

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

PATRICIA HUBNER

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE HIDROGEL À BASE DE GELATINA
E PVA CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS DE LAVANDA E DE PINUS PARA
APLICAÇÃO COMO CURATIVO**

TESE DE DOUTORADO

Porto Alegre

2023

PATRICIA HUBNER

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE HIDROGEL À BASE DE GELATINA E PVA
CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS DE LAVANDA E DE PINUS PARA APLICAÇÃO
COMO CURATIVO**

Tese de Doutorado apresentada como requisito para
obtenção do título de Doutor em Engenharia
Química.

Área de concentração: Fenômenos de Transporte e
Operações Unitárias

Orientadores:

Prof^a. Dr^a. Isabel Cristina Tessaro

Prof. Dr. Nilson Romeu Marcilio

Porto Alegre

2023

RESUMO

O desenvolvimento de filmes de hidrogel para aplicações biomédicas é interessante devido às suas características, como biocompatibilidade e capacidade de absorver exsudatos dos ferimentos. Os filmes de hidrogel à base de gelatina e poli(álcool vinílico) (PVA) foram desenvolvidos por *casting* e reticulados por luz ultravioleta (UV-A). Utilizou-se um delineamento composto central rotacional para obter a formulação ideal de filme de hidrogel. A metodologia da superfície de resposta foi utilizada para avaliar a influência das variáveis independentes (concentração de gelatina, concentração de PVA e dose de UV) nas variáveis de resposta (espessura, resistência à tração, módulo de Young, elongação, intumescimento, fluxo de permeação de vapor de água e fração de gel). Os filmes obtidos foram caracterizados e otimizados em função das variáveis de resposta. A função *software Statistica®* foi utilizada para obter a formulação controle (obtida pelo planejamento experimental), com 5 % (m/m) de gelatina, 4 % (m/m) de PVA e exposta a 153 J cm⁻² de radiação ultravioleta. Tanto a formulação controle, quanto a formulação otimizada (submetida a uma dose de radiação UV de 2592 J cm⁻²) foram caracterizadas pela cinética de intumescimento, permeabilidade ao oxigênio, TGA, DSC e DRX. Os resultados do delineamento experimental mostraram que as concentrações de gelatina e PVA têm influência significativa nas variáveis de resposta e as doses de exposição à luz UV não apresentaram efeito significativo. A formulação controle do filme de hidrogel foi intumescente (65 %), elástica (146 %), apresentou boa resistência mecânica (3,40 MPa) e foi permeável ao oxigênio (28 cm³ mm m⁻² dia⁻¹ kPa⁻¹), mas a permeação de vapor de água (112 g d⁻¹ m⁻²) e a fração de gel (26 %) foram baixas. A formulação otimizada apresentou maior fração de gel (46 %) conforme era desejado ao aumentar a dose de radiação UV. Para as propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água não foram identificadas diferenças significativas entre a amostra controle e a otimizada. O intumescimento da formulação otimizada foi menor (54 %), devido à maior reticulação das cadeias poliméricas. Os óleos essenciais de lavanda (OEL) e de pinheiro silvestre (OEP), nas concentrações de 0,5; 1 e 2 % (m/v), foram adicionados ao filme de hidrogel otimizado visando conferir propriedades antibacterianas ao filme e torná-lo ativo. Os filmes contendo óleos essenciais foram caracterizados pelas mesmas propriedades avaliadas para os filmes de hidrogel controle e otimizado, além de morfologia e propriedades antibacterianas. Os resultados das análises físicas mostraram que a espessura e a fração de gel não foram influenciadas pela adição dos óleos essenciais. A análise das propriedades de barreira revelou que a incorporação de OEL causou um aumento na permeabilidade ao oxigênio e a incorporação de ambos os óleos causou um aumento na permeabilidade ao vapor de água e no fluxo de permeação de vapor de água. Por outro lado, as propriedades mecânicas foram reduzidas após a incorporação de óleos essenciais. No entanto, os valores obtidos para essas propriedades estão de acordo com os recomendados para aplicação como curativo. As análises térmicas mostraram que os filmes de hidrogel, independentemente da adição de óleos essenciais, possuem boa estabilidade térmica. As imagens de MEV demonstraram que algumas mudanças físicas ocorreram na estrutura dos filmes de hidrogel após a adição dos óleos essenciais, o que pode estar causando as diferenças observadas nas propriedades avaliadas. Em relação à atividade antibacteriana, todos os filmes de hidrogel contendo OEP apresentaram ação contra *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) e observou-se uma redução no crescimento da *Escherichia coli* (Gram-negativa) com o aumento da concentração de OEP. As amostras contendo OEL aparentemente têm ação antibacteriana mais fraca do que aquela apresentada pelos filmes contendo OEP. Os resultados obtidos neste estudo mostram que os filmes de hidrogel desenvolvidos, principalmente aqueles contendo óleo essencial de pinheiro, têm potencial para uso em aplicações biomédicas.

Palavras-chave: hidrogéis, gelatina, poli(álcool vinílico), óleo essencial de lavanda, óleo essencial de pinheiro silvestre.

ABSTRACT

The development of hydrogel films for biomedical applications is interesting because of their major characteristics, such as biocompatibility and capacity of absorbing wound exudates. Hydrogel films based on gelatin and polyvinyl alcohol (PVA) were developed by casting and crosslinked by ultraviolet light (UV-A). Rotatable central composite design was made to obtain the optimal hydrogel film formulation. The methodology of response surface was used to evaluate the influence of the independent variables (gelatin concentration, PVA concentration and UV dose) on the response variables (thickness, tensile strength, Young's modulus, elongation, swelling, water vapor permeation flux, and gel fraction). The obtained films were characterized and optimized in function of the response variables. The desirability function of Statistica® software was used to obtain the control formulation (obtained by experimental design), with 5 % (w/w) of gelatin, 4 % (w/w) of PVA and 153 J cm⁻² of ultraviolet irradiation. Both the control and the optimized (subjected to a dose of UV radiation of 2592 J cm⁻²) formulations were characterized by swelling kinetics, oxygen permeability, adhesiveness, TGA, DSC and XRD. Results of the experimental design showed that gelatin and PVA concentrations has a significant influence on the response variables, and the doses of exposure to UV light had no significant effect. The hydrogel film control formulation was intumescent (65 %), elastic (146 %), and had good mechanical resistance (3.40 MPa), was permeable to oxygen (28 cm³ mm m⁻² day⁻¹ kPa⁻¹), but the water vapor permeation (112 g d⁻¹ m⁻²) and gel fraction (26 %) were low. The optimized formulation showed a higher gel fraction (46%) as desired when increasing the dose of UV irradiation. No significant differences were identified between the control and the optimized sample for the mechanical properties and water vapor barrier. The swelling of the optimized formulation was lower (54%), due to the greater crosslinking of polymer chains. Lavender (LEO) and pine (PEO) essential oils at concentrations of 0.5, 1, and 2 % (w/v) were added to the optimized hydrogel film aiming to give antibacterial properties to the film and make it an active film. Films containing essential oils were characterized by the same properties evaluated for the control and optimized hydrogel films, in addition to morphology and antibacterial properties. Results of physical analysis evidenced that thickness and gel fraction were not influenced by essential oils addition. Analysis of barrier properties revealed that the incorporation of LEO caused an augment in oxygen permeability and the incorporation of both essential oils caused an augment in water vapor permeability and water vapor permeation flux. On the other hand, mechanical properties were reduced after essential oils incorporation. However, the results obtained for these properties agree with the recommendation for wound dressing application. Thermal analysis showed that the hydrogel films presented good thermal stability regardless of the essential oils added. SEM images showed some changes in the physical structure of hydrogel films after essential oils addition, which may be causing the observed differences in the evaluated properties. Regarding antibacterial properties, all hydrogel films containing PEO presented antibacterial action against *Staphylococcus aureus* (Gram-positive) and it was observed a reduction in the growth of *Escherichia coli* (Gram-negative) as the PEO concentration increased. Samples containing LEO apparently has weaker antibacterial action than that containing PEO. Results obtained in this study show that the developed hydrogel films, mainly those containing pine essential oil, have the potential to be used in biomedical applications.

