

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

DISSERTAÇÃO

**Hidrogéis de Carboximetil Celulose Sódica Carregados com Óleos Bioativos
e Ureia Para o Tratamento de Feridas**

SILVANE HOLANDA SOARES

2019



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

HIDROGÉIS DE CARBOXIMETIL CELULOSE SÓDICA
CARREGADOS COM ÓLEOS BIOATIVOS E UREIA PARA O
TRATAMENTO DE FERIDAS

SILVANE HOLANDA SOARES

Sob a Orientação da Professora

Renata Nunes Oliveira

e Co-orientação da Professora

Rosane Nora Castro

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Engenharia Química**, no curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, Área de Concentração em Tecnologia Química.

Seropédica, RJ

Fevereiro de 2019

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S676h Soares, Silvane Holanda, 1993-
Hidrogéis de Carboximetil Celulose Sódica
Carregados com Óleos Bioativos e Ureia Para o
Tratamento de Feridas / Silvane Holanda Soares. -
2019.
91 f.: il.

Orientadora: Renata Nunes Oliveira.
Coorientadora: Rosane Nora Castro.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Química, 2019.

1. Hidrogéis. 2. Óleos bioativos. 3. Ureia. 4.
Curativos. 5. Cicatrização de feridas. I. Oliveira,
Renata Nunes, 1984-, orient. II. Castro, Rosane Nora,
1965-, coorient. III Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Engenharia
Química. IV. Título.

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

“This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001”

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

SILVANE HOLANDA SOARES

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Engenharia Química**, no Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, área de Concentração em Tecnologia Química.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 19 / 02 / 2019

Dra. Renata Nunes Oliveira. IT - UFRRJ

(Orientadora)

Dra. Ana Paula Duarte Moreira. PEMM-UFRRJ

Dr. Alexandre Miguel do Nascimento. IF-UFRRJ

Dr. Hélio Fernandes Machado Júnior. IT – UFRRJ

Dr. Luiz Henrique Guerreiro Rosado. PPGEQ – UFRRJ

Dedico este trabalho à minha mãe, a meu noivo e meus amigos, que por meio do apoio incondicional em todos os momentos, principalmente os mais difíceis, eu tive força e determinação para alcançar este sonho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me proporcionar saúde e força para jamais desistir frente às dificuldades advindas dos dois anos de curso.

Agradeço essencialmente o apoio da minha família que sempre acreditou na minha capacidade, sobretudo a minha mãe, Sílvia, que sempre acreditou na minha competência e potencial, por isso jamais desistiu de mim, não tenho palavras para descrever o quão maravilhosa e amorosa é a minha mãe. Seu jeito protetor faz com que me sinta coberta por um manto de amor e carinho e dentre todas as pessoas deste mundo, ela é a que mais amo e admiro. Eu te amo, mãe.

Agradeço ao meu noivo, Maurício, que por meio do seu apoio tive forças para superar muitas dificuldades. Obrigada por sempre está ao meu lado em todos os momentos. Seus pequenos gestos de amor e sua paciência comigo fizeram com que eu pudesse alcançar grandes objetivos. Desejo que sempre estejamos juntos e que continuemos com nossa cumplicidade.

Agradeço todo o apoio dos meus amigos do Piauí, Angelina, Larissa, Diego e Pedro, e também as novas amigas de pessoas maravilhosas que conheci na universidade rural, Carol, Alessandra, Edson, Hugo e outras pessoas que colaboraram para o alcance desse sonho. Especialmente minha maninha Carol, pessoa mais meiga e de coração mais bondoso.

Agradeço as amigas feitas no alojamento da pós-graduação da rural, Antônio, Tainara e outras pessoas que jamais irei esquecer. O apoio de todos foi muito importante para o alcance deste objetivo.

Agradeço as minhas orientadoras Dra. Renata Nunes Oliveira e Dra. Rosane Nora Castro, que me acolheram e me ensinaram grandes aprendizagens que jamais serão esquecidas. Especialmente a Renata que me acolheu desde o início e recebeu-me com imenso carinho.

Agradeço a UFRRJ pelo espaço de aprendizagem e pelo alojamento. Aos professores do programa por todos os ensinamentos e aos professores convidados para as bancas de seminários e a banca de defesa pela presença.

RESUMO

SOARES, Silvane Holanda. **Hidrogéis de carboximetil celulose sódica carregados com óleos bioativos e ureia para o tratamento de feridas.** 2019. 92 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química, Polímeros). Instituto de Tecnologia, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

O trabalho apresenta a síntese, caracterização e o estudo acerca de hidrogéis de carboximetil celulose sódica (Na-CMC) para liberação de óleos bioativos e de hidratante de ureia, objetivando à obtenção de filmes curativos que possam auxiliar no processo de cicatrização de feridas, como úlceras de pressão. A obtenção dos hidrogéis ocorreu pelo do método de *casting* com reticulação física com ácido cítrico para melhorar a resistência mecânica. Os filmes obtidos foram submetidos a um intumescimento em diferentes óleos (óleo de *Copaifera langsdorffii*, óleo de *Melaleuca armillaris* e óleo de *Melaleuca alternifolia*) e em hidratante de ureia 2%, no qual se avaliou a liberação destes em meio com solução fisiológica em que foi possível verificar que houve ação do ácido cítrico devido a um aumento na resistência à água. Os filmes após o período de absorção foram submetidos a análises no FTIR, que caracterizou os óleos e a ureia, bem como avaliou os filmes antes e após do teste de intumescimento verificando interações físicas e químicas entre eles e também foi possível identificar a interação do ácido cítrico nos filmes, TGA para a avaliação térmica verificando os decaimentos e a perda de massa com o auxílio da derivada primeira, a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM) foi um teste utilizado para identificar os constituintes químicos presentes nos óleos bioativos para posteriormente os mesmos serem quantificados. O ensaio mecânico sob tração avaliou a resistência dos filmes hidrogéis sem e com a incorporação em que se verificou a presença de uma maior flexibilidade em alguns filmes. Foram realizados testes antimicrobianos para os óleos, pelo método de difusão em ágar Mueller-Hinton, e para os filmes hidrogéis teste *in vitro*, em que ambos foram realizados na presença de bactérias *Staphylococcus aureus*, no qual os óleos exibiram halos de inibição superiores ao esperado e os filmes apresentaram atividade antimicrobiana inibindo totalmente a ação da bactéria.

Palavras – chave: Hidrogéis, Óleos bioativos, Ureia, Curativos, Cicatrização de feridas.

ABSTRACT

SOARES, Silvane Holanda. **Sodium carboxymethyl cellulose hydrogels loaded with bioactive oils and urea for the treatment of wounds.** 2019. 92 p. Dissertation (Master Science in Chemical Engineering, Polymers) Institute of Technology, Department of Chemical Engineering, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

The work presents the synthesis, characterization and the study on sodium carboxymethyl cellulose (Na-CMC) hydrogels for the delivery of bioactive oils and urea moisturizer, aiming to obtain healing films for wound care, such as pressure ulcers. The hydrogels were obtained by the *casting* method with physical crosslinking with citric acid to improve the materials mechanical strength. The obtained films were submitted to immersion in different oils (*Copaifera langsdorffii* oil, *Melaleuca armillaris* oil and *Melaleuca alternifolia* oil) and in 2% urea moisturizer, in which it was evaluated the oils release to the saline solution. It was possible to verify that there was an increase in water resistance due to citric acid action. The oils, urea moisturizer and the films after the absorption period were submitted to FTIR analysis, as well as the films before and after the swelling test to analyze the physical and/or chemical interactions between the materials. It was possible to identify the interaction of citric acid with the materials. The TGA was used to thermal evaluation, where thermal decays and the loss of mass were evaluated. Gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) was a test used to identify the chemical constituents present in the bioactive oils. The tensile tests evaluated the strength of the films. The addition of oils/urea granted greater flexibility in some films. Antimicrobial tests were performed with the oils and the films by the Mueller-Hinton agar diffusion method, using the bacteria *Staphylococcus aureus*, the oils exhibited inhibition halos considerably high and the films showed antimicrobial activity against *S. aureus*.

Key words: Hydrogels, Bioactive oils, Urea, Dressings, Wound healing.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Processo de cicatrização de feridas.	18
Figura 2 – Capilares sem e com excesso de pressão.	20
Figura 3 – Área de atuação de alguns polímeros.	27
Figura 4 – Estrutura da Celulose.	30
Figura 5 – Estrutura química da carboximetil celulose.	30
Figura 6 – Representação da Carboximetil celulose sódica.	31
Figura 7 – Carboximetil celulose sódica reticulada fisicamente com ácido cítrico.	32
Figura 8 – Esquemática do método de <i>casting</i> para obtenção dos filmes poliméricos.	41
Figura 9 – Etapas de obtenção e caracterização dos hidrogéis.	42
Figura 10 – Filmes produzidos através do modo I.	48
Figura 11 – Filmes produzidos pelo modo II.	49
Figura 12 – Grau de intumescimento modo I.	50
Figura 13 – Grau de intumescimento modo II.	51
Figura 14 – Fração gel e Perda de massa modo I.	52
Figura 15 – Fração gel e Perda de massa modo II.	53
Figura 16 – Espectros de FTIR de ácido cítrico (AC pó), Na-CMC (Na-CMC pó), bem como dos hidrogéis Branco I e II antes e após intumescimento (PI).	54
Figura 17 – Espectros de FTIR das amostras do óleo de <i>Copaifera langsdorffii</i> e da ureia.	57
Figura 18 – Espectros de FTIR das amostras dos óleos de <i>Melaleuca armillaris</i> (MA) e <i>Melaleuca alternifolia</i> (MTT).	57
Figura 19 – Espectros de FTIR das amostras dos filmes após a incorporação do óleo de <i>Copaifera langsdorffii</i> pelo modo I.	59
Figura 20 – Espectros de FTIR das amostras dos filmes após a incorporação do óleo de <i>Copaifera langsdorffii</i> pelo modo II.	60
Figura 21 – Espectros de FTIR das amostras dos filmes após a incorporação do óleo de <i>M. armillaris</i> pelo modo I.	61
Figura 22 – Espectros de FTIR das amostras dos filmes após a incorporação do óleo de <i>M. alternifolia</i> pelo modo I.	61
Figura 23 – Espectros de FTIR das amostras após a incorporação do óleo de <i>M. armillaris</i> pelo modo II.	62

Figura 24 – Espectros de FTIR das amostras dos filmes após a incorporação do óleo de <i>M. alternifolia</i> pelo modo II.	63
Figura 25 – Espectros de FTIR das amostras dos filmes após a incorporação do hidratante de ureia pelo modo I.	64
Figura 26 – Espectros de FTIR das amostras dos filmes após a incorporação do hidratante de ureia pelo modo II.	64
Figura 27 – Constituintes majoritários presentes no óleo de <i>Copaifera langsdorffii</i> .	68
Figura 28 – Constituintes majoritários presentes no óleo de <i>Melaleuca armillaris</i> .	69
Figura 29 – Constituintes majoritários presentes no óleo de <i>Melaleuca alternifolia</i> .	69
Figura 30 – Curva de TGA e DTGA do ácido cítrico anidro em pó e da carboximetil celulose sódica em pó.	70
Figura 31 – Curva de TGA e DTGA dos Brancos I e II.	71
Figura 32 – Curva de TGA e DTGA dos filmes de Na-CMC com o óleo de <i>Copaifera langsdorffii</i> .	72
Figura 33 – Curva de TGA e DTGA dos filmes de Na-CMC com o óleo de <i>Melaleuca armillaris</i> .	73
Figura 34 – Curva de TGA e DTGA dos filmes de Na-CMC com o óleo de <i>Melaleuca alternifolia</i> .	73
Figura 35 – Curva de TGA e DTGA dos filmes de Na-CMC com o hidratante de ureia.	74
Figura 36 – Ensaio mecânico dos filmes sintetizados pelo modo I.	77
Figura 37 – Ensaio mecânico dos filmes sintetizados pelo modo II.	78
Figura 38 – Formação dos halos de inibição da ampicilina.	79
Figura 39 – Halos de inibição contra as cepas – SA 1.	80
Figura 40 – Halos de inibição contra as cepas – SA 2.	80
Figura 41 – Amostras da análise antimicrobiana do (a) teste padrão e da (b) análise com os filmes.	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Processo biológico de cicatrização das feridas ‘continua’.	18
Tabela 2 – Curativos ‘continua’.	22
Tabela 3 – Exemplos de curativos e suas indicações ‘continua’.	23
Tabela 4 – Identificação espectroscópica de AC pó, Na-CMC Pó e os filmes (NAMAZI <i>et al.</i> , 2016; HU; QIANG; WANG, 2017; CAPANEMA <i>et al.</i> , 2018).	55
Tabela 5 – Identificação espectroscópica da ureia e do óleo de <i>Copaifera langsdorffii</i> (VALÁŠKOVÁ <i>et al.</i> , 2007; PAIVA <i>et al.</i> , 2010).	56
Tabela 6 – Identificação espectroscópica da família Myrtaceae (PAIVA <i>et al.</i> (2010)).	58
Tabela 7 – Constituintes químicos identificados nos óleos analisados.	66
Tabela 8 – Resultados da análise termogravimétrica ‘continua’.	74
Tabela 9 – Propriedades mecânicas das amostras.	76
Tabela 10 – Avaliação do diâmetro dos halos de inibição, onde R = resistente e S = sensível.	79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	Ácido cítrico.
CG	Cromatografia em fase gasosa.
CMC	Carboximetil celulose.
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa.
DSC	Calorimetria diferencial de varredura.
DRX	Difração de raios X.
FG	Fração gel.
FTIR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier.
GI	Grau de intumescimento.
HTCC	Cloreto de quitosano de N- (2-hidroxil) propil-3-trimetilamônio.
MA	<i>Melaleuca armillaris</i> .
MTT	<i>Melaleuca alternifolia</i> .
MC	Metilcelulose.
MEV	Microscopia eletrônica de varredura.
MET	Microscopia eletrônica de transmissão.
Na-CMC	Carboximetil celulose sódica.
OC	<i>Copaifera langsdorffii</i> .
PM	Perda de Massa.
TGA	Análise Termogravimétrica.
UFC/mL	Unidade formadora de colônia por mililitro.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 Feridas.....	16
2.1.1 Úlceras de pressão.....	19
2.1.2 Tratamentos convencionais	21
2.1.3 Hidratação	25
2.2 Hidrogéis.....	27
2.2.1 Hidrogéis de Na-CMC: obtenção e características	29
2.3 Produtos naturais aplicados à cicatrização – óleos bioativos	35
2.3.1 Óleo de <i>Copaifera langsdorffii</i>	35
2.3.2 Óleo de Melaleuca.....	36
2.3.2.1 Óleo de <i>Melaleuca alternifolia</i>	37
2.3.2.2 Óleo de <i>Melaleuca armillaris</i>	38
3 OBJETIVOS.....	39
3.1 Objetivo geral	39
3.2 Objetivos específicos	39
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
4.1 Materiais	40
4.2 Preparo dos hidrogéis.....	40
4.3 Caracterização dos hidrogéis	41
4.3.1 Ensaio de intumescimento.....	42
4.3.2 Análise Microestrutural por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier – FTIR	43
4.3.3 Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa (CG-EM)	43
4.3.4 Análise térmogravimétrica	44

4.3.5 Ensaio mecânico.....	44
4.3.6 Atividade antimicrobiana dos óleos	45
4.3.7 Análise antimicrobiana <i>in vitro</i> dos filmes	46
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1 Os hidrogéis – aspecto macroscópico	48
5.2 Ensaio de intumescimento	50
5.3 Análise espectroscópica por FTIR	54
5.4 Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa (CG-EM).....	65
5.5 Análise Termogravimétrica (TGA)	70
5.6 Ensaio mecânico	75
5.7 Atividade antimicrobiana dos óleos.....	78
5.8 Análise antimicrobiana <i>in vitro</i> dos filmes	81
6 CONCLUSÃO.....	83
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	86
REFERÊNCIAS	87

1 INTRODUÇÃO

Os hidrogéis são biomateriais que podem ser sintetizados mediante o uso de um ou mais polímeros, os quais apresentam biocompatibilidade, por exemplo, a aceitação de implantes dentários ou o uso de hidrogéis para cicatrização de feridas. Há diversas designações para o uso de hidrogéis, havendo no mercado uma variedade de polímeros de fácil obtenção e utilização no cenário industrial, como, por exemplo, a carboximetil celulose sódica. Este polímero advém da celulose que é um dos polissacarídeos de origem natural que apresenta algumas desvantagens, uma vez que, a celulose é insolúvel em água e não pode ser digerida pelo corpo humano, deste modo, podem ser realizadas reações nucleofílicas de modo a torná-la hidrossolúvel e biocompatível com o corpo humano (KAMEL *et al.*, 2008).

A carboximetil celulose sódica apresenta alto grau de hidrossolubilidade e quando em meio aquoso ocorre uma quebra das ligações entre suas moléculas devido à presença de água. Um dos meios de contornar este problema é utilizando um reticulante, este não deve ser tóxico e/ou agressivo ao corpo humano. Muitos trabalhos optam em utilizar o ácido cítrico devido este, até o presente momento, não ter demonstrado ser prejudicial à saúde humana, tendo em vista que o ácido cítrico está presente geralmente nas frutas cítricas, representando aproximadamente 10% em massa. O ácido cítrico forma ligações éster com a carboximetil celulose sódica e aumenta os pontos de ligação, devido à grupamentos carboxílicos e hidroxilas livre, podendo realizar incorporações devido as interações iônicas ou ligações de hidrogênio, bem como por melhorar as propriedades mecânicas (KAMEL *et al.*, 2008; GHORPADEA, YADAV; DIAS, 2017).

Novas pesquisas, utilizando polímeros ou blendas poliméricas, são desenvolvidas como meio de obter algumas alternativas tecnológicas para o uso de curativos a base de biomateriais que apresentem fármacos incorporados que possam acelerar o tempo de cicatrização, bem como proteger a epiderme de agentes externos. Contudo, a incorporação de fármacos é um processo que muitas vezes demandam alto custo e ainda pode apresentar rejeição quando em contato com o corpo humano. Uma maneira de mudar este cenário pode ser utilizando produtos naturais ao invés de fármacos, tendo em vista que eles estão presentes

na medicina popular desde os primórdios da humanidade e estudos sobre a ação destes produtos para tratamentos, como, por exemplos, feridas ou úlceras de pressão, evidenciam a sua ação e eficácia, contudo, vale ressaltar que o uso de produtos de origem natural depende de alguns fatores como, por exemplo, grau da enfermidade e a área do corpo que será tratada. Diversos tratamentos na medicina popular utilizam óleos derivados de partes de plantas, como folhas ou sementes, que apresentam bioatividade como ação anti-inflamatória, antifúngica, antitumoral, dentre outras (BASER; BUCHBAUER, 2009).

Os trabalhos existentes na literatura sobre óleos explanam sobre os constituintes e as respectivas ações que estes podem apresentar durante um tratamento. O presente trabalho opta por realizar incorporações utilizando diferentes óleos, tendo em vista que são escassos trabalhos que se evidencia este tipo de incorporação. De modo geral, os trabalhos pesquisados visam à incorporação de fármacos em hidrogéis para liberação controlada. Os óleos escolhidos para serem pesquisados foram o óleo de copaíba, da espécie *Copaifera langsdorffii*, óleo de *Melaleuca armillaris* e óleo de *Melaleuca alternifolia*. Nestes óleos foram evidenciadas a presença de constituintes que auxiliam na regeneração de epiderme, ação antifúngica, antimicrobiana, dentre outras (BASER; BUCHBAUER, 2009).

A hidratação também é relevante durante o processo de cicatrização e tratamento de feridas, uma vez que deixar o meio hidratado previne ou reduz o surgimento de cicatrizes durante o processo de regeneração formando uma barreira protetora da epiderme prevenindo o ressecamento da pele (WANG *et al.*, 2018).

Os hidrogéis possuem um elevado grau de aceitação no corpo humano e exibem várias aplicações para o uso como um biomaterial, uma vez que apresentam várias propriedades como a biocompatibilidade. Visando e analisando o uso de óleos com finalidades curativas e a importância de manter a área em processo de regeneração hidratada é que este trabalho propôs a síntese e caracterização de hidrogéis à base de carboximetil celulose sódica com reticulação física com ácido cítrico que possa incorporar óleos bioativos e hidratante de ureia para posterior liberação, com a finalidade de obter-se um curativo para o tratamento de feridas, como as úlceras de pressão.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Feridas

As feridas são lesões ou modificações na pele que podem advir de traumas, pancadas, golpes, processos inflamatórios ou degenerativos, algum distúrbio do metabolismo, queimaduras, úlceras de pressão, dentre outros. As lesões são ocasionadas por meio de um rompimento da estrutura e conseqüentemente do funcionamento da região, em que haverá uma reorganização celular com o objetivo de regenerar a estrutura e reaver sua função. As lesões podem ocorrer por meio de uma ruptura na pele, ou seja, um rompimento na barreira protetora entre o meio externo e interno ocasionando uma descontinuidade da função anatômica normal (SILVA, 2011).

Segundo Smaniotto *et al.* (2010), as feridas são caracterizadas por uma interrupção do sistema tegumentar, geralmente denominado como pele, que corresponde ao sistema caracterizado pelo conjunto que forma as estruturas que revestem as partes externas dos seres vivos. “A pele é o maior órgão do corpo humano, correspondendo a aproximadamente 16% do peso corporal” (ISAAC *et al.*, 2010, p. 126), sendo esta composta de duas camadas: epiderme, que apresenta como principal célula componente o queratinócito, e a derme, que apresenta como componente principal o fibroblasto. Dentre as principais funções da pele podem-se listar: proteção contra lesões, infecções ou traumas, raios solares e a realização do controle da temperatura corpórea (SMANIOTTO *et al.*, 2010).

As feridas podem ser classificadas de acordo com a ruptura do tecido superficial como aberta ou fechada, e de acordo com a complexidade. As feridas simples apresentam evolução nos seguintes estágios: inflamação, proliferação celular e a remodelagem tecidual. As lesões que abrangem área extensa e que podem alterar a funcionalidade de um membro são caracterizadas como feridas complexas, como, por exemplo, as feridas pós-cirúrgicas. As feridas para serem caracterizadas como complexas, de acordo com Smaniotto *et al.* (2010) apud Ferreira *et al.* (2006), devem preencher quatro critérios, sendo eles:

1. Ampla perda de tegumento;
2. Infecção no local;
3. Comprometimento da viabilidade do tecido local;
4. Estarem associadas a doenças sistêmicas que dificultam o processo fisiológico de reparação tecidual.

A caracterização das feridas também depende do fator profundidade, uma vez que isto pode afetar no tempo de cicatrização. As feridas são classificadas como superficiais quando apenas a epiderme é lesionada; profunda quando ocorre lesão da derme, podendo lesionar o músculo; e ferida transfixante, quando ocorre a ruptura de algum órgão. Conforme o tempo de cicatrização a ferida pode ser classificada como aguda, ocasionada pela ruptura do tegumento em que o processo de cicatrização é curto e não ocorrem complicações, ou crônica, pela ocorrência da ruptura da estrutura e do tegumento, no qual a cicatrização é por um longo período e com complicações (SMANIOTTO *et al.*, 2010).

A cicatrização celular de feridas é um processo lento que demanda complexa reorganização do meio celular para que ocorra a reparação do tecido. No momento em que ocorre a ruptura do tecido de modo instantâneo o corpo procura meios de reaver a área danificada para a restauração do tecido, no qual, este processo segue algumas etapas para a completa cicatrização do meio interno para o meio externo. Tsiouris e Tsiouri (2017) abordam sobre o processo de cicatrização de feridas, denominando que o mesmo ocorre em etapas, sendo elas: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação. O processo de cicatrização inicia na hemostasia, no qual se ativam plaquetas e fatores de crescimento, citocinas e outras substâncias que estão presentes nos grânulos das plaquetas, iniciando em sequência uma reparação tecidual que conduz a quimiotaxia, a proliferação celular, angiogênese, a deposição da matriz extracelular e a remodelação do tecido (TSIOURIS; TSIOURI, 2017).

Mendonça e Coutinho-Netto (2009) explanam acerca do complexo processo de organização celular e explicam como ocorre o processo biológico de cicatrização das feridas para que ocorra a restauração do tecido lesionado, podendo este processo de reparo ser analisado com suas respectivas etapas na Figura 1 e os detalhes de cada fase na tabela 1. O processo de cicatrização segue três fases que se sobrepõem: inflamação, proliferação e remodelagem.

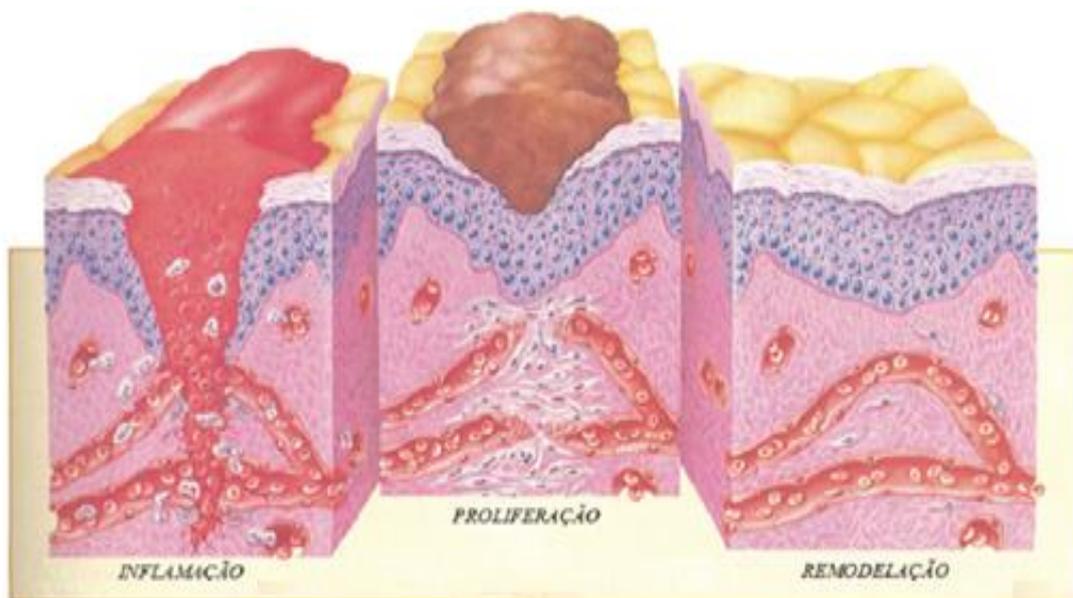


Figura 1 – Processo de cicatrização de feridas.

Fonte: Adaptado de cicatrização de feridas (2018).

Tabela 1 – Processo biológico de cicatrização das feridas ‘contínua’.

1. Fase Inflamatória	Ocorre após a abertura do ferimento, quando há agregação de plaquetas e coagulação do sangue com formação de um tampão que reestabelece a hemostasia e promove uma barreira protetora contra micro-organismos que auxilia na organização de uma matriz provisória que auxilia na migração celular. A matriz formada funcionará como um reservatório de citosinas e fatores de crescimento que serão liberados durante a fase de cicatrização.
2. Fase Proliferativa	A fase de proliferação é responsável pelo fechamento da ruptura, fazendo com que ocorra a formação de tecido epitelial. Esta fase é dividida em três etapas: angiogênese, que corresponde à produção de novos vasos sanguíneos a partir de outros pré-existentes, permeabilidade vascular, que acompanha a formação dos novos vasos, e matriz extracelular, que produz e organiza os componentes como a fibronectina e o colágeno.

Tabela 1 – Continuação.

3. Fase de Remodelagem	Fase em que ocorre uma tentativa de recuperação da estrutura tecidual. Ocorre a reorganização da matriz extracelular e a maturação do ferimento, ocasionando a formação da cicatriz com um reduzido número de células.
------------------------	--

Fonte: Adaptado de Mendonça e Coutinho-Netto (2009).

A cicatrização de feridas é um processo fisiológico complicado, lento e que muitas vezes requer o auxílio de um tratamento específico com o uso de curativos, no qual este assunto será explanado com maiores detalhes no tópico que aborda sobre tratamentos convencionais.

2.1.1 Úlceras de pressão

A úlcera de pressão, também conhecida como úlcera de decúbito ou lesão de escaras, está relacionada a uma lesão localizada na pele ou tecido que se encontre subjacente que seja resultado de uma pressão prolongada sobre o tegumento, sendo este geralmente acima de uma proeminência óssea resultante de pressão de ocorrência isolada ou combinada com fricção ou cisalhamento (SCEMONS; ELSTON, 2011).

A etiologia das úlceras de pressão ocorre por meio de uma série de processos que por meio de etapas apresentam sinais que a mesma irá ocorrer no tegumento. O processo, que pode ser evidenciado na Figura 2, inicia devido a uma pressão no tegumento que ocasiona a oclusão dos vasos sanguíneos e provoca uma hipóxia tissular tornando o processo visível devido à ocorrência de palidez no local. Após o surgimento da palidez no local, medidas preventivas de alívio de pressão local sejam adotadas, ter-se-á uma resolução do problema, contudo, caso se tenha um prolongamento da pressão, o quadro apresentará piora e consequentemente a formação da úlcera de pressão que “ocorre quando a pressão intersticial excede a pressão intracapilar, originando uma deficiência de perfusão capilar, o que impede o transporte de nutrientes para o tecido” (WADA, NETO, FERREIRA, 2010, p. 172), ou seja, a

formação das úlceras de pressão obedece a uma série de etapas no qual se pode evitar a formação das mesmas no tegumento quando as devidas providências são tomadas em primeiro instante.



Figura 2 – Capilares sem e com excesso de pressão.

Fonte: Capilares (2018).

