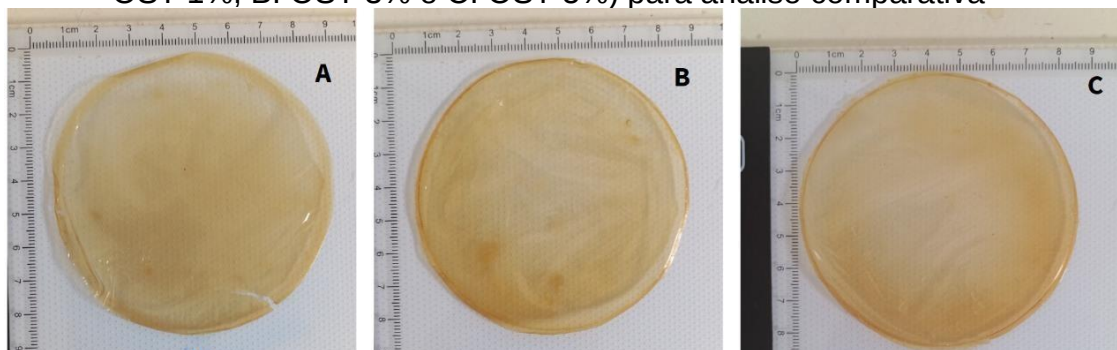
hidrofílico, favorecendo a interação com fluidos biológicos e a adesão celular. O sexto painel representa a permeabilidade ao vapor de água ($\approx 3,61 \text{ g}\cdot\text{mm}/\text{m}^2\cdot\text{dia}$), classificada como barreira moderada, condição desejável para manutenção do microambiente úmido em aplicações biomédicas.

A linha preta em cada painel representa a tendência do fator ou da resposta, enquanto os pontos coloridos indicam os níveis selecionados na solução ótima. A desejabilidade global de 0,890 revela que a combinação dos fatores encontrou um equilíbrio satisfatório entre todas as respostas simultaneamente (Singh; Chatli; Sahoo, 2015; Khan *et al.*, 2025). Destarte, os parâmetros ótimos de formulação correspondem a 1% (v/v) de quitosana, 3% (v/v) de OST e 22,5 minutos de tempo, conforme ilustrado na **Figura 19**.

4.3.1 Otimização Univariada da Concentração do OST na Composição de Filmes de Quitosana para Fins Biomédicos

Conforme visto, após a etapa de otimização da formulação dos filmes à base de quitosana e OST, definiu-se como condição ideal a composição de 1% (v/v) de quitosana, 3% (v/v) de OST e tempo de agitação de 22,5 minutos. A concentração de OST, em específico, mostrou-se uma variável crítica para aplicações biomédicas, motivo pelo qual foram investigados, isoladamente, os três níveis (1%, 3% e 5%), resultando nos filmes Q1OST1, Q1OST3 e Q1OST5, conforme apresentado na **Figura 20**.

Figura 20 – Produção de filmes de quitosana variando as concentrações de OST (A: OST 1%, B: OST 3% e C: OST 5%) para análise comparativa



Fonte: Autoria própria, 2025.

Dessa forma, a análise em diferentes concentrações teve como objetivo

compreender de que maneira a variação do teor de óleo influencia as propriedades físico-químicas, estruturais e funcionais dos filmes. Adicionalmente, para fins de comparação, será também elaborado o filme controle Q1P, sem adição de óleo.

4.3.1.1 Análise Comparativa do pH, Ângulo de Contato e Vapor de Água

Observa-se que os filmes com maior concentração de quitosana (2%) tenderam a apresentar valores de pH mais baixos ($\approx 4,0$) e ângulos de contato mais elevados quando associados a 5% de OST, como no caso do filme Q2OST5 (pH = 4,0; ângulo = $89,5^\circ$). Essa combinação revela que, embora a acidez tenha se acentuado, a incorporação de maior quantidade de óleo aumentou significativamente a hidrofobicidade da superfície. Em contrapartida, filmes com 1% de quitosana apresentaram pH próximo a 5,0 e ângulos de contato moderados ($72\text{--}84^\circ$), como o Q1OST1 e Q1OST3.

Além disso, filmes mais hidrofóbicos (ângulos próximos de 90°) apresentaram valores menores de PVA, indicando melhor barreira ao vapor de água. O caso mais evidente é o Q2OST5 (pH = 4,0; ângulo = $89,5^\circ$; PVA = 0,02 mm/m²·dia), que apresentou simultaneamente alto ângulo de contato e excelente barreira à permeação de vapor.

Embora os filmes com pH mais próximo ao fisiológico (4,5–5,0) sejam favoráveis à biocompatibilidade da pele, nem sempre apresentaram desempenho ideal em termos de barreira. Por exemplo, o filme Q1OST3 (pH = 5,0) apresentou PVA = 3,7, indicando barreira apenas moderada. Já o filme Q2OST5, apesar de apresentar pH mais ácido (4,0), combinou alta hidrofobicidade ($89,5^\circ$) com baixíssima permeabilidade (0,02), sendo o que mais se destacou em propriedades de barreira, ainda que com um pH menos favorável à pele.

Os pontos centrais (1,5% de quitosana, 3% de OST, 22,5 min) evidenciaram comportamento intermediário em todas as variáveis de resposta analisadas, com pH entre 4,4 e 4,6, valores de ângulo de contato próximos de 68° a 71° e PVA variando entre 3,9 e 4,5 mm/(m²·dia). Essa consistência entre as repetições indica boa reprodutibilidade experimental, contudo, quando comparados aos extremos de formulação, os pontos centrais tiveram um desempenho pior em termos de barreira e biocompatibilidade.

Cabe destacar, por fim, o filme Q1OST1 (1% de quitosana, 1% de OST, 22,5

min), que apresentou um desempenho equilibrado entre as variáveis analisadas. Seu pH de 5,0 encontra-se dentro da faixa da pele (4,5–5,5), o que o torna compatível. No que se refere ao ângulo de contato, o valor de 84° caracteriza o filme como hidrofílico, garantindo boa interação com fluidos biológicos e potencializando a adesão celular.

Já a permeabilidade ao vapor de água (1,5 mm/(m²·dia)) foi classificada como barreira moderada a baixa, condição que possibilita manter o microambiente úmido sem provocar acúmulo excessivo de exsudato ou desidratação do leito da ferida. Em síntese, o Q1OST1 possui parâmetros positivos de biocompatibilidade, molhabilidade e controle de umidade.

Diante dos resultados obtidos para pH, ângulo de contato e permeabilidade ao vapor de água, verificou-se que as formulações de quitosana/OST apresentaram comportamentos distintos conforme as variações de concentração e tempo de agitação, permitindo identificar combinações mais ou menos promissoras em termos de biocompatibilidade e propriedades de barreira.

Sendo assim, com base nos resultados obtidos na etapa de otimização, verificou-se que a concentração de 3% de óleo das sementes de Tamarindus indica L. apresentou o desempenho mais adequado entre as formulações avaliadas, considerando as variáveis-resposta investigadas. No entanto, com o intuito de aprofundar a análise e ampliar a compreensão sobre os efeitos da adição do óleo nas propriedades dos filmes, decidiu-se incluir duas formulações adicionais, bem como um filme controle, composto exclusivamente por quitosana, sem adição de OST.

Para todos os filmes selecionados, procedeu-se à análise das propriedades de pH, ângulo de contato e permeabilidade ao vapor de água, permitindo contrastar os valores observados nos filmes sólidos com os dados previamente obtidos para as soluções formadoras. Os resultados obtidos estão expostos na **Tabela 8**.

Tabela 8 – Comparação entre os filmes formulados com diferentes concentrações de OST e quitosana pura, com base nos valores finais de pH, ângulo de contato e permeabilidade ao vapor de água.

ENSAIOS	(%) de quitosana v/v	(%) de óleo v/v	Tempo (min.)	pH (i)	pH (f)	Ângulo de contato (f)	Vapor de água (f)
Q1P	-	-	-	-	4,3	52,0	3,8
Q1OST1	1,0	1,0	22,5	5,0	4,6	64,0	3,60
Q1OST5	1,0	5,0	22,5	5,0	4,8	73,7	2,50
Q1OST3	1,0	3,0	15,0	5,0	4,9	68,3	3,10

Fonte: Autoria própria, 2025.

O filme sem adição de OST apresentou o pH mais ácido, o menor ângulo de contato e a maior permeabilidade dentre todos os filmes testados. Isso indica uma superfície mais hidrofílica e maior capacidade de passagem de vapor d'água, resultado compatível com a estrutura hidrofílica da quitosana pura.

Com a introdução de uma pequena quantidade de OST (1%), o filme manteve um comportamento relativamente hidrofílico, mas já se observa um aumento no ângulo de contato em relação ao controle (Q1P), indicando redução da afinidade superficial com a água. A permeabilidade ao vapor de água também diminuiu discretamente, sugerindo uma leve ação de barreira promovida pelo óleo. Observou-se uma redução de 0,4 unidades de pH, provavelmente associada à interação entre a quitosana e os ácidos graxos do óleo em baixa concentração. Ainda assim, o pH final permanece dentro da faixa fisiológica.

A formulação com 3% de OST apresentou valores mais equilibrados. O ângulo de contato aumentou em relação ao Q1OST1, indicando maior hidrofobicidade, e a permeabilidade ao vapor de água reduziu ainda mais em relação ao controle, sugerindo melhor desempenho de barreira, mesmo com tempo de exposição reduzido (15 min).

Neste caso, houve mínima variação de pH ($-0,1$), sugerindo uma maior estabilidade ácido-base da formulação, possivelmente em função de um equilíbrio mais eficiente entre os grupos funcionais da quitosana e os compostos presentes no OST. Este resultado pode indicar melhor perfil de compatibilidade cutânea, especialmente para aplicações em filmes tópicos.

Com o maior teor de óleo, observou-se o maior ângulo de contato entre todos os filmes, confirmando o aumento da hidrofobicidade superficial. A permeabilidade ao vapor foi também a mais baixa, demonstrando excelente capacidade de barreira à umidade, compatível com o acréscimo de compostos apolares.

A redução de pH foi discreta ($-0,2$), embora maior que a de Q1OST3. Este comportamento sugere que, apesar do aumento da fração oleosa, a matriz manteve relativa estabilidade ácido-base, mas com tendência levemente mais ácida que a formulação intermediária.

Cabe ressaltar que, a avaliação do pH das formulações, tanto na fase de solução quanto após a formação dos filmes, revelou uma tendência sistemática de redução dos valores de pH após o processo de secagem. As soluções formadoras de filme que continham 1%, 3% e 5% de OST apresentaram pH inicial de 5,0. No entanto,

os valores finais registrados nos filmes foram, respectivamente, 4,6 (Q1OST1), 4,9 (Q1OST3) e 4,8 (Q1OST5). Esse decréscimo pode ser explicado por uma combinação de fatores fisicoquímicos associados à composição e à dinâmica de secagem dos filmes.

Em primeiro lugar, é importante considerar que a quitosana, por ser um polímero catiônico, é solubilizada geralmente em meio ácido, com uso de ácido acético. Embora parte desse ácido evapore durante a secagem, uma fração residual pode permanecer na matriz polimérica, promovendo acidificação do meio e, consequentemente, a redução do pH final. Esse fenômeno é potencializado quando há menor teor de óleo na formulação, como observado no filme Q1OST1, cuja maior queda de pH (-0,4) sugere menor capacidade de neutralização ou tamponamento do meio pela matriz.

Além disso, a presença do óleo vegetal introduz compostos bioativos, como ácidos graxos, fenóis e flavonoides, que podem interagir com os grupos amino da quitosana, promovendo rearranjos ácido-base e formação de ligações de hidrogênio. Tais interações podem modificar o microambiente iônico da matriz, alterando a disponibilidade de íons H^+ e, por consequência, o pH superficial. Nessa perspectiva, a formulação com 3% de OST (Q1OST3) demonstrou a menor variação de pH (-0,1), o que indica uma possível estabilidade ácido-base mais favorável, sugerindo que essa concentração oferece um equilíbrio eficiente entre os grupos polares do biopolímero e os constituintes do óleo.

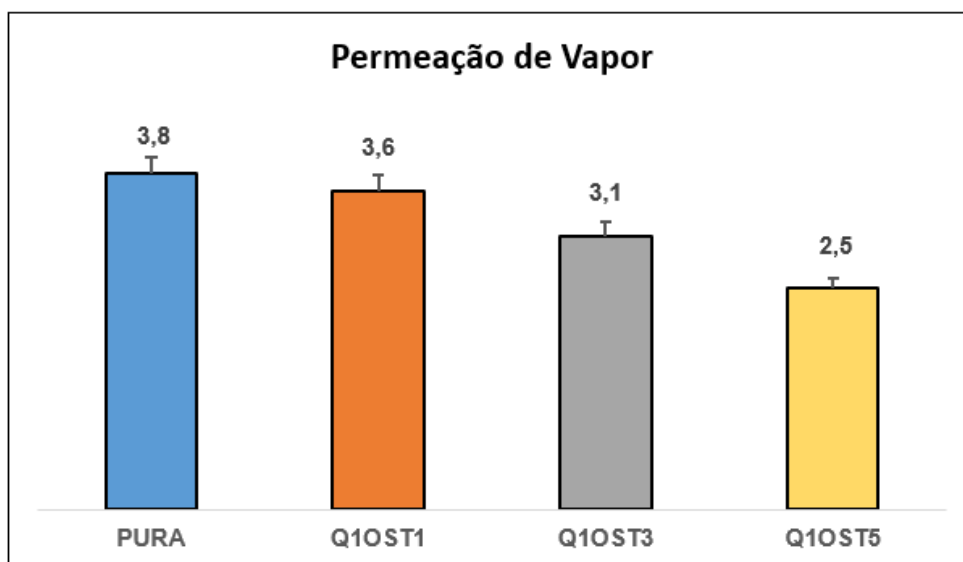
Outro fator a ser considerado é a reorganização estrutural da matriz durante a secagem. À medida que a água evapora, há um aumento da densidade de interações intermoleculares, o que pode influenciar a mobilidade iônica e a capacidade tampão da matriz. Assim, formulações com maior proporção de óleo (como Q1OST5) tendem a apresentar menor perda de pH do que aquelas com menos óleo (como Q1OST1), embora ainda inferior à estabilidade observada em Q1OST3.