Keywords: hydrogels, gelatin, polyvinyl alcohol, lavender essential oil, pine essential oil.

SUMÁRIO

RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
SUMÁRIO.....	iv
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE QUADROS	xii
INTRODUÇÃO.....	14
1.1 OBJETIVOS	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 HISTÓRICO DOS HIDROGÉIS PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS	17
2.2 HIDROGÉIS	19
2.1.1 Processos de reticulação de hidrogéis.....	21
2.2 CURATIVOS	22
2.2.1 Curativos de hidrogéis	24
2.2.2 Curativos de hidrogéis comerciais.....	27
2.3 POLÍMEROS UTILIZADOS NA PRODUÇÃO DE HIDOGÉIS	30
2.3.1 Gelatina.....	31
2.3.2 Poli(álcool vinílico) – PVA	34
2.4 PLASTIFICANTES.....	36
2.5 CURATIVOS ATIVOS	37
2.5.1 Óleos essenciais como aditivos em curativos ativos	38
2.5.1.1 Óleo essencial de lavanda.....	39
2.5.1.2 Óleo essencial de pinheiro silvestre.....	40
2.7 CONSIDERAÇÕES SOBRE A REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	41
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
3.1 MATERIAIS UTILIZADOS.....	44
3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS	44
3.2.1 Análise química estrutural	46
3.2.2 Análises térmicas	46
3.2.2.1 Análise termogravimétrica.....	46
3.2.2.2 Calorimetria exploratória diferencial.....	46

3.2.3	Cristalinidade	47
3.2.4	Cromatografia gasosa	47
3.3	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA	48
3.4	PREPARAÇÃO DOS FILMES DE HIDROGEL	50
3.5	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE HIDROGEL	51
3.5.1	Espessura	51
3.5.2	Propriedades mecânicas	51
3.5.3	Intumescimento.....	52
3.5.4	Fluxo de permeação de vapor de água.....	52
3.5.5	Fração de gel.....	53
3.6	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE HIDROGEL CONTROLE E OTIMIZADO 53	
3.6.1	Cinética de intumescimento.....	54
3.6.2	Permeabilidade ao oxigênio.....	54
3.6.3	Análise química estrutural	55
3.6.4	Análises térmicas	55
3.6.5	Cristalinidade	56
3.7	PREPARAÇÃO DOS FILMES DE HIDROGEL CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS 56	
3.8	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE HIDROGEL CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS	56
3.8.1	Análise morfológica.....	57
3.8.2	Atividade antibacteriana	57
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
4.1	CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS	58
4.1.1	Análise química estrutural	58
4.1.2	Análises térmicas	60
4.1.2.1	Análise termogravimétrica.....	60
4.1.2.2	Calorimetria exploratória diferencial.....	62
4.1.3	Cristalinidade	64
4.1.4	Cromatografia gasosa	64
4.2	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	67
4.2.1	Efeitos na espessura.....	71

4.2.2	Efeitos nas propriedades mecânicas	72
4.2.3	Efeitos no intumescimento	74
4.2.4	Efeitos no fluxo de permeação de vapor de água	75
4.2.5	Efeitos na fração de gel.....	76
4.3	OTIMIZAÇÃO DA FORMULAÇÃO DO FILME DE HIDROGEL.....	78
4.3.1	Estudo da fração de gel da formulação controle.....	83
4.3.2	Cristalinidade.....	85
4.4	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE HIDROGEL.....	86
4.4.1	Análise morfológica.....	86
4.4.2	Propriedades físicas e mecânicas.....	88
4.4.3	Cinética de intumescimento.....	92
4.4.4	Propriedades de barreira	95
4.4.5	Análise química estrutural	97
4.4.6	Análises térmicas	99
4.4.6.1	Análise termogravimétrica.....	99
4.4.5.2	Calorimetria exploratória diferencial.....	103
4.4.7	Atividade antibacteriana	104
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	107
	REFERÊNCIAS	110
	APÊNDICE A – TABELAS ANOVA	124
	APÊNDICE B – SUPERFÍCIES DE RESPOSTA.....	127
	APÊNDICE C – CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL.....	130

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Classificação dos hidrogéis conforme suas diferentes propriedades.	20
Figura 2.2 – Estrutura do colágeno.....	32
Figura 2.3 – Estrutura molecular da gelatina.....	33
Figura 2.4 – Estrutura molecular do PVA (a) totalmente hidrolisado e (b) parcialmente hidrolisado.	34
Figura 2.5 – Estrutura química do glicerol.	36
Figura 3.1 – Fluxograma das etapas realizadas nesta tese.....	45
Figura 3.2 – Representação esquemática do sistema utilizado no ensaio de permeabilidade ao oxigênio.	54
Figura 4.1 – Espectro de infravermelho por transformada de <i>Fourier</i> da gelatina, do PVA, do glicerol e dos óleos essenciais de lavanda (OEL) e de pinheiro silvestre (OEP).	59
Figura 4.2 – Termogramas obtidos por TGA para gelatina, PVA e glicerol. (a) Curva da perda de massa em função da temperatura (TG) e curvas da derivada da perda de massa em função da temperatura (DTG) para (b) gelatina, (c) PVA e (d) glicerol.....	61
Figura 4.3 – Curvas da análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) para (a) gelatina, (b) PVA e (c) glicerol.	63
Figura 4.4 – Perfil de cristalinidade obtido por difração de raios-X para a gelatina e o PVA.	64
Figura 4.5 – Cromatogramas de GC-MS dos óleos essenciais de lavanda (OEL) e de pinheiro silvestre (OEP).....	65
Figura 4.6 – Superfície de resposta para o efeito das concentrações de gelatina e PVA na espessura dos filmes de hidrogel a uma dose de radiação UV constante de 108 J cm^{-2}	71
Figura 4.7 – Superfícies de resposta para o efeito das concentrações de gelatina e PVA na tensão na ruptura, no módulo de Young e na elongação na ruptura dos filmes de hidrogel a uma dose de radiação UV constante de 108 J cm^{-2}	72
Figura 4.8 – Superfície de resposta para o efeito das concentrações de gelatina e PVA no intumescimento em 2 minutos dos filmes de hidrogel a uma dose de radiação UV constante de 108 J cm^{-2}	75
Figura 4.9 – Superfície de resposta para o efeito das concentrações de gelatina e PVA no WVPF dos filmes de hidrogel a uma dose de radiação UV constante de 108 J cm^{-2}	76
Figura 4.10 – Superfície de resposta do efeito das concentrações de gelatina e PVA na fração de gel dos filmes de hidrogel a uma dose de radiação UV constante de 108 J cm^{-2}	78