Na década de 1980 foi desenvolvida uma série de estudos acerca da ocorrência das úlceras de pressão, tendo em vista que estas são feridas que implicam em uma descontinuidade do tegumento devido a uma pressão que é exercida no local, no qual a úlcera formada deve-se a fatores como a intensidade da pressão, a sua duração e o tempo de tolerância do tegumento. A avaliação do risco de haver a formação de uma úlcera de pressão pode ser realizada pela escala de Braden. A escala de Braden foi um estudo realizado com o propósito de promover a identificação, por meio de testes de fisiopatologia, do possível risco de ocorrência de úlceras de pressão. A escala é subdividida em seis subescalas, sendo elas: umidade da pele, fricção e cisalhamento, percepção sensorial, mobilidade, atividade e estado nutricional. A pontuação de cada subescala é realizada em um quadro podendo o paciente apresentar uma pontuação que varia de 6 a 23 pontos, uma vez que cada subescala pode apresentar pontuação de 1 a 4, com exceção da fricção e cisalhamento que a pontuação varia de 1 a 3. Esta pontuação é importante para avaliar qual o risco de o paciente apresentar úlcera de pressão, tendo em vista que quanto maior a pontuação maiores serão as chances de o paciente apresentar úlceras de pressão e quanto menor a pontuação menores serão as chances do mesmo apresentar futuramente úlceras de pressão (BRADEN *et al.*, 1987). Segundo Fernandes e Caliri (2008), a escala de Braden não foi desenvolvida para pacientes clinicamente enfermos, porém, as seis subescalas definidas por ele podem auxiliar na identificação e prevenção de uma futura formação de úlcera de pressão.

Griswold *et al.* (2017) abordam acerca da validade da escala de Braden para úlceras de pressão em pacientes, que apresentavam algum tipo de trauma ou queimadura, uma vez que acomete grande parte de pacientes que se encontram acamados nos hospitais. Griswold *et al.* (2017) concluíram e reafirmaram o que abordaram Fernandes e Caliri (2008), que a escala de Braden não é aplicada de forma eficaz para pacientes clinicamente enfermos, porém, não descartam a utilidade desta escala para a prevenção.

Sardo *et al.* (2018) realizaram um estudo acerca da incidência das úlceras de pressão em um hospital de Portugal seguindo como método avaliativo a escala de Braden, no qual a pesquisa utilizou mais de seis mil pacientes e ficou restrita a pacientes adultos, em sua maioria homens, que se encontravam no ambulatório e que não apresentavam incidência de úlcera de pressão inicialmente. Observaram-se que o surgimento de úlceras de pressão é um processo multifatorial e que depende de uma série de fatores como a acomodação do paciente. Neste estudo os autores confirmam que a escala de Braden pode ser útil para avaliar o risco da formação da úlcera de pressão, porém, não reduz o índice de incidência da úlcera de pressão, tendo em vista que o desenvolvimento desta está atrelado ao grau de enfermidade do paciente.

A escala de Braden é a mais usual para identificação e para prevenção das úlceras de pressão ou quando as mesmas não apresentam estado clinicamente grave, uma vez que para estes enfermos é mais eficaz a aplicação de outras escalas como: índice de COMHON, que realiza uma avaliação do paciente dentro da UTI identificando o nível de consciência, mobilidade, hemodinâmica, oxigenação e nutrição; pontuação de Waterlow, que avalia gênero, idade, índice de massa corpórea, continência, mobilidade, condição da pele, mediação, desnutrição tecidual, déficit neurológico, cirurgia/trauma principal e nutrição; e a escala de Norton que avalia pacientes geriátricos em suas condições física, atividade, nível de consciência, mobilidade e incontinência (GRISWOLD *et al.*, 2017).

2.1.2 Tratamentos convencionais

O tratamento convencional utilizado para feridas é com o uso de curativos, no qual a escolha deve estar de acordo com a patologia e o local em que se deseja realizar uma reparação do tegumento, uma vez que o processo de cicatrização visa à recuperação do local lesionado em um menor tempo possível. Contudo, quando feridas como as úlceras de pressão

são identificadas, seu tratamento deve ser imediato. Segundo Rocha, Miranda e Andrade (2006), o tratamento local da úlcera de pressão abrange algumas etapas, sendo elas: desbridamento, limpeza, revestimento, abordagem da colonização e infecção e tratamento cirúrgico. A inspeção diária do paciente seguindo estas etapas resulta em recuperação mais rápida do mesmo. O revestimento, quando se trata de úlceras de pressão, é o principal foco, uma vez que se deve realizar uma escolha adequada que proporcione uma cicatrização mais eficaz em um menor tempo. O revestimento é um curativo utilizado como meio terapêutico que auxilia no processo de cicatrização e melhora as condições do meio.

Smaniotto *et al.* (2010), Fan *et al.* (2011) e Smaniotto *et al.* (2012) abordam acerca dos tipos de curativos existentes no mercado, tanto internacional como nacional, respectivamente. A escolha do curativo depende de uma série de fatores, uma vez que o curativo ideal é aquele que promove cicatrização rápida, apresenta menor custo, protege contra agentes externos/sujeiras e bactérias, minimiza as dores, dentre outras características. Os curativos são classificados de acordo com a função para a qual estão designados, podendo os mesmos serem classificados de acordo com a tabela 2.

Tabela 2 – Curativos ‘continua’.

Classificação dos curativos	Definição	Tipos de curativos
Passivos	São curativos que não ocluem e protegem a ferida.	Hidrogel, filme transparente, curativo não aderente, espuma polimérica e hidrocolóide.
Com princípios ativos	São curativos que apresentam ação tópica que depende da composição química.	Alginato, carvão ativado e curativos/placas à base de prata.
Inteligentes	São curativos que podem alterar o microambiente.	Matriz de celulose e matriz de colágeno

Tabela 2. Continuação.

Biológicos	São curativos que substituem temporariamente o tegumento quando há presença de lesões.	Curativos biológicos
------------	--	----------------------

Fonte: Adaptado de Fan *et al.* (2011) e Smaniotto *et al.* (2012).

Rocha, Miranda e Andrade (2006) demonstraram algumas características que os curativos devem apresentar, como:

1. Serem membranas semipermeáveis (semi-oclusivos), para proporcionar ambiente úmido, mas que diminua a transferência de vapor de água e favoreça a cicatrização;
2. Serem biocompatíveis;
3. Serem estéreis;
4. Serem impermeáveis.

Segundo as características clínicas das úlceras de pressão, se realiza a escolha do tipo de curativo conforme suas respectivas características, no qual a tabela 3 apresenta alguns exemplos de curativos com a descrição e a que tipo de ferida é indicado.

Tabela 3 – Exemplos de curativos e suas indicações ‘continua’.

Curativo	Descrição	Indicações
Hidrogel	Folhas ou géis à base de água ou glicerina que apresentam como característica serem semipermeáveis.	Feridas de grau leve a moderado.
Hidrocolóide	Mistura de materiais como pectina, carboximetil celulose, gelatina, dentre outros, para obtenção de uma película semipermeável ou uma folha de espuma, sendo normalmente impermeável.	Feridas de grau leve a moderado (úlceras de pressão).

Tabela 3. Continuação.

Hidrogel com alginato	Gel hidrofóbico que mantém úmido o exsudato.	Gel destinado ao tratamento de feridas.
Hidrocolóide com alginato	Curativo que promove o controle do exsudato e um meio úmido ideal para cicatrização.	Úlceras de pressão, úlceras na perna, queimaduras, feridas pós-operatório, dentre outras.
Alginato	Gel hidratante e absorvente de feridas ou curativo de cobertura estéril e absorvente.	Feridas abertas e que estejam com sangramento.
Filme transparentes	Protetor e fixador de curativos.	Feridas em estado de cicatrização e para alívio da dor.

Fonte: Adaptado de Rocha, Miranda e Andrade (2006) e Fan *et al.* (2011).

O alívio da pressão pode ser um dos meios mais econômicos e viáveis para evitar a formação e auxiliar na recuperação das úlceras de pressão, tendo em vista que há redução da isquemia. O mercado comercial apresenta diversos meios para aumentar o conforto do enfermo e diminuir a pressão exercida no paciente, apresentando produtos como: colchão inflável tubular, colchão de gel, colchão piramidal, colchão d'água, colchão sistema de terapia ar *bio air*, camas e travesseiros (PAGGIARO; NETO; FERREIRA, 2010).

Há crescente busca científica de novos e mais adequados curativos ou revestimentos para o cuidado e tratamento de feridas e das úlceras pressão, visando contribuir com o tratamento de enfermos e auxiliar os profissionais da área da saúde com curativos mais eficientes e mais eficazes para a recuperação do tegumento.

2.1.3 Hidratação

O processo de cicatrização, dependendo do grau do ferimento, pode ser longo e requerer cuidados para evitar a formação de cicatrizes indesejadas na pele. Tomando isto por base, geralmente, recomenda-se manter o ferimento hidratado como cuidado básico da pele, onde a hidratação servirá como barreira protetora da epiderme e prevenirá o ressecamento da pele. A presença do hidratante na pele não influencia nas propriedades mecânicas da mesma, como elasticidade (KRAFT; LYNDE, 2005).

Wang *et al.* (2018) explicaram que uma das maneiras de reduzir o surgimento de cicatrizes pós-cicatrização pode ser deixando o meio mais hidratado durante o processo. Os mesmos autores exprimem que durante os estudos realizados foram descobertos que por duas décadas ensaios utilizaram como tratamento de feridas o revestimento com gel de silicone.

De acordo com Kraft e Lynde (2005), os hidratantes são classificados segundo a sua constituição em:

1. Emolientes: formados por lipídeos e óleos, por exemplo, óleo de coco;
2. Oclusivos: formam uma barreira hidrofóbica, por exemplo, petrolato;
3. Humectantes: atraem água, absorvendo a umidade da derme para epiderme e também retirando do meio externo, por exemplo, ureia.

O hidratante mais adequado para ser utilizado depende do tipo de ferimento que o paciente apresenta, devendo o mesmo realizar a restauração da barreira da epiderme, ter valor acessível, apresentar longa duração e proporcionar rápida absorção. Existem inúmeros hidratantes disponíveis, podendo serem destinados ao rosto, corpo, mãos e pés. Entretanto, em sua composição, é possível observar que independentemente do local ao qual o produto é designado, muitos produtos apresentam ureia em sua composição (KRAFT; LYNDE, 2005).

A ureia é um composto orgânico utilizado como hidratante que dependendo da sua concentração pode ser caracterizada como humectante, abaixo de 10%, e queratolítico, quando em concentrações altas, entre 20% a 30%. A ureia é utilizada para auxiliar a descamação, retenção de água no ferimento e interromper as ligações de hidrogênio (LIPIZENČIĆ; PAŠTAR; MARINOVIĆ-KULIŠIĆ, 2006).

Pan *et al.* (2013) realizaram um estudo de revisão sobre o uso da ureia, tanto como humectante como queratolítico, como emulsão, loção ou creme. Neste estudo avaliaram que os mecanismos de ação da ureia na pele ainda não eram conclusivos, porém, os autores sugerem que a ureia apresenta ação tópica devido à quebra das ligações de hidrogênio, dilatação da queratina e aumento da umidade no local do ferimento.

Banov (2014) desenvolveu e patenteou um gel de silicone com ureia com variação de 8% a 10% em peso de ureia, com o objetivo de retomar a estrutura da pele, realizar o tratamento contra estrias, prevenir e tratar rugas, evitar coceiras durante o processo de cicatrização e também para o tratamento de manchas na pele. Este estudo apresenta seis formulações que tem por base a ureia, podendo ser utilizada em qualquer parte da pele tendo em vista que o objetivo é aumentar o extrato córneo da pele.

No ano de 2017 Galderma R & D financiou um estudo investigativo sobre o uso de hidratante de ureia com formulação de 10% para uso em pele com xeroz. Segundo esta empresa financiadora, xeroz é uma condição referente à pele quando a mesma encontra-se irritada ou inflamada e descamando, no qual o uso de hidratante reduz estes sintomas, uma vez que auxilia na restauração da barreira por meio da retenção de água no ferimento. A investigação consistiu em avaliar a eficiência e a eficácia do uso de um hidratante de ureia 10% em um período de 21 dias em pessoas que apresentavam pele xerótica e dermatite atópica, no qual as mesmas aplicavam o produto apenas em um dos antebraços, para que o outro servisse como base de controle. Ao final do processo, concluiu-se que o hidratante de ureia 10% apresentou eficácia para a função a qual foi submetido e através de um questionário as pessoas que foram submetidas a esta pesquisa relataram satisfação com o uso do produto.

Galderma Laboratories, LP financiou um estudo no ano de 2017 para avaliar o uso de hidratantes ricos em lipídeos, que apresentavam em sua formulação ureia 10%, em pele xerótica para pacientes em tratamento de quimioterapia. O produto foi aplicado durante quatro semanas, ao final do processo a pele apresentou melhora significativa. Os pacientes foram avaliados ao final do processo, no qual os mesmos demonstraram satisfação com o produto e a empresa financiadora recomenda o uso de hidratante rico em lipídeos com ureia 10%.

2.2 Hidrogéis

Os hidrogéis são redes tridimensionais de homopolímeros, copolímeros ou macrômeros que podem ser reticulados física ou quimicamente por meio de ligações cruzadas, podendo absorver água sem que ocorra uma quebra da estabilidade da sua estrutura tridimensional. Os hidrogéis são caracterizados como biomateriais que foram desenvolvidos para desempenhar funções no corpo humano, por meio de implantes e dispositivos médicos na forma de metal ou ligas metálicas, polímeros e cerâmicos, como: crescimento celular, atuar como agentes terapêuticos, auxiliar no processo de cicatrização de feridas, dentre outras funções. A caracterização de um hidrogel de polímero ocorre por meio de uma avaliação das propriedades que o mesmo pode apresentar, como a natureza da cadeia polimérica. A hidrofilicidade de um hidrogel deve-se pela presença de grupos polares existentes na cadeia, principal ou lateral do polímero, das quais se podem citar: -OH, -CONH₂, -CONHR, -COOH, -SO₃H (WNEK; BOWLIN, 2008).

Os hidrogéis são desenvolvidos com diferentes tipos de polímeros, dos quais cada polímero atua em uma área diferente do corpo humano. Raisal (2014) simplificou em uma imagem a área de atuação de alguns polímeros no corpo humano, Figura 3.

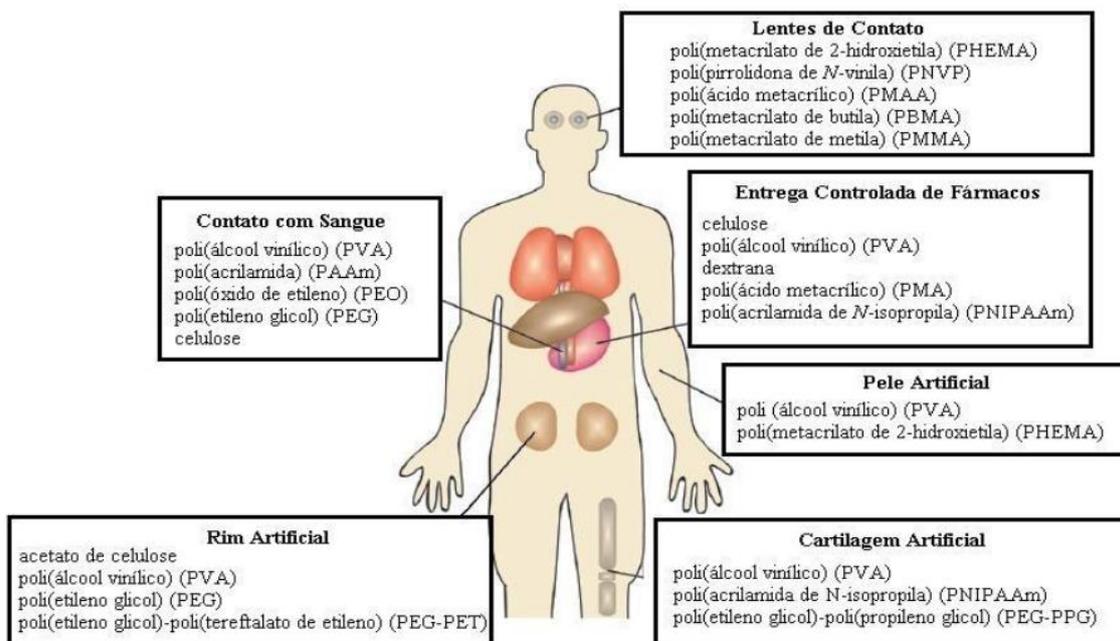


Figura 3 – Área de atuação de alguns polímeros.

Fonte: Raisal (2014).

A área médica está sendo beneficiada com o uso de materiais poliméricos, onde se destacam os hidrogéis, que podem ser biocompatíveis, tendo em vista o alto teor de água presente neles, biodegradáveis, podendo esta ser positiva caso esteja de acordo com o tempo de liberação do fármaco desejado ou negativa caso ocorra em um tempo inferior ao desejado. Os hidrogéis apresentam uma característica relevante de serem relativamente deformáveis, desta forma adequando-se ao meio em que estão sendo aplicados. Em adição, apresentam permeabilidade para realizar o transporte de nutrientes. Contudo, os hidrogéis apresentam desvantagens, visto que apresentam baixa resistência mecânica à tração, o que pode ocasionar limitação para a sua aplicação, como por exemplo, a administração de fármacos. Vale ressaltar, que alguns fármacos/agentes antimicrobianos são hidrofóbicos, o que dificulta a incorporação dos mesmos nos hidrogéis (HOARE; KOHANE, 2008).

Dentre as desvantagens que os hidrogéis podem apresentar pode-se citar a baixa resistência mecânica, a qual pode ser alterada por meio de cristalização ou reticulação (que podem melhorar a estrutura física e as propriedades mecânicas do hidrogel). A reticulação é um método que promove melhora nas propriedades do hidrogel, pois aumenta a resistência mecânica devido à formação de ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas (GYAWALI *et al.*, 2010). A reticulação pode ser realizada física ou quimicamente, as quais podem ser diferenciadas pelo tipo de ligação formada entre as cadeias do polímero.

A reticulação física consiste em um hidrogel, ou um pseudo-hidrogel, com rede tridimensional que pode apresentar interações fracas e reversíveis entre as cadeias, obtendo-se estrutura com baixa ou com ausência de organização, deste modo, a reticulação física atuará como uma zona de união. Contudo, como não há formação de ligações covalentes, mudança de ambiente pode ocasionar uma quebra na estrutura. Raisa (2014) aborda os diversos tipos de reticulação física possíveis, sendo eles:

1. Complexo coacervado: reticulação caracterizada por uma mistura de um polícatión com um poliânico, ou seja, união de polímeros que apresentam cargas opostas;
2. Interação iônica: reticulação de polímeros iônicos pela adição de um contra íon;
3. Ligações de hidrogênio: reticulação de polímeros que apresentam grupamento carboxílico que em uma solução com pH mais baixo, onde pode ocorrer ligações de hidrogênio;
4. Criogelificação (freeze-thawing): reticulação por ciclos repetidos de congelamento e descongelamento para formar microcristais na estrutura do polímero, sendo estes

dependentes da composição, quantidade de ciclos, temperatura, dentre outros fatores externos.

A reticulação química consiste da formação de uma cadeia polimérica através de ligações covalentes cruzadas para a obtenção de um hidrogel. Os hidrogéis obtidos por meio da reticulação química são mais estáveis que os obtidos por reticulação física, pois apresentam maior resistência mecânica e maior estabilidade fisiológica. A reticulação química pode ocorrer por meio de agentes reticulantes acrescentados à solução, uso de enzimas e/ou radiação. O trabalho de Olsson *et al.* (2013), por exemplo, utilizou a reticulação química com ácido cítrico para o desenvolvimento de filmes de amido, uma vez que esta combinação proporcionou o aumento da resistência dos filmes e, além disso, apresentou vantagens como baixo custo de produção e biodegradabilidade. Raisa (2014) explica que a reticulação química pode ocorrer de diferentes maneiras, como:

1. Reticulação por meio de agentes reticulantes: consiste na adição de um agente reticulante que apresente massa molecular inferior ao das cadeias poliméricas e que reaja com as mesmas, conectando-as;
2. Reticulação por radiação: consiste em técnicas que utilizam agentes reticulantes, que em sua maioria apresentam características tóxicas. Esta reticulação pode ocorrer por meio da fotopolimerização, fotoenxertia e fotoreticulação;
3. Reticulação por enzimas: consiste em uma reticulação enzimática catalisada em um meio com temperatura moderada, pH neutro e meio aquoso.

2.2.1 Hidrogéis de Na-CMC: obtenção e características

A celulose é um dos polissacarídeos de origem natural mais abundante, encontrado em todas as plantas (no material estrutural que compõe a parede celular). Por meio de unidades de aldose β -D-glicopirranose forma um polímero com conformação de cadeira com ligações β -1,4-glicosídica e ligações de hidrogênio entre os grupamentos hidroxila, Figura 4, no qual a unidade repetida que está entre colchetes é chamada de celobiose. Na estrutura da Figura 4 é possível verificar que a celulose é constituída por ligações de hidrogênio intramoleculares e intermoleculares, que permite estrutura tridimensional com áreas cristalinas, porém, esta

característica dificulta a dissolução e conseqüentemente a modificação química da celulose (LEAL, 2014).

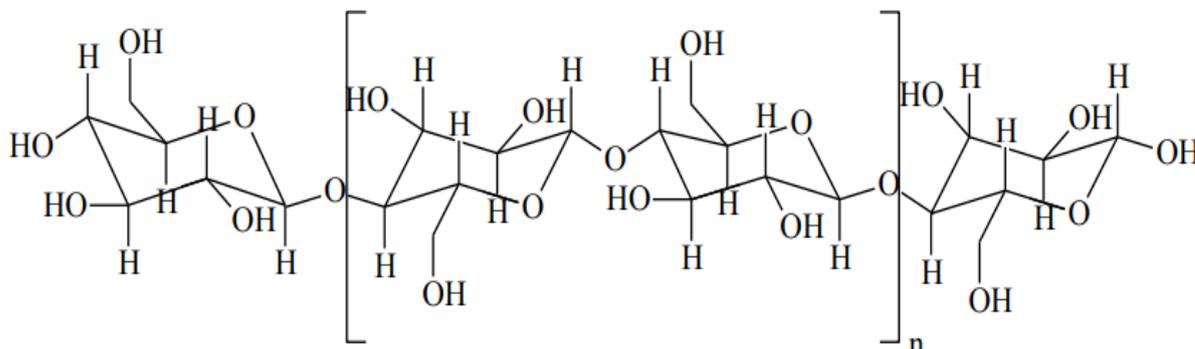


Figura 4 – Estrutura da Celulose.

Fonte: Adaptado de Leal (2014).

A celulose é um polímero insolúvel em água e não é digerida pelo corpo humano, o que dificulta sua utilização. De modo a torna-la hidrossolúvel, procuraram-se meios de modificar este polímero que atualmente está presente no cotidiano, como por exemplo, em cosméticos, em produtos farmacêuticos, dentre outros (LEAL, 2014).

A carboximetil celulose é obtida por reações nucleofílicas em que a celulose por meio de reações em que ácido cloroacético substitui os grupamentos hidroxila nas posições 2, 3 e 6 por grupamentos carboximetilas. A carboximetil celulose sódica é o produto do ataque nucleofílico que ocorre na reação carboximetil celulose com o hidróxido de sódio, Figuras 5 e 6 (CARASCHI; FILHO, 1999).

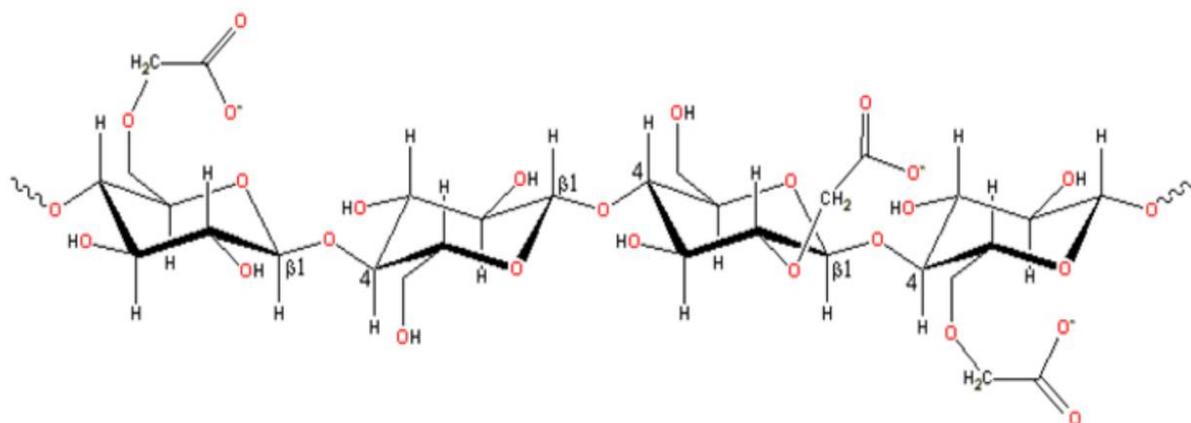


Figura 5 – Estrutura química da carboximetil celulose.

Fonte: KÄISTNER, 1996.

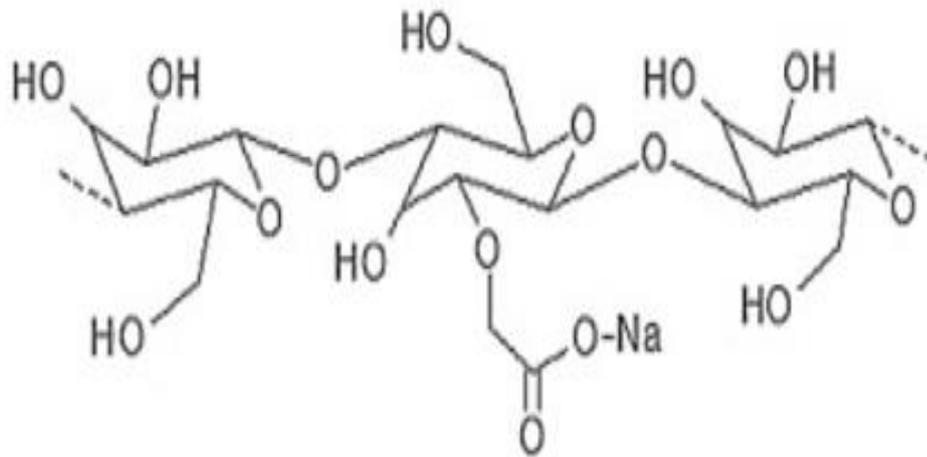


Figura 6 – Representação da Carboximetil celulose sódica.

Fonte: Capanema *et al.* (2018).

A carboximetil celulose sódica (Na-CMC) ou goma de celulose é um éter de celulose, como demonstrado pela Figura 7, que em solução aquosa apresenta solubilidade e cuja viscosidade é alterada conforme a concentração de Na-CMC na solução. A estabilidade térmica e biocompatibilidade, contudo, estão condicionadas ao grau de substituição, variável entre 0,1 e 3,0, e ao grau de polimerização. A modificação deste polímero proporciona condições adequadas para o uso em diversas áreas, como anteriormente citado. Este polímero pode ser utilizado como um biomaterial devido a sua capacidade de formação de filmes, géis e hidrogéis, com vasta aplicação na área farmacêutica, como por exemplo, para liberação de fármacos (KAMEL *et al.*, 2008).

Segundo Kamel *et al.*, 2008 e Ghorpadea, Yadav e Dias (2017), os hidrogéis de carboximetil celulose sódica apresentam baixa resistência mecânica e um dos meios de melhorá-las é através de reticulação física ou química, em que geralmente se utiliza ácido cítrico ou ácido cítrico anidro, Figura 7. O ácido cítrico reage com os grupamentos hidroxilas mais próximo e forma ligações éster com a Na-CMC. O ácido cítrico como agente reticulante é aceitável tendo em vista que os grupamentos carboxílicos e as hidroxilas livres proporcionarão: diminuição da solubilidade e obtenção de locais adicionais para ligações, como por exemplo, na incorporação de fármacos, podendo ocorrer interações iônicas ou ligações de hidrogênio, bem como ao final obter-se um hidrogel elástico.

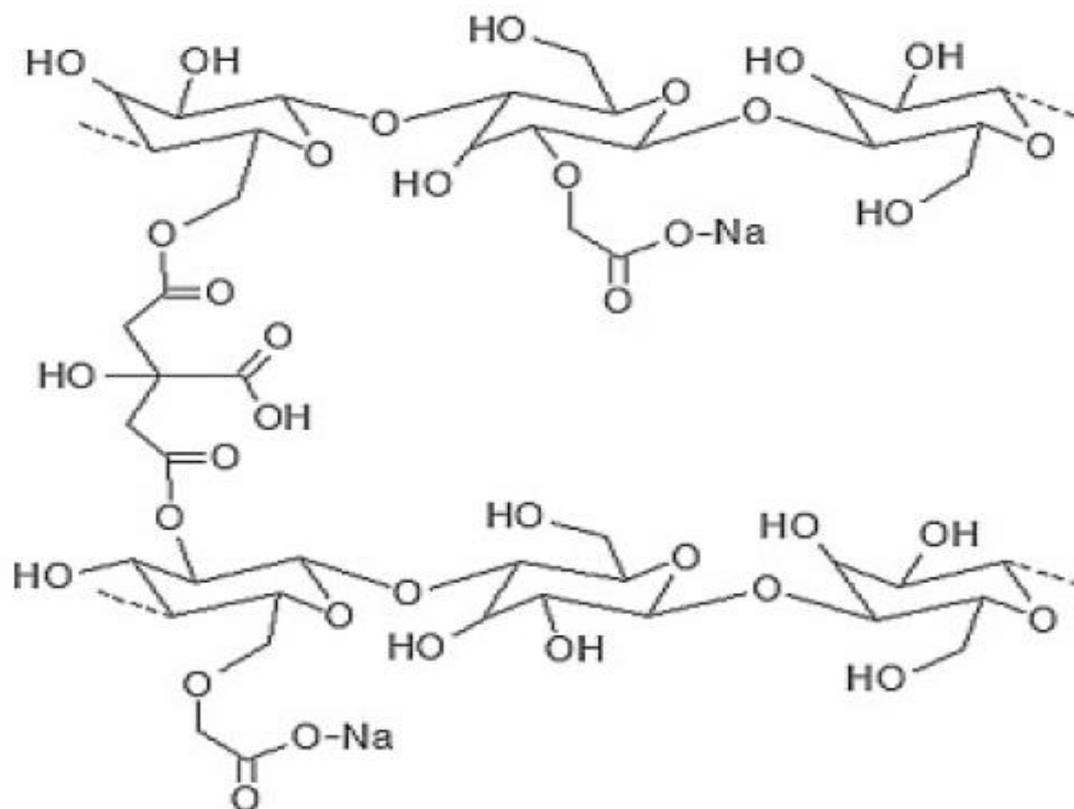


Figura 7 – Carboximetil celulose sódica reticulada fisicamente com ácido cítrico.