Em síntese, a redução do pH do filme em relação à solução formadora resulta de um conjunto de variáveis que incluem a reticulação física promovida durante a secagem, a retenção de ácidos residuais, e as interações químicas entre os componentes da formulação. A formulação com 3% de OST, por apresentar pH final mais próximo do valor inicial e dentro da faixa fisiológica da pele (4,0–6,0), destaca-se como a mais estável e compatível para aplicações dermatológicas e biomédicas

Adicionalmente, ao analisar conjuntamente os valores de ângulo de contato e

permeabilidade ao vapor de água (**Figura 21** e **Figura 22**) nos diferentes filmes produzidos, observa-se uma relação inversamente proporcional entre essas duas variáveis.

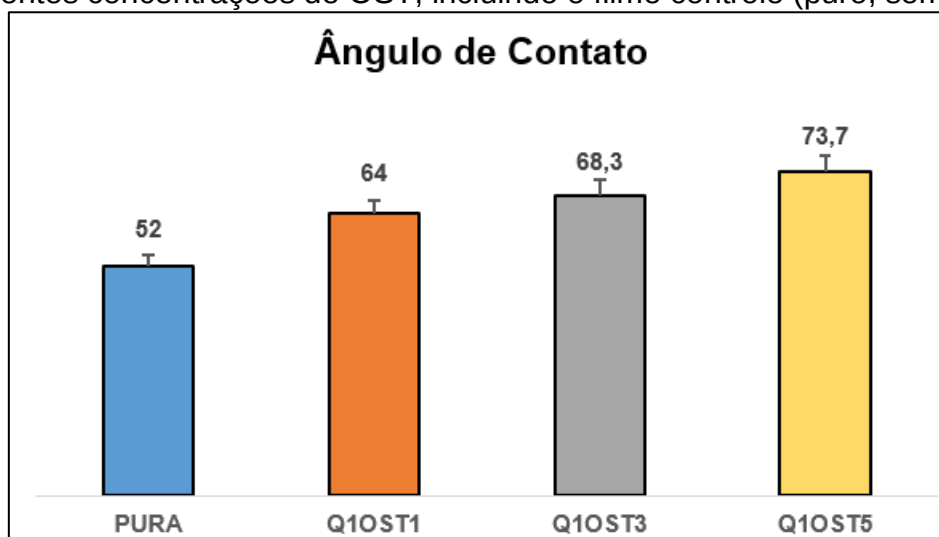
Figura 21 – Valores médios do permeação de vapor dos filmes formulados com diferentes concentrações de OST, incluindo o filme controle (puro, sem óleo)



Nota: Barras de erro representam o desvio padrão das medidas.

Fonte: Autoria própria, 2025.

Figura 22 – Valores médios do ângulo de contato (°) dos filmes produzidos com diferentes concentrações de OST, incluindo o filme controle (puro, sem óleo)



Nota: Barras de erro representam o desvio padrão das medidas.

Fonte: Autoria própria, 2025.

À medida que o ângulo de contato aumenta, indicando uma maior hidrofbicidade superficial, verifica-se uma redução na permeabilidade ao vapor de

água, sugerindo melhor desempenho de barreira. Essa tendência é coerente com o aumento da concentração de OST na formulação dos filmes. Filmes com baixa concentração de óleo, como no caso da amostra com 1% de OST, apresentam menor ângulo de contato e, conseqüentemente, maior permeabilidade, pois a superfície mantém características mais hidrofílicas, permitindo a passagem de vapor com maior facilidade.

Por outro lado, o filme contendo 5% de OST demonstrou um comportamento oposto; exibiu o maior ângulo de contato entre todas as amostras, evidenciando uma superfície mais apolar, e, simultaneamente, a menor permeabilidade ao vapor de água, o que denota que a presença do óleo promoveu a formação de uma barreira mais eficaz à difusão de umidade. Esse comportamento reforça a hipótese de que o óleo atua como agente hidrofobizante, modificando a microestrutura da matriz polimérica e restringindo o transporte de moléculas de água através do filme.

Dessa forma, ao se observar os dois gráficos é possível identificar com clareza que tais propriedades estão intimamente relacionadas à concentração de OST, sendo essa a variável para o ajuste funcional dos filmes em aplicações biomédicas.

Entre os aspectos avaliados, destaca-se a importância do ângulo de contato, uma vez que valores mais baixos indicam maior hidrofiliabilidade da superfície do filme. Essa propriedade é desejável em sistemas tópicos, pois favorece a adesão eficiente à pele ou ao leito de feridas, além de facilitar a liberação dos ativos presentes no filme, promovendo maior interação com o meio aquoso e potencializando os efeitos terapêuticos do óleo incorporado.

Outro critério refere-se ao pH final dos filmes, o qual deve permanecer o mais próximo possível do pH fisiológico da pele humana, geralmente compreendido entre 4,0 e 6,0. Manter o pH dentro dessa faixa contribui para a preservação da microbiota cutânea, evitando desequilíbrios que poderiam desencadear processos inflamatórios ou infecções secundárias.

Por fim, valores moderados de permeabilidade são desejáveis, pois permitem o controle da umidade no microambiente da ferida, promovendo uma condição ideal para a regeneração tecidual. Uma permeabilidade excessivamente alta pode resultar em ressecamento da lesão, enquanto valores muito baixos podem causar acúmulo de exsudato e maceração dos tecidos, ambos prejudiciais ao processo de cicatrização.

Dessa forma, a formulação ideal será aquela que concilia hidrofiliabilidade adequada, pH compatível com o fisiológico e permeabilidade moderada ao vapor de

água, garantindo um microambiente favorável à recuperação dos tecidos e à funcionalidade do curativo.

Diante dos dados obtidos, torna-se possível não apenas interpretar os efeitos da variação da concentração de óleo de *Tamarindus indica* L. sobre as propriedades dos filmes, mas sobretudo selecionar racionalmente a formulação mais adequada para aplicações biomédicas, considerando critérios clínicos e funcionais. Nesse contexto, assim como na otimização estatística, que indicou a formulação com 3% de OST como ponto ótimo, a análise integrada dos parâmetros permite confirmar essa escolha com base na aplicabilidade prática do material.

O filme com 5% de OST apresentou o maior ângulo de contato e a menor permeabilidade ao vapor de água, evidenciando um comportamento altamente hidrofóbico e uma barreira eficaz contra a umidade. No entanto, essa hidrofobicidade excessiva pode comprometer propriedades desejáveis em sistemas tópicos, como a adesividade ao tecido e a liberação eficiente dos compostos ativos presentes no filme. Já a formulação com 1% de OST, embora tenha mantido maior hidrofiliabilidade, mostrou-se pouco eficaz na contenção da umidade, o que pode prejudicar o controle do microambiente da ferida.

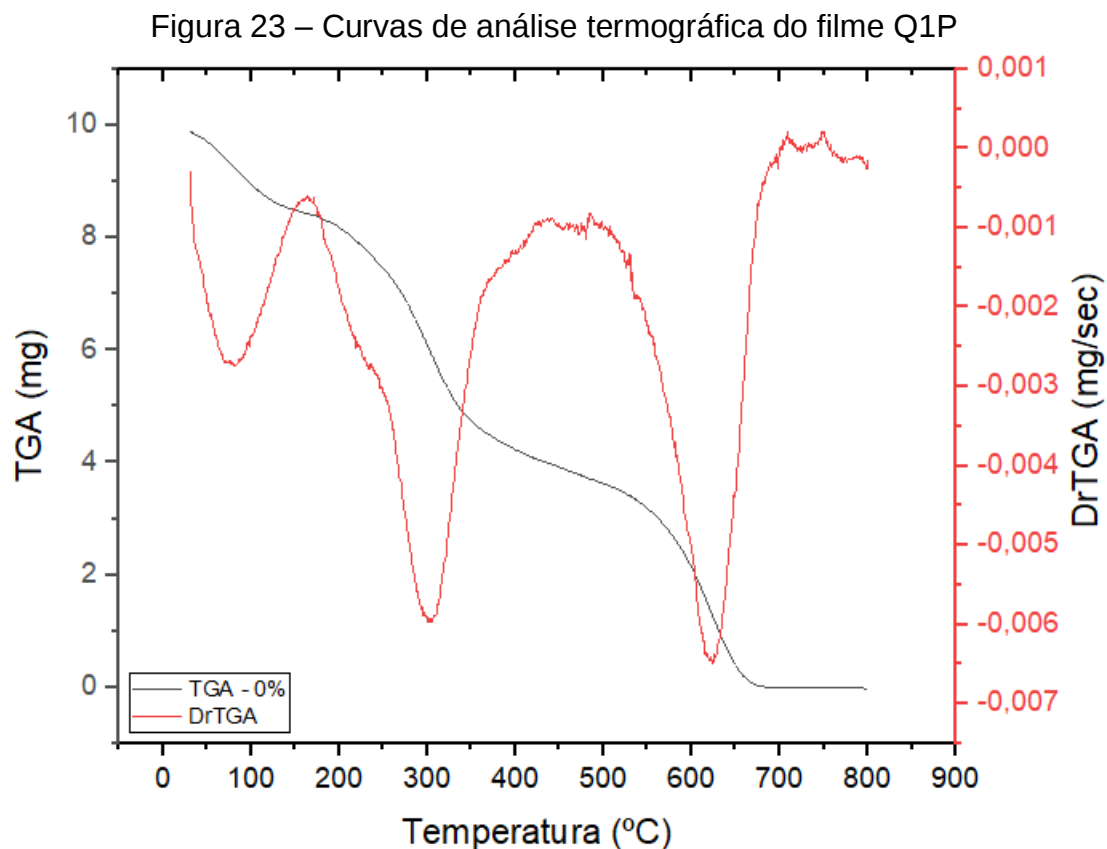
Por sua vez, a formulação com 3% de OST revelou-se a mais equilibrada, apresentando ângulo de contato intermediário, que favorece a adesão à pele sem comprometer a ação de barreira, pH final dentro da faixa fisiológica cutânea (entre 4 e 6), o que é fundamental para a manutenção da microbiota e prevenção de irritações, e PVA moderada, condição ideal para manter a umidade controlada na região da lesão, sem provocar ressecamento ou maceração.

Diante do exposto, com o objetivo de complementar a análise das propriedades físico-químicas dos filmes formulados, foram conduzidas diferentes técnicas de caracterização.

As análises comparativas entre as formulações foram: (i) Termogravimetria (TG), destinada à avaliação da estabilidade térmica; (ii) Atividade Antimicrobiana, para verificar a eficácia frente a patógenos selecionados; (iii) Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), voltada à caracterização da morfologia e da estrutura superficial dos filmes; (iv) Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), utilizada para identificar interações químicas entre os constituintes; e (v) Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis), aplicada para investigar as propriedades ópticas e possíveis alterações estruturais.

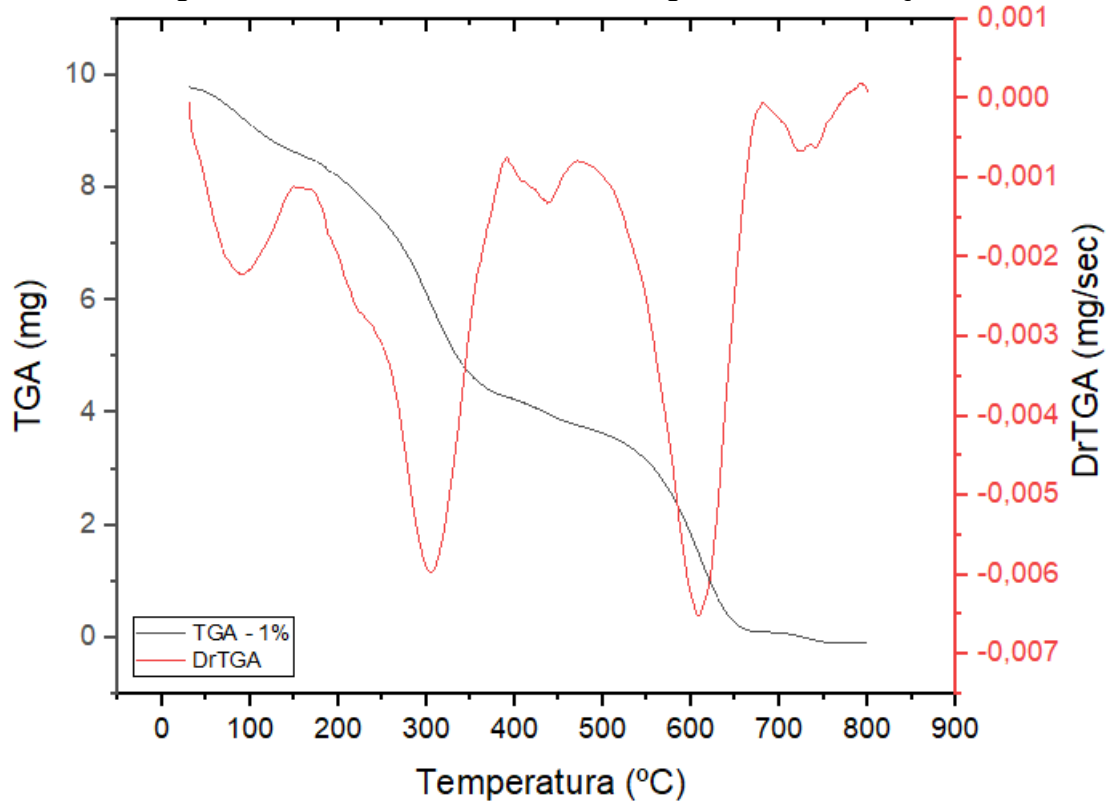
4.3.1.2 Análise Térmica – TG

Dentre as análises realizadas, destaca-se inicialmente a Análise Termogravimétrica (TG), por meio da qual foi possível investigar a estabilidade térmica e os diferentes estágios de degradação dos filmes produzidos, cujos resultados são apresentados a seguir na **Figura 23**, **Figura 24**, **Figura 25**, **Figura 26**.