Figura 4.11 – Perfis obtidos por meio da função desejabilidade para as variáveis de resposta avaliadas no planejamento experimental. A linha vertical vermelha indica a condição ideal.	79
Figura 4.12 – Esquema de reação que ilustra a reticulação física envolvendo os grupos –NH ₂ da gelatina e –OH do PVA.	83
Figura 4.13 – Espectros de difração de raios-X para os filmes de hidrogel controle e otimizado.	85
Figura 4.14 – Micrografias de MEV da superfície e da seção transversal dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA controle, otimizado e contendo óleo essencial de lavanda (OEL) ou pinheiro silvestre (OEP).	87
Figura 4.15 – Cinética de intumescimento dos filmes de hidrogel controle, otimizado e contendo óleos essenciais de lavanda (OEL) ou pinheiro silvestre (OEP) em água destilada (a.1, b.1 e c.1) e em solução que simula exsudato de ferida (a.2, b.2, c.2).	93
Figura 4.16 – Espectros de FTIR obtidos para os filmes de hidrogel controle, otimizado e contendo óleos essenciais em diferentes concentrações.	98
Figura 4.17 – Curvas obtidas pela análise termogravimétrica dos filmes de hidrogel controle, otimizado e contendo óleo essencial de lavanda (OEL) ou de pinheiro silvestre (OEP).	100
Figura 4.18 – Curvas da derivada da perda de massa obtidas pela análise termogravimétrica dos filmes de hidrogel controle, otimizado e dos filmes contendo óleo essencial de lavanda (OEL) ou de pinheiro silvestre (OEP) em diferentes concentrações.	101
Figura 4.19 – Análise antibacteriana dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA contendo óleos essenciais de lavanda (OEL) e pinheiro silvestre (OEP) com as bactérias <i>Staphylococcus aureus</i> (a) e <i>Escherichia coli</i> (b) em ágar PCA.	105
Figura B1 – Superfícies de resposta para o efeito (a) da concentração de gelatina e da dose de UV com concentração de PVA constante de 5 % e (b) da concentração de PVA e da dose de UV com concentração de gelatina constante de 5 % na espessura dos filmes de hidrogel.	127
Figura B2 – Superfícies de resposta para o efeito (a) da concentração de gelatina e da dose de UV com concentração de PVA constante de 5 % e (b) da concentração de PVA e da dose de UV com concentração de gelatina constante de 5 % na tensão de ruptura, módulo de Young e alongação na ruptura dos filmes de hidrogel.	127
Figura B3 – Superfícies de resposta para o efeito (a) da concentração de gelatina e da dose de UV com concentração de PVA constante de 5 % e (b) da concentração de PVA e da dose de UV com concentração de gelatina constante de 5 % no intumescimento dos filmes de hidrogel.	128

Figura B4 – Superfícies de resposta para o efeito (a) da concentração de gelatina e da dose de UV com concentração de PVA constante de 5 % e (b) da concentração de PVA e da dose de UV com concentração de gelatina constante de 5 % no fluxo de permeação de vapor de água (WVPF) dos filmes de hidrogel.....	128
Figura B5 – Superfícies de resposta para o efeito (a) da concentração de gelatina e da dose de UV com concentração de PVA constante de 5 % e (b) da concentração de PVA e da dose de UV com concentração de gelatina constante de 5 % na fração de gel dos filmes de hidrogel.	129
Figura C1 – Curvas obtidas pelo ensaio de calorimetria exploratória diferencial (DSC) para os filmes de hidrogel controle, otimizado e contendo óleo essencial de lavanda (OEL) ou de pinheiro silvestre (OEP) em diferentes concentrações.	130

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Fatores de controle e níveis utilizados no planejamento experimental do tipo composto central rotacional.....	48
Tabela 3.2 – Corridas experimentais do DCCR com os valores codificados e reais das variáveis independentes.	49
Tabela 4.1 – Composição dos óleos essenciais de lavanda (OEL) e de pinheiro silvestre (OEP).	66
Tabela 4.2 – Resultados de espessura, tensão na ruptura, módulo de Young, alongação na ruptura, intumescimento em 2 minutos, fluxo de permeação de vapor de água e fração de gel para os filmes de hidrogel preparados a partir do delineamento composto central rotacional com 3 variáveis independentes. A concentração de glicerol nos filmes de hidrogel foi mantida constante e igual a 80 % (m/m) em relação à massa de polímeros.	69
Tabela 4.3 – Equações do modelo obtidas por regressões lineares múltiplas e seus valores previstos e observados para as variáveis de resposta do planejamento experimental.	70
Tabela 4.4 – Fração de gel dos filmes de hidrogel com 5 % (m/m) de gelatina, 4 % (m/m) de PVA e 80 % (m/m, em relação à massa de polímeros) de glicerol submetidos a diferentes doses de radiação ultravioleta.....	84
Tabela 4.5 – Propriedades físicas (espessura e fração de gel) e mecânicas (tensão e alongação na ruptura e módulo de Young) dos filmes de hidrogel controle e otimizado e dos filmes contendo diferentes concentrações de óleos essenciais de lavanda (OEL) ou pinheiro silvestre (OEP).	90
Tabela 4.6 – Permeabilidade ao vapor de água (WVP), fluxo de permeação de vapor de água (WVPF) e permeabilidade ao oxigênio dos filmes de hidrogel controle, otimizado e contendo óleos essenciais de lavanda (OEL) ou pinheiro silvestre (OEP).	95
Tabela 4.7 – Temperaturas de degradação térmica (Td, °C) e perda de massa (Δm , %) dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA controle, otimizado e contendo óleos essenciais de lavanda (OEL) e de pinheiro silvestre (OEP).	100
Tabela 4.8 – Temperaturas de transição vítrea, fusão e degradação obtidas pelo ensaio de calorimetria exploratória diferencial (DSC) para os filmes de hidrogel controle e otimizado e contendo óleo essencial de lavanda (OEL) ou de pinheiro silvestre (OEP).	104
Tabela A1 – Tabela ANOVA para a espessura dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA. ..	124
Tabela A2 – Tabela ANOVA para a tensão na ruptura dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA.	124

Tabela A3 – Tabela ANOVA para o módulo de Young dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA.	125
Tabela A4 – Tabela ANOVA para a elongação na ruptura dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA.	125
Tabela A5 – Tabela ANOVA para o intumescimento em 2 minutos dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA.	125
Tabela A6 – Tabela ANOVA para o fluxo de permeação de vapor de água (WVPF) dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA.	126
Tabela A7 – Tabela ANOVA para a fração de gel dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA.	126

LISTA DE QUADROS

Quadro 2.1 – Alguns curativos de hidrogéis comercialmente disponíveis, com indicação do nome comercial, fabricante, forma do curativo, principais constituintes e a presença de aditivos.	29
--	----

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

A busca por curativos que contribuam para a cicatrização e não apenas cubram o ferimento tem recebido cada vez mais atenção, pois implicam em um tratamento mais rápido e mais confortável para o paciente. Nesse sentido, os curativos biocompatíveis, ativos, fáceis de remover e que ofereçam as melhores condições possíveis para a cicatrização dos ferimentos vêm sendo foco de diversos estudos.

Os hidrogéis têm sido utilizados em muitas aplicações biomédicas, estando presentes, também, em estudos relacionados à utilização em curativos. Isso se deve, principalmente, às suas propriedades físicas semelhantes ao tecido humano, sua biocompatibilidade e capacidade de absorção de exsudatos. Os hidrogéis podem ser obtidos a partir da reticulação de cadeias poliméricas por diferentes métodos, como radiação, tratamento térmico, ciclos de congelamento e descongelamento e pelo uso de agentes reticulantes. No entanto, para aplicação como curativos, é interessante evitar o uso de agentes reticulantes, visto que eles geralmente são tóxicos e torna-se difícil remover as substâncias residuais do hidrogel formado. Sendo assim, a utilização de métodos físicos de reticulação, como, por exemplo, a radiação ultravioleta é considerada uma abordagem eficaz, pois não requer a adição de agentes de reticulação, minimizando o risco do material produzido apresentar toxicidade.