Fonte: Capanema *et al.* (2018).

Quando hidrogéis de Na-CMC não-reticulados são submetidos a intumescimento, a resistência mecânica é diminuída, contudo, uma vez reticulado, diminui-se a probabilidade do mesmo romper (Ghorpadea, Yadav e Dias, 2017).

Ng e Jumaat (2014) manufaturaram hidrogéis a partir de quatro polímeros, carboximetil celulose sódica (Na-CMC), metil celulose (MC), alginato de sódio e goma xantana por liofilização, com o objetivo de elaborar um sistema moderno para administrar drogas para atuar sobre feridas que apresentavam infecção. Os fármacos utilizados foram o hidrato de sal de trissulfato de neomicina, sulfacetamida de sódio e nitrato de prata. O estudo inicial foi realizado avaliando os quatro polímeros e estes associados a cada fármaco, contudo, somente as amostras de Na-CMC com trissulfato de neomicina apresentaram êxito na pesquisa. Esses materiais apresentaram características desejáveis para um hidrogel com finalidade para curativo, sendo elas: flexibilidade, esponjosidade, textura uniforme do hidrogel (carregado ou não com fármaco) e no teste *in vitro* apresentou maior liberação do fármaco e maior inibição contra bactérias Gram-positiva e Gram-negativa.

Zheng *et al.* (2015) desenvolveram hidrogéis de carboximetil celulose sódica com elevado potencial para aplicação biomédica. Prepararam hidrogéis na forma de pasta, seguidamente congelaram os mesmos e liofilizaram. Os hidrogéis produzidos não possuíam as cadeias poliméricas reticuladas, deste modo, cada hidrogel foi submerso em uma solução de ácido cítrico com saturação variável entre 1 - 8 mol/L, por um período não informado, para reticulação física com o objetivo de obter um hidrogel resistente. Quando os hidrogéis foram submetidos a uma solução supersaturada (8 mol/L) eles se apresentaram maior resistência mecânica, sendo estes escolhidos para serem avaliados. Os autores observaram que o hidrogel produzido apresentou taxa de reticulação superior a 50%, sendo este então um hidrogel resistente, apresentaram eficiência de cura de $81,2\% \pm 2,9\%$ para um período de 12 horas à temperatura de 25 °C e, a partir destes dados, os autores afirmam que estes podem ser aplicados como curativos.

Namazi *et al.* (2016) propuseram um novo tipo de curativo, embasados que aqueles disponíveis no mercado apresentam desvantagens, como: ausência de atividade antibacteriana, baixa permeabilidade ao oxigênio e ao vapor e baixa resistência mecânica. Deste modo, produziram um curativo à base de hidrogel nanocompósito de carboximetil celulose sódica com eluídos incorporados em sílica mesoporosa (MCM-41), que atua como um transportador de fármaco. Os autores primeiramente sintetizaram a MCM-41 e depois prepararam os hidrogéis nanocompósitos de carboximetil celulose sódica. A espessura média dos filmes foi de $0,14 \pm 0,02$ mm. Os autores concluíram que o perfil de liberação de drogas pode ser ajustado pela interação do fármaco com as nanopartículas e a adição da sílica aumentou a capacidade de intumescimento e a permeabilidade do hidrogel.

Hu, Qiang e Wang (2017) desenvolveram um filme através de uma mistura simples em diferentes proporções de três polímeros, cloreto de quitosano de N- (2-hidroxil) propil-3-trimetilamônio (HTCC), álcool polivinílico (PVA) e carboximetil celulose de sódio (Na-CMC). A adição da Na-CMC proporcionou maior absorção de água, permeabilidade adequada à humidade e aumentou a capacidade de intumescimento do filme. Os autores constataram que a mistura de polímeros foi ternária com ligações de hidrogênio intermoleculares que aumentou a resistência à tração e à água. Observou-se menor grau de inibição de todas as películas contra *E. coli* do que contra *S. aureus*, uma vez que HTCC apresenta efeito sobre as moléculas de DNA das bactérias resultando na perda da capacidade de replicação e de transferência das mesmas. Outra observação que deve ser ressaltada é a de que a bactéria *E. coli* apresentou menores diâmetros das zonas de inibição indicando menor

atividade da película contra a bactéria, no qual isto se deve à presença de uma camada lipopolissacarídica ao redor da membrana externa da bactéria. Os autores concluíram que as características das amostras são adequadas para fins biomédicos.

Rakhshaei e Namazi (2017) elaboraram um hidrogel de carboximetil celulose sódica (Na-CMC) por meio da combinação de sílica mesoporosa impregnada com óxido de zinco (ZnO-MCM-41) nanométrico que atua como transportador do fármaco tetraciclina (antibiótico). Os autores utilizaram ácido cítrico como agente de reticulação para a produção do hidrogel para evitar os agentes reticulantes tóxicos convencionais. Através dos testes de intumescimento e erosão *in vitro* os autores constataram que os hidrogéis de nanocompósitos de Na-CMC/ZnO desintegram-se nas primeiras horas. De modo a aumentar a vida útil desses géis foi incorporada a sílica MCM-41 que proporcionou melhoria na resistência à tração, intumescimento, erosão e permeabilidade ao gás. Após esta adição, observou-se liberação prolongada e contínua de tetraciclina relacionada à dissolução de ZnO.

Capanema *et al.* (2018) sintetizaram e caracterizaram hidrogéis de carboximetil celulose sódica superabsorventes reticulados fisicamente com ácido cítrico e hidrogéis de Na-CMC com polietilenoglicol (PEG) também reticulados, com potencial para aplicação como curativos de feridas. Observou-se que os hidrogéis apresentavam intumescimento variável entre 100% e 5000%, valor este que variou devido ao grau de substituição da Na-CMC em cada membrana. Os materiais não apresentaram citotoxicidade durante o ensaio *in vitro*. Os hidrogéis superabsorventes apresentaram condições favoráveis para serem utilizados para o tratamento de feridas cutâneas e podem ser alternativas para a próxima geração de hidrogéis com fim na substituição da pele.

Em relação aos hidrogéis de Na-CMC carregados com produtos naturais para tratamento de feridas, não foi possível encontrar trabalhos na área. Contudo, há estudos que relatam o uso de polissacarídeos com produto natural para aplicação em outras áreas como a endodontia, área da odontologia especializada em estudos da polpa dentária. O trabalho de revisão de Skoskiewicz-Malinowska *et al.* (2017) relata o uso do polissacarídeo quitosana com a própolis, substância natural, para o tratamento endodôntico. A própolis é geralmente utilizada devido às suas propriedades biológicas e químicas e a combinação quitosana/própolis se justifica, pois ambos são aplicados em medicamentos para tratamentos endodônticos.

2.3 Produtos naturais aplicados à cicatrização – óleos bioativos

Há uma variedade de óleos voltados à cicatrização de feridas, no qual estes apresentam bioatividade e são compostos principalmente de mono (10 carbonos), sesquiterpenos (15 carbonos) e de fenilpropanoides, metabólitos que conferem suas características organolépticas. Os óleos essenciais são produtos naturais que apresentam uma variedade de propriedades biológicas, tornando cada vez mais comum seu uso em cicatrização de feridas (BASER; BUCHBAUER, 2009). Segundo Pérez-Recalde, Arias e Hermida (2018), as plantas produzem metabólitos secundários dos quais os óleos essenciais são o maior grupo deles. Os óleos essenciais apresentam uma mistura complexa de monoterpenos (10 carbonos) e sesquiterpenos que em menor proporção podem ser extraídos por destilação a vapor, a água ou prensagem a frio. Devido a esta constituição complexa, os óleos essenciais são amplamente utilizados em alimentos, como fragrância e para fabricação de cosméticos, no qual, eles são estudados há décadas devido seu efeito sobre a pele, uma vez que há grandes evidências de seus efeitos antioxidantes, anti-inflamatório e antimicrobiano.

O processo de cicatrização da ferida pode ser prolongado e no período em que a ferida está inflamada, esta pode produzir odores, que pode ocasionar desconforto psicológico e isolamento social. De modo a evitar tais consequências, podem-se usar agentes tópicos que auxiliam no controle da proliferação bacteriana, por exemplo, mel e óleos bioativos ou essenciais (AKHMETOVA, 2016).

2.3.1 Óleo de *Copaifera langsdorffii*

O óleo de copaíba pertence à espécie *Copaifera langsdorffii*, sendo esta planta presente em regiões de clima tropical na América Latina, sendo que no Brasil, está presente na região amazônica e na região centro-oeste. No Brasil, o nome copaíba possui origem na língua tupi, “cupa-yba”, significando “a árvore do depósito” (BIAVATTI *et al.*, 2006). Segundo Veiga-Júnior e Pinto (2002) apud Biavatti *et al.* (2006), o Brasil é um país com grandes riquezas e possuía vinte espécies catalogadas de copaíba até o início do século XXI. O óleo de copaíba possui uma coloração que varia entre o amarelo e o marrom, dependendo da árvore em que o mesmo é extraído. Este óleo é conhecido popularmente devido a sua

aplicação no meio industrial, como na área de cosméticos, vernizes e na área de saúde. Na área da saúde sua utilização se deve à sua ação como anti-inflamatório, antisséptico de feridas, auxiliar na cicatrização de feridas, como também apresenta efeito analgésico, antitumoral, dentre outros. (VEIGA JÚNIOR; PINTO, 2002; BIAVATTI *et al.*, 2006).

Gramosa e Silveira (2005) explanaram em seu trabalho que este óleo é composto em sua maioria de sesquiterpenos, que segundo Veiga Jr *et al.* (2001) são de origem natural, que podem ser os responsáveis pela ação anti-inflamatória descrita na medicina popular, contudo, há diversos relatos que este óleo de copaíba comercializado no Brasil está sendo adulterado.

Pereira *et al.* (2008) estudaram o óleo de copaíba da espécie *Copaifera langsdorffii* por meio do isolamento da amostra com o objetivo de avaliar sua composição química e atividade anti-inflamatória. Neste estudo foram identificados 17 compostos, dos quais (*E*)-cariofileno, germacreno B, 1,5-epoxisalvial-4(14)-eno, óxido de cariofileno e isoespatulenol destacaram-se por estarem presentes em maiores quantidades. O efeito anti-inflamatório foi descrito por Pereira *et al.* (2008) que seria resultante da produção do ácido caurenóico. No decorrer dos estudos de Pereira *et al.* (2008) a atividade anti-inflamatória foi comprovada em ratos albinos machos (Wistar) pelo modelo de edema de pata de rato, que está baseado na variação do volume que as patas traseiras dos ratos apresentam após um estímulo inflamatório.

Montes *et al.* (2009) avaliaram os trabalhos existentes sobre óleo de copaíba com finalidade cicatrizante. Durante a pesquisa foi evidenciado que a ação deste óleo é de conhecimento popular e com comprovação científica quando se trata da ação cicatrizante, anti-inflamatória, bactericida e antitumoral, contudo, ainda se fazem necessários estudos mais aprofundados acerca da ação citotóxica.

Maragon *et al.* (2017) formularam uma emulsão que consistia em quitosana/gelatina/óleo de copaíba para o controle da bactéria *S. aureus*. Observou-se citotoxicidade reduzida para a formulação proposta em comparação aos compostos isolados. Pode-se considerá-la não tóxica e apresentando-se como uma estratégia a ser explorada para o desenvolvimento de produtos à base de óleo de copaíba para o combate de *S.aureus*.

2.3.2 Óleo de Melaleuca

A melaleuca é um gênero botânico ao qual se refere a espécies que procedem da família Myrtaceae e possui ampla gama de espécies catalogadas que geralmente ocorrem em regiões de clima tropical, com origem na Austrália, Malásia e Polinésia. (VIEIRA *et al.*,

2004). Dentre os óleos de *Melaleuca* conhecidos, tem-se *Melaleuca alternifolia* e *Melaleuca armillaris*.

2.3.2.1 Óleo de *Melaleuca alternifolia*

A *Melaleuca alternifolia*, normalmente conhecida como “tea tree”, é constituída em sua maior parte por monoterpenos cíclicos e seu uso é amplamente conhecido no meio popular e medicinal. Ela apresenta propriedades antibacterianas, anti-inflamatórias, antimicrobianas, antifúngicas, anticancerígenas, em melanoma humano M14 WT, e na área de dermatologia, sua ação é proveniente da presença do terpinen-4-ol. A *tea tree* é uma árvore de pequeno porte, até 5 metros de altura que floresce no verão, originária da costa subtropical nordeste da região de New South Wales, Austrália, crescendo em áreas pantanosas ou próxima a rios, que apresenta como principal produto o óleo essencial (COX *et al.*, 2000; VIEIRA *et al.*, 2004; BASER; BUCHBAUER, 2009; PAZYAR *et al.*, 2013).

Cox *et al.* (2000) realizaram estudo investigativo acerca da atividade antimicrobiana do óleo essencial da *Melaleuca alternifolia* nas bactérias *Escherichia coli* AG100 (Gram-negativa), *Staphylococcus aureus* NCTC 8325 (Gram-positiva) e a levedura da *Candida albicans*. Por meio de investigação com diferentes métodos, confirmaram a atividade antimicrobiana do óleo, resultado da formação de barreira à permeabilidade nas estruturas da membrana celular.

Hammer, Carson e Riley (2004) investigaram o mecanismo de ação do óleo de tea tree como agente antifúngico contra *Candida albicans*, *Candida Glabrata* e *Saccharomyces cerevisiae*. Neste estudo foi possível concluir que o óleo essencial exerce ação antifúngica alterando as propriedades da membrana dos fungos comprometendo as funções associadas a ela. Os autores avaliaram *in vitro* o desenvolvimento da resistência a antibióticos utilizando as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli*. Observaram que o óleo e o seu componente majoritário, terpinen-4-ol, apresentaram baixo impacto no desenvolvimento de resistência e suscetibilidade a antimicrobianos. Concluíram que há poucas evidências para afirmar que o uso do óleo ocasionaria aumento de bactérias resistentes à antibióticos.

Kreuger *et al.* (2007) averiguaram a influência do óleo essencial no processo de cicatrização do alvéolo dental infectado através de um estudo investigativo em ratos. Neste estudo, foram utilizados ratos Wistar, dos quais eram extraídos os dentes e posteriormente o alvéolo era infectado pela bactéria *Staphylococcus aureus*. Observou-se que o óleo com concentração de 20% ocasionou um retardo no processo de reparação dos alvéolos dentais, sendo este comprovado pelo aumento da área de necrose e a diminuição da osteogênese.

Pazyar *et al.* (2013) realizaram trabalho de revisão acerca do uso do óleo de *tea tree* na área de dermatologia devido às ações antifúngica e anti-inflamatória, dentre outras. O uso deste óleo como agente fitoterápico aumentou de forma exponencial e é utilizado pela população como um medicamento natural não convencional e não prescrito. No campo da dermatologia este óleo essencial é utilizado como agente que regula pápulas, tratamento simples contra acne, tratamento contra dermatite seborreica, cicatrização de feridas e tratamento de gengivite crônica. O óleo essencial *tea tree* apresenta uma vasta gama de componentes, dos quais cada um apresenta uma função, como o terpinen-4-ol, atuando como agente anti-inflamatório, antimicrobiano e antitumoral; 1,8-cineol atua, provavelmente, como um alérgeno, dentre outros componentes que compõem este óleo.

2.3.2.2 Óleo de *Melaleuca armillaris*

A *Melaleuca armillaris* é uma espécie nativa do sul da Austrália que apresenta médio porte, em média 8 metros de altura, popularmente conhecida como “bracelete de mel”. A árvore apresenta como características uma casca áspera, cinza, com folhagem densa e em pares alternados. O nome “bracelete de mel” foi lhe dado devido à disposição das frutas nos galhos em forma de cilindros. O óleo essencial é utilizado de forma medicinal devido às atividades antifúngica, antioxidante, antimicrobiana e fumigante (LEE *et al.*, 2004; SILVA *et al.*, 2007; CHABIR *et al.*, 2011; BROPHY; CRAVEN; DORAN, 2013). O óleo essencial oriundo da *Melaleuca armillaris* ainda não foi largamente estudado, sendo que, até o momento as pesquisas foram voltadas para caracterizá-lo quimicamente por cromatografia em fase gasosa. Os trabalhos de Silva *et al.*, 2007, Chabir *et al.*, 2011 e Hayouni *et al.*, 2008 que identificaram que este óleo essencial é rico em monoterpênicos, como canfeno, 1,8-cineol e α -terpineol, e apresenta atividade antioxidante moderada.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Sintetizar hidrogéis a base de carboximetilcelulose sódica (Na-CMC) com diferentes óleos bioativos e ureia e caracterizá-los por meio de diferentes técnicas.

3.2 Objetivos específicos

- Desenvolver hidrogéis de Na-CMC através do método de *casting*;
- Carregar os hidrogéis de Na-CMC com diferentes óleos (óleo de *Copaifera langsdorffii*, óleo de *Melaleuca armillaris* e óleo de *Melaleuca alternifolia*) e hidratante de ureia;
- Avaliar a capacidade de intumescimento dos filmes de hidrogel;
- Identificar os constituintes químicos presentes nos óleos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM);
- Caracterizar os hidrogéis através de: ensaio de intumescimento, espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), análise termogravimétrica (TGA) e ensaio mecânico;
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos óleos bioativos e dos filmes hidrogéis.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

No presente trabalho foram utilizados os seguintes materiais:

- ✓ Carboximetil celulose sódica - Na-CMC (Sigma – Aldrich, Mw 250,000 Dalton, grau de substituição entre 0,80 e 0,95 e viscosidade entre 400 – 800 cps);
- ✓ Ácido cítrico anidro (São Lázaro®);
- ✓ Óleo de *Copaifera langsdorffii* (Ashram Aquarius®);
- ✓ Óleos de *Melaleuca alternifolia* e *Melaleuca armillaris* (Bioleucx®), doação do engenheiro agrônomo Rommel Sauerbronn da Cunha, advindas da cidade de Piedade-SP;
- ✓ Hidratante de ureia (Doce Flora®);
- ✓ Soro fisiológico (Sorimax®).

4.2 Preparo dos hidrogéis

O preparo das amostras de Na-CMC se procedeu pelo método de *casting*, método de deposição de solução polimérica (TAYLOR; SCHULTZ, 1996). Os hidrogéis foram produzidos a partir de três componentes, carboximetil celulose sódica, ácido cítrico e água deionizada. A Figura 8 demonstra o preparo das amostras, que consiste em diluir 3g de Na-CMC em 100 mL de água deionizada sob agitação mecânica (Marca Fisatom, modelo 710) por 90 min à temperatura ambiente. A obtenção dos filmes de hidrogéis se procedeu de duas maneiras distintas, sendo os modos I e II seguindo o mesmo princípio básico de preparo e secagem. A solução pronta foi dividida em porções de 25 mL e, sob agitação magnética (Marca Fisatom, modelo 752), diluiu-se 0,8g de ácido cítrico anidro para reticulação física via formação de ligações éster entre o polímero e o reticulante (KAMEL *et al.*, (2008) e

Ghorpadea, Yadav e Dias (2017)). As amostras foram secas em estufa (Marca Nova instruments, modelo NI1512) por 24 horas a 50°C.

Os hidrogéis preparados pelo modo I foram imersos em água deionizada para que o excesso de reticulante fosse removido (cada hidrogel foi submerso em 10 mL de água deionizada por 24 horas em estufa a 50 °C), enquanto que os hidrogéis preparados pelo modo II foram utilizados diretamente após secagem.

Após este período os hidrogéis foram submetidos ao processo de intumescimento em diferentes óleos (óleo de *Copaifera langsdorffii*, óleo de *Melaleuca armillaris* e óleo de *Melaleuca alternifolia*) e em hidratante de ureia 2%. O período de intumescimento dos hidrogéis com os óleos bioativos e com a ureia perdurou durante 20 dias.

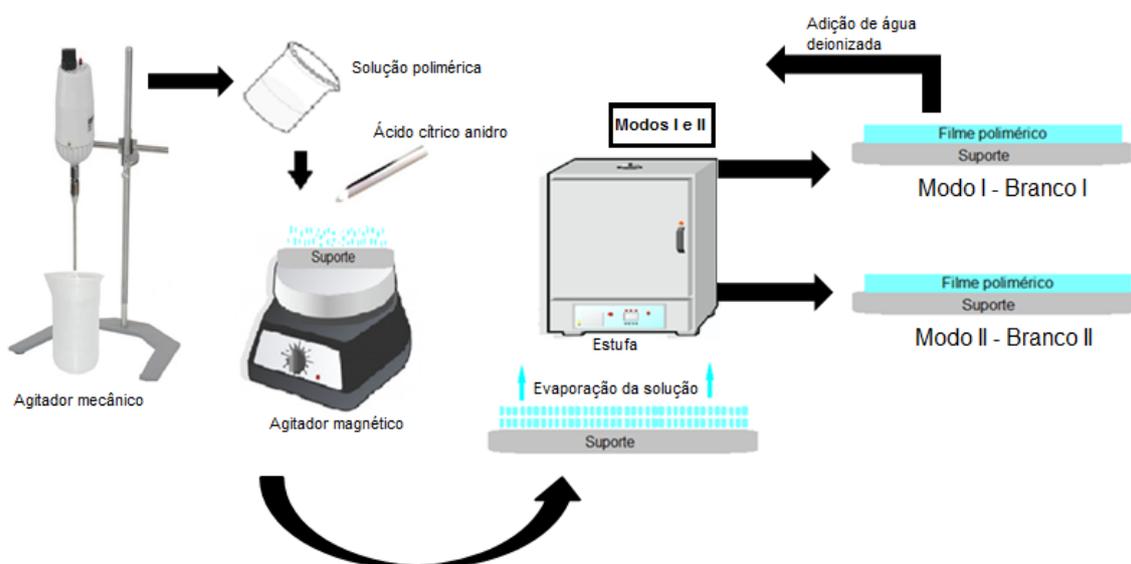


Figura 8 – Esquemática do método de *casting* para obtenção dos filmes poliméricos.

Fonte: Autoria própria (2018).

4.3 Caracterização dos hidrogéis

A caracterização dos hidrogéis foi realizada conforme o fluxograma na Figura 9. Os hidrogéis de Na-CMC (modos I e II, carregados ou não com óleos), bem como os óleos foram caracterizados.

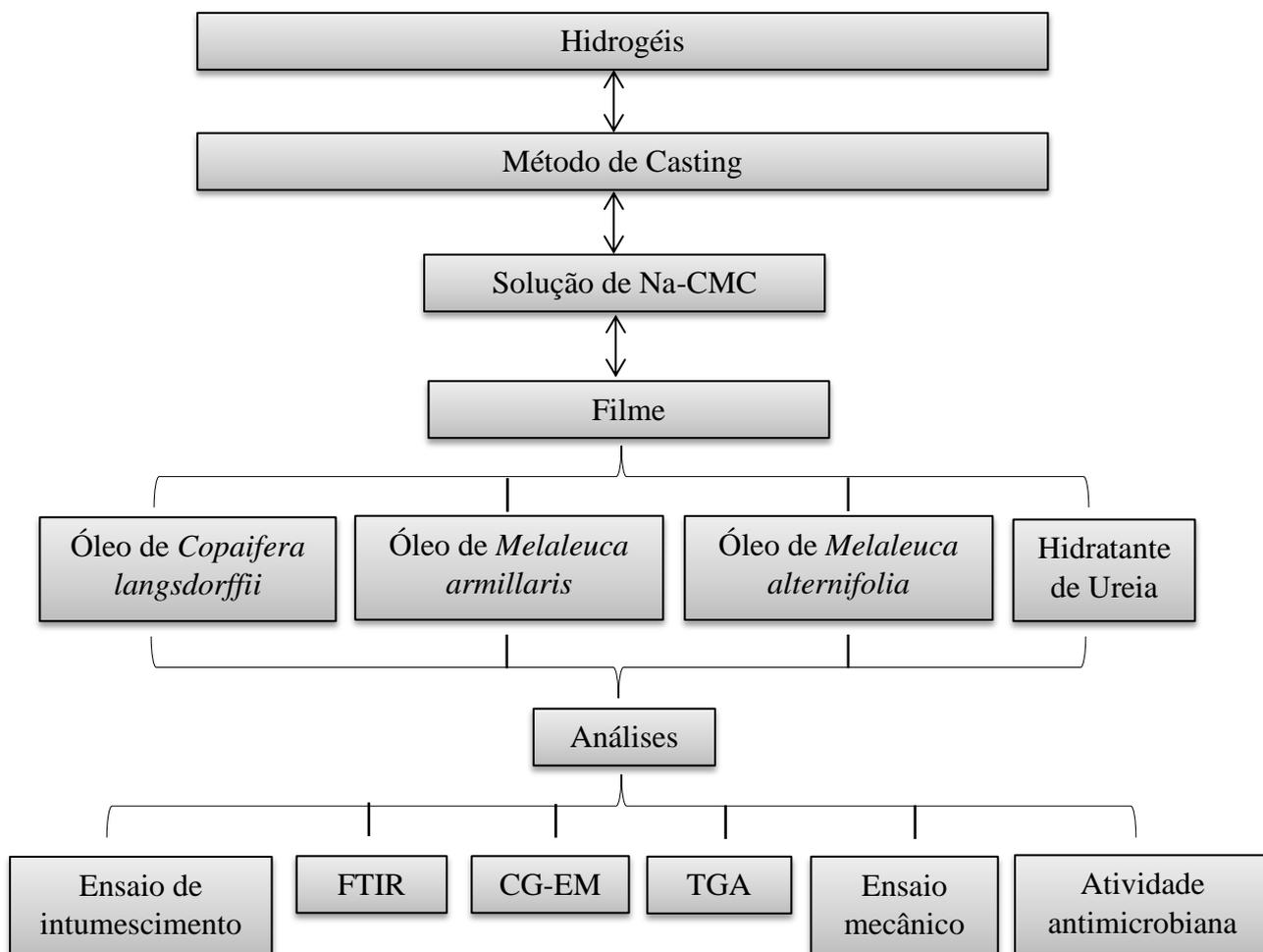


Figura 9 – Etapas de obtenção e caracterização dos hidrogéis.

Fonte: Autoria própria (2018).

4.3.1 Ensaio de intumescimento

O ensaio de intumescimento foi realizado em triplicata como meio de aferir a reprodutibilidade dos resultados (KOKABI; SIROUSAZAR; HASSAN, 2007). Os hidrogéis foram submersos em 25 mL de soro fisiológico e a variação de massa das amostras foi avaliada por pesagens em intervalos de tempo predeterminados (1h, 2h, 3h, 4h, 24h, 72h, 96h de imersão). O grau de intumescimento foi calculado através da equação 1. As amostras foram removidas da solução fisiológica nos intervalos pré-estabelecidos, seguido pela retirada do excesso do soro presente no filme com papel toalha e realizou-se a pesagem da amostra para verificação da variação da massa.

$$GI (\%) = \frac{[Mn-Mo]}{Mo} * 100 \quad (1)$$

Onde: GI: grau de intumescimento; Mn: massa da amostra em cada intervalo; Mo: massa inicial seca.

As amostras foram secas após 4 dias de intumescimento (estufa a 50°C) para obtenção da massa final (Mf) dos filmes. A perda de massa (PM) das amostras no decorrer do ensaio de intumescimento foi avaliada através da equação 2. A fração gel (FG), medida indireta do grau de reticulação, foi obtida pela equação 3. A análise dos dados das triplicatas foi avaliada por meio do ANOVA para verificar se houve diferenças significativas entre os filmes.

$$PM (\%) = \frac{[Mo-Mf]}{Mo} * 100 \quad (2)$$

$$FG (\%) = \frac{Mf}{Mo} * 100 \quad (3)$$

4.3.2 Análise Microestrutural por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier – FTIR

A avaliação qualitativa das amostras foi realizada através de análise de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier. Esta análise foi realizada com o objetivo de verificar se houve interação entre as cadeias de Na-CMC, ácido cítrico anidro e com os diferentes tipos de óleos bioativos e a ureia (PAIVA *et al.*, 2010). A análise foi realizada por meio do equipamento Vertex 70 e os espectros foram coletados na faixa de 400 cm⁻¹ a 4000 cm⁻¹ de resolução.

4.3.3 Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa (CG-EM)

As análises cromatográficas dos óleos bioativos foram realizadas usando um sistema de cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM, GC-17A/QP2010 Plus, Shimadzu). As análises foram realizadas com coluna capilar HP-5MS (30 m de comprimento × 0,25 mm de diâmetro interno × 0,25 mm de espessura de filme); com programação de temperatura de 60 °C por 1 minuto. Seguidamente aqueceu-se a 290 °C (10

°C min⁻¹) e foi mantido por 10 minutos. A temperatura do injetor foi 220 °C, interface de 310 °C, fonte de íons a 250 °C e energia de impacto de 70 eV. O gás carreador foi o hélio com vazão de 1 mL min⁻¹, razão de split 1:30 e 1,0 µL de óleo bioativo injetado em diclorometano. Os espectros de massas foram adquiridos na faixa de varredura de 40-500 u.m.a.. A identificação dos componentes do óleo bioativo foi realizada por comparação com o banco de dados da biblioteca (Nist08).