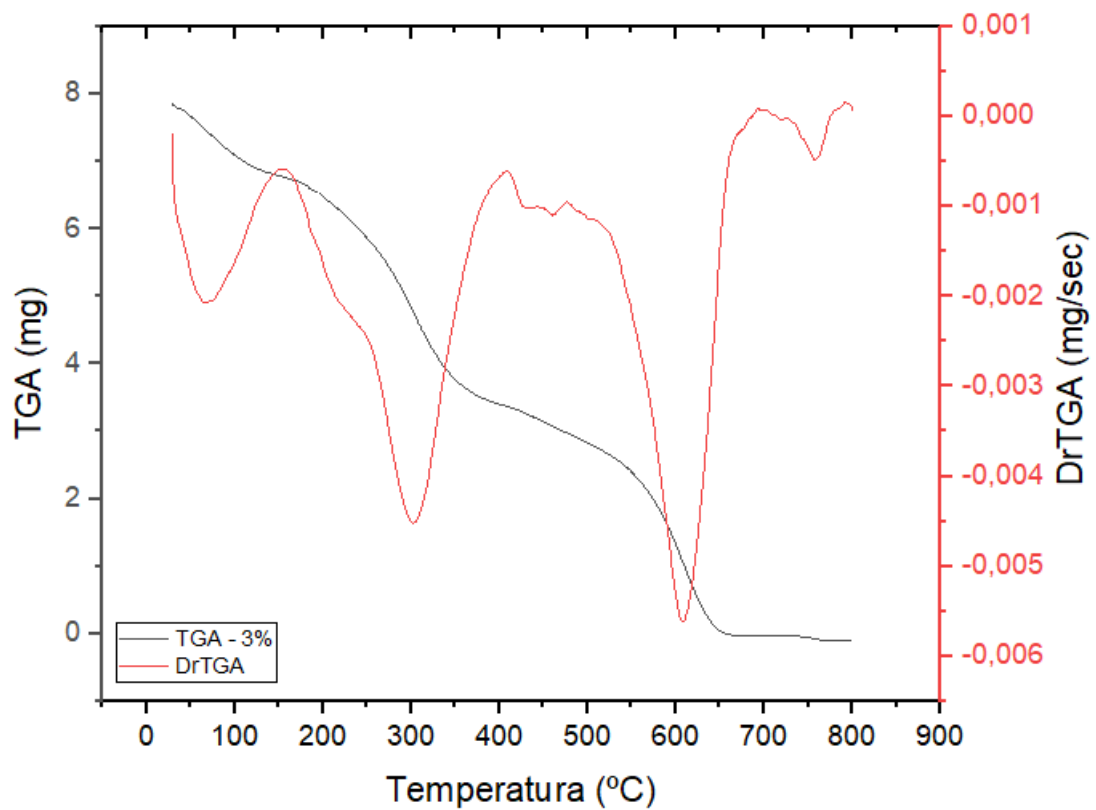
Fonte: Autoria própria, 2025.

Figura 24 – Curvas de análise termográfica do filme Q1OST1

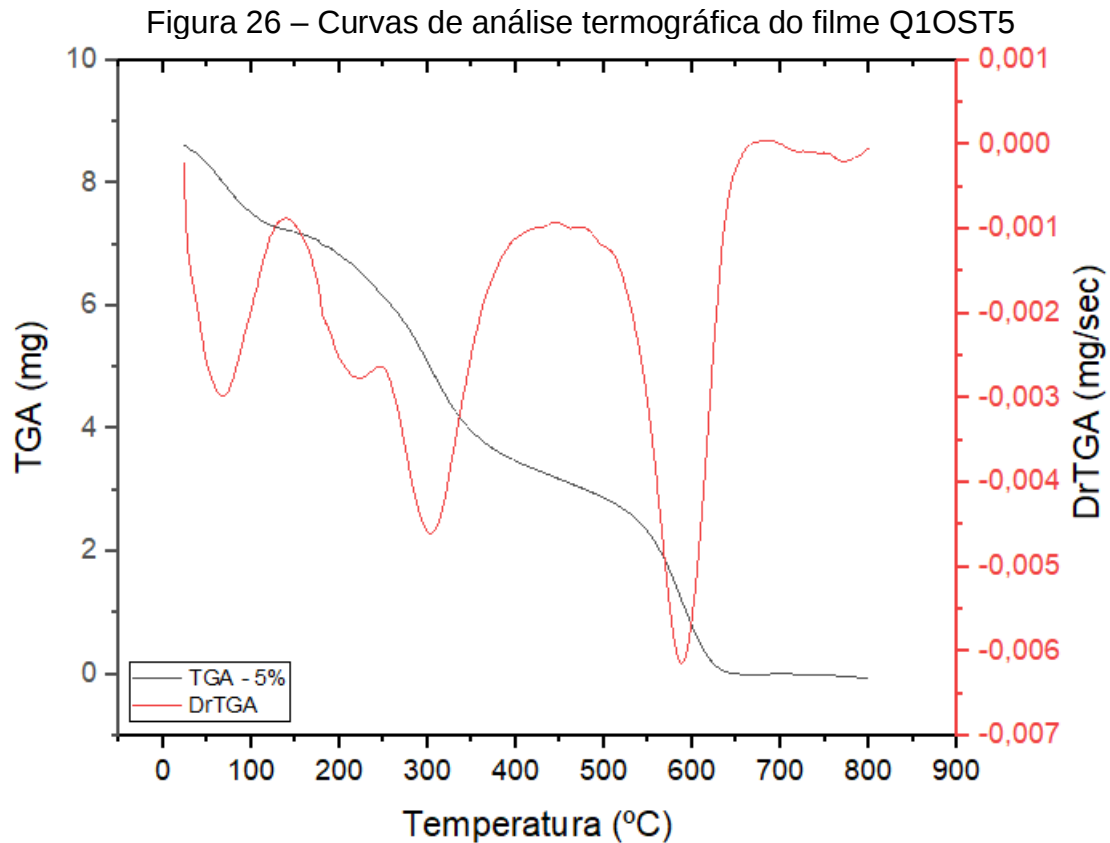


Fonte: Autoria própria, 2025.

Figura 25 – Curvas de análise termográfica do filme Q1OST3



Fonte: Autoria própria, 2025.



A análise termogravimétrica dos filmes Q1P, Q1OST1, Q1OST3 e Q1OST5 demonstrou cinco estágios distintos de degradação, conforme observado na **Figura 23**, **Figura 24**, **Figura 25** e **Figura 26**, discutidos a seguir:

- a) **Evento 1 (35°C – 150°C):** Observou-se perda de massa relacionada à evaporação da água residual e de componentes voláteis do óleo, fenômeno presente em todos os filmes. O filme Q1OST1 apresentou comportamento atípico, com baixa perda de massa, atribuída à menor concentração de OST (Chacón-Fernández *et al.*, 2019; Tabassum *et al.*, 2023; Chowdhury *et al.*, 2023);
- b) **Evento 2 (150 – 255 °C):** Nesta faixa térmica, observou-se perda de massa associada à volatilização de constituintes menos estáveis e à decomposição inicial do óleo incorporado (Chacón-Fernández *et al.*, 2019; Tabassum *et al.*, 2023; Chowdhury *et al.*, 2023). O filme controle Q1P apresentou estabilidade relativa, com perda de massa discreta. Já os filmes contendo OST mostraram comportamento distinto: o Q1OST1 apresentou perda moderada de massa, o Q1OST3 registrou perda mais

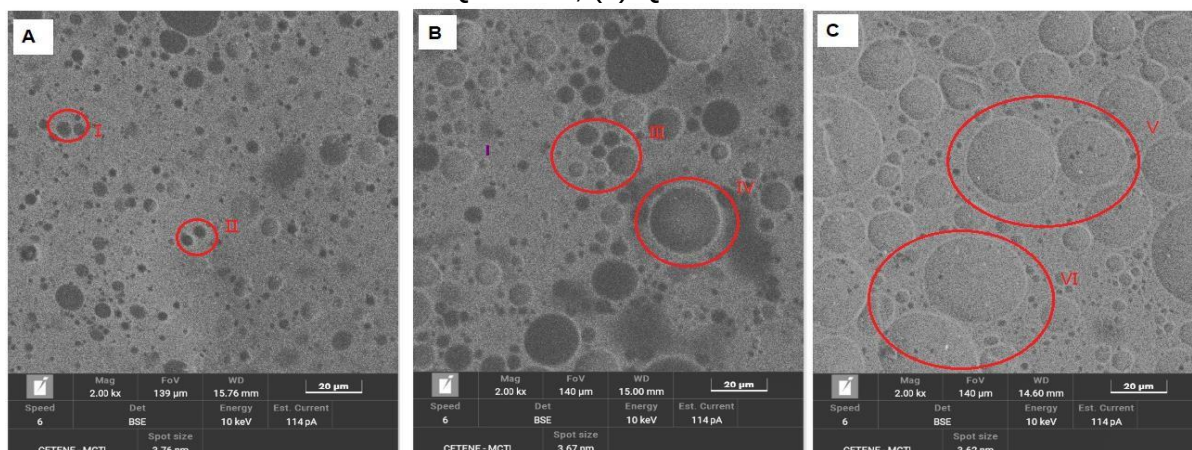
acentuada, enquanto o Q1OST5 apresentou a maior redução, em torno de 45% da massa. Esses resultados evidenciam que o aumento progressivo da concentração de OST reduz a estabilidade térmica inicial dos filmes, tornando-os mais suscetíveis à degradação nessa faixa de temperatura;

- c) **Evento 3 (255 – 400 °C):** Corresponde à degradação térmica principal da quitosana, englobando processos de desidratação, despolimerização e decomposição dos grupos acetilados e desacetilados, concomitantemente à oxidação dos ácidos graxos presentes no OST (oleico, linoleico, palmítico e esteárico) (Chacón-Fernández *et al.*, 2019; Tabassum *et al.*, 2023; Chowdhury *et al.*, 2023). Nota-se que filmes com maiores teores de óleo apresentaram perdas de massa mais expressivas nesse intervalo, em razão da decomposição dos compostos graxos;
- d) **Evento 4 (400 – 500 °C):** Nesta faixa, observa-se a fragmentação de resíduos de carbono e a decomposição de ácidos graxos mais estáveis (como esteárico), além da ruptura de ligações éster (Chacón-Fernández *et al.*, 2019; Tabassum *et al.*, 2023; Chowdhury *et al.*, 2023). Os filmes com concentrações intermediárias de óleo (1% e 3%) apresentaram perdas residuais mais altas, o que indica menor proporção de compostos termoestáveis em comparação aos filmes com 5% de OST;
- e) **Evento 5 (500 – 800 °C):** Representa a degradação final, com eliminação de compostos hidroxilados e ramificados do óleo, com quebra de ligações C–H e ésteres (– C–O), resultando em perda total de massa. (Chacón-Fernández *et al.*, 2019; Abdelmalek *et al.*, 2023; Tabassum *et al.*, 2023; Chowdhury *et al.*, 2023).

4.3.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV

As micrografias obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), apresentadas na **Figura 27**, permitiram avaliar a morfologia superficial dos filmes de quitosana contendo diferentes concentrações de OST.

Figura 27 – Micrografias das superfícies filme de quitosana (a) Q1OST1; (b) Q1OST3; (c) Q1OST5



Fonte: Autoria própria, 2025.

Na formulação Q1OST1, observaram-se gotas de óleo isoladas e distribuição superficial irregular, além de áreas mais escuras, indicativas de deformações microestruturais associadas à liberação parcial do óleo (**Figuras 25(A) I e II**). Em concentrações mais baixas, as gotículas aparentaram estar mais bem incorporadas à matriz, sugerindo interações intermoleculares parciais, possivelmente mediadas por ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila da quitosana e os compostos funcionais do OST.

Na formulação Q1OST3, foram observados aglomerados de gotículas de diferentes tamanhos, com dispersão mais uniforme do óleo ao longo do filme (**Figuras 27(B) III e IV**). Essa distribuição homogênea favoreceu o preenchimento mais eficiente da matriz polimérica, como relatado por Naccache (2021) e corroborado por Maragon (2015), que destacam o impacto positivo da homogeneidade na estabilidade de sistemas contendo óleos essenciais.

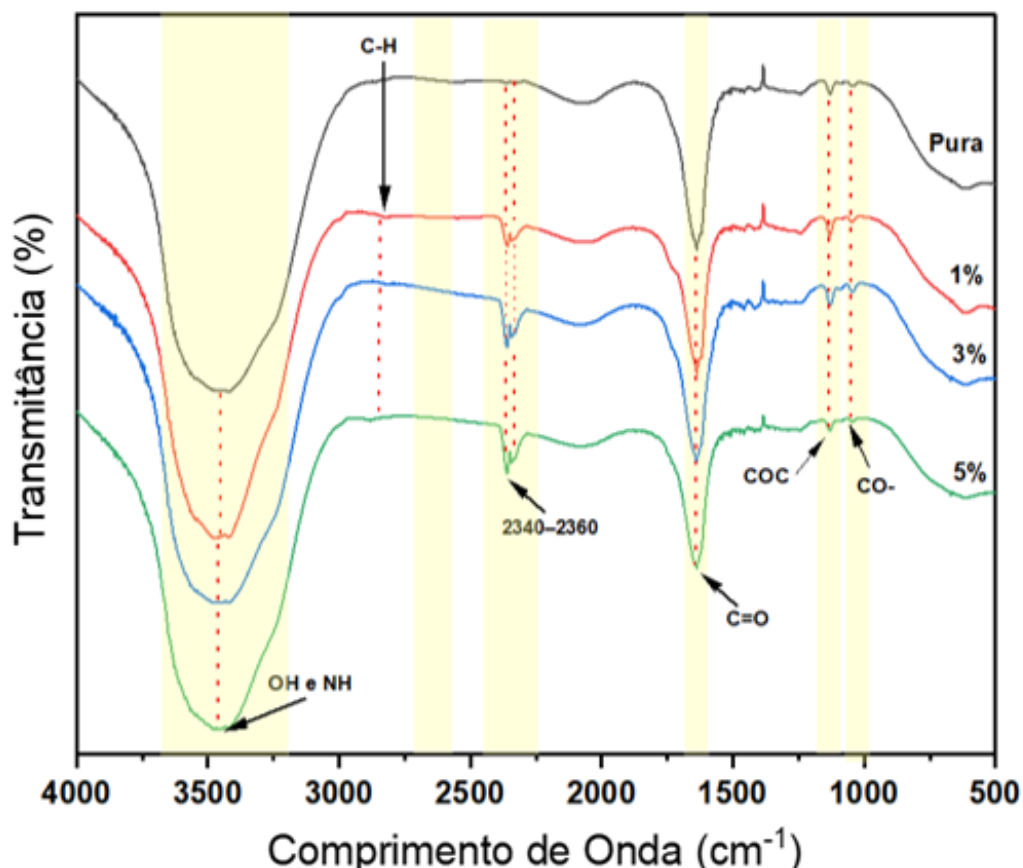
Na formulação Q1OST5, as micrografias (**Figuras 27(C) V e VI**) evidenciaram gotículas maiores, com tendência à aglomeração e formação de domínios oleosos, dificultando a liberação do OST. A ausência de manchas está associada à baixa difusão do óleo, e a morfologia esférica das gotículas indica reduzida interação com a matriz, favorecendo processos de coalescência e exsudação superficial. Esses aspectos comprometem a uniformidade estrutural do filme.