Dentre as formas físicas que os hidrogéis podem ser apresentados destaca-se a forma de filmes de hidrogel que apresenta a vantagem de unir as características dos hidrogéis e dos filmes poliméricos. Alguns polímeros são bons candidatos para a preparação desses filmes de hidrogel e dentre eles a gelatina e o poli(álcool vinílico) (PVA) são promissores devido às suas propriedades. A gelatina é um biopolímero obtido a partir da hidrólise parcial do colágeno que apresenta características como biodegradabilidade, biocompatibilidade e adesividade fazendo com que ela possa ser utilizada nas indústrias farmacêuticas e biomédicas. O PVA é um polímero sintético solúvel em água, atóxico e biocompatível que pode ser usado para a produção de filmes de hidrogel e cujas propriedades elásticas e intumescentes são desejáveis para aplicações biomédicas.

A utilização de biopolímeros para o desenvolvimento de filmes de hidrogel é interessante devido, principalmente, às suas fontes serem renováveis. No entanto, os materiais à base de biopolímeros podem ser solúveis e possuir propriedades térmicas, mecânicas e de barreira consideradas frágeis e que desfavorecem sua utilização. Por isso, polímeros sintéticos

são comumente misturados à biopolímeros visando a melhoria das propriedades do material obtido. Nesse contexto, uma possibilidade é combinar polímeros como a gelatina e o PVA com o objetivo de produzir um filme de hidrogel com características específicas desejadas.

Visando a aplicação desses filmes de hidrogel como curativos para ferimentos superficiais, é interessante que eles apresentem certa flexibilidade e elasticidade, por isso, pode ser utilizado um plastificante, como o glicerol, para melhorar essas propriedades. Além disso, é interessante e inovador que esses curativos apresentem propriedades antibacterianas. Isso fará com que o material seja um curativo ativo, que ajuda a evitar infecções e auxilia no processo de cicatrização do ferimento. Essa propriedade pode ser conferida pela adição de agentes antibacterianos, como antibióticos, nanopartículas, óxidos metálicos e óleos essenciais, por exemplo.

O óleo essencial de lavanda vem sendo utilizado popularmente como medicamento, agente terapêutico ou como aditivo em medicamentos e cosméticos ao longo dos anos. Além disso, esse óleo essencial é ativo contra muitas espécies de bactérias, apresentando boas propriedades antibacterianas. Outro óleo essencial de elevado interesse e pouco explorado é aquele derivado do pinheiro silvestre. O óleo essencial de pinheiro não apresenta toxicidade aos organismos vivos e não causa irritabilidade em baixas concentrações. Além disso, sabe-se que esse óleo essencial pode apresentar uma variedade de efeitos terapêuticos, como antifúngico, antiviral, antisséptico, diurético, expectorante e antibacteriano, sendo eficaz contra vários tipos de bactérias.

A combinação das propriedades fornecidas pela gelatina, pelo PVA e pelos óleos essenciais na preparação de filmes de hidrogel para aplicação como curativos pode ser promissora, visto que pode promover uma cicatrização mais rápida na qual o próprio curativo poderá auxiliar na mitigação de possíveis infecções sem a necessidade de aplicação de outros medicamentos. O material resultante desse preparo é um curativo ativo para ser utilizado no tratamento de ferimentos como queimaduras de primeiro grau e ferimentos superficiais abertos como, por exemplo, escoriações, cortes ou perfurações pouco profundos.

1.1 OBJETIVOS

O objetivo geral desta tese é preparar filmes de hidrogel à base de gelatina e PVA reticulados por radiação ultravioleta e incorporar óleo essencial de lavanda e óleo essencial de pinheiro silvestre, visando o desenvolvimento de filmes de hidrogel ativos com propriedades

antibacterianas e potencial para serem utilizados em aplicações biomédicas, especialmente como curativos.

Os objetivos específicos do trabalho consistem em:

- caracterizar as matérias-primas utilizadas para a preparação dos filmes de hidrogel (gelatina, PVA, glicerol, óleo essencial de lavanda e óleo essencial de pinheiro silvestre);
- realizar um planejamento experimental com o auxílio do *software Statistica®* para obter diferentes formulações de filmes de hidrogel compostos por gelatina e PVA;
- produzir e caracterizar os filmes de hidrogel obtidos de acordo com o planejamento experimental;
- otimizar os níveis dos fatores de controle definidos pelo planejamento experimental usando a função desejabilidade a fim de obter uma formulação otimizada;
- caracterizar o filme de hidrogel da formulação otimizada quanto às propriedades mecânicas, físico-químicas, térmicas e morfológicas;
- incorporar diferentes concentrações dos óleos essenciais de lavanda e de pinheiro silvestre ao filme de hidrogel otimizado;
- caracterizar os filmes com aditivos quanto às propriedades físicas, químicas, mecânicas, térmicas e morfológicas, comparando-os ao filme otimizado;
- verificar a atividade antibacteriana dos filmes de hidrogel contendo óleos essenciais.

CAPÍTULO 2

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As informações apresentadas no decorrer deste capítulo têm por objetivo a abordagem de tópicos importantes para o entendimento do tema deste trabalho, bem como para a discussão dos resultados obtidos. Nesta seção são apresentados alguns aspectos históricos e de propriedades dos curativos, dos hidrogéis e dos curativos de hidrogéis, apresentando, também, informações sobre os materiais escolhidos para produzir os filmes de hidrogel e os aditivos utilizados nos mesmos. Por fim, é feita uma abordagem contemplando a motivação e a justificativa deste trabalho.

2.1 HISTÓRICO DOS HIDROGÉIS PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS

Em 1936, cientistas da *DuPont* publicaram um artigo no qual exploraram características e propriedades de novos polímeros derivados do metil metacrilato, os quais foram denominados de resinas metacrílicas (NEMOURS, 1936). Uma destas resinas é o monômero hidroxietil metacrilato (HEMA) que, quando polimerizado, produz o poli(hidroxietil metacrilato) (poliHEMA). Este polímero não apresentava características consideradas importantes, pois era duro, quebradiço e vítreo e, desta forma, o poliHEMA não foi objetivo de estudos durante vários anos (ULLAH et al., 2015).

No início da década de 1950, alguns polímeros já haviam sido utilizados para fins médicos, mesmo sem terem sido projetados para tal. Entretanto, em 1952, Otto Wichterle e Drahoslav Lím iniciaram os primeiros projetos de pesquisa que visaram à produção de polímeros específicos para aplicações médicas, bem como a obtenção de propriedades de biocompatibilidade para estes materiais. O primeiro projeto de desenvolvimento de biomateriais para uso médico focou nas aplicações em oftalmologia e os biomateriais produzidos foram posteriormente denominados de hidrogéis. Estes biomateriais deveriam apresentar características tais como formato estável e maciez semelhante à do tecido ao qual entraria em contato, estabilidade química e bioquímica, ausência de liberação de compostos tóxicos e alta permeabilidade de nutrientes e metabólitos solúveis em água através da interface tecido-biomaterial. Essas características ainda são válidas para lentes de contato gelatinosas e são alguns dos atributos desejáveis para os hidrogéis utilizados em aplicações biomédicas como

curativos, *scaffolds* e sistemas de liberação de fármacos, por exemplo (RAMAZANI; AGHAHOSSEINI, 2019).