4.3.4 Análise térmogravimétrica

A análise térmica permite obter informações relativas à desidratação, vaporização e degradação das amostras. Para tal, utilizou-se o equipamento TGA Q500 (TA Instruments Co.) modelo Q500. Foram realizadas análises dos hidrogéis sintetizados, bem como da Na-CMC *in natura* e do ácido cítrico anídrico. As amostras foram carregadas em cadinho de platina aberto, sendo cadinho vazio utilizado como referência. Para as amostras em pó foram utilizadas (2 ± 0,5) mg e para os filmes, (3,1 ± 0,9) mg. As análises foram realizadas de acordo com as condições de Capanema *et al.* (2018) sob fluxo contínuo de N₂ seco (30 mL/min) a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min, entre 25°C e 400 °C.

4.3.5 Ensaio mecânico

O ensaio mecânico foi realizado através de uma adaptação da norma ASTM D882 – 02, no qual a mesma consiste em um método que determina as propriedades de tração dos plásticos quando apresentados na forma de folhas finas. O ensaio foi realizado em corpo de prova retangular, sendo o mesmo realizado em triplicata, com comprimento de 30 mm, largura de 10 mm e espessura de 1 mm. As dimensões das amostras foram medidas em três regiões distintas (para cada corpo de prova). Os testes foram realizados utilizando o equipamento EMIC DL 10000 empregando a célula Trd 21 com 50 kgf e taxa de deformação de 3 mm/min até a falha do filme à temperatura ambiente. Foram obtidos o módulo de elasticidade das amostras (E) e o limite de resistência à tração das mesmas. A análise dos dados para verificação se houve diferenças significativas entre os filmes foi realizada por meio do ANOVA.

4.3.6 Atividade antimicrobiana dos óleos

A atividade antimicrobiana dos óleos pertencentes às espécies *Copaifera langsdorffii*, *Melaleuca armillaris* e *Melaleuca alternifolia* foi realizada com cepas de *Staphylococcus aureus* através do método de difusão em ágar Mueller-Hinton descrito por Bauer *et al.* (1966), no qual este consiste em um teste qualitativo que utiliza a técnica do poço. Neste teste, o inóculo do microrganismo foi obtido por meio de uma alçada da cultura crescida em ágar PCA (Plate Count Agar), que consiste em um ágar padrão de contagem de bactérias, em que as mesmas foram cultivadas neste por 18 horas. Seguidamente ela foi suspensa em 3 mL de água peptonada, para tornar o meio isotônico e ajustada a escala 5 de Mcfarland, sendo este avaliado de acordo com a turbidez, para que o meio contenha aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Após o ajuste foram realizadas diluições com a finalidade de obter suspensões de aproximadamente 10^6 UFC/mL (BAUER *et al.*, 1966).

Preparou-se uma solução de ágar Mueller-Hinton diluindo 5,7 g para cada 250 mL, sendo o mesmo aquecido e vertido em placa de Petri devidamente esterilizada e identificada, exatamente 20 mL em cada placa, no qual a solução após adquirir consistência foi depositada em uma estufa à $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 h. Nestas foram espalhados com o auxílio de uma alça de Drigalsky alíquotas de 0,1 mL da suspensão na superfície das placas de Petri. Utilizando um furador estéril foram perfurados três poços de 7,5 mm de diâmetro, sendo estes preenchidos com 50 μL de cada óleo (óleo de *Copaifera langsdorffii*, óleo de *Melaleuca armillaris* e óleo de *Melaleuca alternifolia*) e para realizar o controle foram utilizados discos de ampicilina para controle de gram-positivas. As placas foram colocadas em repouso por um período de 24 horas. Após este período, poder-se-á evidenciar se houve atividade antimicrobiana caso ocorra à formação de halos claros, e sem crescimento, e os tamanhos deles serão medidos com o auxílio de uma régua milimetrada. O diâmetro dos halos é medido de forma milimétrica e estão relacionados com a sensibilidade dos óleos e a velocidade de difusão do agente antimicrobiano no ágar.

A CLSI (2005) apresenta uma série de critérios para interpretação dos resultados que são recomendados nos regimes quimioterápicos, bem como nas vias de administração usuais nos Estados Unidos da América (EUA). As interpretações possuem três denominações, sendo elas: sensível, intermediária ou resistente, sendo estas mensuradas segundo o diâmetro dos halos de inibição.

- a) Sensível (S): esta categoria é caracterizada quando uma infecção advinda de uma determinada cepa pode ser tratada utilizando uma dose do agente antimicrobiana, exceto se contra indicado;
- b) Intermediária (I): esta categoria indica que é possível administrar uma droga acima do limite normal. Nesta categoria poder-se-á ter a formação de uma zona tampão, que acarretará no impedimento da formação de pequenos fatores técnicos que não estão sujeitos ao aumento discrepante das interpretações, com ênfase nas drogas com valores baixos de farmacotoxicidade.
- c) Resistente (R): esta categoria implica que as cepas resistentes não podem ser inibidas por concentrações usuais dos agentes antimicrobianos e possuem uma maior probabilidade de desenvolver mecanismos de resistência microbiana.

4.3.7 Análise antimicrobiana *in vitro* dos filmes

A atividade antimicrobiana dos hidrogéis de Na-CMC, Na-CMC com os óleos bioativos e a Na-CMC com ureia foi realizado contra cepas da bactéria patológica *S. aureus*. O teste realizado foi uma adaptação da norma ASTM 2180-07 (2012) que consiste em análise quantitativa do efeito de agentes antimicrobianos (livres ou combinados com polímeros), sendo este fundamentado no inóculo de pasta de ágar para a avaliação da atividade antimicrobiana.

O procedimento para o cultivo das cepas de *Staphylococcus aureus* é semelhante ao item anterior, consistindo no ajuste da turbidez na escala 5 McFarland para obter uma suspensão a 10^8 UFC/mL, no qual retira-se um mililitro desta transferindo para 100 mL da pasta de ágar para obter uma suspensão de 10^6 UFC/mL. Foram realizadas diluições que foram ajustadas para obter-se suspensões de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} em solução salina peptonada 0,1%, sendo as mesmas obtidas pela diluição em 1,8 mL de solução salina peptonada (10^{-1}) e nas demais foram adicionados 100 μ L desta em um ependoff que já continha 900 μ L até obtenção de suspensões de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} , para avaliar o fator de inibição dos filmes contra o microrganismo *S. aureus* presente na suspensão mais concentrada para a de menor concentração, e com o auxílio de um vortex agitou-se para a completa liberação da pasta.

Os filmes foram cortados com dimensões de 10 mm x 10 mm em duplicata de cada amostra e esterilizados por exposição à radiação na faixa do ultravioleta (UV) durante 15 min (cada superfície). Os filmes foram umedecidos com solução salina (0,85%) estéril e espalhou-se uniformemente sobre cada filme 0,75 mL da pasta de agár inoculada.

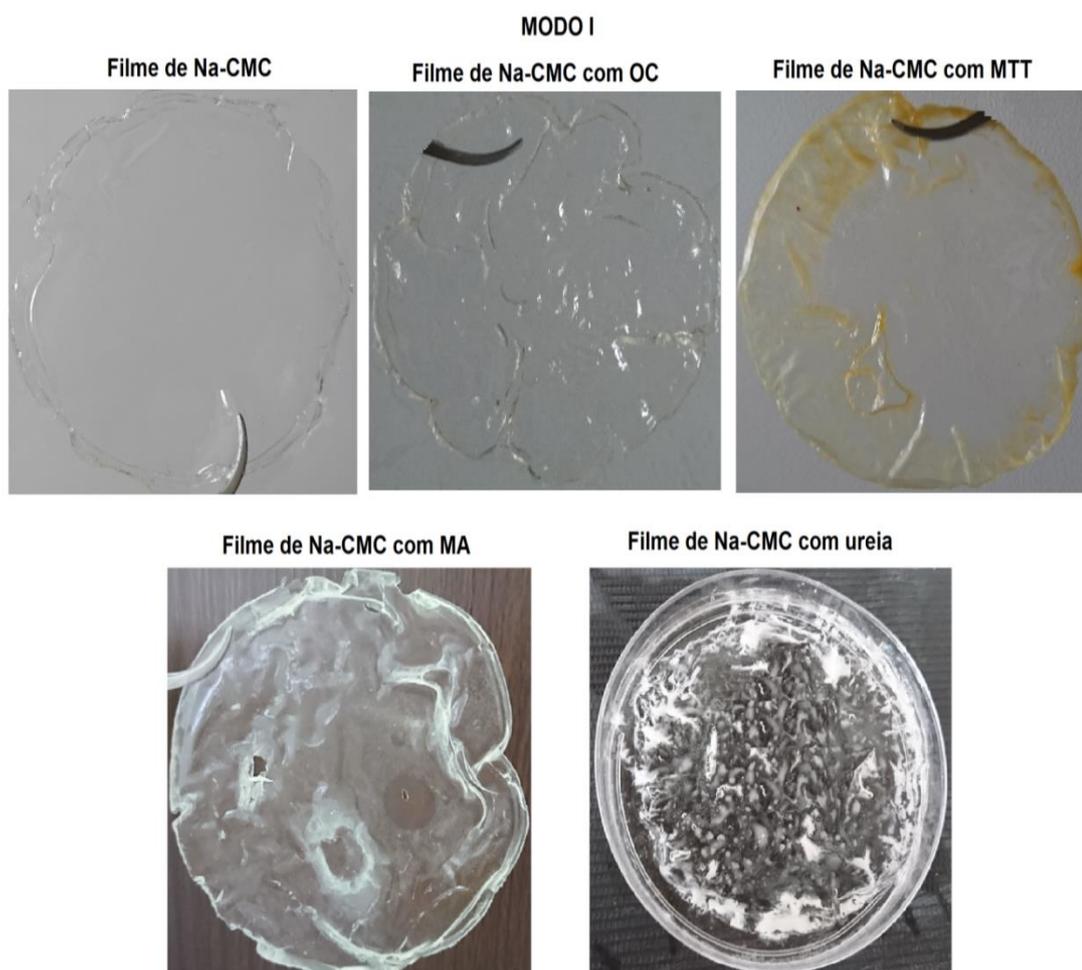
O plaqueamento foi realizado em duplicata a partir das diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} , seguidamente as placas foram incubadas à $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, logo após foram retiradas para realização da contagem das colônias de acordo com a equação 4.

$$\text{Contagem} = \frac{1}{\text{Fator de alicota}} * \frac{1}{\text{Fator de diluição}} * n^{\circ} \text{ de colônias (UFC)} \quad (4)$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Os hidrogéis – aspecto macroscópico

Os hidrogéis de carboximetil celulose sódica (Na-CMC) sintetizados apresentam aspecto de filme levemente rugoso, maleável e flexível quando obtido através do modo I, Figura 10. Quando obtidos pelo modo II os filmes apresentaram-se com aspecto mais liso, contudo, quando os mesmos são submetidos à impregnação dos óleos e ureia 2%, apresentam aspectos diversificados, Figura 11.

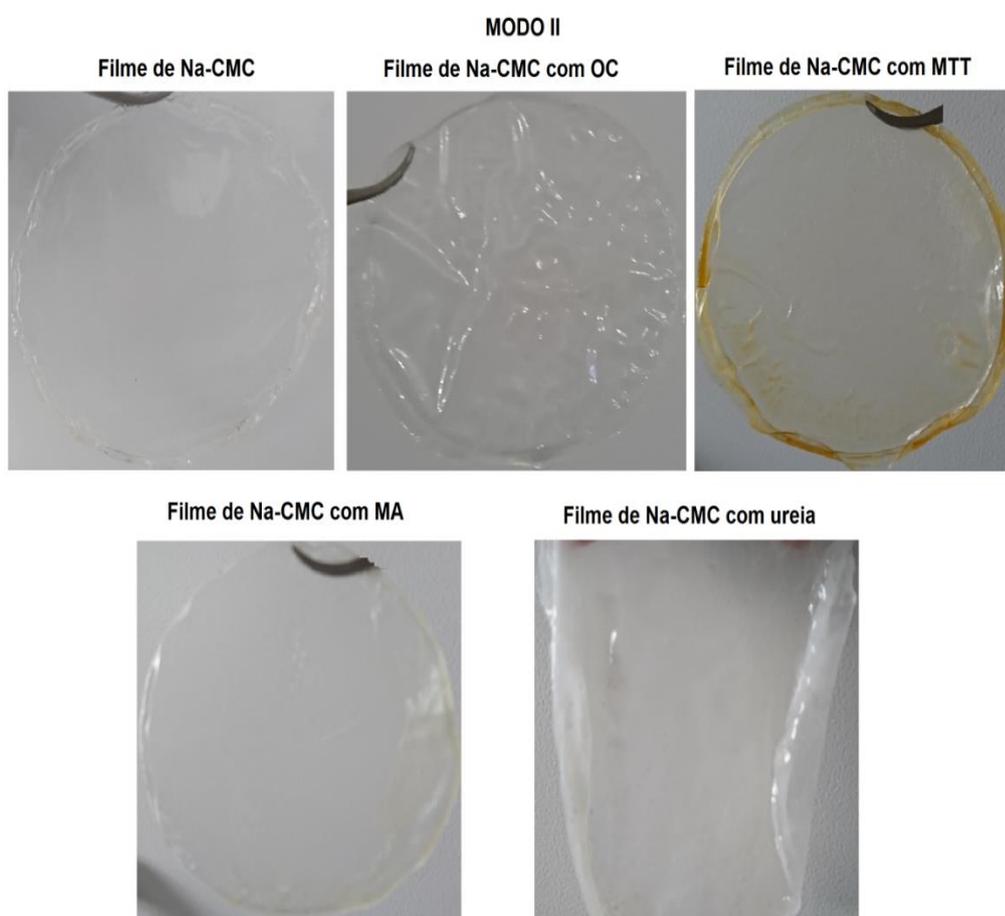


OC: *Copaifera langsdorffii*; **MTT:** *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree); **MA:** *Melaleuca armillaris*.

Figura 10 – Filmes produzidos através do modo I.

Fonte: Autoria própria (2018).

De acordo com a literatura, cada trabalho obteve hidrogéis com aspectos diversificados, porém com características desejáveis para hidrogel com fim para curativo, como, por exemplo, Ng e Jumaat (2014) obtiveram gel de textura esponjosa e flexível; Zheng *et al.* (2015) conseguiram hidrogel com característica transparente e maleável, sendo ambos os hidrogéis manufacturados por liofilização. Namazi *et al.* (2016) conseguiram gel como película fina; Rakhshaei e Namazi (2017) obtiveram como película flexível; e Capanema *et al.* (2018) sintetizaram hidrogéis superabsorventes. Os hidrogéis sintetizados neste trabalho apresentam algumas características em comum com os géis descritos, como flexibilidade, transparência, possuem capacidade de incorporação de agentes para administração e liberação de drogas, como óleos.



OC: *Copaifera langsdorffii*; **MTT:** *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree); **MA:** *Melaleuca armillaris*.

Figura 11 – Filmes produzidos pelo modo II.

Fonte: Autoria própria (2018).

5.2 Ensaio de intumescimento

Os resultados do ensaio de intumescimento podem ser verificados nas Figuras 12 e 13. Os filmes de Na-CMC sem a adição dos óleos bioativos ou da ureia foram denominados como branco I, sendo estes produzidos através do modo I, ou branco II (produzidos pelo modo II). Os brancos I e II apresentaram grau de intumescimento positivo em comparação com os filmes que apresentavam algum composto incorporado. Entretanto, o grau de intumescimento do branco I é superior ao branco II, este fato ocorre devido o branco I apresentar maior volume livre para absorção do soro, uma vez que o excesso de ácido cítrico foi removido.

O grau de intumescimento do branco I é maior na primeira hora apresentando um ganho de massa de 30%, diferente do branco II que exibiu ganho de massa de 5,71%. Os brancos I e II apresentam hidrofiliicidade, o que de acordo com Capanema *et al.* (2018) é uma característica importante quando se almeja obter hidrogel para curativo.

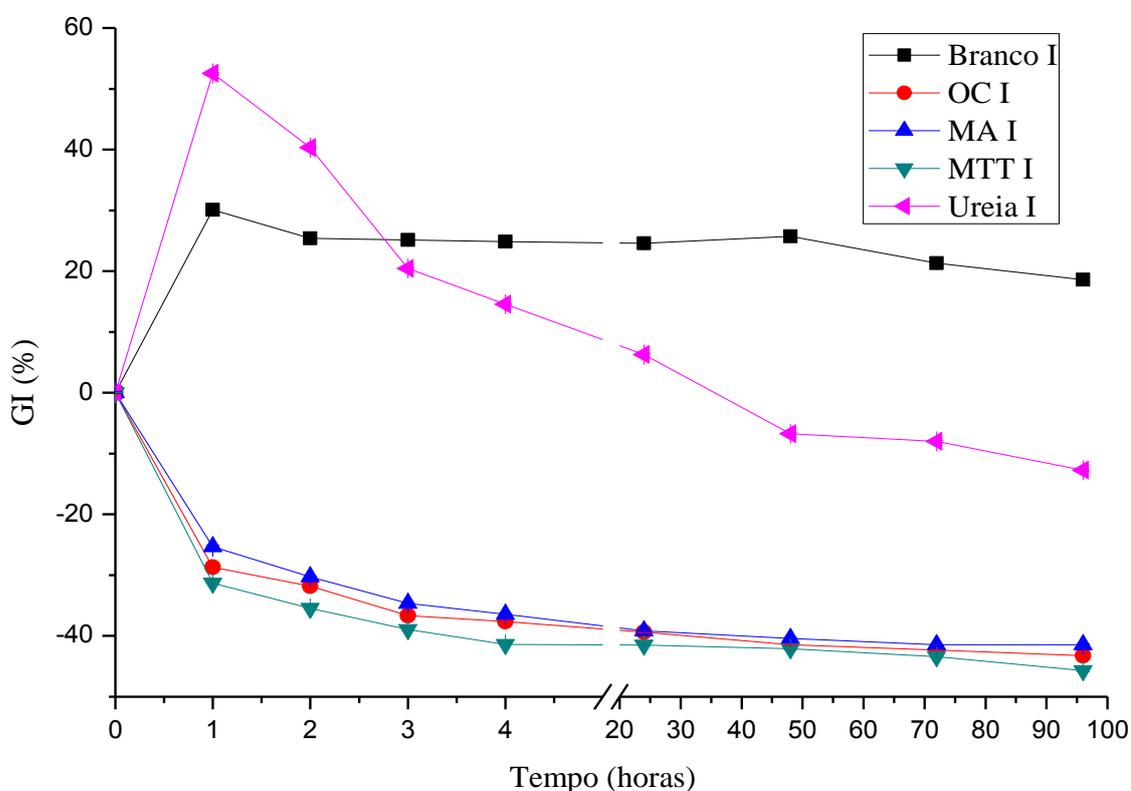


Figura 12 – Grau de intumescimento modo I.

Fonte: Autoria própria (2018).

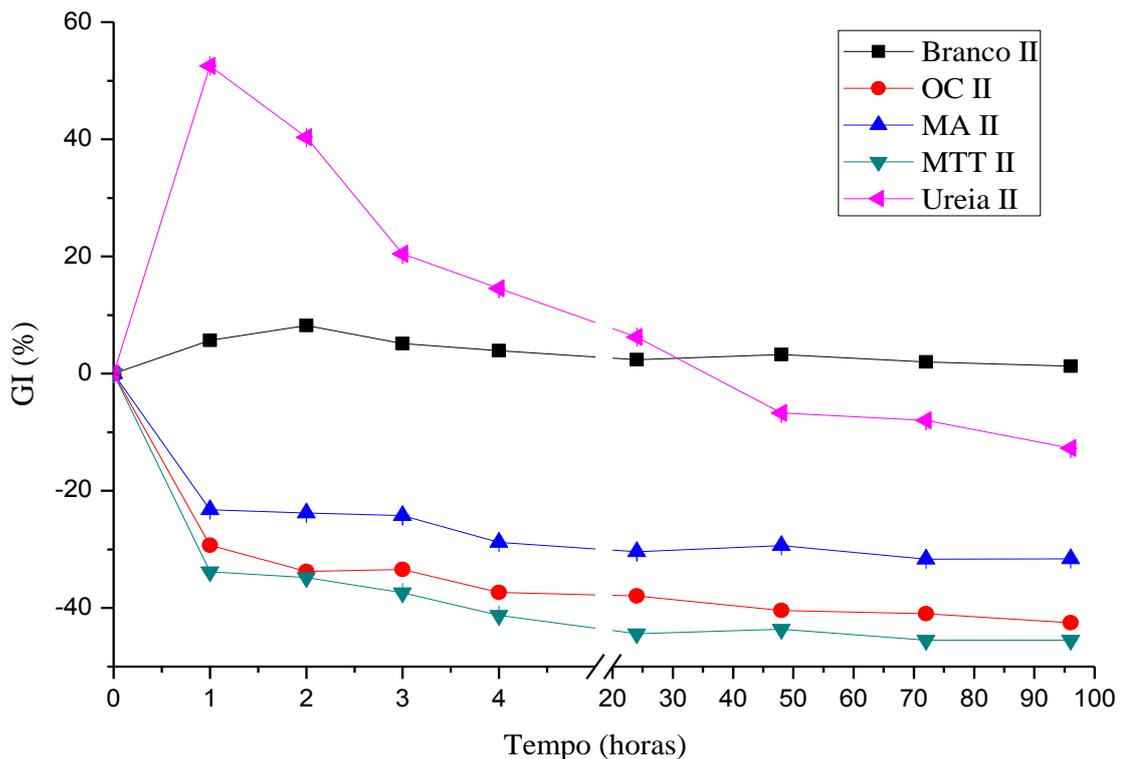


Figura 13 – Grau de intumescimento modo II.

Fonte: Autoria própria (2018).

Os filmes ‘branco I’ e ‘branco II’ possuem diferentes comportamentos quando em meio com solução fisiológica, no qual o branco II apresenta uma maior perda de massa, 73%, em comparação com o branco I, 66%. Avaliando estes resultados estatisticamente pelo ANOVA, verificou-se que há diferenças significativas entre o branco I e branco II ($p < 0,05$).

Avaliando o comportamento dos filmes com óleos (modos I e II), Figuras 12 e 13, verificou-se que eles apresentam comportamentos semelhantes, exibindo não intumescimento, mas provável perda de massa / dissolução. Observou-se que os filmes contendo óleo de *Melaleuca armillaris* (MA) apresentaram menor perda de massa que aqueles contendo óleo de *Copaifera langsdorffii* (OC), sendo que os filmes contendo *Melaleuca alternifolia* (MTT) apresentaram a maior perda de massa dos filmes contendo óleo ($p < 0,05$). A perda de massa dos filmes de Na-CMC com os óleos pode ser atribuída à degradação hidrolítica das amostras por meio do rompimento da ligação 1,4-glicosídica da celulose, bem como dificuldade à entrada do soro devido à presença dos óleos (CAPANEMA *et al.*, 2018).

Os filmes com ureia (modos I e II) apresentaram comportamento diferente dos filmes com óleos, uma vez que apresentaram grau de intumescimento alto na primeira hora do

ensaio. Tal efeito está provavelmente correlacionado a hidrofiliicidade do filme de ureia. A natureza hidrofílica dos filmes permite que, em contato com fluidos aquosos, formem-se ligações de hidrogênio entre a água e grupos hidrofílicos das cadeias de Na-CMC, aumentando a absorção de água (HU; QIANG; WANG, 2017). A Figura 14 apresenta os valores da fração gel e da perda de massa dos filmes produzidos pelo modo I, onde temos o Branco I, OC I (*Copaifera langsdorffii*), MA I (*Melaleuca armillaris*), MTT I (*Melaleuca alternifolia*) e Ureia I.

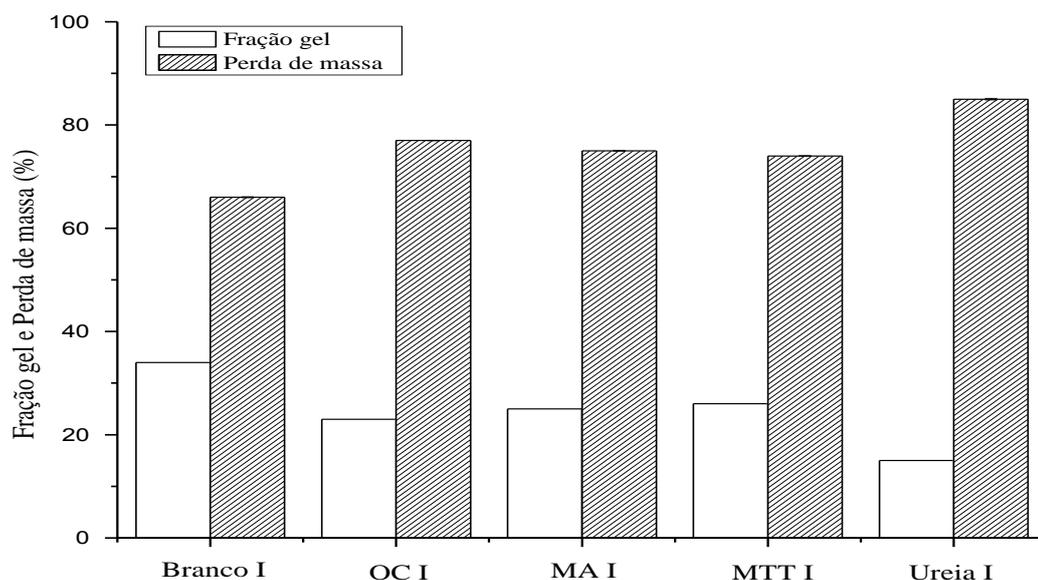


Figura 14 – Fração gel e Perda de massa modo I.

Fonte: Autoria própria (2018).

Dentre os filmes sintetizados no modo I, observou-se que: os filmes de Na-CMC com ureia apresentaram maior perda de massa, 85%, quando comparada aos filmes com óleos de *Copaifera langsdorffii*, 77%, *Melaleuca armillaris* (MA), 75%, e *Melaleuca alternifolia* (MTT), 74%. A análise estatística dos resultados obtidos foi realizada por ANOVA, que confirmou que todos os hidrogéis apresentam diferenças significativas de perda de massa com relação ao branco I, no qual o filme contendo ureia quando comparado ao branco I também apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) superiores às obtidas nos filmes contendo óleo. A maior perda de massa do filme com ureia em comparação aos demais se deve às prováveis degradações da amostra e liberação de ureia. Contudo, os filmes com óleos apresentaram valores próximos de perda de massa, provavelmente devido à influência da hidrofobicidade

dos óleos. Os filmes preparados no modo II, Figura 15, apresentaram perda de massa superior àqueles do branco I. É possível que a remoção de ácido cítrico tenha proporcionado menor interação entre as cadeias, facilitando a solubilização das amostras de branco II no fluido.

Os filmes do modo II apresentaram o seguinte comportamento: os filmes de Na-CMC com ureia apresentaram maior perda de massa, 87%, quando comparados aos filmes com óleo de *Copaifera langsdorffii*, 78%, óleo de *Melaleuca armillaris* (MA), 74%, e de *Melaleuca alternifolia* (MTT), 80%. Analisando os dados por ANOVA verificou-se que houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os filmes contendo óleo de *Copaifera langsdorffii* comparando ao filme contendo óleo de *Melaleuca alternifolia*, contudo, quando se avalia estatisticamente o branco II com os três óleos verifica-se que não há diferenças significativas entre eles ($p > 0,05$).

Na literatura evidenciou-se trabalhos semelhantes, diferenciando-se pelo modo de preparo e no produto incorporado, como Ng e Jumaat (2014) que realizaram a incorporação de agentes antimicrobianos (hidrato de sal trissulfato de neomicina, sulfatamida de sódio e nitrato de prata) em amostras de carboximetil celulose liofilizadas, bem como Namazi *et al.* (2016) que incorporou antibióticos (cloridrato de tetraciclina e azul de metileno) em hidrogéis nanocompósitos com sílica mesoporosa MCM-41, ambas pesquisas verificaram que houve liberação controlada dos medicamentos, fato semelhante ao evidenciado nas Figura 14 e 15.

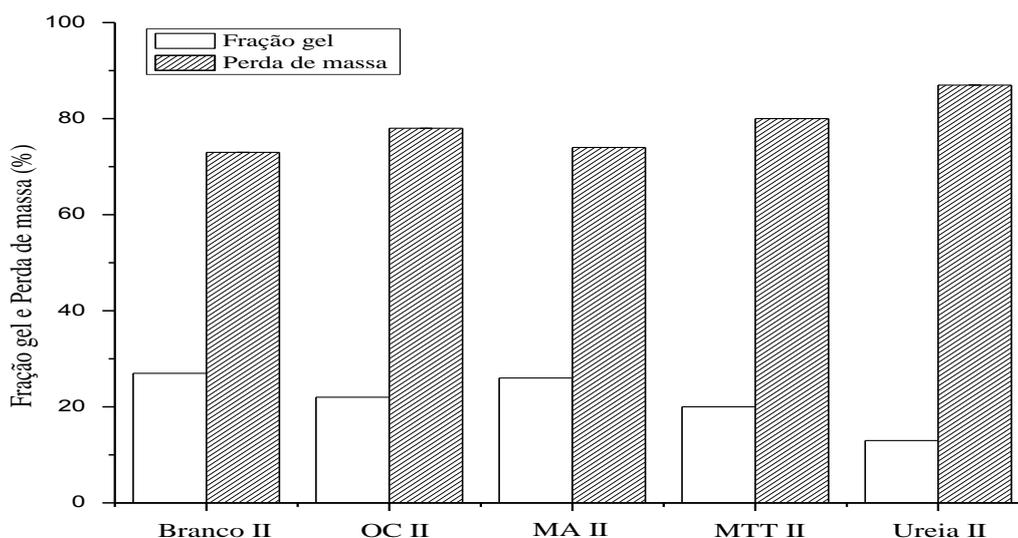


Figura 15 – Fração gel e Perda de massa modo II.

Fonte: Autoria própria (2018).