Entre as formulações analisadas, Q1OST3 apresentou o melhor desempenho morfológico, com dispersão eficiente do óleo e estrutura homogênea, mostrando-se a mais adequada em termos de estabilidade físico-química.

4.3.1.4 Infravermelho por Transformada de Fourier – FTIR

A **Figura 28** apresenta os espectros de FTIR obtidos para a quitosana pura e para os filmes incorporados com diferentes concentrações de óleo (1%, 3% e 5%).

Figura 28 – Espectros de FTIR da quitosana pura e dos filmes contendo diferentes concentrações de OST (1%, 3% e 5%).



Fonte: Autoria própria, 2025.

É possível observar variações significativas nas intensidades e nos deslocamentos das bandas características, especialmente nas regiões correspondentes aos estiramentos O–H e N–H (em torno de 3400 cm^{-1}), C–H alifático (próximo a $2920\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$), C=O (cerca de $1650\text{--}1740\text{ cm}^{-1}$) e C–O–C (região de $1070\text{--}1030\text{ cm}^{-1}$).

Tais modificações espectrais evidenciam a interação molecular entre a matriz polimérica de quitosana e os constituintes lipídicos do óleo, confirmando a incorporação e sugerindo a formação de novas ligações intermoleculares.

Nos filmes de quitosana sem óleo e compostos, as bandas amplas localizadas em $3500\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ são atribuídos às vibrações de alongamento de O–H e N–H nas

moléculas presentes na quitosana (Saenz-Mendoza *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2025).

Já a banda em 2871 cm^{-1} é atribuída às vibrações de estiramento do C–H do esqueleto carbônico da quitosana (Atlar; Kutlu; Tornuk, 2024). Observa-se, por outro lado, um discreto aumento na intensidade dessa região quando comparada ao filme sem a adição do óleo. O óleo de tamarindo é composto majoritariamente por triglicerídeos, ésteres de ácidos graxos que apresentam longas cadeias alifáticas ($-\text{CH}_2-$)_n e grupos terminais $-\text{CH}_3$ (Chacón-Fernández *et al.*, 2019). Tais constituintes podem contribuir para o aumento da quantidade de grupos C–H detectados, além de provocar alterações na organização estrutural do filme polimérico.

Além disso, o pico observado em 1645 cm^{-1} refere-se à vibração de estiramento C=O na banda amida primária, à vibração de estiramento da ligação C–N característica da síntese de peptídeos e à vibração de flexão –NH, indicando a presença de ligações de hidrogênio de alta resistência, que impactaram diretamente a organização estrutural dos filmes (Wang *et al.*, 2023). O pico em 1150 cm^{-1} corresponde ao estiramento do C–O–C da ligação glicosídica da quitosana (Zhang; Cao; Jiang, 2022). Já o pico de absorção em 1028 cm^{-1} está associado à vibração de estiramento assimétrico do C–O– (Koc *et al.*, 2020).

É perceptível, ainda, a presença de bandas na região de absorção entre 2340 – 2360 cm^{-1} . De acordo com a literatura, essas bandas não são características da quitosana nem do óleo de tamarindo, o que sugere que os filmes podem ter absorvido CO_2 , seja por processos de adsorção ou degradação desses gases, resultando no aparecimento dessas bandas (Haghighi *et al.*, 2020). A intensificação observada nessa região pode estar associada à presença do óleo, cuja maior concentração favorece tais alterações espectrais.

Essa intensificação pode estar relacionada tanto à degradação de constituintes voláteis do óleo durante o processamento, quanto ao surgimento de novas interações químicas entre o óleo e a quitosana, incluindo a formação de bandas incomuns (Kalaycioğlu *et al.*, 2017; Sánchez-González *et al.*, 2011).

O **Quadro 3** expõe o supramencionado.

Quadro 3 – Principais bandas observadas nos espectros de FTIR dos filmes de quitosana com OST

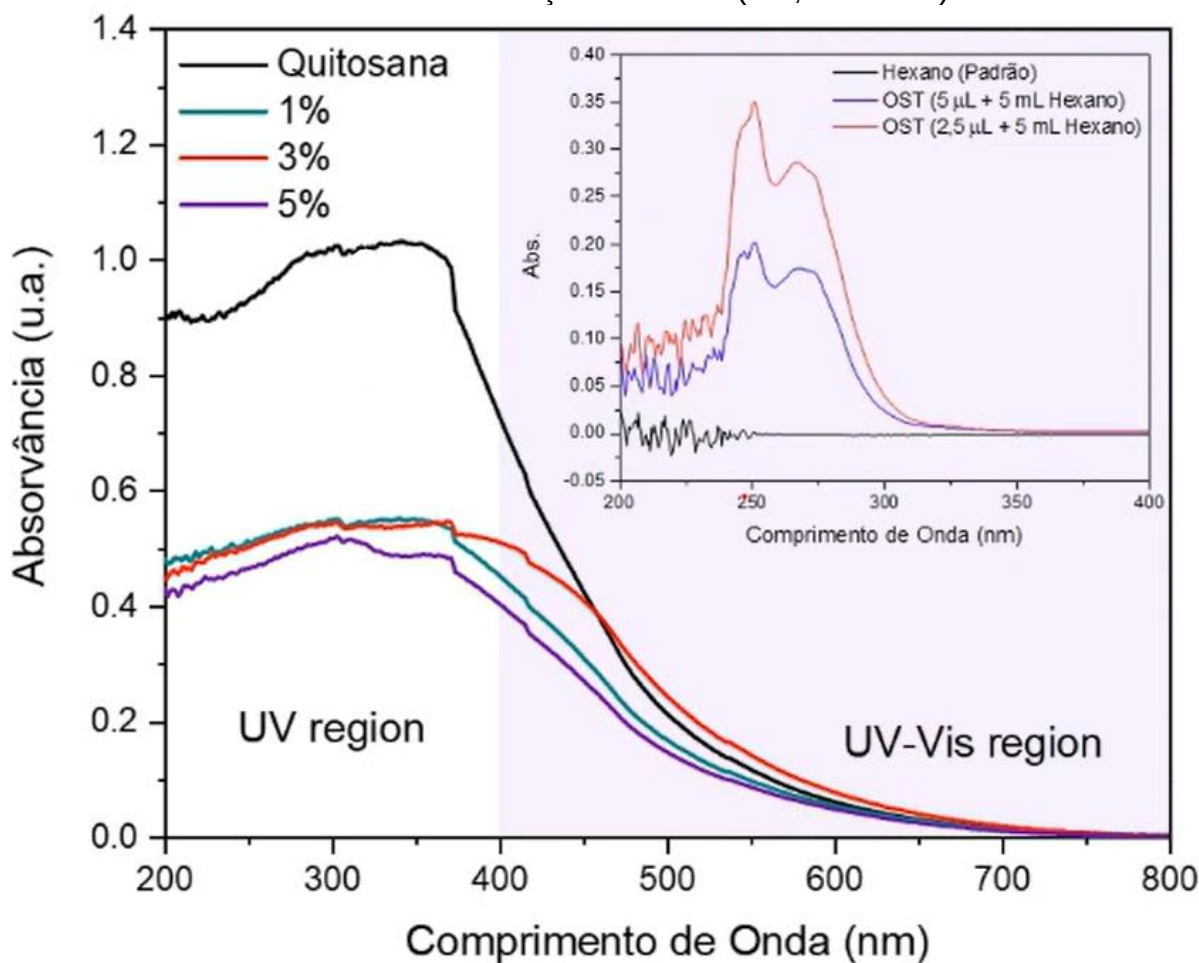
Banda (cm ⁻¹)	Atribuição / Ligação	Referência
~3400	Estiramento O–H e N–H; ligações de hidrogênio	Atlar; Kutlu; Tornuk (2024)
2920–2850	Estiramento C–H de grupos alifáticos	Chacón-Fernández <i>et al.</i> (2019)
2871	Estiramento C–H do esqueleto carbônico da quitosana	Atlar; Kutlu; Tornuk (2024)
1740	Estiramento C=O de ésteres (ácidos graxos)	Chacón-Fernández <i>et al.</i> (2019)
1645	Estiramento C=O (Amida I), estiramento C–N (peptídeos), flexão N–H	Wang <i>et al.</i> (2023)
1590	Deformação N–H (Amida II)	Wang <i>et al.</i> (2023)
1150	Estiramento C–O–C da ligação glicosídica da quitosana	Zhang; Cao; Jiang (2022)
1070–1030	Estiramento C–O–C da cadeia polissacarídica	Wang <i>et al.</i> (2023)
1028	Estiramento assimétrico do C–O–	Koc <i>et al.</i> (2020)
2340–2360	Bandas associadas à absorção de CO ₂ ou degradação de constituintes voláteis do óleo; possíveis interações químicas óleo–quitosana	Haghighi <i>et al.</i> (2020); Kalaycioğlu <i>et al.</i> (2017); Sánchez-González <i>et al.</i> (2011)

Fonte: Autoria própria, 2025.

4.3.1.5 Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível – UV–Vis

A **Figura 29** apresenta os espectros de absorção na região do UV–Vis para a quitosana pura e para os filmes contendo diferentes concentrações de óleo (1%, 3% e 5%).

Figura 29 – Espectros de absorção UV–Vis da quitosana pura e dos filmes contendo diferentes concentrações de OST (1%, 3% e 5%).



Fonte: Autoria própria, 2025.

A curva da quitosana pura (preta) exibe absorvância elevada na região UV (200–400 nm), decaindo rapidamente a partir de ~400 nm e aproximando-se de zero no visível, o que indica alta transparência óptica acima de ~450–500 nm. Com a incorporação de OST (1%, 3% e 5%), surgem bandas definidas entre ~230–380 nm, compatíveis com transições $\pi \rightarrow \pi^*$ de sistemas insaturados/aromáticos e $n \rightarrow \pi^*$ de carbonilas presentes em ácidos graxos e demais constituintes do óleo. O *inset* em hexano corrobora essa assinatura do OST, com máximos pronunciados na faixa ~240–270 nm até ~320–340 nm; ademais, observando o filme, percebe-se que os espectros tornam-se mais largos, mantendo porém, o caráter de absorção no UV (IOC, 2019; Fuentes, 2012; Uncu; Ozen; Tokatli, 2019; Ackan, 2024; Berendez; Kurz, 2012; Hashem *et al.*, 2020).

Comparativamente, os filmes com OST mantêm baixa absorvância no visível (450–800 nm), preservando a transparência. Notam-se, entretanto, diferenças sutis

entre 1%, 3% e 5%: o 3% tende a exibir a maior resposta UV e perfil mais regular, enquanto o 5% não aumenta proporcionalmente a absorbância e pode até reduzi-la levemente em trechos (vs. 3%) (IOS, 2011; Belhoussaine *et al.*, 2024; Koushki, 2021; Barik *et al.*, 2024; Basalla; Kendrick, 2023).

Esse comportamento não linear é consistente com os achados morfológicos (MEV), sendo que a maior fração de óleo favorece aglomeração/coalescência, gerando espalhamento de luz e micro heterogeneidade do índice de refração, o que achata a linha de base e apaga parcialmente bandas eletrônicas, além de possíveis variações de espessura entre filmes (IOS, 2011; Belhoussaine *et al.*, 2024; Koushki, 2021; Barik *et al.*, 2024; Basalla; Kendrick, 2023).

Além disso, observa-se que todos os materiais modificados com OST apresentaram menor absorbância que a quitosana pura ao longo de praticamente toda a faixa espectral, sobretudo abaixo de ~350 nm. Esse comportamento, aliado ao fato de que o espectro do óleo (*inset*) exibe bandas características na região UV, com máximos próximos de 250–275 nm, constitui forte indicação de incorporação do óleo à matriz de quitosana.

Em termos físico-químicos, a redução global da absorbância nos compósitos pode ser explicada por interações intermoleculares (por exemplo, ligações de hidrogênio) que modulam as transições eletrônicas da quitosana, atenuando sua intensidade. Assim, enquanto o óleo mantém sua assinatura no UV (~250–275 nm), a absorbância total cai nos filmes com OST, padrão compatível com incorporação efetiva do óleo na matriz polimérica.

4.3.1.6 Atividades Antimicrobianas

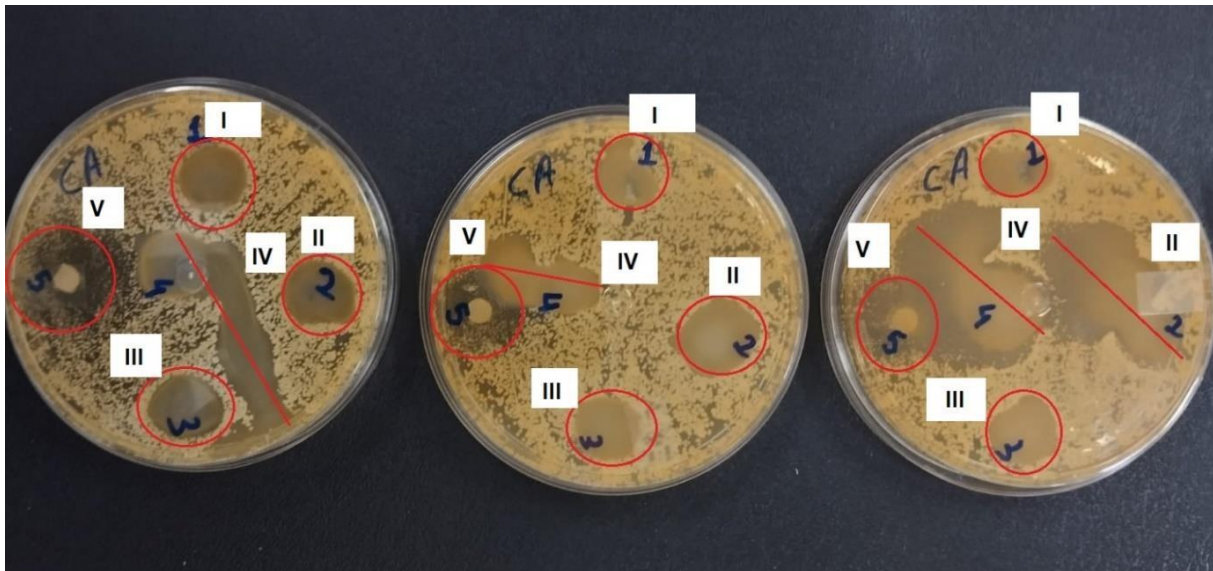
Nos ensaios realizados frente a *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) e *Escherichia coli* (Gram-negativa), não se observaram halos de inibição, caracterizando ausência de atividade antimicrobiana mensurável dos filmes contendo OST contra essas bactérias.