Ainda buscando produzir hidrogéis para aplicações oftalmológicas, Wichterle e Lím realizaram pesquisas com N-vinilpirrolidona e poli(álcool vinílico), porém os materiais produzidos não apresentaram as propriedades mecânicas necessárias para uso específico como lentes de contato. Em 1960, esses dois pesquisadores estudaram a produção de novos materiais através da polimerização de glicol metacrilato e obtiveram um copolímero de 2-hidroxiethyl metacrilato (HEMA) reticulado com dimetacrilato de etilenoglicol (EDMA). O HEMA reticulado mostrou-se um bom material para aplicação como lentes de contato gelatinosas, pois apresentou equilíbrio hidrofílico/hidrofóbico e propriedades mecânicas adequados para a aplicação. Como a polimerização do HEMA foi realizada na presença de agentes reticulantes, água e outros solventes, em vez de polímeros frágeis, eles obtiveram um gel macio, inchado em água, elástico e transparente. Esta descoberta incitou novamente as pesquisas com o poliHEMA e a busca por inovações no campo dos hidrogéis para utilização destes materiais nas mais variadas aplicações (KOPEČEK, 2009; WICHTERLE; LÍM, 1960).

Pesquisas sobre o desenvolvimento de hidrogéis com características específicas para diferentes aplicações médicas iniciaram juntamente com os trabalhos focados na produção de lentes de contato gelatinosas. Cabe ressaltar que as lentes de contato gelatinosas caracterizaram a primeira aplicação clínica dos hidrogéis e foram licenciadas para a empresa Bausch & Lomb em 1966, que iniciou seu comércio nos Estados Unidos nessa época. Em meados da década de 1970, filmes poliméricos foram utilizados no desenvolvimento de curativos sintéticos. Em 1978, vários materiais poliméricos à base de quitina, dentre eles hidrogéis, foram utilizados como os primeiros curativos para ferimentos, devido à sua atraente atividade biológica, o que confirmou que os polímeros são bons candidatos para o desenvolvimento de curativos (ÅGREN, 2016; BALASSA; PRUDDEN, 1978).

A partir destas descobertas, novas pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de hidrogéis para aplicações biomédicas foram realizadas, aumentando a variedade de formulações destes materiais e permitindo o aprimoramento dos mesmos ao longo do tempo. Isso acarretou a ampliação das possibilidades de utilização dos hidrogéis em diversas aplicações, tais como engenharia de tecidos, liberação de fármacos, medicina regenerativa e curativos para cicatrização de ferimentos (ÅGREN, 2016; TANG et al., 2022).

2.2 HIDROGÉIS

Os hidrogéis são uma classe de materiais formados por redes poliméricas tridimensionais formadas pelas ligações cruzadas resultantes do processo de reticulação, química ou física, entre as cadeias de polímeros sintéticos e/ou naturais. As redes poliméricas da estrutura dos hidrogéis podem conter elevado teor de umidade, por isso, a principal característica dos hidrogéis é a afinidade com a água, o que os torna capazes de absorver grandes quantidades de água ou fluidos aquosos (de 10 a 1000 vezes em relação a sua massa ou volume original).

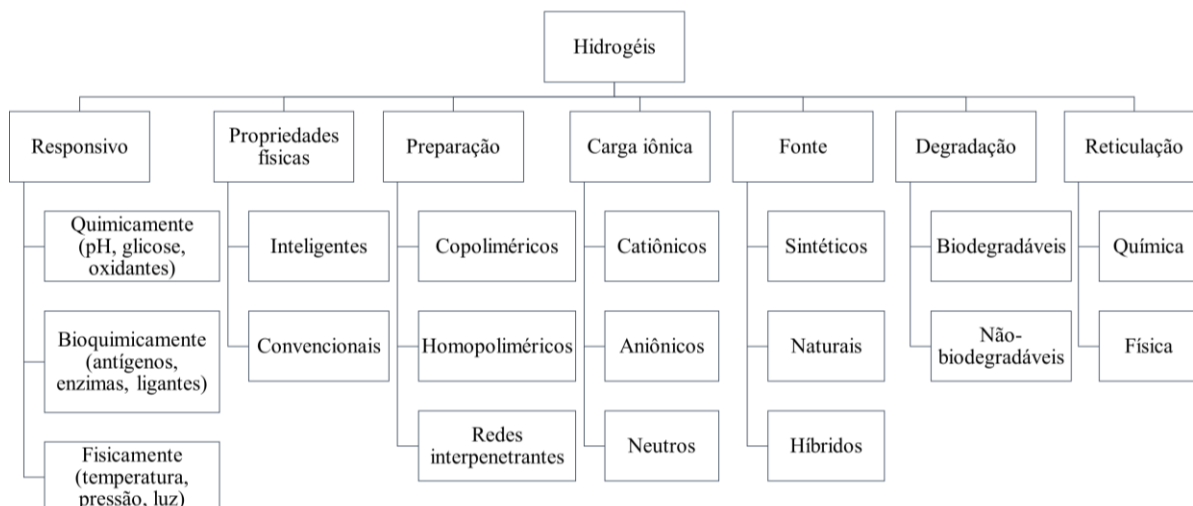
Os hidrogéis são considerados materiais solúveis em água, no entanto, conseguem manter sua forma e suportam uma elevada absorção de fluidos. A capacidade de absorção de água dos hidrogéis está relacionada à presença de grupos hidrofílicos nas moléculas, enquanto a resistência à dissolução se deve às ligações ou interações entre as cadeias poliméricas, resultantes dos processos de reticulação. A concentração de água nos hidrogéis pode afetar a sua energia livre interfacial e sua biocompatibilidade e, devido à capacidade de reter elevadas quantidades de água, em geral os hidrogéis possuem propriedades mecânicas, principalmente resistência à tração, consideradas fracas em relação a outros tipos de filmes poliméricos (AHMED, 2015; FAROOQ et al., 2022; TANG et al., 2022; ULLAH et al., 2015).

Os hidrogéis podem ser preparados a partir de polímeros sintéticos ou de polímeros naturais. Os hidrogéis poliméricos sintéticos são formados por reações químicas de pequenos monômeros orgânicos. Essas reações, em geral, resultam em ligações covalentes que conferem melhor resistência e estabilidade ao hidrogel. Embora os polímeros sintéticos promovam forte absorção de água e boas propriedades mecânicas, a potencial toxicidade e a falta de biodegradabilidade encontradas em alguns polímeros sintéticos têm limitado a aplicação destes para a produção de hidrogéis. Por outro lado, os polímeros naturais, principalmente à base de proteínas, possuem diferentes estruturas de codificação genética, o que confere a eles biocompatibilidade e biodegradabilidade. Nesse contexto, pode ser interessante a preparação de hidrogéis híbridos, ou seja, aqueles que combinam as propriedades de polímeros sintéticos e de polímeros naturais (AHMED, 2015; KODAVATY, 2022; TANG et al., 2022).

Os hidrogéis podem ser classificados de diversas formas, conforme Figura 2.1. Essa classificação contempla principalmente sua fonte, forma de reticulação e composição polimérica, mas pode se referir também à configuração da estrutura (amorfo, semicristalino ou cristalino), aparência física (matrizes, filmes, microesferas, etc.) e, dependendo do tipo de

processamento utilizado para sua produção, os hidrogéis ainda podem ser densos, microporosos ou macroporosos (AHMED, 2015; BHAT, 2002; KOPEČEK, 2009).

Figura 2.1 – Classificação dos hidrogéis conforme suas diferentes propriedades.



Fonte: adaptado de Ullah et al. (2015).

Em geral, o que define as propriedades de um hidrogel é o equilíbrio entre os grupos hidrofílicos e hidrofóbicos das cadeias de polímero e a densidade de ligações cruzadas. Por exemplo, para a propriedade de intumescimento, quanto maior o número de grupos hidrofílicos, maior será a capacidade de retenção de água, enquanto um aumento na densidade de reticulação provoca uma diminuição na flexibilidade das cadeias, que ficam mais rígidas, se expandem menos e retêm menos água (PAL; BANTHIA; MAJUMDAR, 2009).