5.3 Análise espectroscópica por FTIR

Os espectros no FTIR relativos ao ácido cítrico anidro (AC), à carboximetil celulose sódica (Na-CMC) e ao filme de Na-CMC com AC sintetizados pelo modo I (branco I) e pelo modo II (branco II) antes e pós intumescimento (PI) podem ser visualizados na Figura 16. Observam-se na tabela 4 as bandas relacionadas aos grupos funcionais observados nos espectros da Figura 16. Há uma banda larga na região entre $3600 - 3000 \text{ cm}^{-1}$ na Na-CMC pó que está relacionada ao estiramento vibracional do grupo -OH presente em toda a molécula devido a presença de ligações glicosídicas β 1-4 de unidades de glicose (HU; QIANG; WANG, 2017). Nesta região também estão presentes as bandas do grupamento -OH dos filmes branco I e branco II, proveniente da Na-CMC e da presença da água que advém do processo de secagem incompleta dos filmes.

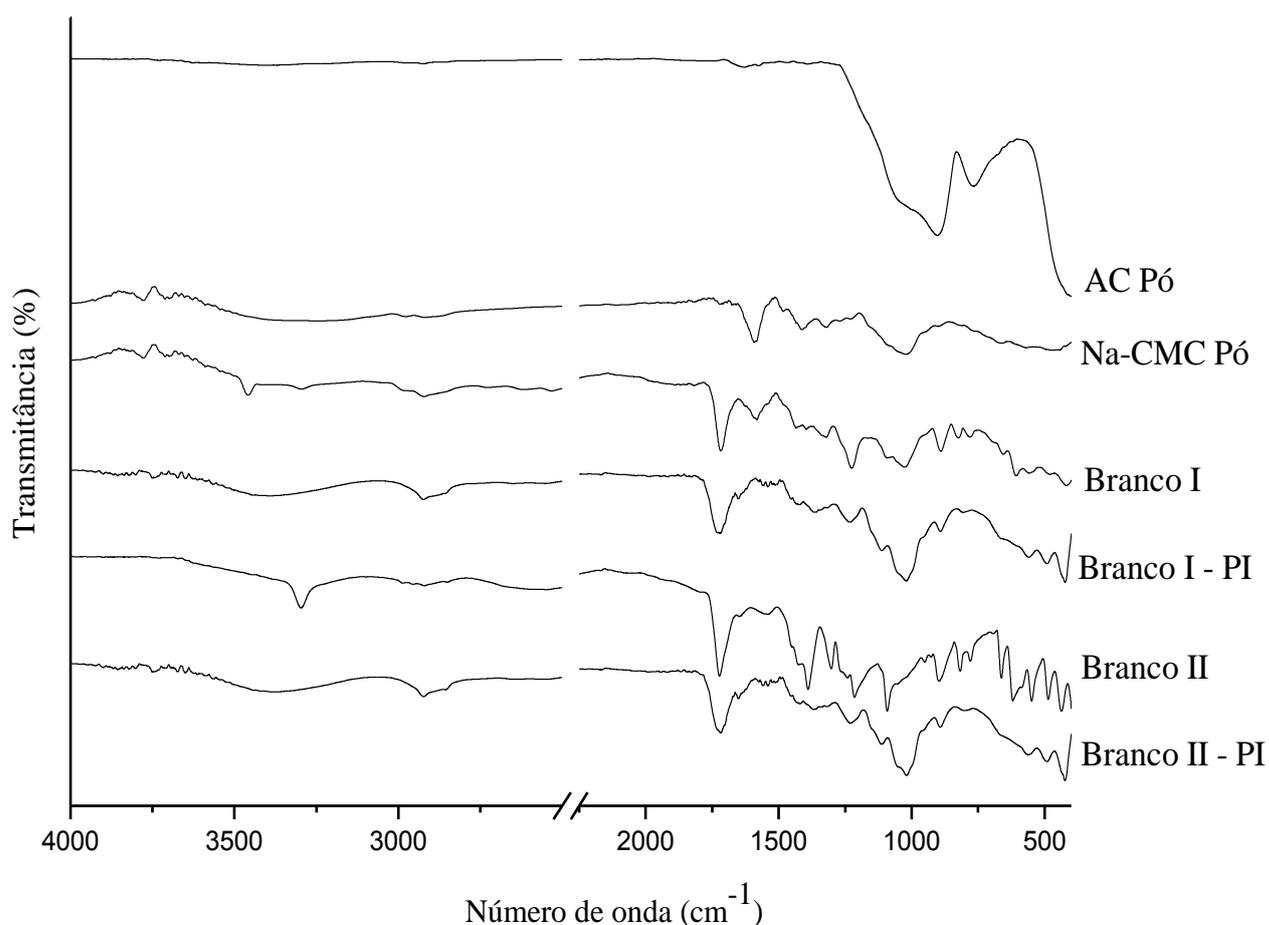


Figura 16 – Espectros de FTIR de ácido cítrico (AC pó), Na-CMC (Na-CMC pó), bem como dos hidrogéis Branco I e II antes e após intumescimento (PI).

Fonte: Autoria própria (2018).

A presença de banda em 1720 cm^{-1} confirma que houve reação da Na-CMC com o agente reticulante AC formando ligações éster assimétricas (NAMAZI *et al.*, 2016). O estiramento simétrico -COO^- em 1582 cm^{-1} está presente nas bandas de Na-CMC Pó, B – I, B – I PI, B – II e B – II PI (CAPANEMA *et al.*, 2018). O estiramento de -CO entre $1087 - 1018\text{ cm}^{-1}$, presente nas amostras contendo Na-CMC, é característico do esqueleto de polissacarídeos, segundo Namazi *et al.* (2016).

Tabela 4 – Identificação espectroscópica de AC pó, Na-CMC Pó e os filmes (NAMAZI *et al.*, 2016; HU; QIANG; WANG, 2017; CAPANEMA *et al.*, 2018).

Amostra	Número de onda (cm^{-1})	Grupo funcional	Vibração das ligações
Ácido cítrico Pó	3398	-OH	Alongamento
	1635	C=O	Ácido carboxílico
	1387	C-O	Deformação axial de ácido carboxílico
	904	O-H	Deformação angular fora do plano da C=O do ácido carboxílico
Na-CMC Pó e os filmes	3600 – 3000	-OH	Estiramento vibracional do grupo
	~ 1720	$\text{-CO}_2\text{H}$	Ligações éster assimétricas
	1582	-COO^-	Estiramento simétrico
	1087 – 1018	-CO	Alongamento

Fonte: A autoria própria (2018).

Os óleos bioativos e a ureia foram analisados qualitativamente por FTIR e as bandas deles podem ser observadas nas Figuras 17 e 18. Na figura 17, tabela 5, observam-se bandas que correspondem ao óleo de *Copaifera langsdorffii*, que apresenta uma banda intensa em 2925 cm^{-1} , referente a um estiramento -CH alifático relativo aos grupos metileno e metila ($\text{-CH}_2/\text{-CH}_3$). Há também banda de deformação angular em 1381 cm^{-1} relacionada ao grupo

funcional CH₃, banda em 1161 cm⁻¹ característica do grupamento éter alifático (PAIVA *et al.*, 2010).

Segundo Paiva *et al.* (2010), a banda em 1161 cm⁻¹ é confirmada pela ausência de banda de –OH que confirma que a mesma não é um éster ou um álcool e a banda em 892 cm⁻¹ refere-se à vibração do grupamento –CH₂ de cadeia longa. Já a ureia apresenta uma banda larga e intensa em (3700 – 2750) cm⁻¹ referente às vibrações de estiramento simétrico e assimétrico do grupo N-H, tendo em 1632 cm⁻¹ uma vibração proveniente da diamida do ácido carbônico (VALÁŠKOVÁ *et al.*, 2007).

Tabela 5 – Identificação espectroscópica da ureia e do óleo de *Copaifera langsdorffii* (VALÁŠKOVÁ *et al.*, 2007; PAIVA *et al.*, 2010).

Amostra	Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Vibração das ligações
Ureia	3700 – 2750	N-H	Vibrações de estiramento simétrico e assimétrico
	1632	C-O	Deformação axial
	1463	C-N	Vibração de alongamento
	1085	N-H	Estiramento simétrico
	581	N-H	Deformação angular
Óleo de <i>Copaifera langsdorffii</i> (OC)	2925	–CH	Deformação axial
	1740	C=O	Ácido carboxílico
	1458	–CH ₂	Deformação angular
	1381	CH ₃	Deformação angular
	1244	-CO-OH	Ácido carboxílico
	1161	-C-O-R	Grupamento éter alifático
	892	–CH ₂	Vibração de CH ₂ em cadeia longa

Fonte: Autoria própria (2018).

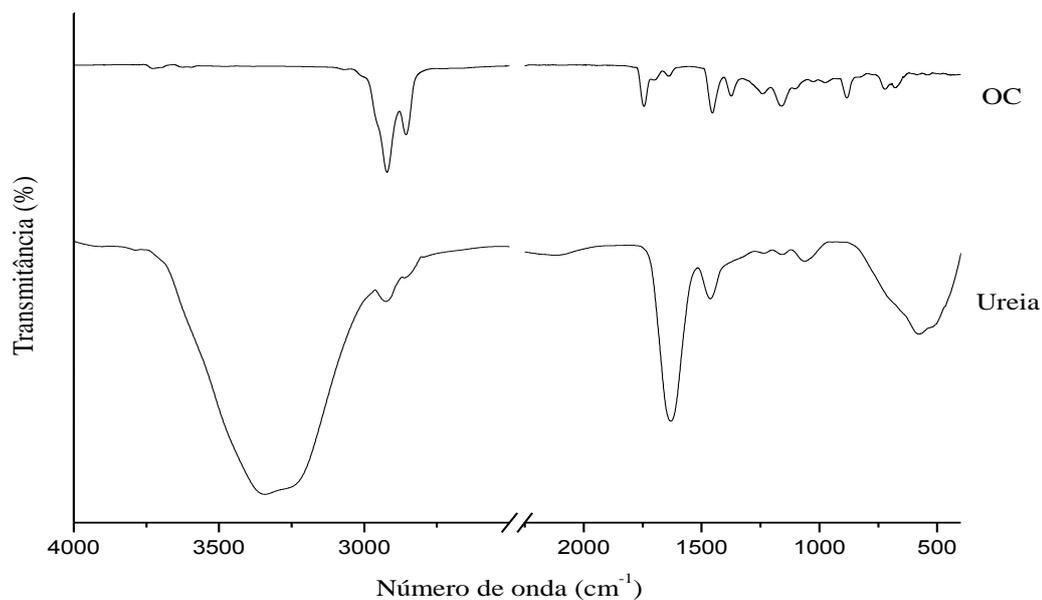


Figura 17 – Espectros de FTIR das amostras do óleo de *Copaifera langsdorffii* e da ureia.

Fonte: Autoria própria (2018).

Os óleos essenciais das duas melaleucas podem ser verificados nos espectros de FTIR (Figura 18) e na tabela 6 com as principais bandas.

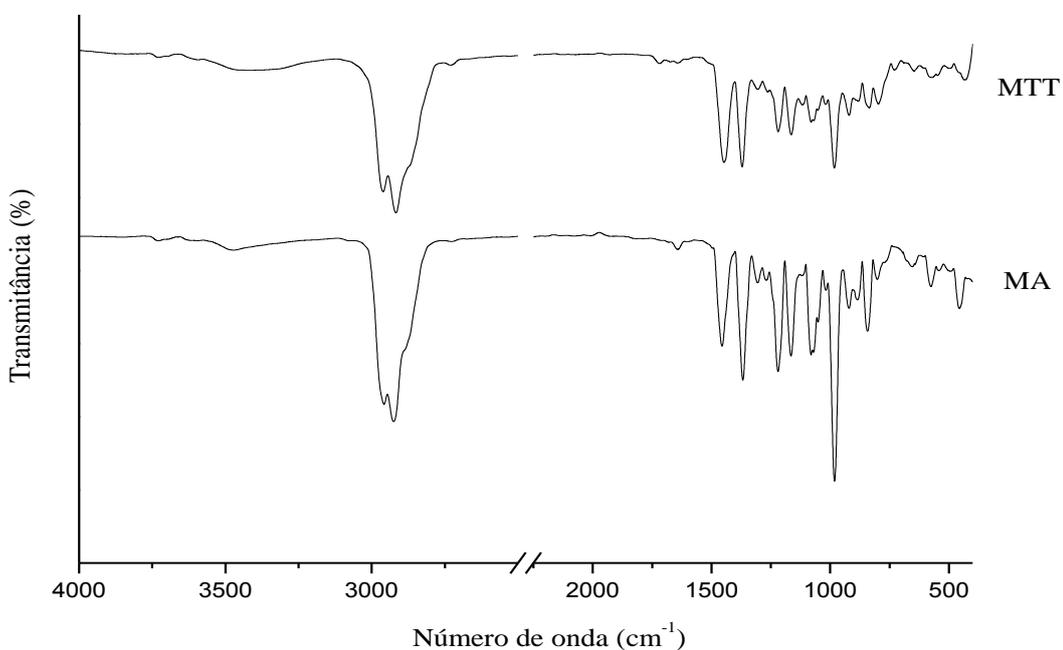


Figura 18 – Espectros de FTIR das amostras dos óleos de *Melaleuca armillaris* (MA) e *Melaleuca alternifolia* (MTT).

Fonte: Autoria própria (2018).

Ambas as melaleucas apresentam bandas em (3575 – 3130) cm^{-1} característico de deformação axial $=\text{C-H}$ sp^2 ; 2925 e 2966 cm^{-1} de deformação axial simétrica e assimétrica de C-H sp^3 ; 1652 cm^{-1} de estiramento $\text{C}=\text{C}$, 1432 e 1371 cm^{-1} relacionados à deformação angular de CH_2 e CH_3 e 1076 cm^{-1} de estiramento C-O .

Tabela 6 – Identificação espectroscópica da família Myrtaceae (PAIVA *et al.* (2010)).

Número de onda (cm^{-1})	Grupo funcional	Vibração das ligações
3575 – 3130	$=\text{C-H}$	Estiramento de C sp^2
2925 e 2966	C-H	Deformação axial simétrica e assimétrica
1652	$\text{C}=\text{C}$	Estiramento
1469 e 1371	CH_2	Deformação angular
1179 e 1076	C-O	Estiramento álcool ou éter

Fonte: Autoria própria (2018).

Os próximos espectros (Figuras 19-27) são correspondentes às análises antes e após o ensaio de intumescimento das amostras carregadas. Observam-se também espectros correspondentes ao óleo bioativo/ hidratante de ureia.

A Figura 19 apresenta quatro curvas relativas à amostra contendo óleo de *Copaifera langsdorffii* preparada no modo I. Nesta figura percebe-se um alongamento na banda de $-\text{OH}$ no período em que o filme esteve em contato com o óleo; observou-se uma banda em 3293 cm^{-1} no filme contendo carboximetil celulose sódica com óleo de *Copaifera langsdorffii*, também evidenciada no branco I e branco II com menor intensidade, que provavelmente é resultante da interferência do óleo no filme. Após o teste de intumescimento tal banda permanece, porém, com um recuo e alargamento indicando perda de massa para o meio. Há indicação de interação entre o filme e o óleo de *Copaifera langsdorffii* em 2925 cm^{-1} , pois houve a permanência da banda que correspondem ao óleo de *Copaifera langsdorffii*, referente a um estiramento $-\text{CH}$ alifático relativo aos grupos metileno e metila ($-\text{CH}_2/ -\text{CH}_3$). Houve

um alongamento da banda em 1720 cm^{-1} do filme de Na-CMC com o óleo que representa a ligação éster entre o ácido cítrico e a Na-CMC decorrente de interação física entre eles e há diminuição desta banda ao final do teste de intumescimento decorrente da solubilização do filme no meio.

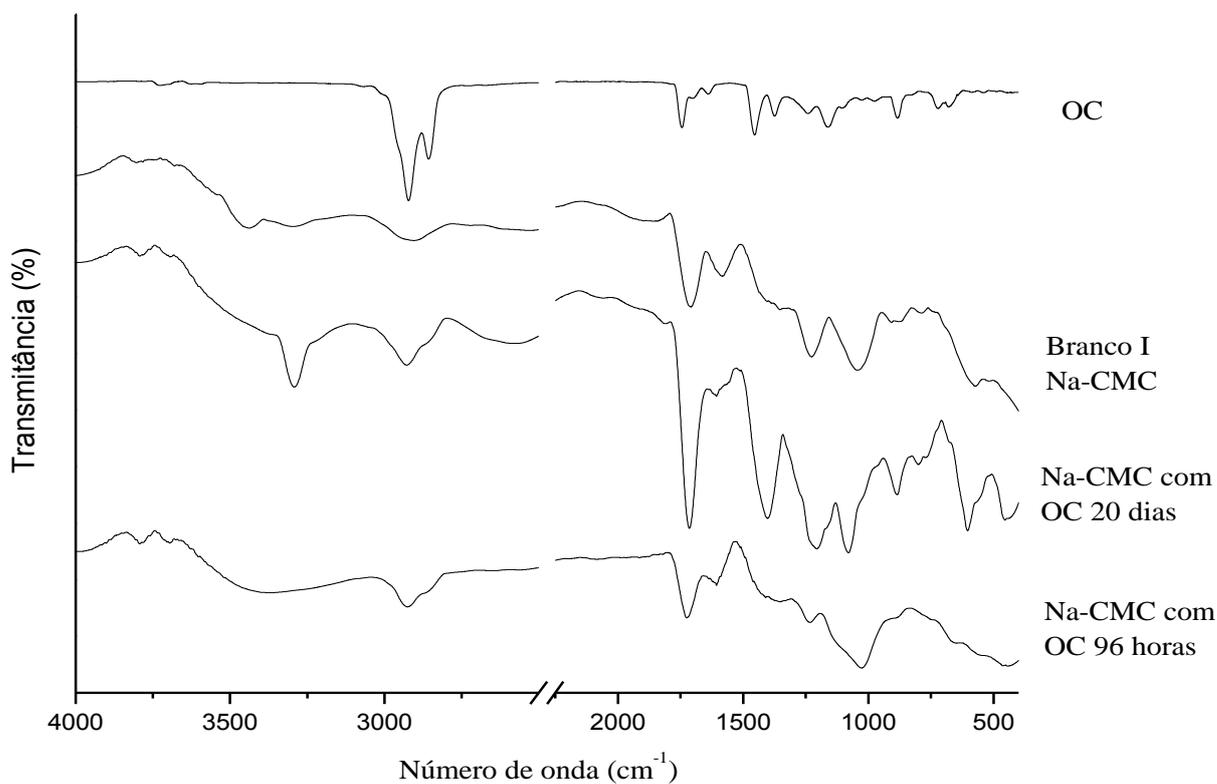


Figura 19 – Espectros de FTIR das amostras dos filmes após a incorporação do óleo de *Copaifera langsdorffii* pelo modo I.

Fonte: Autoria própria (2018).

A Figura 20 apresenta interações semelhantes às aquelas na Figura 19, a diferença está na intensidade e alargamento das bandas, onde a banda referente à interação do filme de Na-CMC com o óleo de *Copaifera langsdorffii* após 20 dias apresenta maior intensificação quando comparada à Figura 19.

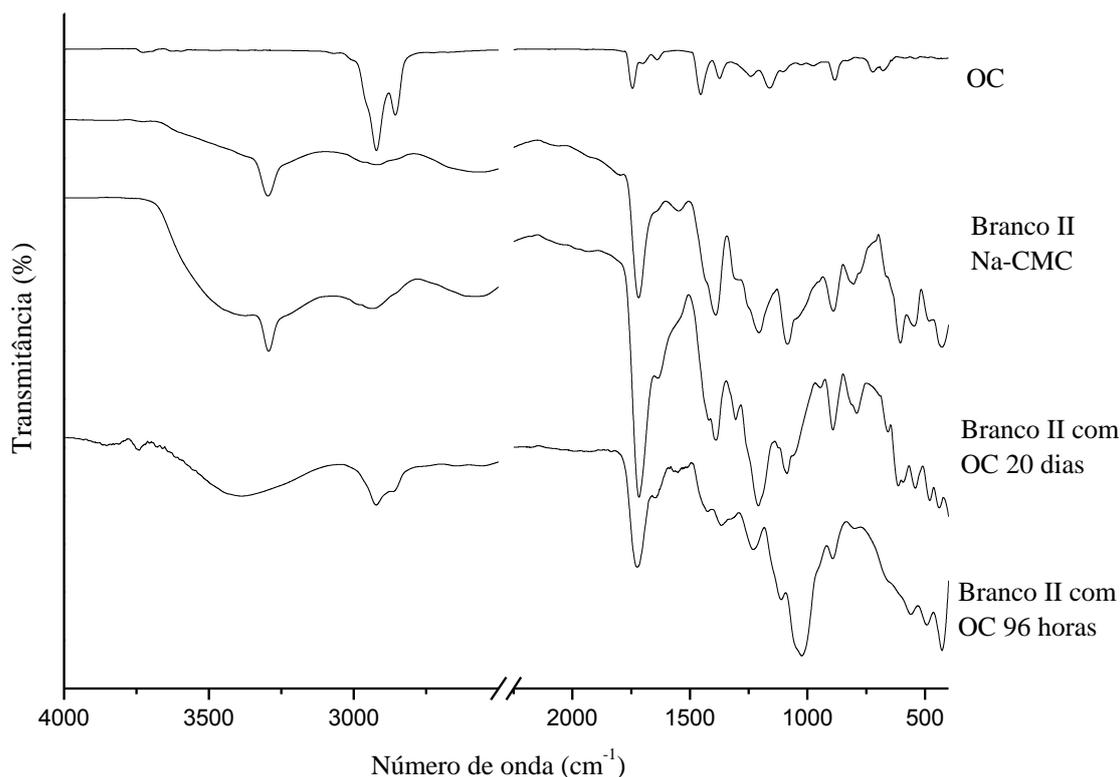


Figura 20 – Espectros de FTIR das amostras dos filmes após a incorporação do óleo de *Copaifera langsdorffii* pelo modo II.

Fonte: Autoria própria (2018).

As Figuras 21 e 22 exibem os espectros das amostras com os óleos da família Mytaceae no qual se diferenciam na intensidade das bandas, pois, a *Melaleuca armillaris* possui bandas mais intensas em comparação com a *Melaleuca alternifolia*. As amostras com os diferentes óleos (Figuras 19 à 26) após teste de intumescimento apresentaram majoritariamente as bandas referentes ao filme de Na-CMC, entretanto, nas amostras contendo *Melaleuca armillaris* observou-se que houve um alargamento na banda em (2988 – 2853) cm^{-1} e na amostra contendo *Melaleuca alternifolia*, observou-se o mesmo na banda entre 3025 e 2805 cm^{-1} , este fato indica que houve um arraste parcial de óleo das amostras para o meio.

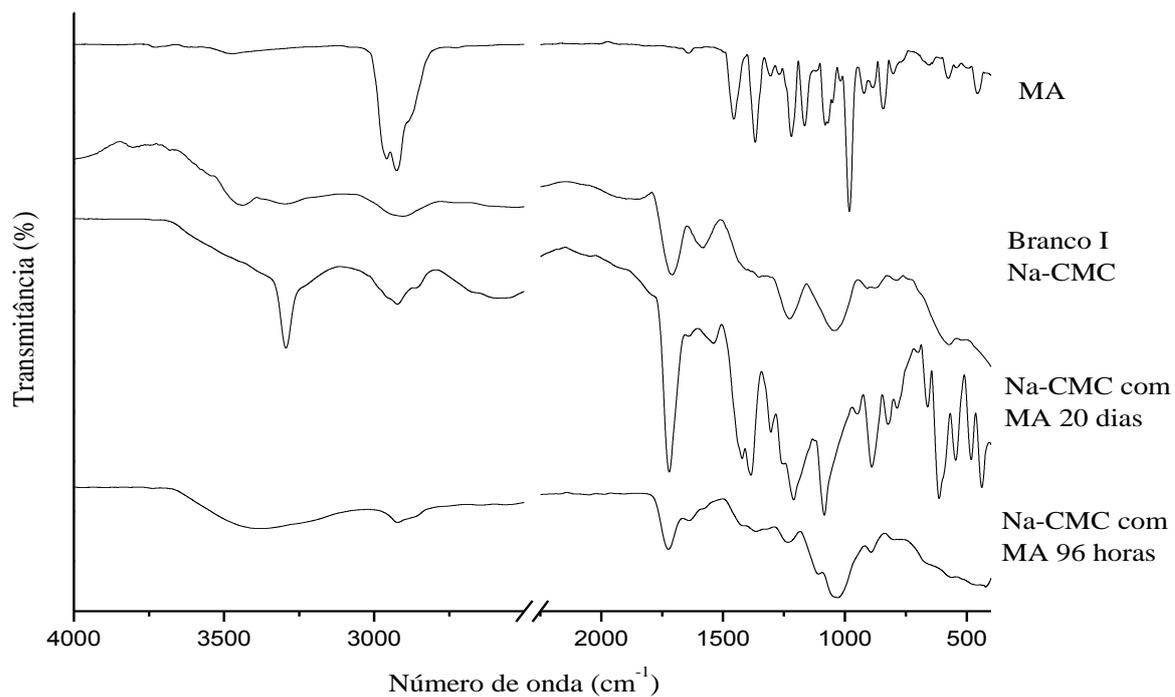


Figura 21 – Espectros de FTIR das amostras dos filmes após a incorporação do óleo de *M. armillaris* pelo modo I.

Fonte: Autoria própria (2018).

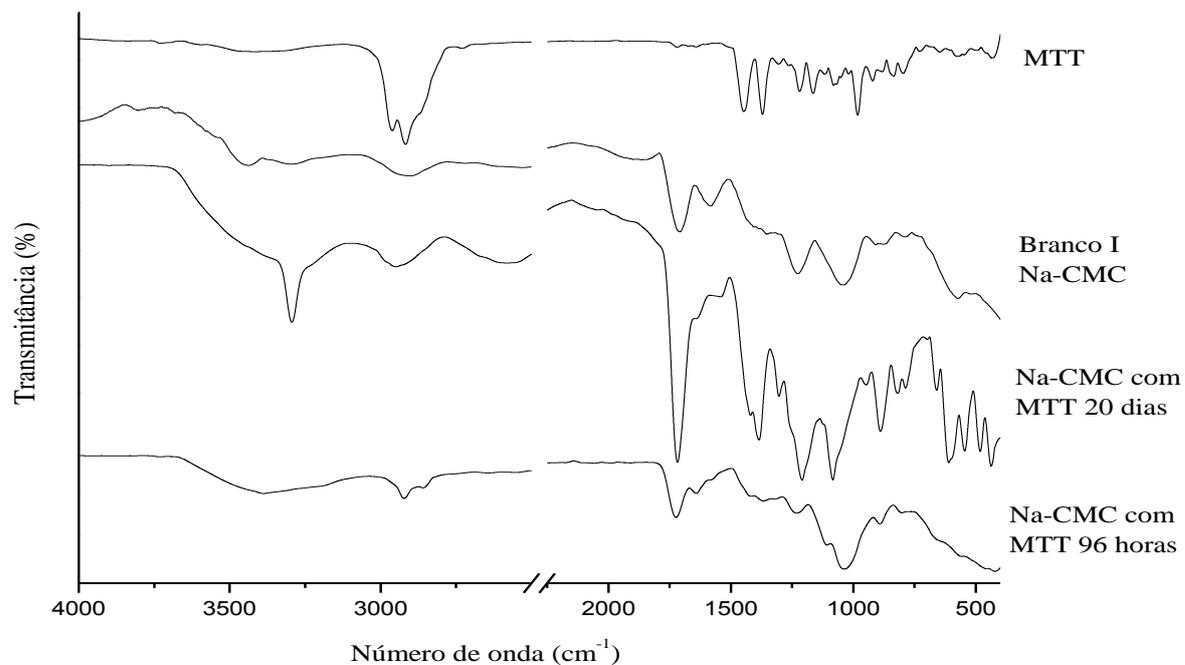


Figura 22 – Espectros de FTIR das amostras dos filmes após a incorporação do óleo de *M. alternifolia* pelo modo I.

Fonte: Autoria própria (2018).

As Figuras 23 e 24 demonstram resultado semelhante aos filmes sintetizados com incorporação no modo I, tendo em vista que, prevalecem às bandas referentes ao filme indicando que houve liberação do óleo em ambos os casos. Na Figura 23 evidencia-se a ligação éster entre o ácido cítrico e o filme pela banda em 1722 cm^{-1} , no qual esta prevalece até a última etapa após às 96h do teste de intumescimento comprovando a interação física entre eles. Neste procedimento também houve uma maior evidência da interação física, quando comparada à Figura 21, pois, na Figura 23 tem-se um alongamento das bandas entre 1475 cm^{-1} e 400 cm^{-1} que pode estar relacionada à maior presença de ácido cítrico nos filmes.

Tal fato se repete na Figura 24, devido ao alongamento das curvas de 1491 cm^{-1} à 400 cm^{-1} , contudo, ao final do teste em 96h as curvas da Figura 24 tornam-se semelhantes às da Figura 22, fato que não ocorreu na Figura 23 quando comparada a Figura 21, tal fato pode ter ocorrido devido ao óleo de *M. alternifolia* ter melhor aderido ao hidrogel por ambos modos, I e II, diferentemente do óleo de *M. armillaris* que apresentou maior interação quando incorporado ao hidrogel do modo I.