Em contraste, frente a *Candida albicans* – agente etiológico da candidíase –, observou-se inibição efetiva do crescimento nas formulações Q1OST1, Q1OST3, Q1OST5 e no filme controle Q1P, evidenciando atividade antifúngica seletiva.

Para tornar a apresentação mais clara, a **Figura 30** ilustra as placas em

triplicata com crescimento fúngico, e a **Tabela 9** sintetiza os valores dos halos de inibição medidos.

Figura 30 – Placas em triplicata do meio de cultura com *Candida albicans*



Fonte: Autoria própria, 2025.

Tabela 9 – Halos de inibição medidos da *Candida albicans*

MEIO	Zona de inibição (mm)		
	<i>Candida albicans</i>		
PLACAS	Placa 1	Placa 2	Placa 3
Q1P	9	10	10
Q10ST1	8	9	10
Q10ST3	9	8	9
Q10ST5	9	10	9
Controle	15	19	19

Fonte: Autoria própria, 2025.

Os ensaios foram conduzidos em triplicata, com halos variando entre 8 e 10 mm, indicando efeito antifúngico consistente. Ressalte-se que a ausência de halos contra as bactérias não compromete a conclusão quanto à ação antifúngica, que se manteve expressiva.

Conforme critérios de classificação de atividade antimicrobiana, a faixa 0–1 mm corresponde à Atividade Aceitável (A) e valores >6 mm são caracterizados como Atividade Altamente Satisfatória (AS). Assim, os halos obtidos para *C. albicans* enquadram-se nesta última categoria. Esse desempenho frente a *C. albicans* é considerado satisfatório para materiais com potencial de aplicação biomédica (cf. Girata *et al.*, 2011).

Do ponto de vista interpretativo, destacam-se duas implicações:

- a) **Papel da matriz de quitosana:** a atividade antifúngica decorre majoritariamente da própria quitosana, uma vez que o controle Q1P apresentou halos similares às formulações com OST; não se observou aumento proporcional com a concentração do óleo entre 1–5%, sugerindo que parâmetros físico-estruturais (espessura, coalescência de gotículas e difusão) influenciam o diâmetro dos halos;
- b) **Inatividade antibacteriana:** possivelmente associada a limitações intrínsecas do método de difusão para sistemas hidrofóbicos, à barreira de membrana externa de Gram-negativas (*E. coli*) e à liberação restrita do ativo. Além disso, embora o pH esteja em faixa fisiológica (4,5–5,5), a carga catiônica da quitosana pode não ter sido suficiente para ação bactericida nas condições do ensaio.

Em termos de implicação prática, a formulação otimizada (1% quitosana, 3% OST, 22,5 min) segue preferível por equilibrar propriedades físico-químicas (pH, molhabilidade, permeabilidade) sem comprometer a ação antifúngica.

Por fim, em um apanhado geral, tem-se que o delineamento Box–Behnken, aplicado com três fatores independentes e três variáveis resposta, evidenciou que o pH é influenciado principalmente pela quitosana, enquanto o ângulo de contato é afetado sobretudo pelo óleo, com efeito quadrático e interação significativa com a quitosana. A permeabilidade, por sua vez, apresentou relação inversa com o teor de óleo, confirmando seu efeito de barreira. As superfícies de resposta indicaram que a faixa de 1,0–1,5% de quitosana mantém o pH próximo ao fisiológico, que teores intermediários de óleo promovem ângulos em torno de 70°, compatíveis com hidrofiliidade moderada, e que concentrações de 3–3,5% de óleo conferem permeabilidade adequada para manter microambiente úmido sem excesso de exsudato.

Esse resultados foram corroborados pela otimização simultânea do Design Expert 13, que apontou como condição de maior desejabilidade global ($D \approx 0,890$) a formulação com 1% de quitosana, 3% de óleo e 22,5 min, caracterizando o melhor equilíbrio entre biocompatibilidade, molhabilidade e permeabilidade.

Por sua vez, a avaliação macroscópica dos filmes e a morfologia por MEV corroboram a predição estatística. O filme Q1OST1 apresenta gotículas isoladas e distribuição irregular; o Q1OST3 exibe dispersão mais homogênea do óleo e melhor preenchimento da matriz; já o Q1OST5 mostra domínios oleosos maiores e tendência à coalescência, sugerindo menor interação com a matriz e risco de exsudação. Portanto, o teor intermediário de OST (3%) é o que melhor estabiliza a microestrutura.

A análise termogravimétrica (TGA/DTG), os espectros de FTIR e a espectroscopia UV–Vis confirmam a assinatura da quitosana com a devida incorporação do óleo. A espectroscopia UV–Vis, especificamente, revelou que a quitosana pura apresenta elevada absorbância na região do ultravioleta e alta transparência no visível. Com a incorporação de OST (1–5%), surgem ou se intensificam bandas no UV, compatíveis com cromóforos presentes no óleo.

Todos os filmes mantêm-se transparentes no visível. Entre as formulações, a adição de 3% de OST promoveu resposta mais uniforme na região do UV, enquanto a concentração de 5% não elevou a absorbância de forma proporcional, apresentando até mesmo redução em determinados trechos, efeito associado à aglomeração ou coalescência observada por MEV. Ademais, em grande parte do espectro, os filmes exibiram absorbância global inferior à da quitosana pura, reforçando a hipótese de diluição óptica e de modulação eletrônica decorrentes da incorporação do óleo.

Por fim, os ensaios antimicrobianos revelaram espectro seletivo. Contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* não houve halos de inibição, enquanto frente a *Candida albicans* os filmes apresentaram halos de 8–10 mm.

Em conjunto, os resultados convergem para a mesma janela ótima: 1% de quitosana, 3% de OST e 22,5 min. Nessa condição, obtêm-se pH fisiológico (5), hidrofilicidade moderada (70°), permeabilidade controlada (3,6 g·mm/m²·dia), morfologia homogênea, transparência com efeito de proteção UV e atividade antifúngica.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho permitiu avaliar o potencial de filmes poliméricos à base de quitosana incorporados com OST para aplicações biomédicas. Inicialmente, a caracterização físico-química do óleo evidenciou estabilidade composicional, com índices de refração, acidez e peróxido compatíveis com a literatura, assegurando a qualidade da matéria-prima utilizada como agente bioativo. A partir disso, o delineamento experimental Box–Behnken possibilitou identificar as interações entre os fatores concentração de quitosana, concentração de óleo e tempo, permitindo compreender como esses parâmetros influenciam as propriedades finais dos filmes.

Os resultados mostraram que o pH das formulações variou entre 4,0 e 5,0, faixa compatível com a fisiologia cutânea (4,5–5,5), sendo que concentrações menores de quitosana (1%) favoreceram valores mais próximos ao ideal, aspecto relevante para a biocompatibilidade. No que concerne ao ângulo de contato, os filmes apresentaram caráter predominantemente hidrofílico (62° a $89,5^\circ$), condição que favorece interação com fluidos biológicos e adesão celular, embora maiores concentrações de OST tenham aumentado a hidrofobicidade superficial.

A permeabilidade ao vapor de água, por sua vez, revelou desempenho variável, no qual a maioria das formulações foi classificada como barreira moderada, enquanto a condição Q2OST5 (2% de quitosana e 5% de OST) destacou-se por apresentar excelente barreira ao vapor ($0,02 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{dia}^{-1}$), embora com pH mais ácido (4,0). Dentre as combinações, o filme Q1OST1 (1% de quitosana, 1% de OST, 22,5 min) revelou-se mais equilibrado, reunindo valores adequados de pH, molhabilidade e permeabilidade, características desejáveis para aplicação em curativos bioativos.

Ademais, o delineamento experimental Box–Behnken, estruturado com três fatores independentes, permitiu avaliar de forma integrada os efeitos principais, as interações bilaterais e os termos quadráticos sobre as três variáveis resposta: pH, ângulo de contato e permeabilidade ao vapor de água (PVA).

A análise de variância (ANOVA) demonstrou que a concentração de quitosana foi o fator mais significativo para a resposta pH, reduzindo-o de maneira acentuada em concentrações mais elevadas (2%), o que, embora mantenha os filmes em faixa compatível com a pele (4,0–5,0), aproxima-os do limite inferior do intervalo fisiológico. Para o ângulo de contato, observou-se que o efeito mais expressivo foi da concentração de OST, cuja elevação aumentou a hidrofobicidade superficial,

evidenciada por ângulos próximos a 90°. A permeabilidade ao vapor de água (PVA), por sua vez, foi influenciada de forma combinada pela quitosana e pelo OST. Os resultados deram uma janela ótima de 1% de quitosana, 3% de OST e 22,5 min.

Na etapa de otimização univariante, que avaliou exclusivamente o efeito da concentração de OST (0%, 1%, 3% e 5%), foram obtidos resultados complementares. A análise termogravimétrica (TGA/DTG) demonstrou que a adição de óleo promoveu alterações no perfil de degradação térmica, indicando interações químicas entre os constituintes lipídicos e a matriz polimérica, com aumento da estabilidade térmica em formulações com 3% e 5% de OST. A MEV revelou que concentrações intermediárias de óleo favoreceram superfícies homogêneas, enquanto concentrações elevadas geraram microestruturas heterogêneas.

A espectroscopia de infravermelho (FTIR) confirmou interações entre os grupos funcionais da quitosana e os compostos do óleo, sobretudo nos espectros referentes às bandas de estiramento de OH, NH e C=O, sugerindo ligações de hidrogênio e compatibilidade entre os componentes.

5.1 PERSPECTIVAS FUTURAS

Como perspectivas de futuras, recomenda-se: (i) a caracterização mecânica aprofundada dos filmes, verificando sua resistência e flexibilidade em condições simuladas de uso; (ii) a condução de ensaios biológicos *in vitro* e *in vivo*, para avaliar citocompatibilidade, cicatrização e resposta inflamatória; (iii) a investigação de propriedades antioxidantes dos filmes, considerando a presença de compostos fenólicos no OST; e (iv) a comparação do desempenho do OST com outros óleos vegetais bioativos.

Por fim, a associação da quitosana e OST a nanopartículas, sistemas reticulados ou outros agentes bioativos surge como linha de pesquisa promissora, ampliando a funcionalidade dos filmes. Em síntese, conclui-se que a associação entre quitosana e óleo das sementes de *Tamarindus indica* L. originou filmes com características compatíveis às exigências biomédicas, reunindo biocompatibilidade, propriedades de barreira, estabilidade térmica e atividade antimicrobiana.

Tais achados contribuem para o avanço do uso de biopolímeros associados a compostos naturais na engenharia e no desenvolvimento de curativos bioativos, ao mesmo tempo em que abrem caminhos para novas investigações experimentais.

REFERÊNCIAS

- ABDELMALEK, Fady et al. Novel biodegradable nanoparticulate chain-end functionalized polyhydroxybutyrate–caffeic acid with multifunctionalities for active food coatings. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 11, n. 18, p. 7123-7135, 2023. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acssuschemeng.3c00389>.
- ABD-EL-AZIZ, Noha Mokhtar et al. Application of Box-Behnken design for optimization of phenolics extraction from *Leontodon hispidulus* in relation to its antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activities. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 8829, 2022. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-022-12642-2>.
- ADAIR, Pornpatu et al. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of xyloglucan-chitosan film from tamarind (*tamarind indica* L.) seed kernel. **Progress in Organic Coatings**, v. 179, p. 107486, 2023. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300944023000826?casa_token=qplD1c6iSuQAAAAA:KEFHKSuOXzUYUf1TOboRVIWjK03WuaePRtgPwhS_1MsBnKlymefgWv3x62d8_O5GuQXZViB8ac.
- AGADAGA, G. O. Rotatability of Second-Order Response Surface Designs. **Science and Technology**, v. 5, n. 2, p. 13-31, 2024. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Gregory-Agadaga-2/publication/378894146_Rotatability_of_Second-Order_Response_Surface_Designs/links/65f051bf1f0aec67e282e239/Rotatability-of-Second-Order-Response-Surface-Designs.pdf.
- AGRAWAL, G. et al. Wettability and contact angle of polymeric biomaterials. In: **Characterization of polymeric biomaterials**. Woodhead Publishing, 2017. p. 57-81. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081007372000030>.
- AHN, Jae-Soon; CHOI, Hoo-Kyun; CHO, Chong-Su. A novel mucoadhesive polymer prepared by template polymerization of acrylic acid in the presence of chitosan. **Biomaterials**, v. 22, n. 9, p. 923-928, 2001. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961200002568?casa_token=d7EXuu9qQdUAAAAA:NOftm2Ct9M8gNM2ETpb8cGewWjRKT_xlLrQE9MhABXZbiXzsKUtE59nB6A2KVgGyhn6VwKjpACI.
- AKCAN, Tolga. Investigating the quality and purity profiles of olive oils from diverse regions in Selçuk, İzmir. **Molecules**, v. 29, n. 5, p. 1104, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/29/5/1104>.
- ALJAAFARI, Mariam Nasser et al. An overview of the potential therapeutic applications of essential oils. **Molecules**, v. 26, n. 3, p. 628, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/3/628>.
- ALJAAFARI, Mariam Nasser et al. Essential oils: Partnering with antibiotics. In: **Essential oils-oils of nature**. IntechOpen, 2019. Disponível em:

<https://www.intechopen.com/chapters/67434>.

ALJAAFARI, Mariam Nasser et al. Contribution of aldehydes and their derivatives to antimicrobial and immunomodulatory activities. **Molecules**, v. 27, n. 11, p. 3589, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/11/3589>. Acesso em: 08 mar. 2025.

ANJOS, A. dos. **Planejamento de Experimentos II**. Curitiba: Universidade do Paraná, 2014. Disponível em: <https://docs.ufpr.br/~aanjos/CE214/apostila/apostila.pdf>. Acesso em: 08 mar. 2025.