Devido à afinidade com fluidos aquosos e à capacidade de absorver grandes volumes de líquidos em condições fisiológicas¹, os hidrogéis são capazes de reter os fluidos biológicos e esta propriedade faz com que eles sejam biocompatíveis e permitam a difusão de nutrientes entre o hidrogel e a matriz extracelular. Além disso, os hidrogéis possuem uma consistência e flexibilidade semelhantes aos tecidos vivos e propriedades como funcionalidade, reversibilidade, biocompatibilidade, sensibilidade a sistemas biológicos, flexibilidade, capacidade de intumescimento e capacidade de esterilização. Essas propriedades satisfazem os requisitos materiais e biológicos para tratar ou substituir tecidos e órgãos lesionados e interagir com o sistema biológico, tornando os hidrogéis adequados para utilização em diversas aplicações biomédicas (KAMOUN; KENAWY; CHEN, 2017; ULLAH et al., 2015).

¹Condições do processo que envolvem as múltiplas funções bioquímicas, físicas e mecânicas nos seres vivos.

Em decorrência disso, os hidrogéis são comumente utilizados para a produção de *scaffolds* em engenharia de tecidos, hidrogéis sensíveis e responsíveis a condições fisiológicas do corpo humano, sistemas de liberação controlada de fármacos, biossensores, lentes de contato, fraldas e absorventes descartáveis, curativos, dentre outros (COMOTTO et al., 2019; GUPTA; AGARWAL; ALAM, 2010).

2.1.1 Processos de reticulação de hidrogéis

Com base na natureza da reticulação, os hidrogéis podem ser divididos em duas categorias: hidrogéis físicos e hidrogéis químicos. A principal diferença entre os hidrogéis obtidos por cada um desses métodos é que as redes físicas são provenientes de interações intermoleculares reversíveis, que se originam de emaranhados de cadeias poliméricas ou interações físicas, como interações iônicas ou eletrostáticas, ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas ou hidrofílicas e cristalização, por exemplo. Neste caso, as interações que ocorrem entre as cadeias são fracas e, por isso, alterações físicas no sistema podem ser suficientes para rompê-las. Dessa forma, os hidrogéis físicos também podem ser chamados de hidrogéis temporários ou reversíveis (AHMED, 2015; HU et al., 2019; SINGH; DHYANI; JUYAL, 2017; ULLAH et al., 2015).

Por outro lado, nos hidrogéis químicos, as cadeias são quimicamente reticuladas e passam a apresentar interações fortes e persistentes, sendo formadas basicamente por ligações covalentes. Normalmente, a reticulação química ocorre na presença de algum agente reticulante. Dentre as formas de reticulação química mais utilizadas estão a reticulação por polimerização de radicais, a reticulação por reação química de grupos complementares (utilizando aldeídos, reações de adição ou reações de condensação) e a reticulação enzimática (GULREZ; AL-ASSAF; PHILLIPS, 2011; ULLAH et al., 2015).

A principal vantagem da reticulação física é a segurança biomédica devido à ausência de agentes de reticulação, evitando assim a citotoxicidade potencial dos resquícios de reticulantes químicos não reagidos, que são de difícil remoção após a produção do material. Além disso, os polímeros naturais à base de proteínas são substâncias inerentemente biocompatíveis, de modo que os hidrogéis compostos por proteínas e polímeros sintéticos formados por reticulação física preservam a biocompatibilidade das proteínas (HU et al., 2019; TANG et al., 2022).

Dentre os métodos de reticulação física, destaca-se a reticulação por radiação (por meio de feixes de elétrons, raios gama ou ultravioleta), que é considerada uma abordagem eficaz

em virtude de sua praticidade, da possibilidade de realização da esterilização do material simultaneamente à reticulação e por não requerer a presença de agentes de reticulação (HU et al., 2019; NGUYEN; LIU, 2013; SAINI, 2017).

Os métodos de radiação utilizados para preparação de hidrogéis são relativamente simples e o grau de reticulação do hidrogel produzido pode ser controlado pela variação da dose de radiação aplicada. A radiação ultravioleta (UV) forma ligações entre os núcleos de resíduos aromáticos, como os de tirosina e fenilalanina, sendo propícia para reticulação de cadeias polipeptídicas das proteínas (DAVIDENKO et al., 2016; LEW; LIU; ORGILL, 2007). Além disso, a reticulação por luz ultravioleta não necessita da adição de produtos químicos tóxicos, é de fácil execução e operação e é ecologicamente correta.

Outra vantagem da reticulação por UV é seu efeito esterilizante, pois a luz UV pode eliminar microrganismos destruindo seus ácidos nucleicos e levando à ruptura de seu DNA. Dessa forma, não se faz necessária uma etapa posterior de esterilização do material produzido (DAVIDENKO et al., 2016; MAKUUCHI, 2010; SIONKOWSKA et al., 2004). Devido a essas vantagens, a luz ultravioleta tem sido utilizada como ferramenta de reticulação para obtenção de materiais aplicáveis para fins biomédicos (BAE et al., 2014; SHETH et al., 2017; TOMADONI et al., 2019).

2.2 CURATIVOS

Curativos para feridas podem ser divididos em várias categorias genéricas. De forma abrangente, podem ser classificados como passivos, interativos ou ativos, com base na sua natureza de ação. Os curativos tradicionais, como compressas de gaze, por exemplo, representam o maior segmento do mercado e são produtos passivos, utilizados para absorção de exsudato das feridas e apenas cobrem o ferimento, não auxiliam no seu processo de cicatrização. Os curativos interativos contribuem para a cicatrização restringindo a passagem de bactérias e permitindo a passagem de oxigênio e vapor de água. Estes são recomendados, principalmente, para feridas com baixa exsudação e compreendem, sobretudo, os filmes poliméricos. Os curativos ativos são os que possuem substâncias ativas em sua composição, como antibióticos, anti-inflamatórios, agentes antimicrobianos, dentre outros que podem contribuir para o processo de cicatrização do ferimento. O auxílio no processo de cicatrização também pode ser devido às características do material a partir do qual o curativo é produzido.

Neste caso é recomendada a utilização de materiais endógenos², como proteoglicanos, colágeno, proteínas, alginatos ou quitosana (PAUL; SHARMA, 2004; ROMANO et al., 2015).

Existem outras classificações que distinguem as categorias de curativos de forma mais detalhada, conforme pode-se observar nos itens listados a seguir.

- a) Curativos básicos de contato com a ferida:
 - i. curativo absorvente/superabsorvente – o objetivo principal desses curativos é absorver o exsudato, sendo utilizado principalmente em ferimentos com altos níveis de exsudação;
 - ii. curativos de baixa aderência – são utilizados para evitar trauma na remoção; podem fornecer certo grau de absorção de exsudatos, mas servem basicamente para cobrir o ferimento.
- b) Curativos avançados:
 - i. alginatos – esses curativos são derivados de algas marinhas, alguns contêm cálcio e são classificados como hemostáticos; esses curativos são indicados para ferimentos com níveis moderados a elevados de exsudação, pois sua finalidade é absorver o exsudato;
 - ii. curativos de ação capilar - são curativos de baixa aderência com a capacidade de absorver o exsudato em uma camada absorvente central. A estrutura de três camadas fornece uma ação capilar rápida, de modo que a ferida precisa ser monitorada cuidadosamente para garantir que não seque demasiadamente. Eles podem ser usados para a maioria das feridas onde o controle da drenagem é o objetivo principal;
 - iii. filmes – são curativos transparentes, semipermeáveis, com ou sem região absorvente, podem conter uma borda adesiva que promove a aderência na pele. Esses curativos são utilizados para a cicatrização de feridas pós-operatórias, pois facilitam o monitoramento da ferida;
 - iv. espumas – são indicadas principalmente para o controlar os exsudatos. Podem conter uma borda adesiva, fazendo com que não seja necessário o uso de um curativo secundário para fixação;

² Materiais que têm origem, se desenvolvem ou se reproduzem a partir do tecido interno de um órgão ou organismo.