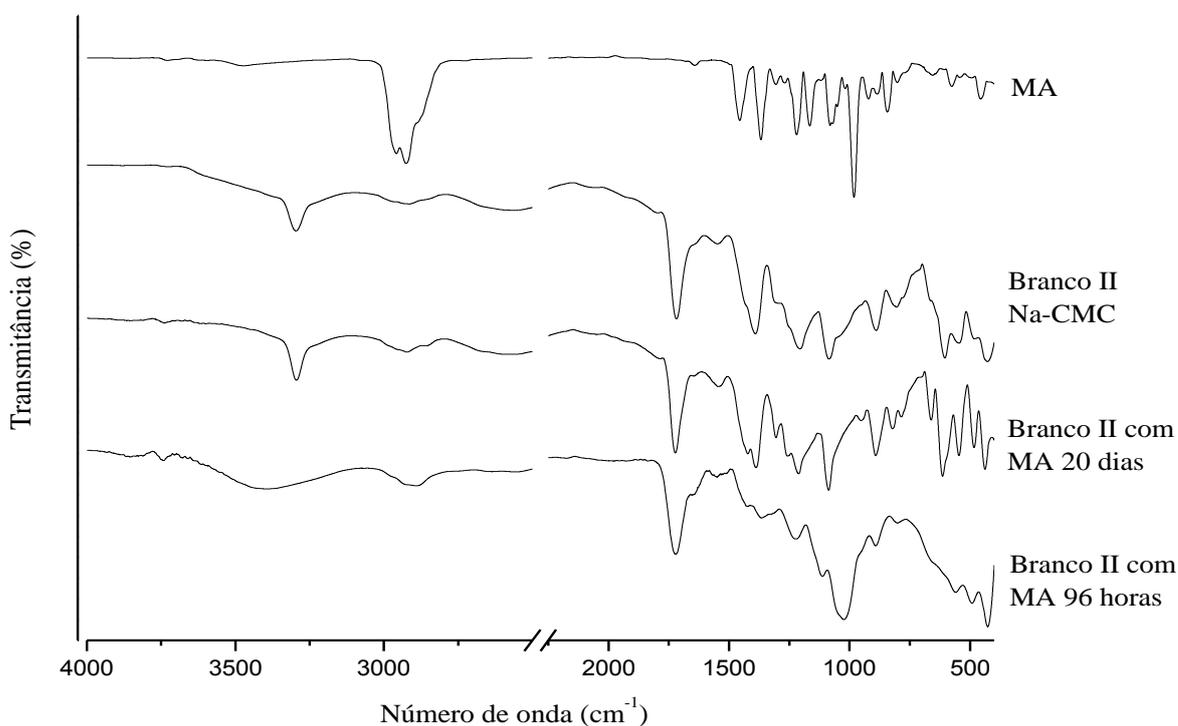


Figura 23 – Espectros de FTIR das amostras após a incorporação do óleo de *M. armillaris* pelo modo II.

Fonte: Autoria própria (2018).

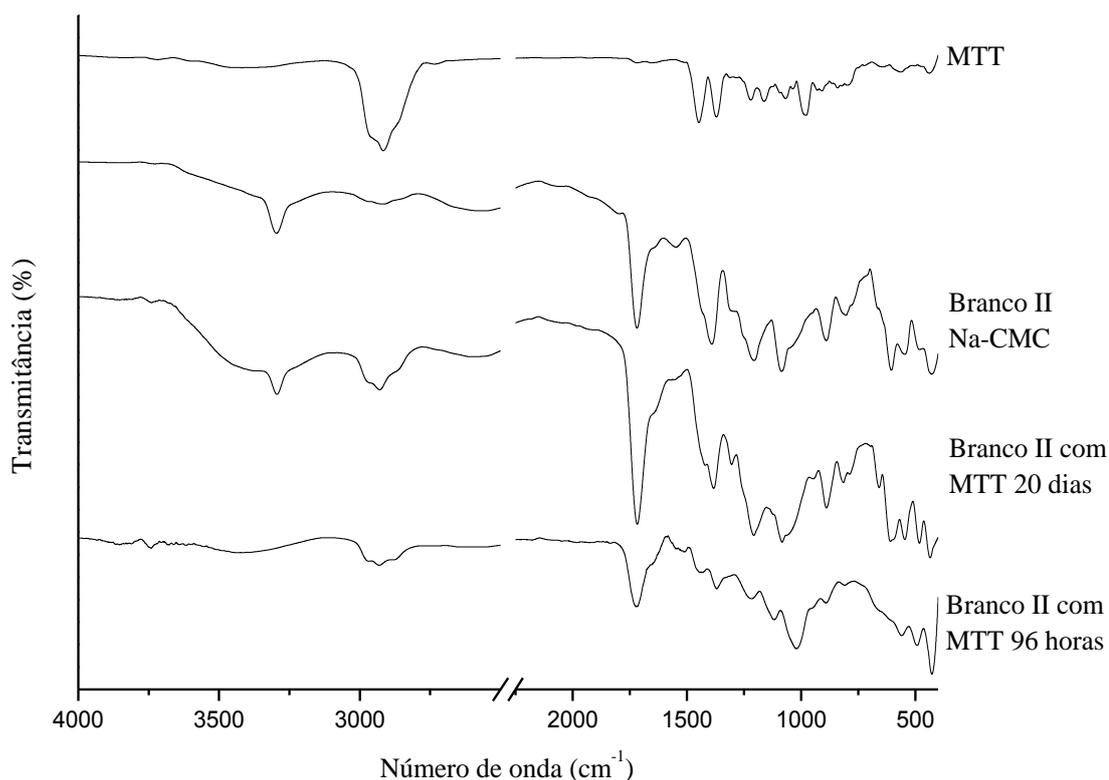


Figura 24 – Espectros de FTIR das amostras dos filmes após a incorporação do óleo de *M. alternifolia* pelo modo II.

Fonte: A autoria própria (2018).

O filme contendo ureia antes e após o teste de intumescimento apresenta a banda larga e intensa em $(3700 - 2750) \text{ cm}^{-1}$ referente às vibrações de estiramento simétrico e assimétrico do grupo N-H, o surgimento de uma banda em 1632 cm^{-1} referente a uma vibração proveniente da diamida do ácido carbônico demonstra que houve interação química entre o filme de Na-CMC com a ureia.

A ureia não interferiu na ação do ácido cítrico, isso pode ser evidenciando pela presença desta banda em $\sim 1720 \text{ cm}^{-1}$ nas curvas do filme com ureia após 20 dias e após as 96 horas do teste de intumescimento.

Durante as análises não foi possível observar diferenças entre os filmes, sintetizados pelo modo I e modo II, que continham ureia incorporada. Evidenciou-se que as bandas presentes na Figura 25 também estão presentes na Figura 26.

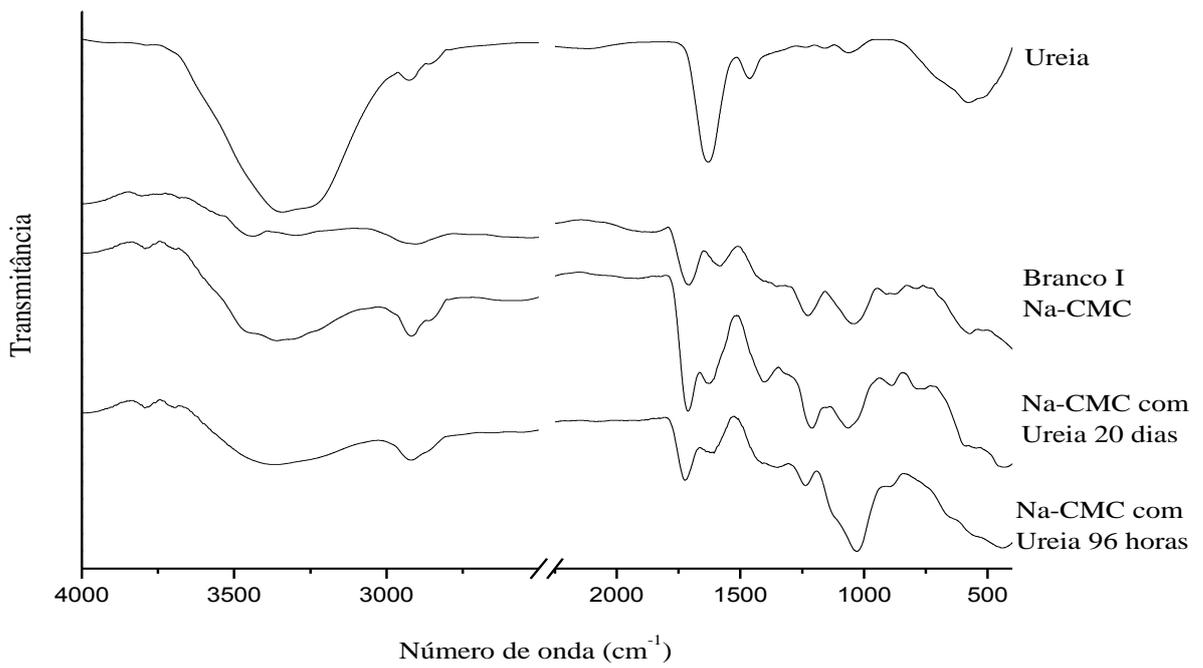


Figura 25 – Espectros de FTIR das amostras dos filmes após a incorporação do hidratante de ureia pelo modo I.

Fonte: Autoria própria (2018).

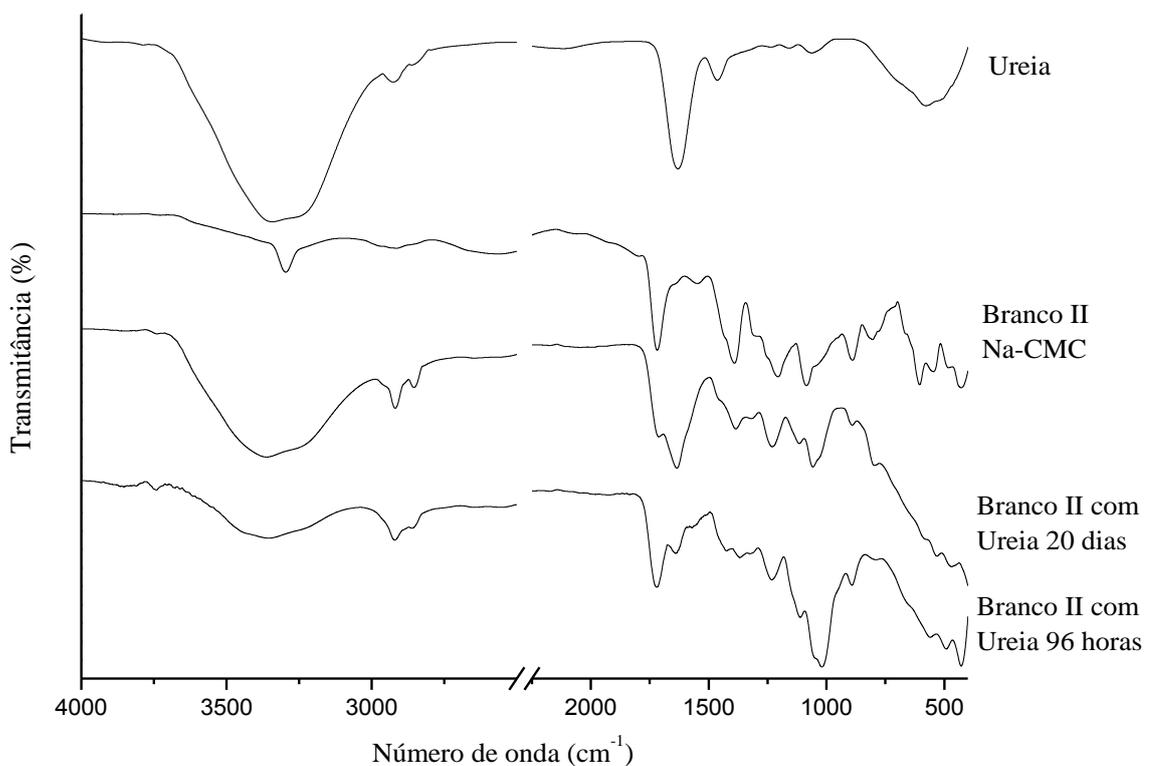


Figura 26 – Espectros de FTIR das amostras dos filmes após a incorporação do hidratante de ureia pelo modo II.

Fonte: Autoria própria (2018).

5.4 Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa (CG-EM)

A análise química dos óleos das espécies de *Copaifera langsdorffii*, *Melaleuca armillaris* e *Melaleuca alternifolia* se procedeu por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa no qual os constituintes identificados e os valores percentuais determinados em cada óleo são apresentados na tabela 7. A. Há grandes semelhanças entre os óleos da família Myrtaceae, podendo esta semelhança ser evidenciada na tabela 7, porém, quando comparados com o óleo de *Copaifera langsdorffii* não foi encontrada semelhanças entre eles.

O óleo-resina de *Copaifera langsdorffii* é um óleo bioativo que é composto, em sua maioria, por uma mistura de sesquiterpenos (C15) e diterpenos (C20), que segundo Veiga Jr *et al.* (2001) são hidrocarbonetos pesados de origem natural e os constituintes presentes neste óleo apresentaram percentuais químicos inferiores a 4%, como o cadineno (2.22%) e o ilangeno (2.72%), tendo-se apenas o óxido de cariofileno (6.24%) com constituição química superior.

Na literatura, foram encontrados alguns trabalhos que tinham por objetivo isolar, identificar, quantificar ou caracterizar os constituintes químicos presentes neste óleo, no qual na tabela 7 são apresentados os constituintes majoritários encontrados no óleo pesquisado. Foram identificados 13 componentes que, comparando com a literatura, apresenta variações na percentagem de determinados constituintes. Esta diferença pode estar relacionada com os fatores ambientais de coleta devido à ação de insetos, bem como, à adulteração do produto, tendo em vista que, o óleo de análise foi obtido de forma comercial e de acordo com Veiga Jr *et al.* (2001) há relatos de adulteração deste óleo quando comercializado, como, por exemplo, a mistura de espécies do gênero *Copaifera*. Segundo Veiga Júnior e Pinto (2002) e Pereira *et al.*, (2008), os sesquiterpenos são responsáveis pelos aromas marcantes exalados, como, por exemplo, o α -humuleno e o cariofileno, devido a isto, há investimentos da indústria de perfumes neste óleo.

Os óleos da família Myrtaceae, *Melaleuca armillaris* e *Melaleuca alternifolia*, são óleos essenciais voláteis e apresentam em sua constituição química majoritariamente monoterpenos oxigenados e possuem diversos constituintes semelhantes como pode ser verificado no tabela 7. Nas Figuras 27, 28 e 29 são expostos os constituintes majoritários dos

óleos, no qual podemos constatar que há semelhanças entre os óleos da família Myrtaceae, que também é relatada na literatura. O trabalho de SILVA *et al.* (2007) separou os diferentes tipos de melaleucas pelos diferentes quimiotipos constituintes, avaliando as porcentagens dos constituintes majoritários 1,8-cineol, terpinoleno e terpinen-4-ol.

Foram identificados 12 constituintes presentes no óleo essencial de *Melaleuca armillaris* que é rico em 1,8-cineol (34.85%), terpinen-4-ol (13.99%) e α -terpineol (9.68%). No estudo realizado por Farag *et al.* (2007) e Chabir *et al.* (2011) este óleo atua como um agente antioxidante moderado natural.

No óleo de *Melaleuca alternifolia* foram identificados 9 constituintes químicos. Pazyar *et al.* (2013) discutiram que para apresentar suas propriedades antimicrobiana, antioxidante, dentre outras, o óleo essencial deve conter um mínimo do constituinte terpinen-4-ol e um máximo de 1,8-cineol, fato que pode ser observado na tabela 7, no qual este óleo apresentou 1.04% e 78.80%, respectivamente. Nas Figuras de 27 à 29 são apresentados os constituintes majoritários correspondentes ao óleo de *Copaifera langsdorffii*, o óleo de *Melaleuca armillaris* e óleo de *Melaleuca alternifolia*, respectivamente.

Tabela 7 – Constituintes químicos identificados nos óleos analisados.

Constituinte	Área (%)			Referência
	OC	MA	MTT	
α -amorfeno	1.00	–	–	48
α -cedrene	–	0.87	–	62
α -cubebeno	1.96	–	–	46 e 48
α -pineno	–	1.00	3.79	56, 58, 59, 60 e 62
α -terpineol	–	9.68	9.82	56, 58, 60 e 62
α - thujene	–	0.23	–	56, 58, 60 e 62
β -farneseno	1.77	–	–	49
β -mirceno	–	–	0.64	59
β -pineno	–	0.24	1.26	56, 59, 60 e 62

1,8-Cineol	–	34.85	78.80	56, 58, 59, 60
Aromadendreno	0.36	–	–	46, 48 e 49
Borneol	–	1.88	–	60 e 62
Cadineno	2.22	–	–	49
Cariofileno	3.71	–	–	48
Cariofilenol	1.99	–	–	51
cis- α -bisaboleno	1.04	–	–	46 e 48
Copaeno	0.51	–	–	48, 49 e 51
Germacreno	2.14	–	–	46, 48 e 51
Globulol		4.50	1.60	59
Ilangeno	2.72	–	–	46 e 51
Longifoleno	1.66	–	–	46 e 48
Óxido de cariofileno	6.24	–	–	49 e 51
p-Cimeno	–	0.87	0.47	60, 56 e 59
Terpinen-4-ol	–	13.99	1.04	58, 56, 59 e 62
Spathulenol	–	0.91	–	59 e 60
Viridiflorol	–	0.63	0.35	59
Componentes identificados	27.32	69,65	97.77	
Monoterpenos hidrocarbonetos	–	2.34	6.16	
Monoterpenos oxigenados	–	60.40	89.66	
Sesquiterpenos hidrocarbonetos	19.09	0.87	–	
Sesquiterpenos oxigenados	8.23	6.04	1.95	

OC: *Copaifera langsdorffii*; MA: *Melaleuca armillaris*; MTT: *Melaleuca alternifolia*.

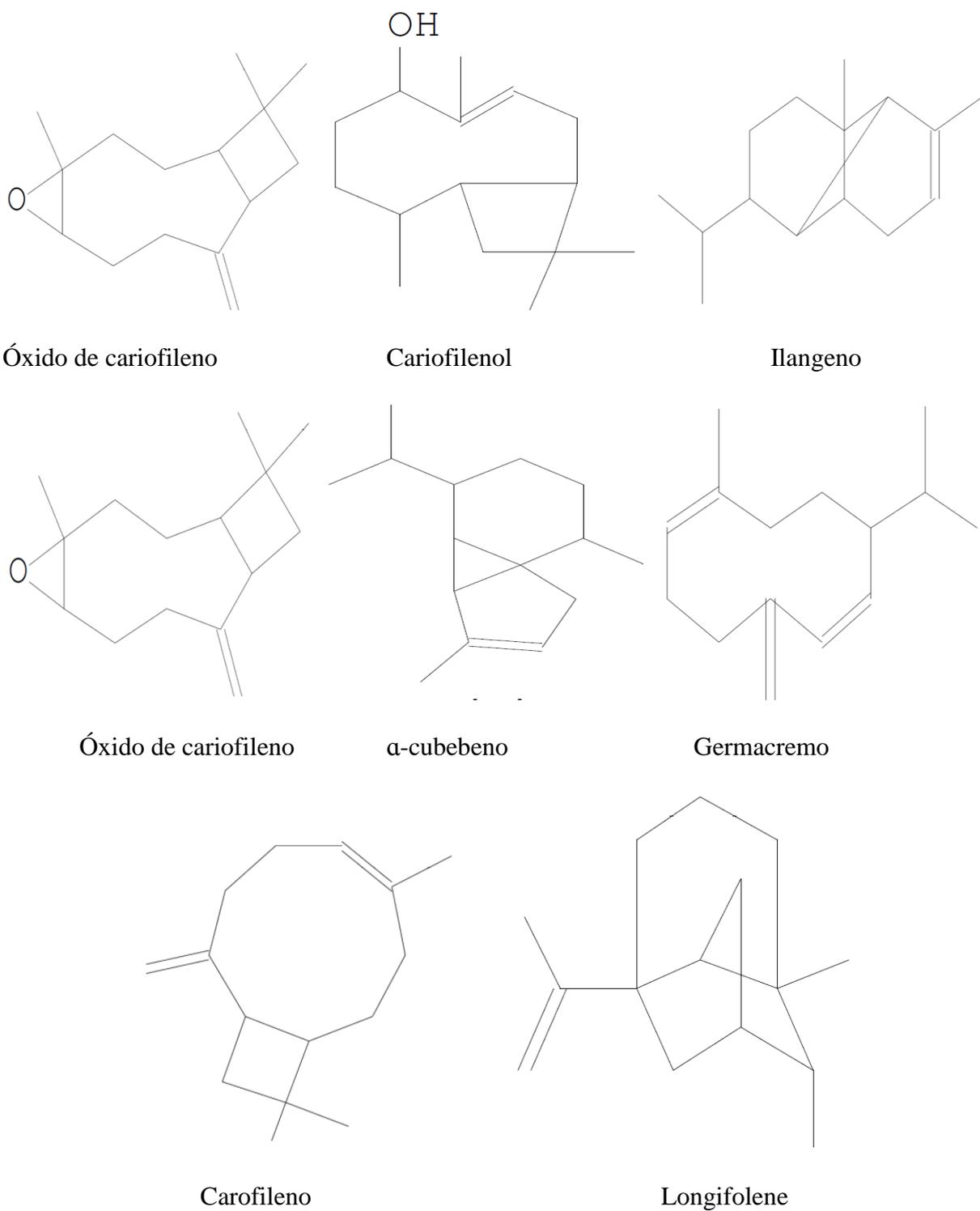


Figura 27 – Constituintes majoritários presentes no óleo de *Copaifera langsdorffii*.

Fonte: Autoria própria (2018).

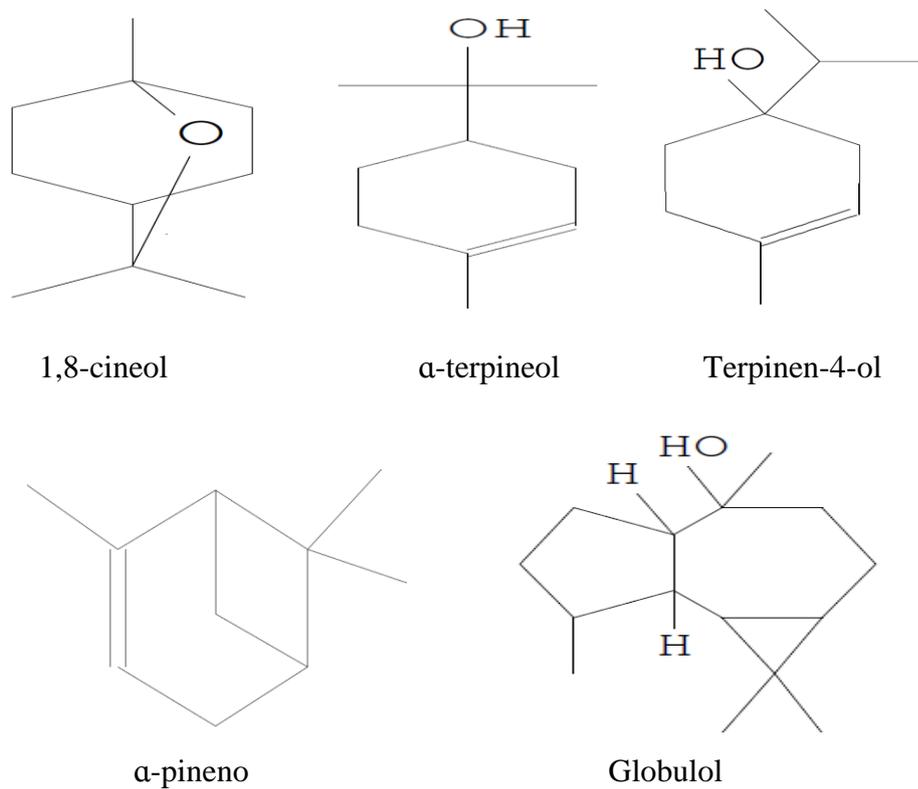


Figura 28 – Constituintes majoritários presentes no óleo de *Melaleuca armillaris*.

Fonte: Autoria própria (2018).

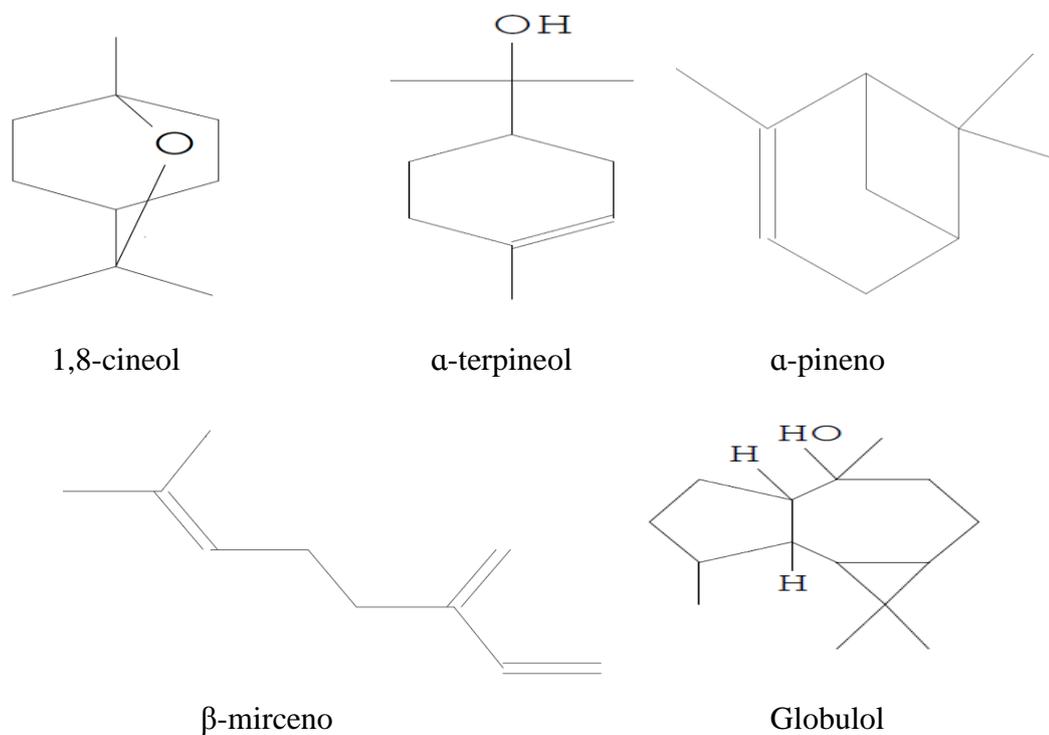


Figura 29 – Constituintes majoritários presentes no óleo de *Melaleuca alternifolia*.

Fonte: Autoria própria (2018).

5.5 Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica é um procedimento no qual o material é decomposto pelo calor, ou seja, as ligações dentro da molécula são quebradas. Neste trabalho, o teste foi realizado nas amostras de ácido cítrico anídrico em pó, de Na-CMC em pó, nos filmes brancos I e II e nos respectivos filmes incorporados com os óleos bioativos de *Copaifera langsdorffii*, de *Melaleuca armillaris* e *Melaleuca alternifolia* e dos filmes incorporados com ureia 2%. As figuras referentes a esta análise se encontram no apêndice A e apresentam as curvas do teste de TGA e de DTGA. Na tabela 8 observam-se os estágios de variação da temperatura e as respectivas perdas de massa para cada amostra.

Em todas as amostras foram observadas duas etapas de degradação, sendo que no ácido cítrico (Figura 30) há primeiro uma reação rápida e em seguida reação lenta, sendo a 1ª iniciada em 161,24°C e terminada em 400°C, com perda de massa de 88,20%. A Na-CMC Pó apresenta reação lenta iniciada em 32,31°C, que segundo Capanema *et al.* (2018) é atribuída a desorção de água livre presente no polímero, seguido de reação rápida em 280°C, com perda de massa de 57,50%. É possível identificar que o ácido age como reticulante, uma vez que a degradação inicial dos filmes se dá em temperatura superior àquela do polímero puro.

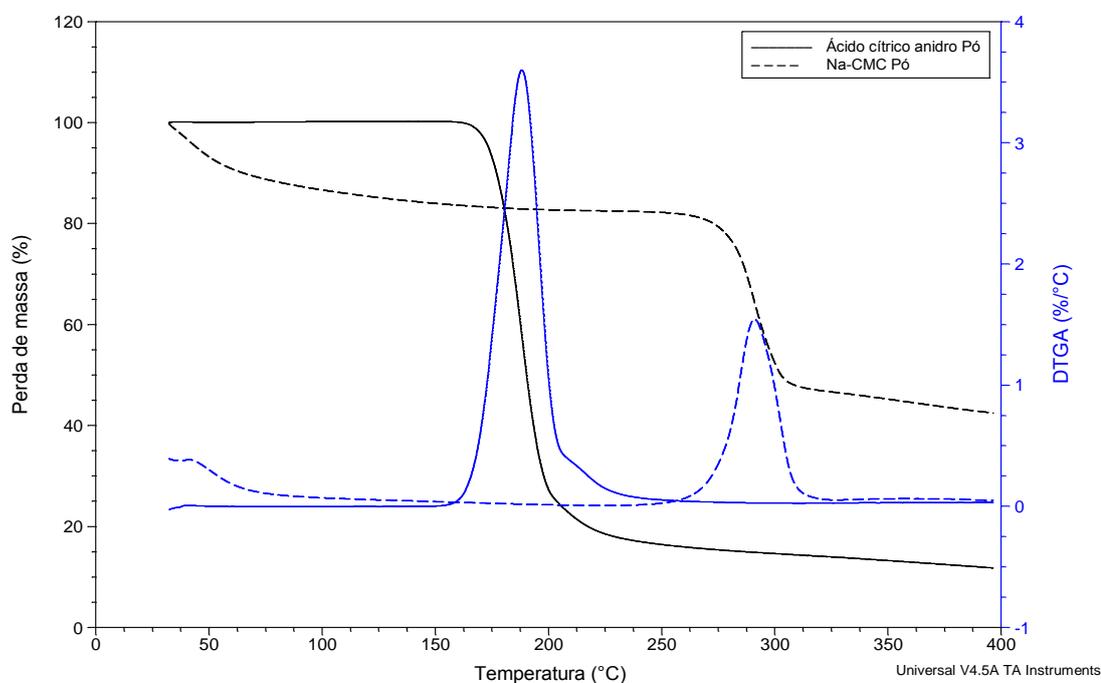


Figura 30 – Curva de TGA e DTGA do ácido cítrico anidro em pó e da carboximetil celulose sódica em pó.

Fonte: Arquivo próprio (2018).