AOCS. AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. **Official methods and recommended practices**. 4. ed. Champaign: AOCS, 1993.

ARAÚJO, Laressa Lins Cabral; NUNES, Maria Alzira Araújo; SILVA, Rita de Cássia. MODELAGEM DO CONTATO MECÂNICO EM AMBIENTE COMPUTACIONAL MULTIPORCOS: ESTUDO DE SENSIBILIDADE UTILIZANDO PLANEJAMENTO FATORIAL. **Revista Interdisciplinar de Pesquisa em Engenharia**, v. 2, n. 31, p. 33-47, 2016.

ARSHAD, Hafiz Muhammad; AKHTAR, Munir; GILMOUR, Steven G. Augmented Box-Behnken designs for fitting third-order response surfaces. **Communications in Statistics-Theory and Methods**, v. 41, n. 23, p. 4225-4239, 2012. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03610926.2011.568154?casa_token=2UF19pl2wUAAAAA:_1IP1Tn-TdNze5OrXeBvrovWmEOHR3HZ9k_avFYcZ6Z61MgGtwWXCva7J_Xh6AdleJgNvPHZvEi8toVr. Acesso em: 08 mar. 2025.

ARMSTRONG, N. A. **Pharmaceutical Experimental Design and Interpretation**, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2006.

ASSIS, Odilio BG et al. Caracterização estrutural e da capacidade de absorção de água em filmes finos de quitosana processados em diversas concentrações. **Polímeros**, v. 13, p. 223-228, 2003. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/po/a/c7JXG4bXysjrgGBJnqCjSBk/?lang=pt>. Acesso em: 08 mar. 2025.

ATIYEH, B. S., COSTAGLIOLA, M., & HAYEK, S. N. Effect of silver on burn wound infection control and healing: **Review of the literature. Burns**, v. 33, n.2, 2007. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305417906001926?casa_token=utpaoO0ml1oAAAAA:JKiKYPmEDZr-743M5L8fKbFfokTV4Esf9T-ePkwSbUKsgBYbZDSgcopt-V908FUrImflViqGAY. Acesso em: 08 mar. 2025.

ATLAR, G. Cansu; KUTLU, Gozde; TORNÜK, Fatih. Design and characterization of chitosan-based films incorporated with summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil for active packaging. **International journal of biological macromolecules**, v. 254, p. 127732, 2024. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813023046305?casa_token=NjUqZVcKalkAAAAA:p14SrrDCT2Su0DOjpwh668vbLX3hUMkUBVju-uyvY-

9b6qlc0vQ_SToEnHxDq1RqvSwOkKtoHWw. Acesso em: 08 mar. 2025.

AZEVEDO, Valéria Vital Cordeiro et al. qqQuitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista eletrônica de Materiais e processos**, v. 2, n. 3, 2007. Disponível em: <http://200.130.0.162/handle/miguilim/4026>. Acesso em: 08 mar. 2025.

BAGUL, Mayuri B.; SONAWANE, Sachin K.; ARYA, Shalini S. Bioactive characteristics and optimization of tamarind seed protein hydrolysate for antioxidant-rich food formulations. **3 Biotech**, v. 8, n. 4, p. 218, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5897252/>. Acesso em: 08 mar. 2025.

BANERJEE, Jhumur et al. Bioactives from fruit processing wastes: Green approaches to valuable chemicals. **Food Chemistry**, v. 225, p. 10-22, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814616321148>. Acesso em: 08 mar. 2025.

BARBETTA, Pedro Alberto; REIS, Marcelo Menezes; BORNIA, Antonio Cezar. **Estatística: para cursos de engenharia e informática**. São Paulo, SP: Atlas, 2004.

BARBOZA, Henriqueta Talita Guimarães et al. **Filmes e revestimentos comestíveis: conceito, aplicação e uso na pós-colheita de frutas, legumes e vegetais**. Research, Society and Development, v. 11, n. 9, p. e9911931418-e9911931418, 2022. Disponível em: <https://rsdjournal.org/rsd/article/download/31418/26948/>. Acesso em: 08 mar. 2025.

BARIK, Manaswini et al. **A thorough evaluation of chitosan-based packaging film and coating for food product shelf-life extension**. Journal of Agriculture and Food Research, v. 16, p. 101164, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666154324002011>. Acesso em: 08 mar. 2025.

BARREIRAS, Diego Groto et al. **Eficácia da ação antimicrobiana do extrato de própolis de abelha jataí (Tetragonisca angustula) em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas**. Caderno de Ciências Agrárias, v. 12, p. 1-5, 2020. Disponível em: <https://periodicos.ufmg.br/index.php/ccaufmg/article/view/15939>. Acesso em: 08 mar. 2025.

BARROS NETO, Benício; SCARMINIO, Ieda Spacino; BRUNS, Roy Edward. **Como Fazer experimentos**. 2. ed. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2003. 401 p.

BASALLA, Andrew J.; KENDRICK, Brent S. Correcting ultraviolet-visible spectra for baseline artifacts. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 112, n. 12, p. 3240-3247, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37619816/>. Acesso em: 08 mar. 2025.

BEG, Sarwar; AKHTER, Sohail. Box–Behnken designs and their applications in pharmaceutical product development. In: **Design of Experiments for Pharmaceutical Product Development: Volume I: Basics and Fundamental Principles**. Singapore: Springer Singapore, p. 77-85, 2021. Disponível em:

<https://link.springer.com/book/10.1007/978-981-33-4717-5>. Acesso em: 08 mar. 2025.

BELHOSSAINE, Oumayma et al. Unveiling the oxidative stability, phytochemical richness, and nutritional integrity of cold-pressed *Linum usitatissimum* oil under UV exposure. **Food Chemistry**, X, v. 24, p. 101785, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590157524006734>. Acesso em: 08 mar. 2025.

BERSCHT, Petra C. et al. Incorporation of basic fibroblast growth factor into methylpyrrolidinone chitosan fleeces and determination of the in vitro release characteristics. **Biomaterials**, v. 15, n. 8, p. 593-600, 1994. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7948578/>. Acesso em: 08 mar. 2025.

BERENDS, Hans-Martin; KURZ, Philipp. Investigation of light-triggered carbon monoxide release from two manganese photoCORMs by IR, UV-Vis and EPR spectroscopy. **Inorganica Chimica Acta**, v. 380, p. 141-147, 2012. Acesso em: 08 mar. 2025.

BEZERRA, M. A. et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization of analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019>. Acesso em: 08 mar. 2025.

BIEDERMANN, Till et al. Assessment of statistical sampling methods and approximation models applied to aeroacoustic and vibroacoustic problems. In: **INTER-NOISE and NOISE-CON Congress and Conference Proceedings**. Institute of Noise Control Engineering, 2018. p. 13-24. Disponível em: <https://ince.publisher.ingentaconnect.com/contentone/ince/incecpl/2018/00000257/0000001/>. Acesso em: 08 mar. 2025.

BODINI, Renata Barbosa. **Desenvolvimento de materiais poliméricos bioativos à base de gelatina e própolis**. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011. DOI: <https://doi.org/10.11606/D.74.2011.tde-25042011-111723>. Acesso em: 08 mar. 2025.

BONILLA, Jeannine et al. Effect of essential oils and homogenization conditions on properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 1, p. 9-16, 2012. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X11000932?casa_token=AUZ-Bgd0o64AAAAA:mPz7L-GXb5-Be2i_WJYJXXg83UiMUoeOCuehagdrO6fEev-K9eJy80aejuMQOzuGJsuP9u7N9NY. Acesso em: 08 mar. 2025.

BONILLA, Jeannine et al. Physical properties of chitosan-basil essential oil edible films as affected by oil content and homogenization conditions. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 50-56, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211601X11000101>. Acesso em: 08 mar. 2025.

BRIXNER, Betina et al. Atividade antimicrobiana da quitosana associada a óleos

essenciais na aplicação biomédica: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 14, p. e447111436563, 2022. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/274728>. Acesso em: 08 mar. 2025.

BUNHAK, Élcio José et al. Influência do sulfato de condroitina na formação de filmes isolados de polimetacrilato: avaliação do índice de intumescimento e permeabilidade ao vapor d'água. **Química Nova**, v. 30, p. 312-317, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/LfcnGwVPCh37TSX7TnkFKgH/>. Acesso em: 08 mar. 2025.

CAMERON, et al. Papel essencial do Elov14 na síntese de ácidos gordos de cadeia muito longa, na função de barreira de permeabilidade da pele e na sobrevivência neonatal. **Int. J. Biol. Sci**, v. 3, 2007.

CARVALHO, Venício Macêdo et al. Atividade antimicrobiana in vitro de baccharis, tamarindo, líquido da casca da castanha de caju e óleo de cravo contra bactérias ruminais Gram-negativas. **Pubvet**, v. 18, n. 03, p. e1562-e1562, 2024. Disponível em: <http://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/3557>. Acesso em: 08 mar. 2025.

CECCHI, Heloísa Máscia. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. Campinas, SP: Editora da UNICAMP, 2003. Acesso em: 08 mar. 2025.

CHACÓN-FERNÁNDEZ, M. G. et al. Composition, properties, stability and thermal behavior of tamarind (*Tamarindus indica*) seed oil. **Grasas y Aceites**, v. 70, n. 4, p. e333-e333, 2019. Disponível em: <https://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/view/1802>. Acesso em: 08 mar. 2025.

CHENAB, Karim Khanmohammadi; SOHRABI, Beheshteh; RAHMANZADEH, Atyeh. Superhydrophobicity: advanced biological and biomedical applications. **Biomaterials Science**, v. 7, n. 8, p. 3110-3137, 2019. Disponível em: https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2021/xx/c9bm00558g?casa_token=U6S61VkUavAAAAA:m2uMbjS6GVwyiN4pfNt7ZPrsw77La5lxxEkJN6YNAjj4ZYIHU85dHwxKrnfeGyAJ79qp5tuU7vIR_9k&casa_token=8xeuS370raMAAAAA:VQ__JtwKhPjI4SAuKOJF6WsG6jzy-D6cmRRqR7M6ICQ19Kj87FzhoLmjwZQM-73kpWmtw0q8wyl_J2k. Acesso em: 08 mar. 2025.

CHEN, Yi et al. Asymmetric polyurethane membrane with in situ-generated nano-TiO₂ as wound dressing. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 119, n. 3, p. 1532-1541, 2011. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/app.32813?casa_token=4Y0qrM46c4wAAAAA:iNouUdYUu8p4ghY37Nx4JUas7twCjCITbVRdq367ubDF-zGV0flsmI4NgNK03MA3AWyxTzKFiXnM-yU. Acesso em: 08 mar. 2025.

CHERMAN, Kamila Alvares et al. Caracterização de cobertura comestível à base de alginato e óleos essenciais. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. e52911226145-e52911226145, 2022. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/26145>. Acesso em: 08 mar. 2025.

CHISAGUANO TONATO, Aida Maribel. **Papel de los ácidos grasos trans (AGT) y ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL) en el desarrollo de enfermedades atópicas en la primera etapa de la vida.** 2014. Tese (Doutorado em Nutrição e Bromatologia) – Universitat de Barcelona, Barcelona, 2014. Disponível em: <https://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/56350>. Acesso em: 08 mar. 2025.

CHOWDHURY, Mohammad Asaduzzaman et al. Development and characterization of natural sourced bioplastic for food packaging applications. **Heliyon**, v. 9, n. 2, 2023. Disponível em: [https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440\(23\)00745-4](https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440(23)00745-4). Acesso em: 08 mar. 2025.

CORADIN, Lidio; CAMILLO, Julcéia; PAREYN, Frans Germain Corneel (Ed.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Nordeste.** Brasília, DF: MMA, 2018. (Série Biodiversidade; 51) Disponível em: <https://www.mma.gov.br/publicacoes/biodiversidade/category/142-serie-biodiversidade.html>. Acesso em: 08 mar. 2025.

CUNICO, M. W. M. et al. Planejamento fatorial: uma ferramenta estatística valiosa para a definição de parâmetros experimentais empregados na pesquisa científica. **Visão Acadêmica**, v. 9, n. 1, p. 23-32, 2008. Disponível em: <https://www.academia.edu/download/82090934/e544a70b74bbad1534ab8e04b464390b4c0e.pdf>. Acesso em: 17 ago. 2025.

DE AZEVEDO, Valéria Vital Cordeiro et al. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2, n. 3, 2007. Disponível em: <http://200.130.0.162/handle/miguilim/4026>. Acesso em: 17 ago. 2025.

DE CALUWE, Emmy; HALAMOVÁ, Kateřina; VAN DAMME, Patrick. Tamarind (Tamarindus indica L.): a review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. 2009. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bk-2009-1021.ch005>. Acesso em: 17 ago. 2025.

DE OLIVEIRA, Thiago Azevedo et al. Biofilmes de gelatina: Efeito da adição de surfactante e ácidos graxos de óleo de coco na permeabilidade ao vapor de água. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 4, p. 16, 2012. Disponível em: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7422250>. Acesso em: 17 ago. 2025.

DEVI, N.; DUTTA, J. Development and in vitro characterization of chitosan/starch/halloysite nanotubes ternary nanocomposite films. **Int. J. Biol. Macromol.**, v. 127, 2019. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813018329532?casa_token=QDju3s9GbYsAAAAA:7e_ENOp36NqvElIfFEKwsdym70_bpKGo1Pg9rpMCuT9EalQ6QbxtGrUZbzMjElw7heCmB6hdlv0. Acesso em: 17 ago. 2025.

DEVI, N.; DUTTA, J. **Preparation and characterization of chitosan-bentonite nanocomposite films for wound healing application.** *Int. J. Biol. Macromol.*, v. 104, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813016326873>. Acesso em:

17 ago. 2025.

DEUS, Isabella Pelosi Borges de. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis de quitosana incorporados com óleo essencial**. XV ENEEAmb/IX SBEA, Belo Horizonte, 2017.

DOUGHARI, J. H. Antimicrobial activity of *Tamarindus indica* Linn. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 5, n. 2, p. 597-603, 2006. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/696d/4e1d86165204e3d5857d758edc417faf5992.pdf>. Acesso em: 17 ago. 2025.

DUTTA, P., S. *et al.* **Food Chem.** v.114, 2009.

ELAVARASI, R. *et al.* Otimização da semente de tamarindo: extração e avaliação funcional. **Journal of emerging Technologies and innovative research (JETIR)**, v. 12, p. 4, 2025.