- v. hidrocoloides – esses curativos contêm carboximetilcelulose (CMC) e são indicados para facilitar o desbridamento³ do ferimento. A flexibilidade e a disponibilidade em diversos tamanhos e espessuras fazem com que esses curativos sejam úteis para áreas difíceis, como joelhos, calcanhares e cotovelos;
- vi. hidrogéis – são produzidos a partir de polímeros hidrofílicos ou outros materiais em combinação com água. Destinam-se a cobrir ferimentos, absorver exsudados, controlar o sangramento ou perda de fluido, e proteger contra abrasão, atrito, dessecação e contaminação. Podem ser encontrados na forma de géis e de filmes de hidrogel e devem ser fixados com o auxílio de um curativo secundário. Esses curativos podem absorver e/ou doar umidade, portanto a escolha de qual hidrogel usar deve ser baseada nos níveis de exsudato do ferimento. Evidências sugerem que os hidrogéis podem ajudar a controlar a dor local da ferida (HOLLOWAY; HARDING, 2022).

Alguns desses curativos, tais como filmes, espumas e hidrogéis podem apresentar em sua composição compostos à base de prata, antibióticos ou outros componentes cujo objetivo é conferir ação antibacteriana a esses materiais. Particularmente, os hidrogéis compõem uma classe importante de curativos, pois contemplam diversas características que não são fornecidas pelos demais. Além disso, alguns estudos realizados *in vitro* e *in vivo* comprovam a melhoria da cicatrização ao utilizar hidrogéis no tratamento de ferimentos (WATHONI et al., 2016; WU et al., 2017; YAO et al., 2017). Os curativos de hidrogéis serão apresentados mais detalhadamente a seguir, uma vez que são os curativos de interesse deste trabalho.

2.2.1 Curativos de hidrogéis

O desenvolvimento de curativos mais tecnológicos e eficientes para utilização no tratamento de ferimentos é um tópico frequentemente abordado na pesquisa e na indústria farmacêutica, além disso, o desenvolvimento de novos curativos é um mercado em constante expansão. Os diversos tipos de curativos disponíveis atualmente não atendem totalmente às condições para uma cicatrização bem-sucedida. Nesse contexto, os hidrogéis representam uma boa alternativa para o tratamento de determinados tipos de ferimentos, pois sua formulação ou

³ Remoção de material necrótico, tecido desvitalizado, crostas, tecido infectado, corpos estranhos, microorganismos ou qualquer outro tipo de carga biológica de uma ferida com o objetivo de promover a cicatrização da mesma.

processo de produção podem ser adaptados, de forma a fazer com que o produto possua as propriedades desejadas para uma aplicação específica como curativo.

Para que os curativos de hidrogéis possam auxiliar na cicatrização de ferimentos, existem alguns requisitos que devem ser contemplados e que estão diretamente relacionados às suas propriedades. Basicamente, ele deve ser biocompatível, manter a hidratação do ferimento, permitir a troca gasosa entre o ferimento e o ambiente, absorver os excesso de exsudatos, apresentar flexibilidade e boa resistência mecânica, proteger o ferimento contra novas lesões e ação de microrganismos, ser atóxico e não alergênico (ÅGREN, 2016; LU et al., 2010; SAVENCU et al., 2021).

A biocompatibilidade garante que reações teciduais adversas não aumentarão a lesão tecidual. Nos hidrogéis, essa propriedade se deve à sua semelhança com o tecido vivo natural, principalmente em se tratando do elevado teor de água, textura e consistência, minimizando a irritação mecânica (por fricção) nas células e tecidos circundantes (ZHAO; JALILI, 2022). Além disso, é recomendado que os materiais a partir dos quais o curativo de hidrogel é produzido sejam atóxicos e, preferencialmente, não devem liberar compostos, íons ou monômeros quando em contato com o ferimento, pois estes podem apresentar toxicidade.

Outro fator importante é que o ambiente seja mantido úmido na região do ferimento, pois a umidade auxilia na manutenção da atividade celular, na separação do tecido necrosado, na formação do tecido de granulação⁴ e facilita a re-epitelização (ÅGREN, 1998). No entanto, os exsudatos da ferida contêm várias citocinas pró-inflamatórias que podem contribuir para as reações inflamatórias e os danos nos tecidos. Dessa forma, a capacidade de absorção de exsudatos pelo curativo é de extrema importância e um curativo de hidrogel deve ser capaz de fornecer um ambiente com umidade ideal para a cicatrização de feridas, absorvendo rapidamente o excesso de exsudato e, ao mesmo tempo, evitando que a ferida sofra desidratação (LU et al., 2010; MOEINI et al., 2020).

A capacidade de intumescimento está relacionada à quantidade de fluidos aquosos que o hidrogel pode absorver. O comportamento de intumescimento dos hidrogéis pode ser afetado por inúmeros fatores, incluindo o grau de hidratação natural das matérias-primas utilizadas, o tipo e a densidade de reticulação da rede do hidrogel, a temperatura e o pH (NGUYEN; LIU, 2013). Em geral, recomenda-se uma capacidade de intumescimento moderada (em torno de

⁴ O tecido de granulação é o tecido fibroso, constituído por vasos capilares sanguíneos neoformados, tecido conjuntivo e leucócitos, que se forma durante o processo de cicatrização de um ferimento e possui aparência rosada e granular.

200 %) para os curativos, o que proporcionará a absorção dos exsudatos e ao mesmo tempo, manterá o ambiente úmido (SHOJAE et al., 2015).

Outro fator que contribui para que o curativo de hidrogel proporcione um ambiente úmido e uma temperatura adequada para o ferimento, é taxa de transmissão de vapor de água. Essa característica pode contribuir para a redução da temperatura do ferimento, auxiliando no controle do processo inflamatório e proporcionando um efeito de resfriamento da pele quando em contato com o hidrogel, o que pode contribuir para a analgesia e maior conforto do paciente durante o tratamento (COATS et al., 2002; LUGAO; MALMONGE, 2001). A capacidade de troca gasosa dos curativos é crucial para a respiração do ferimento e prevenção da maceração⁵. A transmissão de vapor de água pode, também, melhorar a cicatrização do ferimento por meio do controle da taxa de água evaporada. Por outro lado, a baixa troca gasosa através do curativo pode estabelecer condições anaeróbicas para infecções bacterianas (GRAÇA et al., 2020; ZHAO; JALILI, 2022).

Sabe-se que o fluxo de transmissão de vapor de água para a pele em condições normais é de $204 \text{ g d}^{-1} \text{ m}^{-2}$, enquanto que para a pele lesada pode variar de $279 \text{ g d}^{-1} \text{ m}^{-2}$ para uma queimadura de primeiro grau a $5138 \text{ g d}^{-1} \text{ m}^{-2}$ para uma ferida em fase de granulação. Um curativo deve evitar tanto a desidratação excessiva quanto o acúmulo de exsudato e, para isso, é recomendado um fluxo de transmissão de vapor de água em torno de $2000 \text{ g d}^{-1} \text{ m}^{-2}$ (MI et al., 2001; WU et al., 2004).

Observou-se, também, que a utilização dos hidrogéis como curativos para o tratamento de ferimentos pode resultar em uma redução na resposta do paciente à dor. Isto ocorre devido ao toque da superfície macia do curativo com as terminações nervosas expostas no ferimento (LUGAO; MALMONGE, 2001). Os curativos de hidrogéis possuem propriedades que podem auxiliar na remoção indolor do curativo da área do ferimento, sem danificar a pele recém-formada (SHEZAD et al., 2010).