Nos brancos I e II (Figura 31) a decomposição também ocorre em dois estágios. O branco I exibe inicialmente uma reação rápida a partir de 33,86°C e o branco II exibe uma reação lenta a partir de 29,37°C. Conforme Capanema *et al.* (2018), a primeira etapa de degradação está relacionada com a perda de água livre. A segunda etapa ocorre de modo inverso, ou seja, o branco I apresenta uma reação lenta e o branco II apresenta uma reação rápida, onde ocorre a vaporização da água ligada à matriz polimérica (CAPANEMA *et al.*, 2018). Os hidrogéis produzidos pelos modos I e II apresentaram resultados semelhantes, tendo em vista que os valores apresentados na tabela 8 evidenciam que a decomposição dos filmes apresentou resultados próximos, ou seja, comportamentos térmicos similares.

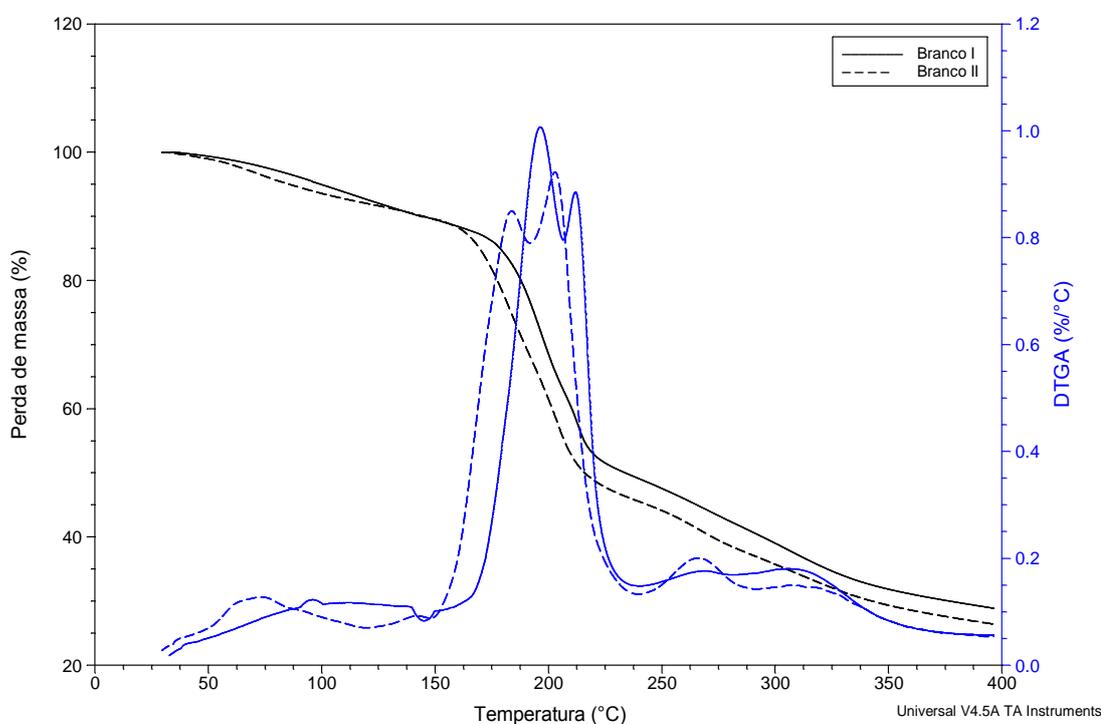


Figura 31 – Curva de TGA e DTGA dos Brancos I e II.

Fonte: Arquivo próprio (2018).

As curvas termogravimétricas correspondentes aos hidrogéis com óleos e ureia sintetizados pelos modos I e II encontram-se no apêndice A. As curvas apresentam uma menor perda de massa no primeiro estágio, com exceção da interação do óleo de *Copaifera langsdorffii* (Figura 32) com o filme hidrogel em que há uma maior perda de massa no primeiro estágio pelo modo I. Provavelmente houve degradação no filme com óleo de

Copaifera langsdorffii livre, que permitiu que as cadeias do hidrogel ficassem mais livres, ocasionando um aumento das zonas amorfas e deixando-o suscetível à degradação quando submetido a um aumento da temperatura.

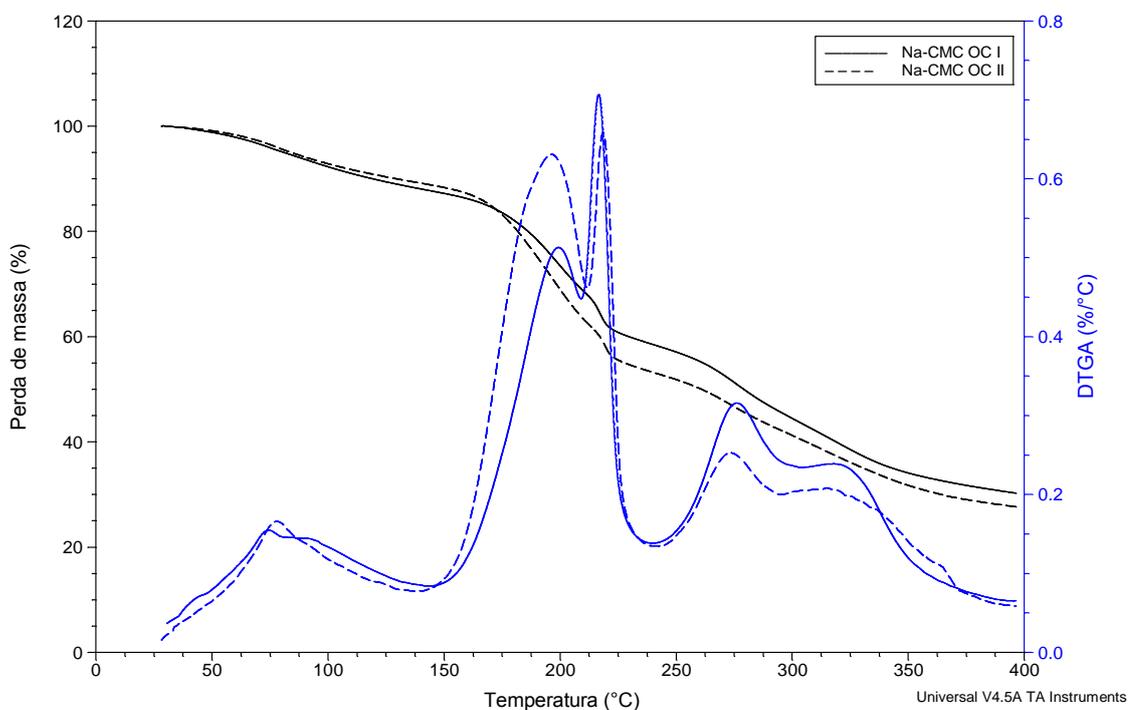


Figura 32 – Curva de TGA e DTGA dos filmes de Na-CMC com o óleo de *Copaifera langsdorffii*.

Fonte: Arquivo próprio (2018).

As curvas dos óleos de *Melaleuca armilaris* (Figura 33), *Melaleuca alternifolia* (Figura 34) e com ureia (Figura 35) exibem uma série de reações secundárias próximas às reações principais em que é possível identificar os decaimentos que exibem os pontos de degradação em dois estágios, tabela 8. O processo de incorporação não adulterou de forma significativa os decaimentos considerando a perda de massa até 400°C. Os valores de temperatura de degradação e de perda de massa das amostras com óleo nos modos I e II são próximos e também são semelhantes aos branco I e II. Em geral, houve menor perda de massa nos filmes sintetizados pelo modo I, indicando que tantos os óleos bioativos quanto a ureia estão mais estáveis nesses hidrogéis. Os filmes sintetizados pelo modo II apresentaram maior degradação / maior perda de massa. Observou-se que o resíduo das amostras pós análise termogravimétrica foi de ~27-30%.

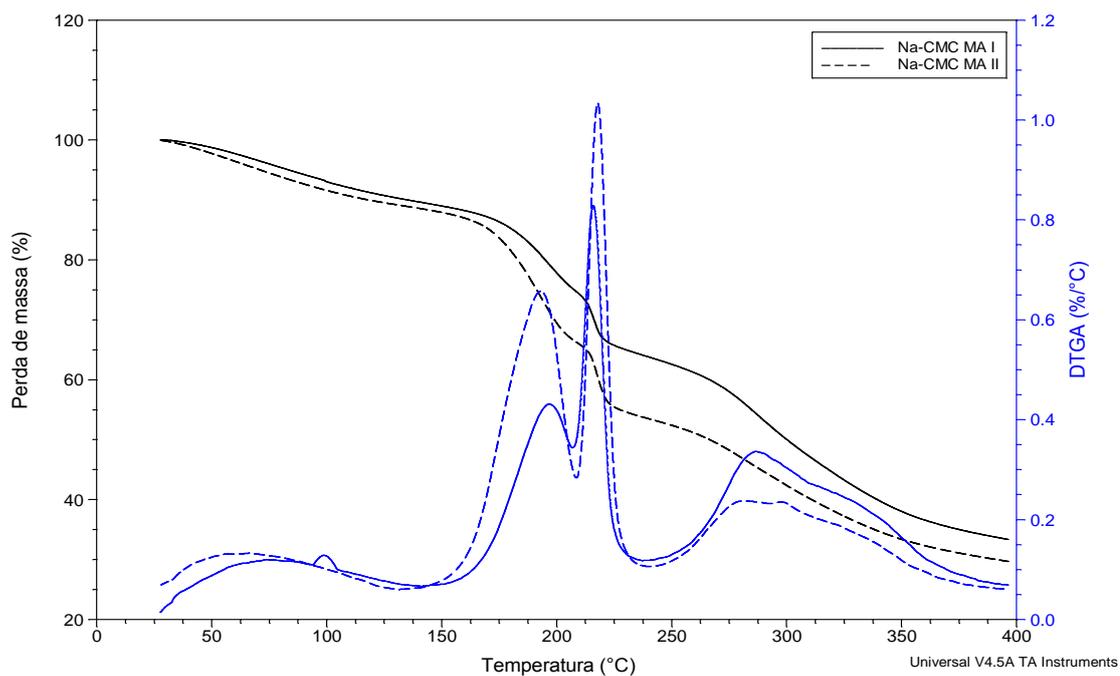


Figura 33 – Curva de TGA e DTGA dos filmes de Na-CMC com o óleo de *Melaleuca armillaris*.

Fonte: Arquivo próprio (2018).

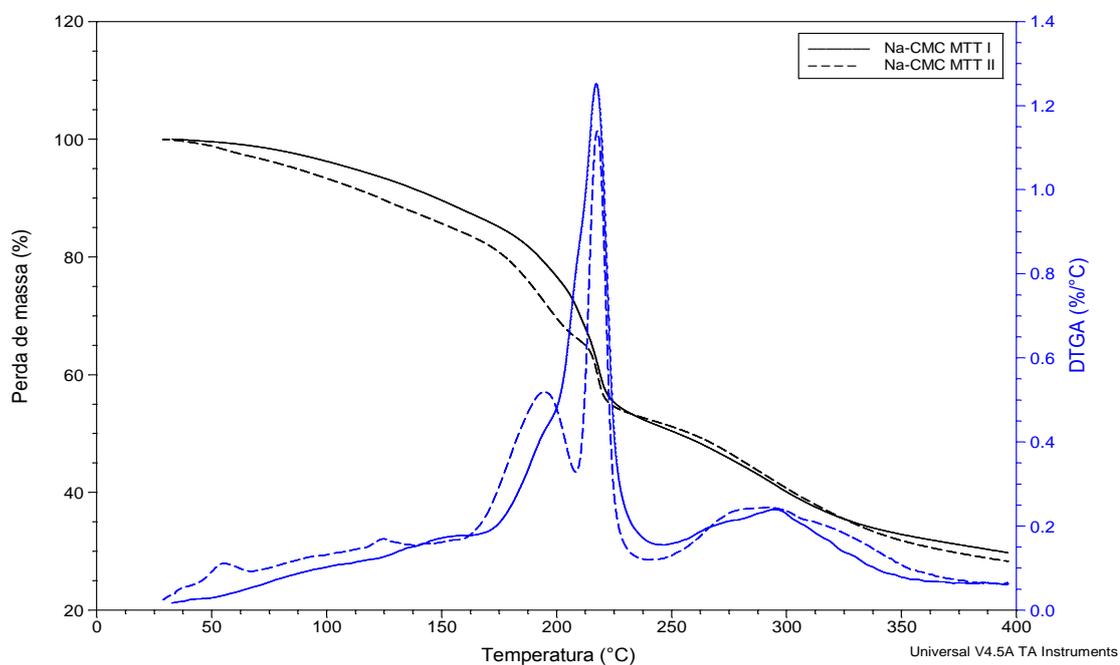


Figura 34 – Curva de TGA e DTGA dos filmes de Na-CMC com o óleo de *Melaleuca alternifolia*.

Fonte: Arquivo próprio (2018).

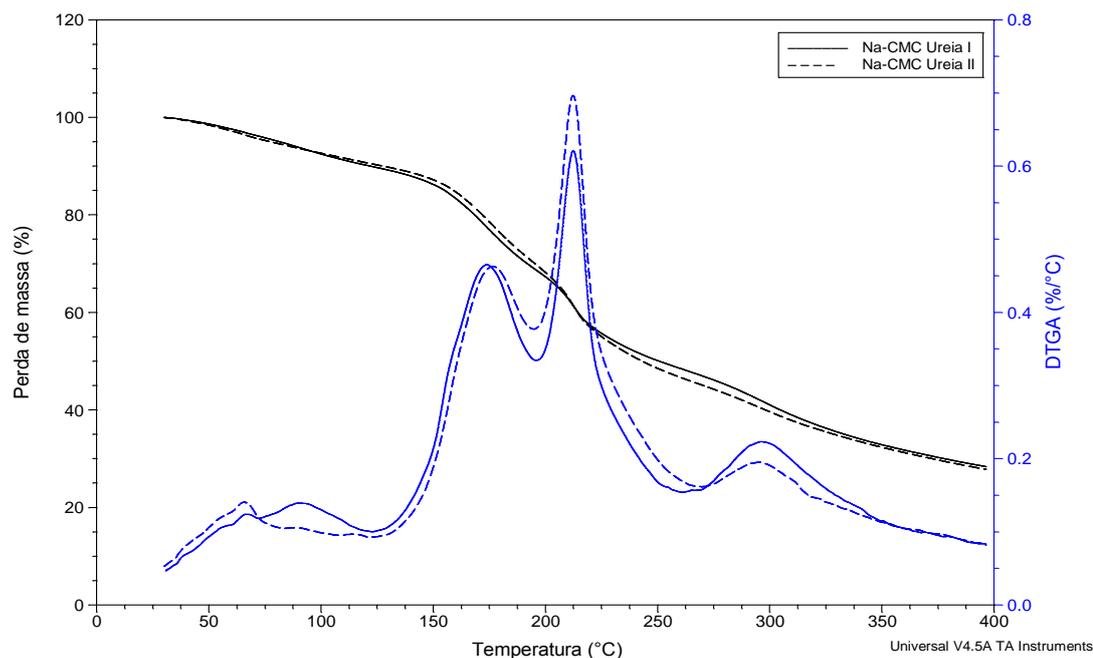


Figura 35 – Curva de TGA e DTGA dos filmes de Na-CMC com o hidratante de ureia.

Fonte: Arquivo próprio (2018).

Tabela 8 – Resultados da análise termogravimétrica ‘continua’.

Amostras	1º Estágio		2º Estágio		Perda de massa até 400 °C
	Temp. (°C)	PM (%)	Temp. (°C)	PM (%)	
Ácido cítrico anidro	161 – 196	67	196 – 231	82	88%
Na-CMC Pó	32 – 165	16	280 – 301	57	57%
Branco I	34 – 176	14	176 – 229	49	71%
Branco II	29 – 169	15	169 – 227	53	74%
Na-CMC com OC – I	30 – 177	17	177 – 258	44	70%
Na-CMC com OC – II	29 – 165	14	165 – 246	48	72%
Na-CMC com MA – I	29 – 189	17	189 – 253	38	67%
Na-CMC com MA – II	28 – 193	26	193 – 241	47	70%
Na-CMC com MTT – I	33 – 191	19	191 – 235	47	70%

Tabela 8 – Continuação.

Na-CMC com MTT – II	29 – 189	25	189 – 239	47	72%
Na-CMC com Ureia – I	31 – 163	18	163 – 247	49	72%
Na-CMC com Ureia – II	30 – 175	21	175 – 242	50	72%

Fonte: Autoria própria (2018).

El-Sayed *et al.* (2011) sintetizaram filmes com diferentes composições utilizando PVA, CMC e blendas de PVA e CMC. Neste trabalho evidenciou-se que o aumento na concentração de carboximetil celulose sódica provoca um aumento na estabilidade térmica do PVA. Uma correlação pode ser feita entre este trabalho e a pesquisa desenvolvida, tendo em vista que, houve dois estágios de degradação dos filmes, em que a maior perda de massa ocorreu na segunda etapa, que segundo El-Sayed *et al.* (2011) essa é atribuída a uma degradação da cadeia lateral com respectiva perda de CO₂ por parte da CMC.

5.6 Ensaio mecânico

Os dados de módulo de elasticidade dos géis, bem como de resistência à tração estão dispostos na tabela 9 e Figuras 36 e 37, que apresenta as curvas para cada filme, no qual elas estão apresentadas até o ponto de máximo. Os filmes demonstraram propriedades mecânicas adequadas, devido à presença do ácido cítrico que conectou as cadeias poliméricas. As amostras eram maleáveis e podem ser manipuladas sem que haja dano ao material, resultado semelhante ao encontrado no trabalho de Zheng *et al.* (2015).

Hu, Qiang e Wang (2017) observaram que a adição da carboximetil celulose sódica à blenda de cloreto de quitosano de N- (2-hidroxil) propil-3-trimetilamônio (HTCC) / polivinil álcool (PVA) proporcionou um aumento significativo à resistência tração e à água, provavelmente pelo aumento da interação entre cadeias poliméricas e o aumento da cristalinidade. Neste trabalho, utilizou-se a Na-CMC juntamente com o ácido cítrico para aumentar a resistência mecânica por meio da reticulação física e adicionar pontos para novas ligações com os óleos bioativos/ hidratante de ureia.

A Figura 36 demonstra que o branco I apresenta características de um material maleável e que o filme com incorporação do óleo bioativo de *Melaleuca alternifolia* (MTT) apresentou resultado próximo ao branco I, indicando que a presença do óleo não alterou as propriedades de elasticidade do filme.

O filme contendo *Melaleuca armillaris* (MA) apresentou comportamento próximo ao do branco I, contudo o óleo interferiu na capacidade de deformação do material, podendo ter agido como lubrificante ou mesmo plastificante. O filme com óleo de *Copaifera langsdorffii* (OC) apresentou maior resistência mecânica que o Branco I. O óleo pode ter agido como barreira física para cadeias, tornando mais difícil move-las. O filme com ureia apresentou a maior deformação e a menor resistência, indicando que a ureia agiu como plastificante. De acordo com a análise de dados realizada pelo ANOVA verificou-se que não houve diferenças significativas somente entre os filmes branco I e ureia I, pois os demais filmes, sintetizados pelo modo I, quando comparados ao branco I apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$).

Tabela 9 – Propriedades mecânicas das amostras.

Amostras	Módulo de elasticidade (KPa/%)	Resistencia à fratura (KPa/%)
Branco I	1,38 ± 0,0005	0,005 ± 0,0018
Branco II	1,55 ± 0,0005	0,005 ± 0,0018
OC I	3,91 ± 0,0023	0,0108 ± 0,0045
OC II	4,48 ± 0,0001	0,001037 ± 0,0005
MA I	1,64 ± 0,0003	0,007897 ± 0,0013
MA II	0,721 ± 0,0017	0,001706 ± 0,0025
MTT I	1,75 ± 0,0029	0,004231 ± 0,0061
MTT II	0,589 ± 0,0020	0,00071 ± 0,0021
Ureia I	0,0784 ± 0,00002	0,000824 ± 0,0002
Ureia II	–	0,000107 ± 0,0002

Fonte: Autoria própria (2018).

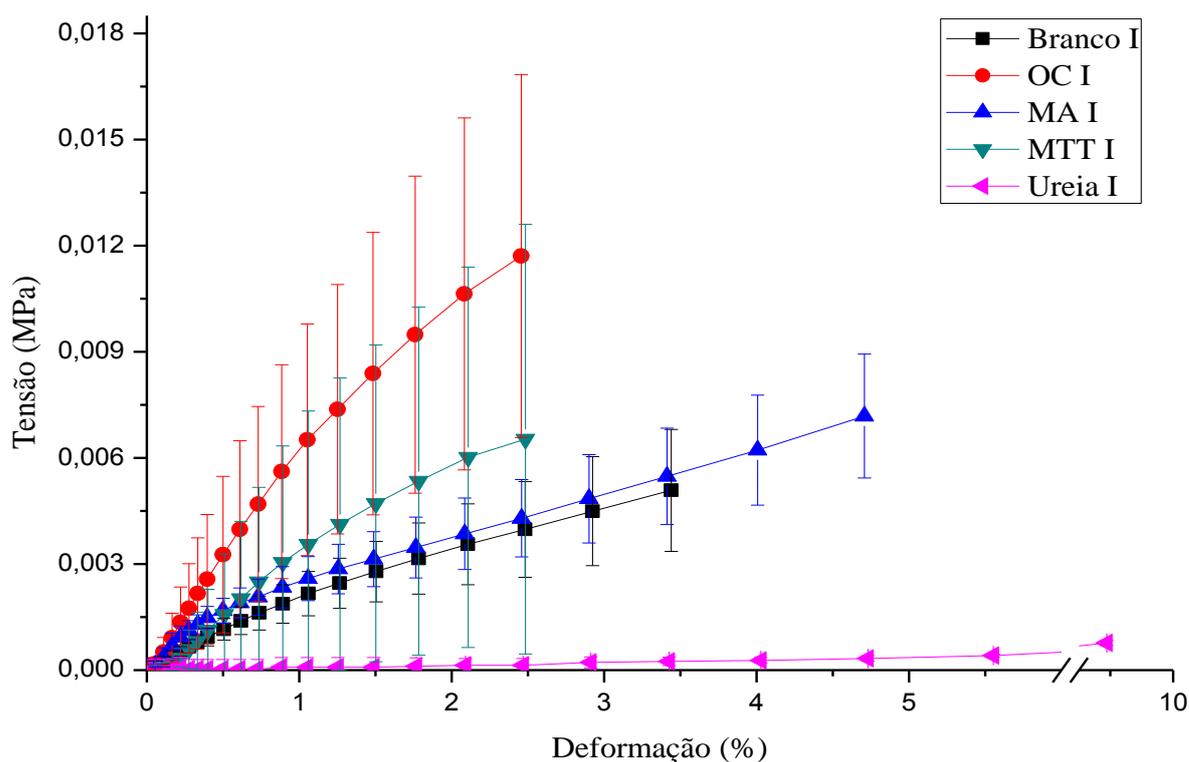


Figura 36 – Ensaio mecânico dos filmes sintetizados pelo modo I.

Fonte: Autoria própria (2018).

Em relação às amostras preparadas ao modo II (Figura 37), o branco II é o material mais resistente, contudo, os óleos bioativos incorporados apresentaram resultados diferentes do modo I. Os filmes com MA II apresentaram resistência próxima à do branco II. O MTT II apresentou a menor deformação, o que pode estar correlacionado à interação do óleo com o filme que dificulta o estiramento das cadeias. Os filmes com OC e ureia apresentaram redução da resistência e uma alta deformação relativa, o que pode indicar que esses princípios ativos atuaram como lubrificante / plastificante. Segundo o ANOVA, dentre os filmes sintetizados pelo modo II, o filme branco II e o filme que continha *Copaifera langsdorffii* não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$).

Na tabela 9 também são descritos os valores da resistência máxima dos filmes. Os brancos I e II apresentaram valores similares, ou seja, a produção dos filmes pelo modo I e pelo modo II não alterou as propriedades mecânicas dos hidrogéis, contudo, quando submetidos a incorporações com os óleos bioativos e a ureia, os resultados foram distintos, resultados confirmados pelo teste ANOVA. Segundo Zheng *et al.* (2015) a concentração de ácido presente no hidrogel altera a reticulação, ocorrendo uma maior reticulação no filme que

apresenta maior teor de cítrico (modo II), embora o mesmo não tenha sido identificado neste trabalho.

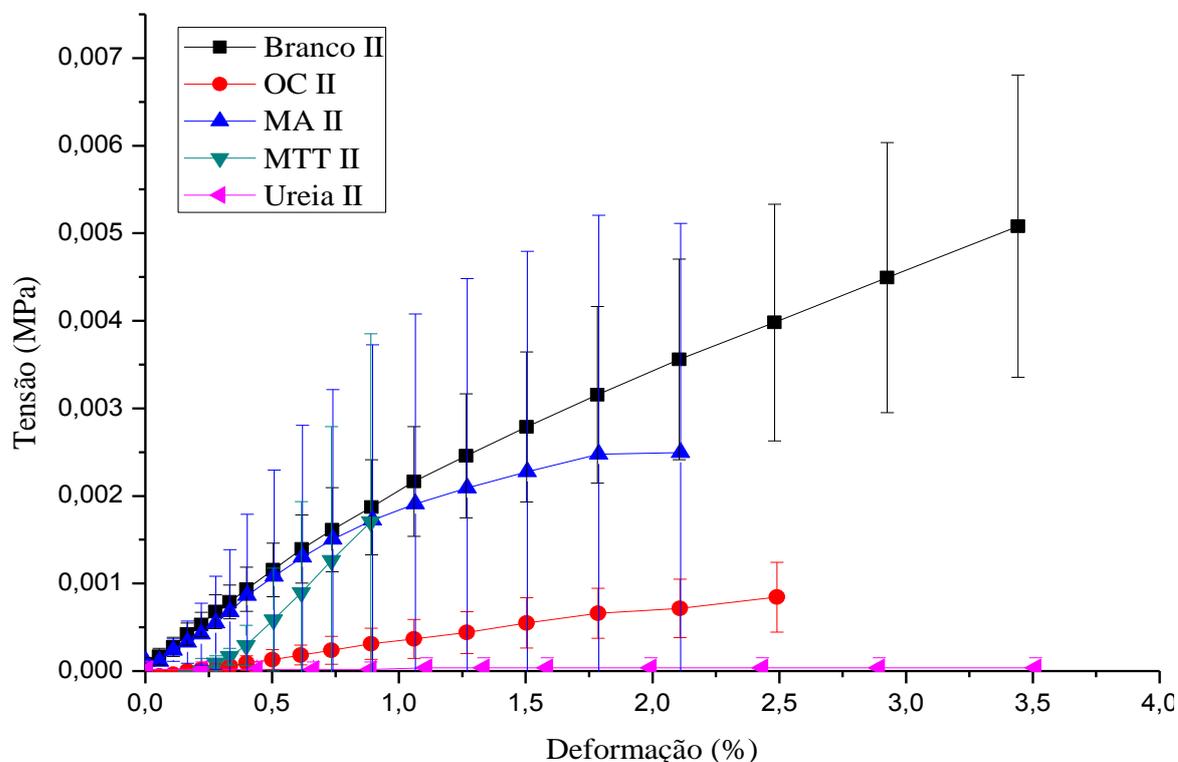


Figura 37 – Ensaio mecânico dos filmes sintetizados pelo modo II.

Fonte: Autoria própria (2018)..

Os filmes que apresentam maior flexibilidade são os sintetizados pelo modo I, incluindo o branco I e o filme com incorporação dos óleos da família Myrtaceae, demonstrando um resultado semelhante ao obtido por Rakhshaei e Namazi (2017) que utilizaram hidrogel nanocompósito que, segundo os autores, é adequado para qualquer tipo de superfície ferida.

5.7 Atividade antimicrobiana dos óleos

Os diâmetros dos halos de inibição foram interpretados de acordo com os critérios da CLSI (2005). Os halos de inibição formados referentes ao agente antimicrobiano ampicilina e

os óleos adotados nesta pesquisa podem ser visualizados na Figura 38 a 40, para maiores detalhes. A tabela 10 informa os valores obtidos em milímetros nos halos de inibição contra as cepas de *S. aureus*. É possível verificar os valores obtidos referentes aos halos de inibição da ampicilina e dos óleos, obtendo-se resultados variados e em alguns casos superior ao tabelado pela CLSI (2005). A ampicilina apresentou inibição superior ao tabelado e a administração de uma dose deste pode apresentar resultado satisfatório durante um tratamento. Os dados referentes à ampicilina tabelada e a obtida no experimento serão utilizados como base comparativa para os óleos.

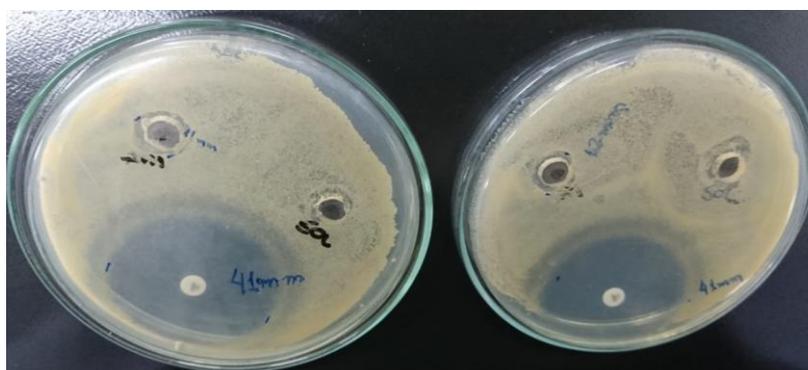


Figura 38 – Formação dos halos de inibição da ampicilina.

Fonte: Arquivo próprio (2018).

Tabela 10 – Avaliação do diâmetro dos halos de inibição, onde R = resistente e S = sensível.

Amostras	Quantidade da amostra	Diâmetro do halo de inibição (mm)	
		R	S
Ampicilina (valor tabelado)	10 µg	≤28	≥29
Ampicilina	10 µg	–	41±0
O ₁ – OC	50 µL	21,5±4,04	–
O ₂ – MA	50 µL	–	35±3,21
O ₃ – MTT	50 µL	–	40±5

Fonte: Aatoria própria (2018).