ELSNER, Jonathan J.; ZILBERMAN, Meital. Novel antibiotic-eluting wound dressings: An in vitro study and engineering aspects in the dressing's design. **Journal of tissue viability**, v. 19, n. 2, p. 54-66, 2010. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0965206X09000539?casa_token=8HnBKeOzBtYAAAAA:7NkhLFCQLx9oLzXQVJOMRO0cc4yM8NjJxJgm2CSDuCSB47JFmIUqrjTCYjVY8iVdIFhtcVnAuU. Acesso em: 17 ago. 2025.

ESCALONA-ARRANZ, Julio César *et al.* Chemical constituents of *Tamarindus indica* L. leaves. **Revista Cubana de Química**, v. 22, n. 3, p. 65-71, 2010. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2950390/>. Acesso em: 17 ago. 2025.

FERREIRA, Sergio Luis Costa *et al.* Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. **Analytica chimica acta**, v. 597, n. 2, p. 179-186, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.07.011>. Acesso em: 17 ago. 2025.

FERREIRA, K. C. *et al.* Physical-chemical characterization and technological and thermal properties of tamarind (*Tamarindus indica* L.) from the cerrado of Goiás, Brazil. **Carpathian Journal of Food Science and Technology**, v. 11, n. 3, p. 94-106, 2019. Disponível em: [https://chimie-biologie.ubm.ro/carpathian_journal/Papers_11\(3\)/CJFST11\(3\)2019_9.pdf](https://chimie-biologie.ubm.ro/carpathian_journal/Papers_11(3)/CJFST11(3)2019_9.pdf). Acesso em: 17 ago. 2025.

FERREIRA, S. L. C. *et al.* **Chromatogr.** A 1158, 2007. 2-14.

FERREIRA, S. L. C. *et al.* **Appl. Spectrosc. Rev.** v.42, 2007.

FUENTES, Edwar *et al.* Determination of total phenolic content in olive oil samples by UV-visible spectrometry and multivariate calibration. **Food Analytical Methods**, v. 5, n. 6, p. 1311-1319, 2012. Disponível em: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/157556>. Acesso em: 08 mar. 2025.

GALINDO, M. V. *et al.* Produção de nanopartículas de quitosana e aplicação como

revestimento em blendas de amido de mandioca e poli(ácido láctico). **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, 2020.

GARCÍA-AYUSO, L. E. et al. Determination of the oil content of seeds by focused microwave-assisted soxhlet extraction. **Chromatographia**, v. 52, n. 1, p. 103-108, 2000. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02490801>. Acesso em: 08 mar. 2025.

GHOREISHI, Majid. **Effects of vibration and rotation of the electrode in electro-discharge machining**. The University of Manchester (United Kingdom), 2000.

GIRATA, Ana Kelly. **Desenvolvimento de curativos de quitosana e alginato contendo fosfato hidrogenado de zircônio, sódio e prata**. 2011. 110 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.47749/T/UNICAMP.2011.795767>. Acesso em: 08 mar. 2025.

GUERRA, Luiz Henrique Alves et al. Do mineral and corn oil serve as potential endocrine disruptors in the gerbil prostate?. **Reproductive Toxicology**, v. 90, p. 141-149, 2019. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0890623818306877?casa_token=APiodl51fWMAAAAA:3BQcbkS-tpmadanng4MoXku_sv0A77h6GZttP-_HhxrNchupFr-ZIK9rzJA5W82ilZW399McTs4. Acesso em: 08 mar. 2025.

GUERENDIAIN MARGNI, Marcela Esther. **Obesidad en embarazo y adolescencia: estudio de ácidos grasos y vitaminas antioxidantes**. 2013. Tese (Doutorado em Nutrição e Bromatologia) – Universitat de Barcelona, Barcelona, 2013. Disponível em: <https://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/50581>. Acesso em: 08 mar. 2025.

GURJÃO, KC de O. **Desenvolvimento, Armazenamento E Secagem De Tamarindo (Tamarindus indica L.)**. Areia, 2006. Tese de Doutorado em Agronomia - Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba – UFPB, 2006.

HADISOEWIGNYO *et al.* Avaliação da atividade antiinflamatória e a biocompatibilidade de nanopartículas de sílica mesoporosa carregadas com curcumina como sistema de administração oral de fármacos; **Adv. Nat. Sci Nonosci Nanotechnol**, v.9, n.3, 2018.

HAGHIGHI, Hossein et al. Development of antimicrobial films based on chitosan-polyvinyl alcohol blend enriched with ethyl lauroyl arginate (LAE) for food packaging applications. **Food Hydrocolloids**, v. 100, p. 105419, 2020. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X19317412?casa_token=2tg1eAHFtesAAAAA:SSwSgP9sg1bMo8Je2uWNjG1paQ2_K-TnBUApnpKIQEoOYWlhg-CLdR0zZbU-LVbLCazjeL99bNM. Acesso em: 08 mar. 2025.

HASHEM, H. et al. Rapid authentication of extra virgin olive oil using UV and FTIR spectroscopy. **Middle East Journal of Applied Sciences**, 2020. Disponível em: https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3908528. Acesso em: 08 mar. 2025.

HAVINGA, Reinout M. et al. Tamarindus indica L.(Fabaceae): patterns of use in traditional African medicine. **Journal of ethnopharmacology**, v. 127, n. 3, p. 573-588, 2010. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874109007351?casa_token=u03pKvGsBnUAAAAA:ZmvxLmxPE5W0XrGM41T_nxqHf474xkDhlz_75pN_FbFAso7FEaRYvghTVtmTr0Kb9-wFqpuABFk. Acesso em: 08 mar. 2025.

HELLALI, D. H.; AYACHI, N. Nanoencapsulation of Rosmarinus Officinalis essential oil into Chitosan crosslinked to Tripolyphosphate nanoparticles and alginate/Chitosan nanoparticles: Formulation, characterization, in vitro release study, and in vivo evaluation. **Journal of drug delivery and Therapeutics**, 2023. Disponível em: <https://www.academia.edu/download/110501736/5687.pdf>. Acesso em: 08 mar. 2025.

HILÁRIO, Felipe Ferri et al. Planejamento de misturas e visualização da região ótima com planilhas no excel: um Tutorial. **Química Nova**, v. 44, p. 874-881, 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/hhF6dvGsddFYhY3kfPD8YdL/>. Acesso em: 08 mar. 2025.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Brasília, 2009.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Animal and Vegetable Fats and Oils: Determination of Ultraviolet Absorbance Expressed as Specific UV Extinction**. International Organization for Standardization, 2011.

IOC (INTERNATIONAL OLIVE COUNCIL). Spectrophotometric Investigation in the Ultraviolet. **COI/T. 20/Doc. No 19.**, 2019.

IONASHIRO, Massao. **Fundamentos da Termogravimetria**. Análise Térmica Diferencial. Calorimetria Exploratória Diferencial. São Paulo: Giz, 2004.

JIAO, Qian et al. Skin homeostasis: Mechanism and influencing factors. **Journal of cosmetic dermatology**, v. 23, n. 5, p. 1518-1526, 2024.

KALAYCIOĞLU, Zeynep et al. Antimicrobial and physical properties of chitosan films incorporated with turmeric extract. **International journal of biological macromolecules**, v. 101, p. 882-888, 2017.

KEAN, T; THANOU, M. **Biodegradação, biodistribuição e toxicidade do quitosano**. Adv. Drug. Deliv. Rev, v. 62, n. 1. 2010.

KHAN, Bilawal et al. Box-Behnken Design Assisted Optimization and Characterization of Chitosan Film for Simultaneous Topical Delivery of Ascorbic Acid and Metronidazole. **Pharmaceutics**, v. 17, n. 5, p. 562, 2025.

KHANZADA, Samina Kabir et al. Chemical constituents of Tamarindus indica L. medicinal plant in Sindh. **Pak. J. Bot**, v. 40, n. 6, p. 2553-2559, 2008.

KHODADOUST, S., M. Determination of N-methylcarbamate insecticides in water

samples using dispersive liquid-liquid microextraction and HPLC with the AID of experimental design and desirability function. **Analytica Chimica Acta**, v. 699, 2011

KOC, Behlul et al. Production and characterization of chitosan-fungal extract films. **Food Bioscience**, v. 35, p. 100545, 2020.

KOUSHKI, Ehsan. Effect of conjugation with organic molecules on the surface plasmon resonance of gold nanoparticles and application in optical biosensing. **RSC advances**, v. 11, n. 38, p. 23390-23399, 2021.

KOSTANESKI, Cassia Regina. Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae e aplicação no desenvolvimento de filmes biopoliméricos. 2023. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, 2023.

KRAJEWSKA, Barbara. Application of chitin-and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: a review. **Enzyme and microbial technology**, v. 35, n. 2-3, p. 126-139, 2004.

KURU, Pinar. Tamarindus indica and its health related effects. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 9, p. 676-681, 2014.

KUMAR, Ravindra et al. Estimation of glycerides and free fatty acid in oils extracted from various seeds from the Indian region by NMR spectroscopy. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 88, n. 11, p. 1675-1685, 2011.

KUMAR, Chandini S.; BHATTACHARYA, Sila. Tamarind seed: properties, processing and utilization. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 48, n. 1, p. 1-20, 2008.

KUMAR, M.N. Ravi, React. **Funct. Polym.** v.46, 2000.

LECETA, I., P. Guerrero, K. de la Caba, **Carbohydr. Polym.** v.93, 2013.

LEE, Seung Hun; JEONG, Se Kyoo; AHN, Sung Ku. An update of the defensive barrier function of skin. **Yonsei medical journal**, v. 47, n. 3, p. 293, 2006.

LEMES, M. R. **Extração do Óleo de Gergelim**. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2018.

ŁOJEWSKI, Tomasz et al. FTIR and UV/vis as methods for evaluation of oxidative degradation of model paper: DFT approach for carbonyl vibrations. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 2, p. 370-375, 2010.

LOPES, Dhara Leite. **Avaliação in vitro do potencial de compostos naturais no processo de reparo tecidual**, 2023, 98 f., Dissertação (mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.

LUZIA, Débora Maria Moreno; JORGE, Neuza. Antioxidant activity, fatty acid profile

and tocopherols of *Tamarindus indica* L. seeds. **Food Science and Technology**, v. 31, p. 497-501, 2011.

MACÊDO, Marina de Oliveira Cardoso. **Efeito do tratamento por plasma na proliferação de fibroblastos e esterilização de membranas de quitosana**. 2013. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013.

MALVIYA, Rishabha et al. Fabrication and characterization of chitosan—tamarind seed polysaccharide composite film for transdermal delivery of protein/peptide. **Polymers**, v. 13, n. 9, p. 1531, 2021.

MARAN, J. Prakash et al. Box-Behnken design based multi-response analysis and optimization of supercritical carbon dioxide extraction of bioactive flavonoid compounds from tea (*Camellia sinensis* L.) leaves. **Journal of food science and technology**, v. 52, n. 1, p. 92-104, 2015.

MARTÍNEZ, Andrés et al. Effect of essential oils on growth inhibition, biofilm formation and membrane integrity of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Antibiotics**, v. 10, n. 12, p. 1474, 2021.

MARTINS, Camila Mota. **Valorização de subprodutos do processamento de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) a partir de métodos de extração a alta pressão aplicados aos conceitos de biorrefinaria**. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2022.

MATIAS, Lídia Leonize Rodrigues. **Novas alternativas para o tratamento contra infecções bacterianas: avaliação do potencial do inibidor de tripsina isolado de semente de tamarindo (ITT) como agente anti-infeccioso**. 2024. Tese (Doutorado em Bioquímica e Biologia Molecular) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2024.

MARTINS, Pierre Corrêa. Estudo da influência de uma fase lipídica na aglomeração de pós alimentícios. Campinas: UNICAMP, 2006.

MENDONÇA, Vander et al. Diferentes ambientes e Osmocote® na produção de mudas de tamarindeiro (*Tamarindus indica*). **Ciência e agrotecnologia**, v. 32, p. 391-397, 2008.

MOHAMED, H.; MOHAMED, B.; AHMED, K. Physicochemical Properties of Tamarind (*Tamarindus indica*) Seed Polysaccharides. **Journal of Food Processing & Technology**, v. 06, n. 06, p. 6–10, 2015.

MONTGOMERY, Douglas C.; RUNGER, George C. **Estatística Aplicada e Probabilidade para Engenheiros**. 7.ed. Rio de Janeiro: LTC, 2021.

MORGADO, Patrícia I.; AGUIAR-RICARDO, Ana; CORREIA, Ilídio J. Asymmetric membranes as ideal wound dressings: An overview on production methods, structure, properties and performance relationship. **Journal of Membrane Science**,

v. 490, p. 139-151, 2015.

MORGADO, Patrícia I. et al. Ibuprofen loaded PVA/chitosan membranes: A highly efficient strategy towards an improved skin wound healing. **Carbohydrate polymers**, v. 159, p. 136-145, 2017.

MORGADO, Patrícia I. et al. Poly (vinyl alcohol)/chitosan asymmetrical membranes: Highly controlled morphology toward the ideal wound dressing. **Journal of membrane science**, v. 469, p. 262-271, 2014.

MUHAMMAD, K. WAQAS et al. Skin lightening and sebum control efficacy of a cosmetic emulsion containing extract of tamarind seeds on Asian skin type. **Latin Am J Pharm**, v. 34, p. 570-5, 2015.

MUÑOZ-LABRADOR, Ana; PRODANOV, Marin; VILLAMIEL, Mar. Effects of high intensity ultrasound on disaggregation of a macromolecular procyanidin-rich fraction from *Vitis vinifera* L. seed extract and evaluation of its antioxidant activity. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 50, p. 74-81, 2019.

NAM, Seong-Nam et al. Photocatalytic degradation of acesulfame K: optimization using the Box–Behnken design (BBD). **Process Safety and Environmental Protection**, v. 113, p. 10-21, 2018.

NING, Ruxia et al. Antimicrobial multi-crosslinking tamarind xyloglucan/protein-chitosan coating packaging films with self-recovery and biocompatible properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 279, p. 134949, 2024.

NIST/SEMATECH. **e-Handbook of Statistical Methods**. Disponível em: <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/>, Acesso em: 05 jun. 2025.

NWODO, Uchechukwu U. et al. Assessment of *Tamarindus indica* extracts for antibacterial activity. **International journal of molecular sciences**, v. 12, n. 10, p. 6385-6396, 2011.