As análises foram realizadas em duplicata para garantir a reprodutibilidade dos resultados utilizando dois inóculos, no qual as Figuras 39 e 40 apresenta os resultados de ação dos óleos contra as cepas. Apenas o óleo de *Copaifera langsdorffii* não apresentou resultados satisfatórios, pois a inibição contra as cepas é inferior ao valor tabelado do antibiótico. Contudo, Maragon *et al.* (2017) propõe o desenvolvimento de produtos à base de óleo de *Copaifera langsdorffii* a para o combate de *S.aureus*, sugerindo que devem ser realizados mais estudos acerca deste óleo.

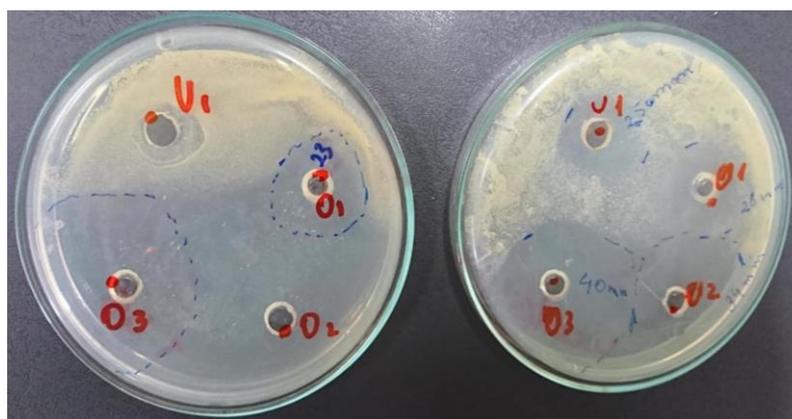


Figura 39 – Halos de inibição contra as cepas – SA 1.

Fonte: Autoria própria (2018).

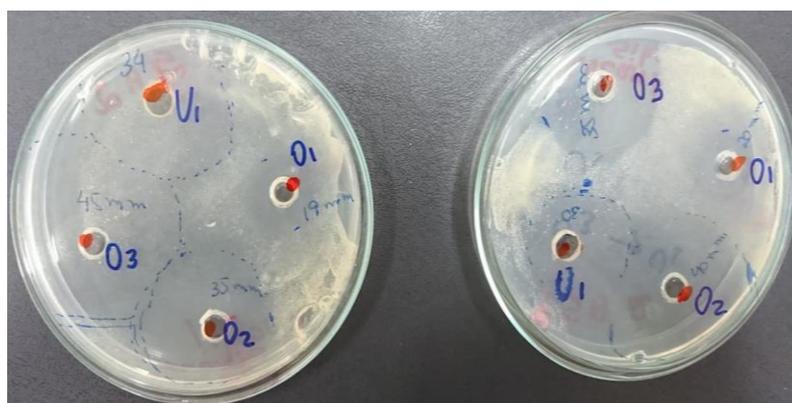


Figura 40 – Halos de inibição contra as cepas – SA 2.

Fonte: Autoria própria (2018).

As análises dos halos de inibição do óleo de *Melaleuca alternifolia* mostraram que os halos de inibição são superiores ao tabelado da ampicilina. O resultado deste trabalho é

corroborado pelos estudos de Cox *et al.* (2000) que explana que este óleo possui atividade antimicrobiana, que provoca uma perturbação na barreira de permeabilidade das membranas microbiana. Hammer, Carson e Riley (2004) acreditam que a ação está relacionada aos terpenos, como o terpinen-4-ol (PAZYAR *et al.*, 2013) identificado pela análise cromatográfica, que induzem as alterações na permeabilidade celular e ressaltam que o uso deste óleo não aumenta a resistência da bactéria *S. aureus* a antibióticos, sendo este o fator que ocasionou um maior halo de inibição deste óleo em relação aos demais.

A *Melaleuca armillaris* apresentou um resultado satisfatório quando comparado ao resultado informado pela CLSI (2005) para a ampicilina, porém, apresentou um halo de inibição inferior ao obtido na *Melaleuca alternifolia*. Estudos acerca deste óleo ainda são escassos, não havendo base de dados comparativa.

A tabela 10 exibe os valores médios dos diâmetros dos halos de inibição milimetrados, no qual estes estão alocados segundo a classificação da CLSI (2005) que classifica em que os dados obtidos foram classificados em resistente (R) ou sensível (S). O apêndice B é visível que não foi possível medir o halo de inibição relacionado as cepas inoculadas em SA 1, isto pode estar relacionado ao efeito sinérgico, pois, os óleos são voláteis e foram colocados todos na mesma placa.

5.8 Análise antimicrobiana *in vitro* dos filmes

A atividade antimicrobiana dos hidrogéis foi determinada através da avaliação da formação dos halos que indicam o quanto o filme inibe a proliferação das cepas de *S. aureus*. A Figura 41 apresenta os dois testes, o teste padrão (a) e o teste contendo a análise dos hidrogéis (b). O teste padrão continha somente à pasta de ágar e houve o crescimento das cepas em que, quanto mais concentrado estava o meio, maior foi à proliferação das cepas. Após o período de 24h das amostras em contato com os microrganismos, não foi possível realizar a contagem de microrganismos devido a não formação dos halos. Tal fato sugere que não houve crescimento de *S. aureus* na amostra, ou seja, completa inibição em todas as amostras. As amostras apresentaram alta atividade, propriedade importante para futuras aplicações como curativos.

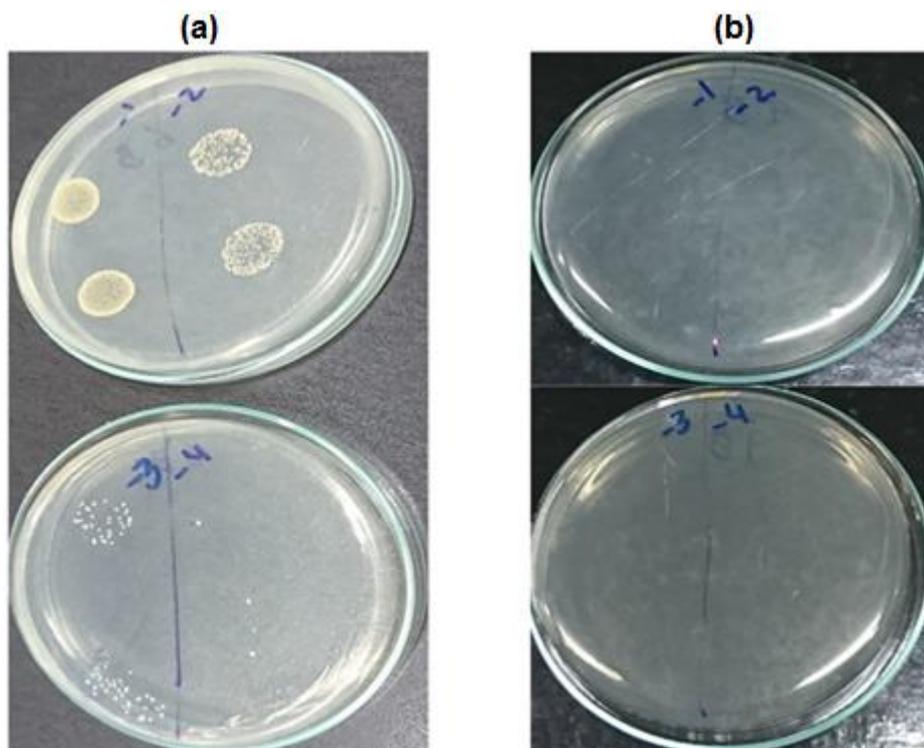


Figura 41 – Amostras da análise antimicrobiana do (a) teste padrão e da (b) análise com os filmes.

Fonte: Autoria própria (2018).

Nos trabalhos como de Hu, Qiang e Wang (2017) houve um baixo grau de inibição de blendas cloreto de quitosano de N- (2-hidroxil) propil-3-trimetilamônio (HTCC) / polivinil álcool (PVA) / carboximetil celulose sódica (Na-CMC) contra as bactérias *E. coli* e *S. aureus* e apresentaram tal resultado como satisfatório. As amostras desta pesquisa apresentavam alto fator de inibição, demonstrando que o filme de Na-CMC sintetizado nos modos I e II, bem como os filmes com incorporação dos óleos bioativos/ hidratante de ureia inibiram a proliferação do microrganismo, *S. aureus*, caracterizando o filme hidrogel e os filmes incorporados eficazes na inibição desta.

Um dos fatores que pode ter ocasionado esta inibição pode estar relacionado com a presença do ácido cítrico que mesmo em baixa quantidade, como nos filmes sintetizados no modo I, pode ter sido o fator crucial para a não proliferação. Resultado semelhante é observado no trabalho de Rakhshaei e Namazi (2017), porém, esses autores incorporaram sílica mesoporosa à carboximetil celulose sódica para obtenção de um resultado satisfatório, distinguindo-se desta pesquisa, pois não houve incorporação da sílica.

6 CONCLUSÃO

Os filmes hidrogéis foram sintetizados e incorporados com diferentes óleos, *Copaifera langsdorffii*, *Melaleuca alternifolia* e *Melaleuca armillaris*, e hidratante de ureia a 2%, e seguidamente, foram submetidos a análises das propriedades de intumescimento, estruturais e antimicrobiana.

O teste de intumescimento confirmou que houve uma reação de reticulação entre a Na-CMC e o ácido cítrico devido os filmes manterem-se intactos quando na presença de água após o longo período do teste (96 horas).

As análises espectroscópicas por FTIR identificaram as interações do polímero com o ácido cítrico confirmado pela presença de bandas correspondentes a ligações éster, caracterizando uma reticulação física entre eles, confirmando que houve a formação de uma mistura homogênea. Foram avaliadas as bandas dos óleos e da ureia em que se evidenciou que os óleos da família Myrtaceae possuem bandas semelhantes, no qual a análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa confirmou esta semelhança, pois se verificou que há vários constituintes semelhantes, porém, com percentuais diferentes, o que explica a diferença na intensidade das bandas entre os óleos no FTIR. As bandas características de cada óleo e da ureia, bem como as bandas dos filmes sintetizados pelos modos I e II, foram identificadas em análises posteriores dos filmes incorporados após os 20 dias e após o teste de intumescimento de 96 horas, constatando-se que ainda havia bandas características da Na-CMC, do ácido cítrico e do óleo/ ureia, deste modo, não houve a liberação total no período de 96 horas, devendo este estender-se por um período superior, assim, tem-se que houve uma liberação controlada do produto incorporado, assemelhando-se aos trabalhos encontrados na literatura.

A análise por CG-EM identificou os constituintes químicos presentes nos três óleos. Os óleos da família Myrtaceae apresentou um alto grau de similaridade constitucional, contudo, apresentaram diferentes percentuais. Foram identificados 97.77% dos constituintes presentes no óleo de *Melaleuca alternifolia*, que em a maioria esta presente na literatura estudada, evidenciando a presença de constituintes ainda não identificados como o guaiol e óxido de linalool, no qual serão realizados mais estudos acerca deste óleo para verificar a

presença desses dois constituintes. No óleo de *Melaleuca armillaris* identificou-se 69.65% dos constituintes presentes, no qual se verificou que sete constituintes identificados não constavam na literatura ou diferiam em algum ponto, como na literatura apresentar o constituinte alfa e na análise deste do presente trabalho não ser alfa. Deste modo, será necessário mais análises acerca deste óleo, uma vez que, a literatura deste também é escassa e possui uma base de dados pequena. A análise do óleo de *Copaifera langsdorffii* não resultou em uma identificação eficaz, pois se identificaram apenas 27.32% dos constituintes químicos presentes. A baixa identificação está relacionada a não volatibilidade do óleo, deste modo, não sendo possível a identificação dos demais compostos, outro fator que também pode ser relacionado é a adulteração do óleo, tendo em vista que, o mesmo foi uma aquisição comercial e, como foi relatado no decorrer do texto, há uma grande quantidade de produtos (óleos) no mercado que são feitas adulterações.

A análise termogravimétrica mostrou que os filmes de Na-CMC reticulados com ácido cítrico apresentaram um aumento na estabilidade térmica, pois a reticulação elevou a resistência do filme ao aumento da temperatura, quando comparado à Na-CMC em pó, e todos os filmes sem/com incorporação apresentaram diferentes perdas de massa nos primeiros estágio, porém, semelhantes quando o teste atingiu 400°C apresentando perda de massa final de aproximadamente 70%.

Os filmes demonstraram propriedades mecânicas adequadas quando comparados com os da literatura, devido à presença do ácido cítrico que fortaleceu a união entre as cadeias poliméricas, pois, eram maleáveis e podem ser articulados sem que haja dano ao material, porém, quando estes apresentavam produtos incorporados evidenciou-se diversos comportamentos, como os filmes que continham óleo, em que obteve-se melhores resultados quando foi incorporado os óleos da família Myrtaceae, pois, o óleo de *Copaifera langsdorffii* apresentou uma baixa resistência mecânica, contudo, o filme com ureia incorporada apresentou um resultado insatisfatório, deste modo, esta incorporação não é adequada para uso como curativo.

Foram realizadas análises microbianas nos óleos de *Copaifera langsdorffii*, *Melaleuca alternifolia* e *Melaleuca armillaris*, utilizando como antibiótico para comparativo a ampicilina, sendo os resultados avaliados mediante a formação de halos de inibição contra as cepas de *S. aureus*. O óleo de *Copaifera langsdorffii* apresentou um baixo resultado devido a formação de um pequeno halo, sendo o mesmo inferior ao halo tabelado para a ampicilina,

contudo, a literatura confirma que este óleo pode possuir uma atuação inibitória eficiente contra esta cepa, a baixa inibição pode está atrelada a uma possível contaminação do óleo, tendo em vista que, este foi obtido de forma comercial. O óleo de *Melaleuca armillaris* demonstrou um resultado satisfatório de inibição contra as cepas, sendo este superior ao tabelado para a ampicilina. O melhor resultado foi obtido com o óleo de *Melaleuca alternifolia* que apresentou um grande halo de inibição contra as cepas de *S. aureus*, resultado superior ao valor da ampicilina tabelada e quase igual à análise da ampicilina realizada no laboratório, deste modo, tem-se que dentre os três óleos a *Melaleuca alternifolia* é o melhor para tratamentos contra cepas de *S. aureus*, tendo seu resultado semelhante e até mesmo superior a quando se utiliza um antibiótico.

A análise antimicrobiana *in vitro* contra cepas de *S. aureus* apresentou um resultado inesperado, pois, após o período de 24 horas houve completa inibição em todas as amostras, no qual as amostras apresentaram alta atividade contra as cepas, característica extraordinária para futuras aplicações como curativos.

Os filmes sintetizados apresentaram características similares aos encontrados na literatura, como, transparência, flexibilidade, liberação de produtos incorporados, resistência térmica e inibição contra microorganismos, como a *S. aureus*. Deste modo, avaliando estas análises nesta pesquisa, os filmes hidrogéis de Na-CMC reticulados com ácido cítrico apresentaram resultados adequados para fins de curativos. Dentre os produtos incorporado classifica-se que o filme que contém ureia diante da formulação realizada não apresentou resultado satisfatório para uso como curativo e dentre os óleos incorporados temos que os pertencentes à família Myrtaceae demonstraram ser eficazes para fins curativos, devendo estes serem avaliados posteriormente com mais detalhes devido as características apresentadas nas análises realizadas.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Realizar liberação controlada dos óleos contidos nos filmes;
- Realizar testes *in vivo* para avaliar a liberação de diferentes óleos;
- Carregar os filmes de Na-CMC com blendas de óleos, como copaíba e melaleuca;
- Testar a compatibilidade de filmes à base de Na-CMC com outros tipos de óleos, como rosa mosqueta;
- Produzir filmes utilizando diferentes matrizes poliméricas;
- Estudar a miscibilidade de blendas de diferentes matrizes poliméricas por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).

REFERÊNCIAS

- ¹ KAMEL, S. *et al.* Pharmaceutical significance of cellulose: A review. **eXPRESS Polymer Letters**, Cairo, v. 2, n.11, p. 758–778, jul. 2008.
- ² GHORPADEA, V. S.; YADAV, A. V.; DIAS, R. J. Citric acid crosslinked - cyclodextrin/carboxymethylcellulose hydrogel films for controlled delivery of poorly soluble drugs. **Carbohydrate Polymers**, v. 164, p. 339-348, 2017.
- ³ BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. **Handbook of essential oils: Science, technology and applications**. CRC Press Taylor & Francis Group: New York, 2009.
- ⁴ WANG et al. Wound healing. **Journal of the Chinese Medical Association**, v. 81, ed. 2, p. 94-101, fev. 2018.
- ⁵ SILVA, R. C. L. *et al.* **Feridas: fundamentos e atualizações em enfermagem**. São Caetano do Sul, SP: Yendis Editora, 2011. p. 591-600.
- ⁶ SMANIOTTO, P. H. S. *et al.* Tratamento clínico das feridas – curativos. **Revista de Medicina**, São Paulo, p. 137-141, jul./dez. 2010.
- ⁷ ISAAC, C. *et al.* Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. **Revista de Medicina**, São Paulo, 125-131. jul./dez. 2010.
- ⁸ TSIOURIS, C. G.; TSIOURI, M. G. Human microflora, probiotics and wound healing. **Wound Medicine**, v. 19. p. 33-38, 2017.
- ⁹ MENDONÇA, R. J.; COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.84, n.3, p.257-262, 2009.
- ¹⁰ Cicatrização de feridas. Disponível em:< <http://www.plasticaplexus.com.br/new/cicatrizacao.php#sthash.nEKNJOU5.dpbs>>. Acesso em: 8 jan. 2018.
- ¹¹ SCEMONS, D.; ELSTON, D. **Nurse to Nurse: Cuidados com Feridas em Enfermagem**. Porto Alegre: AMGH, 2011.
- ¹² WADA, A.; NETO, N. T.; FERREIRA, M. C. Úlceras de pressão. **Revista de Medicina**, São Paulo, p. 170-177, jul./dez. 2010.
- ¹³ Capilares. Disponível em:<<http://www.cemfra.xpg.com.br/Enfermagem.html>>. Acesso em: 10 jan. 2018.
- ¹⁴ BRADEN, B. J. The Braden Scale for predicting pressure sore risk. **Nurs Res.**, p. 205-210, 1987.

- ¹⁵ FERNANDES, L. M.; CALIRI, M. H. L. Uso da escala de braden e de glasgow para identificação do risco para Úlceras de pressão em pacientes internados em centro de terapia intensiva. **Rev Latino-am Enfermagem**, nov./dez. 2008.
- ¹⁶ GRISWOLD, L. H. *et al.* Validity of the Braden Scale in grading pressure ulcers in trauma and burn patients. **Journal of surgical research**, v. 219, p. 151-157, nov. 2017.
- ¹⁷ SARDO, P. M. G. *et al.* Pressure ulcer incidence and braden subscales: retrospective cohort Analysis in general wards of a portuguese hospital. **Journal of Tissue Viability**., v. 27, p. 95-100, maio 2018.
- ¹⁸ ROCHA, J. A.; MIRANDA, M. J.; ANDRADE, M. J. **Abordagem terapêutica das úlceras de pressão - Intervenções baseadas na evidência.** **Acta Med Port.**, v. 19, p. 29-38, 2006.
- ¹⁹ FAN, K. *et al.* State of the art in topical wound-healing products. **Plast Reconstr Surg.**, v. 127, n. 1, p. 44S-59S. 2011.
- ²⁰ SMANIOTTO, P. H. S. *et al.* Sistematização de curativos para o tratamento clínico das feridas. **Rev Bras Cir Plást.**, v. 27, n. 4, p. 623-626, 2012.
- ²¹ PAGGIARO, A. O.; NETO, N. T.; FERREIRA, M. C. Princípios gerais do tratamento de feridas. **Revista de Medicina**, São Paulo, v. 89, p. 132-136, jul./dez. 2010.
- ²² KRAFT, J. N.; LYNDE, C. W. Moisturizers: What They Are and a Practical Approach to Product Selection. **Skin Therapy Letter**, v. 1, n. 5, jun. 2005.
- ²³ LIPIZENČIĆ, J.; PAŠTAR, Z.; MARINOVIĆ-KULIŠIĆ, S. Moisturizers. **Acta Dermatovenerol Croat**, Croácia; v. 14, n. 2, p. 104-108, 2006.
- ²⁴ PAN, M. *et al.* Urea: a comprehensive review of the clinical literature. **Dermatology Online Journal**, New York, v. 19, n. 11, nov. 2013.
- ²⁵ BANOV, F. **Ureasilicone gel forscars and hydration reatment and method of using same.** Depositante: United States Patent Application Publication. Depósito: 22 maio 2014. Concessão: 27 nov. 2014.
- ²⁶ FRIEDMAN, A.; TEISSEDRE, S.; MECKFESSEL, M. H. **A comprehensive investigative assessment of a moisturizer formulation with 10% urea for hydrating xerotic skin.** Depositante: Galderma R & D, 2017.
- ²⁷ MECKFESSEL, M.; PHAM, H. **Improvement in xerosis and quality of life using a urea lotion in subjects undergoing chemotherapy.** Depositante: Galderma Laboratories, LP, 2017.
- ²⁸ WNEK, G. E.; BOWLIN, G. L. **Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering.** 2. ed. New York: Informa Healthcare, 2008.

- ²⁹ RASIA, G. M. **Síntese e funcionalização de hidrogéis de poli(álcool vinílico)**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais). Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul. 2014.
- ³⁰ HOARE, T. S.; KOHANE, D. S. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. **Polymer**, United States, v. 49, p. 1993-2007, jan. 2008.
- ³¹ GYAWALI, D. *et al.* Citric acid-derived *in situ* crosslinkable biodegradable polymers for cell delivery. **Biomaterials**, Dallas, v. 31, ed. 34, p. 9092-9105, dez. 2010.
- ³² OLSSON, E. *et al.* Influence of citric acid and curing on moisture sorption, diffusion and permeability of starch films. **Carbohydr Polym**, v. 94, n. 2, p. 765-72, May 15 2013.
- ³³ LEAL, G. F. **Conversão catalítica de celulose utilizando catalizadores de carbeto de tungstênio suportado em carvão ativo e promovido por paládio**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências). Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.
- ³⁴ CARASCHI, J. C.; FILHO, S. P. C. Influência do Grau de Substituição e da Distribuição de Substituintes Sobre as Propriedades de Equilíbrio de Carboximetilcelulose em Solução Aquosa. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Paulo, abr./Jun. 1999.
- ³⁵ KAISTNER, U.; HOFFMANN, H.; DONGES, R.; HILBIG, J.; Structure and solution properties of sodium carboxymethyl cellulose, **Colloids Surfaces A: Physicochem**, v. 123-124, p. 307-328, 1996.
- ³⁶ CAPANEMA, N. S. V. *et al.* Superabsorbent crosslinked carboxymethyl cellulose-PEG hydrogels for potential wound dressing applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p. 1218–1234, 2018.
- ³⁷ NG, S.; JUMAAT, N. Carboxymethyl cellulose wafers containing antimicrobials: A modern drug delivery system for wound infections. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Malásia, v. 51, p. 173–179, 2014.
- ³⁸ ZHENG, W. J. *et al.* Facile fabrication of self-healing carboxymethyl cellulose hydrogels. **European Polymer Journal**, China, v. 72, p. 514–522, 2015.
- ³⁹ NAMAZI, H. *et al.* Antibiotic loaded carboxymethylcellulose/MCM-41 nanocomposite hydrogel films as potential wound dressing. **International Journal of Biological Macromolecules**, Iran, v. 85, p. 327–334, 2016.
- ⁴⁰ HU, D.; QIANG, T.; WANG, L. Quaternized chitosan/polyvinyl alcohol/sodium carboxymethylcellulose blend film for potential wound dressing application. **Wound Medicine**, China, v. 16, p. 15–21, 2017.
- ⁴¹ RAKHSHAELI, R.; NAMAZI, H. A potential bioactive wound dressing based on carboxymethyl cellulose/ZnO impregnated MCM-41 nanocomposite hydrogel. **Materials Science and Engineering C**, Iran, v. 73, p. 456–464, 2017.

- ⁴² SKOSKIEWICZ-MALINOWSKA *et al.* Application of Chitosan and Propolis in Endodontic Treatment: A Review. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, Poland, v. 17, p. 410-434, 2017.
- ⁴³ PÉREZ-RECALDE, M.; ARIAS, I. E. R.; HERMIDA, E. B. Could essential oils enhance biopolymers performance for wound healing? A systematic review **Phytomedicine**, v. 38, p. 57–65, 2018.
- ⁴⁴ AKHMETOVA *et al.* A Comprehensive Review of Topical Odor-Controlling Treatment Options for Chronic Wounds. **J Wound Ostomy Continence Nurs**, v. 43, n.6, p. 598–609, nov. 2016
- ⁴⁵ BIAVATTI, M. W. *et al.* Análise de óleos-resinas de copaíba: contribuição para o seu controle de qualidade. **Journal of Pharmacognosy**, v. 16, n. 2, p. 230-235, abr./jun. 2006
- ⁴⁶ VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C. O GÊNERO *Copaifera* L. **Quim. Nova**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 2, p. 273-286, 2002.
- ⁴⁷ GRAMOSA, M. V.; SILVEIRA, E. R. Volatile Constituents of *Copaifera langsdorffii* i from the Brazilian Northeast. **Journal Essent. Oil Res.**, n. 17, p. 130-132, mar./apr. 2005.
- ⁴⁸ VEIGA JR, V. F. *et al.* Phytochemical and Antioedematogenic Studies of Commercial Copaiba Oils Available in Brazil. **Phytotherapy research**, n. 15, p. 476-480, 2001.
- ⁴⁹ PEREIRA, F. J. *et al.* Isolamento, Composição Química e Atividade Anti-inflamatória do Óleo Essencial do Pericarpo de *Copaifera langsdorffii* Desf. de acordo com Hidrodestilações Sucessivas. **Latin American Journal of Pharmacy**, Minas Gerais, v. 27, n. 3, p. 369-374, 2008.
- ⁵⁰ MONTES, L. V. *et al.* Evidências para o uso da óleo-resina de copaíba na cicatrização de ferida – uma revisão sistemática. **Natureza on line**, v. 7, n. 2, p. 61- 67.
- ⁵¹ MARAGON, C. A. *et al.* Chitosan/gelatin/copaiba oil emulsion formulation and its potential on controlling the growth of pathogenic bactéria. **Industrial Crops and Products**, São Paulo, v. 99, p. 163–171, 2017.
- ⁵² VIEIRA, T. R. *et al.* CONSTITUENTES QUÍMICOS DE *Melaleuca alternifolia* (MYRTACEAE). **Quim. Nova**, Viçosa (MG), v. 27, n. 4, p. 536-539, 2004.
- ⁵³ COX, S. D. *et al.* The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **Journal of Applied Microbiology**, New South Wales, Austrália, v. 88, p. 170–175, 2000.
- ⁵⁴ HAMMER, K. M.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Antifungal effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Austrália v. 53, p. 1081–1085, 2004.
- ⁵⁵ KREUGER, M. R. O. The influence of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* on the healing of infected dental alveoli: A histological study in rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 3, p. 349-355, jul./set. 2007.

- ⁵⁶ FARAG, R. S. *et al.* Chemical and Biological Evaluation of the Essential Oils of Different *Melaleuca* Species. **Phytotherapy research**, n. 18, p. 30–35, 2004.
- ⁵⁷ PAZYAR, N. *et al.* A review of applications of tea tree oil in dermatology. **International Journal of Dermatology**, v. 52, p. 784–790, 2013.
- ⁵⁸ LEE, B. *et al.* Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects. **Journal of Stored Products Research**, v. 40, p. 553–564, 2004.
- ⁵⁹ SILVA, C. J. *et al.* Comparative study of the essential oils of seven *Melaleuca* (Myrtaceae) species grown in Brazil. **Flavour Fragr. J.**, v. 22, p. 474–478, 2007.
- ⁶⁰ CHABIR, N. *et al.* Chemical Study and Antimalarial, Antioxidant, and Anticancer Activities of *Melaleuca armillaris* (Sol Ex Gateau) Sm Essential Oil. **Journal of medicinal food**, v. 14, n. 11, p. 1383–1388, 2011.
- ⁶¹ BROPHY, J. J.; CRAVEN, L. A.; DORAN, J. C. **Melaleucas: their botany, essential oils and uses.** Australian Government: New South Wales, 2013.
- ⁶² HAYOUNI, E. A. *et al.* Mechanism of action of *Melaleuca armillaris* (Sol. Ex Gaertn.) Sm. essential oil on six LAB strains as assessed by multiparametric flow cytometry and automated microtiter-based assay. **Food Chemistry**, n. 111, p. 707–718, 2008.
- ⁶³ TAYLOR, R. F.; SCHULTZ, J. S. **Handbook of chemical and biological sensors.** Taylor & Francis: British, 1996.
- ⁶⁴ KOKABI, M.; SIROUSAZAR, M.; HASSAN, Z. M. PVA–clay nanocomposite hydrogels for wound dressing. **European polymer journal**, v. 43, n. 3, p. 773–781, 2007.
- ⁶⁵ PAIVA, D. L. **Introdução à Espectroscopia.** Tradução da 4ª Edição Norte-americana. Cengage Learning: Washington, 2010.
- ⁶⁶ ASTM D882 – 02, **Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting**, 2002.
- ⁶⁷ BAUER, A. W. *et al.* Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. **American Journal of Clinical Pathology**, p. 493–496, 1966.
- ⁶⁸ CLSI. **Clinical and Laboratory Standards Institute. Normas de desempenho para testes de sensibilidade antimicrobiana**, v. 25, n. 1, 2005.
- ⁶⁹ ASTM 2180-07, **Standard Test Method for Determining the Activity of Incorporated Antimicrobial Agent(s) In Polymeric or Hydrophobic Materials**, 2012.
- ⁷⁰ VALÁŠKOVÁ, M. *et al.* Exfoliation/delamination of kaolinite by low-temperature washing of kaolinite–urea intercalates. **Applied Clay Science**, v. 35, p. 108–118, 2007.
- ⁷¹ El-Sayed *et al.* DSC, TGA and dielectric properties of carboxymethyl cellulose/polyvinyl alcohol blends. **Physica B**, v. 406, p. 4068–4076, 2011.