OKELLO, Jaspher et al. Physicochemical composition of *Tamarindus indica* L.(Tamarind) in the agro-ecological zones of Uganda. **Food Science & Nutrition**, v. 6, n. 5, p. 1179-1189, 2018.

OLAGUNJU, Omotola F. et al. Effects of fermentation on proximate composition, mineral profile and antinutrients of tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed in the production of daddawa-type condiment. **LWT**, v. 90, p. 455-459, 2018.

OLUSEYI, Ezekiel Olufunke; TEMITAYO, Oyesiku Morenike. Chemical and functional properties of fermented, roasted and germinated tamarind (*Tamarindus indica*) seed flours. **Nutrition & Food Science**, v. 45, n. 1, p. 97-111, 2015.

PÁEZ-PENÚÑURI, Maria E. et al. Compuestos bioactivos y propiedades saludables del tamarindo (*Tamarindus indica* L.). **Biotecnia**, v. 18, n. 1, p. 10-21, 2016.

PANCHAL, Balaji; DESHMUKH, Sanjay; SHARMA, Munish. Optimization of oil extraction and characterization from *Tamarindus indica* Linn seed oil. **International Journal of Oil, Gas and Coal Engineering**, v. 2, n. 1, p. 1-6, 2014.

PASSOS, Elisangela de Andrade. **Métodos instrumentais de análise**. São Cristóvão: Universidade Federal de Sergipe, CESAD, 2011.

PENG, Y *et al.* **Food Sci. Technol.** v.48, 2013. PERDONES, Á. *et al.* **Food Hydrocoll.** v.36, 2014.

PEREDA, Mariana; AMICA, Guillermina; MARCOVICH, Norma E. Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. **Carbohydrate polymers**, v. 87, n. 2, p. 1318-1325, 2012

PEREDA, M. *et al.* Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, 2012.

PONCE *et al.* Postharvest. **Biol. Technol.** v.49, 2008.

PEREIRA, Letícia T.; SOUSA, Jeferson P. de; RIBEIRO, Leomara F. Avaliação da permeabilidade do vapor de água de filmes bioativos de *Clitoria ternatea* L. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos – B.CEPPA**, Curitiba, v. 42, n. 1, p. 1-10, jan./jun. 2024.

PÉREZ, Fernando Lucambio. **Planejamento de Experimentos – DoE. Capítulo 10- Metodologia de superfície de resposta**. Universidade Federal do Paraná. 2024. Disponível em: <http://leg.ufpr.br/~lucambio/DoE/DoE10.html>. Acesso em: 17 ago. 2025.

PONTES, Dyovana; FERNANDES, V. **PATENSE AGROECOLOGIA FICHA TECNICA QUITOSANA EM PÓ**. Originals biotech industria e comercio de produtos naturasi ltda, 2022 Trabalho de Conclusão de Curso. 2022.

PRATIWI, Restiani Alia; NANDIYANTO, Asep Bayu Dani. How to read and interpret UV-VIS spectrophotometric results in determining the structure of chemical compounds. **Indonesian Journal of Educational Research and Technology**, v. 2, n. 1, p. 1-20, 2022.

PUGALENTHI, M. *et al.* Comparative nutritional evaluation of little known legumes, *Tamarindus indica*, *Erythrina indica* and *Sesbania bispinosa*. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 4, n. 3, p. 107-123, 2004.

QUEIROZ, Jaluza Luana Carvalho de. **Nanoencapsulação do inibidor de tripsina isolado de sementes de Tamarindus Indica (L.) em quitosana e proteína do leite isolada: caracterização de partículas, estudo da eficiência e estabilidade da atividade antitriptica**. 2018. 67f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2018.

REDDY, A. B. *et al.* 5- filmes nanocompósitos de quitosana-PVA/Na MMT carregados com fluorouracil para liberação de drogas e atividade antimicrobiana,

Nano-Micro Lett. v.8, 2016.

REIS, Páulia Maria Cardoso Lima. **Extração e avaliação do potencial antioxidante dos extratos obtidos da semente do tamarindo doce (Tamarindus indica)**. 2013. 118 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2013.

REIS, Páulia Maria Cardoso Lima et al. Extraction and evaluation of antioxidant potential of the extracts obtained from tamarind seeds (*Tamarindus indica*), sweet variety. **Journal of Food Engineering**, v. 173, p. 116-123, 2016.

REKSHMYD'DHARAN, Shawna; ROY, Anitha. Epicatechin – nature's extraordinary therapeutic agent: a review. **International Journal of PharmTech Research**, v. 5, n. 4, p. 1816-1822, 2013.

RIBEIRO, Ana Carolina Barbosa. **Filmes ativos de pectina e compostos fenólicos da casca da manga para aplicação em embalagens de alimentos**. 2022. 98 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.

RINAUDO, Marguerite. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in polymer science**, v. 31, n. 7, p. 603-632, 2006.

RINAUDO, M., **Prog. Polym. Sci.** v.31, 2006.

RODRIGUES, Helisvanhah Gretta Antunes. **Efeito de revestimentos comestíveis incorporados com extrato de semente de tamarindo na qualidade de goiabas estocadas à temperatura ambiente**. 2019. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2019.

RODRIGUES, Lais Oliveira et al. Produção de biofilme de quitosana, reduzida da quitina, extraída de exoesqueleto de crustáceos: proposta e disponibilização sustentável. **Brazilian Applied Science Review**, v. 4, n. 1, p. 218-239, 2020.

RODRIGUES, Murilo Álisson Vigilato. **Biomateriais de quitosana/gelatina com resina de jatobá: influência do grau de acetilação da quitosana e da inclusão da resina**. 2017. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica e Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017. DOI: <https://doi.org/10.11606/D.75.2017.tde-23052017-095341>.

ROSSETO, Marieli et al. Adição de compostos bioativos em embalagens alimentícias ativas e inteligentes: tendências, avanços e desafios. **Compostos Bioativos e Suas Aplicações**, 2021.

RUIZ-NAVAJAS, Y. et al. **Food Control**. v.30, 2013.

SAAD, Nizar Y.; MULLER, Christian D.; LOBSTEIN, Annelise. Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 28, n. 5, p. 269-279, 2013.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L. *et al.* Physical and antimicrobial properties of chitosan–tea tree essential oil composite films. **Journal of Food Engineering**, v. 98, n.4, 2010.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, Laura *et al.* Effect of essential oils on properties of film forming emulsions and films based on hydroxypropylmethylcellulose and chitosan. **Journal of Food Engineering**, v. 105, n. 2, p. 246-253, 2011.

SANTOS, Fabiana Gonçalves dos. **Preparação de scaffolds de poliuretano a partir de técnicas de lixiviação e CO₂ supercrítico**. 2019. Tese (Doutorado em Engenharia e Tecnologia de Materiais) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais (PGETEMA), Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019.

SANTOS, L. J. da C *et al.* Síntese e caracterização físico-química de biofilme de quitosana associado com extrato de *Cinnamomum zeylanicum*. **Disciplinarum Scientia**, v. 24 n. 2, 2023.

SAENZ-MENDOZA, Alma Iveth *et al.* Characterization of insect chitosan films from *Tenebrio molitor* and *Brachystola magna* and its comparison with commercial chitosan of different molecular weights. **International journal of biological macromolecules**, v. 160, p. 953-963, 2020.

SCHIEFER, Hartmut; SCHIEFER, Felix. Statistical design of experiments (DoE). In: **Statistics for Engineers: An Introduction with Examples from Practice**. Wiesbaden: Springer Fachmedien Wiesbaden, p. 1-20. 2021.

SCHREML, S. *et al.* The impact of the pH value on skin integrity and cutaneous wound healing. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 24, n. 4, p. 373-378, 2010.

SHANUGAPRIYAM K., *et al.* Fabrication of multifunctional chitosan-based nanocomposite film with rapid healing and antibacterial effect for wound management, *Int. J. Biol. Macromol.* v.118, 2018.

SIBANDA, Wilbert; PRETORIUS, Philip. Comparative study of the application of central composite face-centred (CCF) and Box–Behnken designs (BBD) to study the effect of demographic characteristics on HIV risk in South Africa. **Network Modeling Analysis in Health Informatics and Bioinformatics**, v. 2, n. 3, p. 137-146, 2013.

SILVA, K. C. da *et al.* Café com quimiometria: uma aplicação do planejamento fatorial fracionário. *Química Nova*, v. 46, n. 1, 2023.

SILVA, R.T.D *et al.* Physico-chemical characterization of chitosan/halloysite composite membranes, **Polym. Test.** v.32, 2013.

SILVA, L. M. de Q.; MORAIS, M. S. N. de. **Planejamento fatorial aplicado a cinética de secagem do mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC.)**. Congresso Nacional de Pesquisa e Ensino em Ciências. V CONAPESC, 2020.

SILVA, Gerarda Beatriz Pinto da et al. Tempo de germinação e desenvolvimento inicial na produção de mudas *Tamarindus indica* L. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 2, p. 15, 2011.

SINGH, Tarun Pal; CHATLI, Manish Kumar; SAHOO, Jhari. Development of chitosan based edible films: process optimization using response surface methodology. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 5, p. 2530-2543, 2015.

SOUTO, Ariosto Buller *et al* (coord). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

SOUZA, Claudia Ache Saldanha de; AVANCINI, César Augusto Marchionatti; WIEST, José Maria. Atividade antimicrobiana de *Tagetes minuta* L.-Compositae (Chinchilho) frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 37, p. 429-433, 2000.

STALDER, A.F *et al*. Snake-Based Approach to Accurate Determination of Both Contact Points and Contact Angles. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical And Engineering Aspects**, v. 286, n. 1-3, 2006.

SZPISJÁK-GULYÁS, Nikolett et al. Methods for experimental design, central composite design and the Box–Behnken design, to optimise operational parameters: A review. **Acta Alimentaria**, v. 52, n. 4, p. 521-537, 2023.

SZPISJÁK-GULYÁS, Nikolett et al. Methods for experimental design, central composite design and the Box–Behnken design, to optimise operational parameters: A review. **Acta Alimentaria**, v. 52, n. 4, p. 521-537, 2023.

TABASSUM, Zeba et al. ZnO nanoparticles-reinforced chitosan–xanthan gum blend novel film with enhanced properties and degradability for application in food packaging. **ACS omega**, v. 8, n. 34, p. 31318-31332, 2023.

THAKUR, S.G.; SINGH, A., I.. Formulation and evaluation of transdermal composite films of chitosan-montmorillonite for the delivery of curcumin, Int. **J. Pharm. Investig.** v.6, 2016.

TARIQ, Huma et al. Micellar synthesis of lime oil-loaded chitosan microstructures for the sustainable development of antibacterial cellulosic fabric. **Cellulose**, v. 30, n. 17, p. 11177-11194, 2023.

TSUDA, Takanori et al. Antioxidative components isolated from the seed of tamarind (*Tamarindus indica* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 12, p. 2671-2674, 1994.

UNCU, Oguz; OZEN, Banu; TOKATLI, Figen. Use of FTIR and UV–visible spectroscopy in determination of chemical characteristics of olive oils. **Talanta**, v. 201, p. 65-73, 2019.

VELASCO, David Coverdale Rangel et al. Influência da incorporação de resíduos na

permeabilidade ao vapor de água de compósitos de matriz epoxídica/Influence of the incorporation of waste on the water vapor permeability of epoxide matrix composites. **Braz J Dev**, v. 8, n. 4, p. 24272-24282, 2022.

VENEGAS-CERVERA, G. A., *et al.* Biocompatibility studies of polyurethane Electrospun membranes based on arginine as chain extender. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 32, n.11, 2021.

WANG, Zi-Quan *et al.* Tailoring functional chitosan films using deep eutectic solvents extracts of propolis for active food packaging. **Food Hydrocolloids**, p. 111822, 2025.

WANG, Mengman *et al.* Effects of *Tenebrio molitor* protein emulsion on the properties, and structure of myofibrillar protein gel. **Lwt**, v. 189, p. 115511, 2023.

WIŃSKA, Katarzyna *et al.* Essential oils as antimicrobial agents—myth or real alternative? **Molecules**, v. 24, n. 11, p. 2130, 2019.

WU, C. S. **Handbook of Size Exclusion Chromatography and Related Techniques** (Manual de cromatografia de exclusão de tamanho e técnicas relacionadas): Revisado e ampliado, CRC Press, 2003.

YAHIA, E. M.; SALIH, NK-E. Tamarind (*Tamarindus indica* L.). In: **Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits**. Woodhead Publishing, 2011. p. 442-458e.

YANG, H.; HUA S.; WANG, W. A. Wang, Composite hydrogel beads based on chitosan and laponite: preparation, swelling, and drug release behaviour, Iran. **Polym. J.** n.20, 2011.

YUDINA, Yulia V. *et al.* Propolis oil extract: qualitative and quantitative aspects. *Journal of Chemistry and Technologies*, v. 31, n. 2, p. 309-317, 2023.

ZHANG, Wanli; CAO, Jiankang; JIANG, Weibo. Analysis of film-forming properties of chitosan with different molecular weights and its adhesion properties with different postharvest fruit surfaces. **Food Chemistry**, v. 395, p. 133605, 2022.

ZIVANOVIC, S., CHI, S., & DRAUGHON, A. F. Antimicrobial Activity of Chitosan Films Enriched with Essential Oils. **Journal of Food Science**, n.70, v. 1, 2005.

ANEXO A – CARACTERÍSTICAS INFORMADAS PELO FABRICANTE

NIVEIS DE GARANTIA			PATENSE AGROECOLOGIA		
PARÂMETROS		ESPECIFICAÇÕES		MÉTODO DE TESTE	
Aparência		Pó branco/amarelado/odor característico.		NA	
Umidade		10%		USP: 44 2021	
Cinzas totais		3%		USP: 44 2021	
Turbidez		35 NTU		USP:44 2021	
PH		07-09;		USP:44 2021	
Grau de desacetilação		85%		USP:44 2021	
Tamanho das partículas		80 MESH		USP: 44 2021	
Solubilidade de Ác. Acético		30 min		USP:44 2021	
Viscosidade		2000(mPa.s)		USP:44 2021	
Peso molecular		300 Kda		POLIMEROS ,VOL 23,N.5 P 630-635,2013	
Densidade aparente		0,18		USP:44 2021	

Fonte: Empresa Patense Agroecologia LTDA, 2025.