Assim, as propriedades mecânicas dos hidrogéis são importantes requisitos para aplicação dos mesmos como curativos, pois eles devem apresentar elasticidade e flexibilidade adequadas para se adaptar às feridas localizadas em diferentes partes do corpo e, ao ser estirado, não deve rasgar facilmente, facilitando o manuseio e a remoção. Além disso, os hidrogéis, não devem aderir demasiadamente à ferida, pois a aderência pode causar desconforto ao paciente. (FAN et al., 2016; MADAGHIELE et al., 2014). A resistência à tração do biomaterial ideal para tratamento de feridas deve corresponder à da pele nativa para evitar descolamento e quebra

⁵ A maceração ocorre quando há acúmulo de umidade entre a ferida e o curativo, deixando a ferida esbranquiçada e retardando a cicatrização.

ao longo da cicatrização. Foi demonstrado que a resistência à tração ideal de um curativo deve estar na faixa de 0,7 a 18 MP (ZHAO, JALILI 2022).

Apesar de alguns curativos possuírem bioatividade inerente aos componentes de sua formulação, o potencial cicatrizante dos mesmos pode ser melhorado por meio da incorporação de agentes ativos. Com base na fisiopatologia da ferida, os curativos podem fornecer agentes específicos no leito da ferida. A adição de antibióticos, anti-inflamatórios, outros medicamentos ou agentes antimicrobianos permite o tratamento local do ferimento e dificulta a contaminação bacteriana do mesmo. Ainda, este tipo de curativo deve ser permeável ao oxigênio e ao vapor de água, mas impermeável a bactérias (GRAÇA et al., 2021; KAMOUN et al., 2015; ROMANO et al., 2015; ZHAO; JALILI, 2022).

É importante que os curativos que liberam agentes ativos sejam capazes de preservar a bioatividade do agente liberado e realizar uma liberação sustentada do mesmo. Deve haver um equilíbrio entre as propriedades do hidrogel, pois o comportamento de intumescimento do curativo pode afetar a liberação do aditivo, sendo que uma alta taxa de intumescimento normalmente resulta em uma liberação rápida do componente. No entanto, deve-se notar que os curativos utilizados para o tratamento de ferimentos geralmente são substituídos diariamente, portanto, a liberação sustentada do agente ativo ao longo de 24 horas seria suficiente (GRAÇA et al., 2020).

Os hidrogéis apresentam características intrínsecas e suas propriedades físicas, químicas e biológicas podem ser ajustadas de forma a obter este material com as especificações necessárias para o tratamento de determinados tipos de ferida. No entanto, as propriedades ótimas dos hidrogéis e sua combinação com outras moléculas e células ainda não foram completamente estudadas. Considerando a variação entre os tipos de feridas e a condição de cada paciente, possivelmente nenhuma combinação única será adequada para a cicatrização de todos os tipos de feridas e a regeneração de todos os tipos de pele (ÅGREN, 2016). Além disso, dificilmente um único material fornecerá todos os requisitos para melhorar a cicatrização em todas as etapas do processo (SHOJAEE et al., 2015), assim, os curativos de hidrogéis podem ser produzidos combinando diferentes materiais com o objetivo de se aproximar cada vez mais das características de um curativo mais eficiente.

2.2.2 Curativos de hidrogéis comerciais

A pesquisa de hidrogéis para curativos cutâneos está avançando com o objetivo de desenvolver novos materiais com elevado interesse comercial que se aproximem cada vez mais

das características de um curativo adequado para auxiliar na cicatrização e não apenas cobrir o ferimento. O curativo *Geliperm*, produzido e comercializado pela *Geistlich Sons Ltd.*, foi o primeiro curativo de hidrogel produzido que se aproximou das características desejáveis e adequadas para curativos (GUPTA; AGARWAL; ALAM, 2010). Comercialmente existe uma grande variedade de curativos de hidrogéis disponível sob diferentes formas, como filmes, géis, curativos passivos fibrosos impregnados com hidrogel, dentre outras. Esses curativos podem ser utilizados para o tratamento de queimaduras de até segundo grau e outras feridas cutâneas com baixa exsudação, além de serem indicados para o desbridamento de feridas com tecido necrótico ou desvitalizado. Alguns dos curativos de hidrogéis encontrados comercialmente estão apresentados no Quadro 2.1. Primeiramente fez-se uma busca na internet a respeito dos curativos comerciais disponíveis. Partindo dessa listagem, realizou-se uma pesquisa no site de cada um dos fabricantes para obter mais informações sobre o curativo em questão e verificar se o mesmo se classificava como curativo de hidrogel para compor o quadro.

Para determinados tipos de curativos, pode ser necessário que ele seja estruturado em algum outro material, sendo a compressa de gaze, composta de algodão, o material mais comumente utilizado. No entanto, existem alguns materiais alternativos mais recentes e tecnologicamente avançados para substituir a gaze, como espumas, hidrogéis e alguns polímeros. Os hidrogéis possuem características únicas, tais como hidrofiliabilidade, biocompatibilidade, permeabilidade ao vapor de água e metabólitos e capacidade de modificar a taxa de liberação do agente ativo, por meio do controle do intumescimento, por exemplo, o que os torna materiais de elevado interesse para atuar como curativos ativos, carregando moléculas bioativas ou medicamentos. Além disso, quando utilizados como curativos, eles podem absorver o exsudato liberado pelo ferimento, ao mesmo tempo em que permitem o acesso de oxigênio ao local da ferida, acelerando a cicatrização (CASCONI; LAMBERTI, 2020; HESS, 2012; LU et al., 2010).

Alguns dos curativos comercialmente produzidos apresentam em sua composição aditivos que os tornam curativos ativos. Esses curativos podem realizar a liberação de fármacos ou agentes antimicrobianos no ferimento, mas esses produtos variam consideravelmente em termos de tecnologia, teor de agente antimicrobiano/fármaco, padrões de liberação e recomendações para aplicação clínica. Em alguns casos, os fluidos liberados pelo ferimento desencadeiam a liberação do agente antimicrobiano/fármaco para ação antimicrobiana ou para absorção no tecido da ferida, mas o ideal é que essa liberação seja mantida durante o período de vida esperado para o curativo (CASCONI; LAMBERTI, 2020; GRAÇA et al., 2020).

Quadro 2.1 – Alguns curativos de hidrogéis comercialmente disponíveis, com indicação do nome comercial, fabricante, forma do curativo, principais constituintes e a presença de aditivos.

Nome do curativo	Fabricante	Forma	Principais Constituintes	Principais Aditivos
NU-GEL	3M	Gel	Alginato de sódio	-
Tegaderm	3M	Gel, espuma ou filme	Propilenoglicol	Sulfato de prata
Amerigel	AMERX Health Care	Gel	Polietilenoglicol	Extrato de carvalho
Cutimed® Gel	Bsn Medical GmbH	Gel	Carbômero*	-
CarraGauze	Carrington	Filme	Carbômero	-
Carrasyn V	Carrington	Gel	Carbômero e polivinilpirrolidona	-
Woun'Dres	Coloplast	Gel	Carbômero	-
DuoDERM	Convatec	Gel	Carboximetilcelulose e pectina	-
Kaltostat	Convatec	Gel ou filme	Alginato de cálcio	-
Saf-Gel	Convatec	Gel	Carboximetilcelulose	-
AquaFlo	Covidien Kendall	Filme	Polietilenoglicol	-
Curafil	Covidien Kendall	Gel ou gaze saturada	Carbômero	-
Aquaderm	DermaRite Industries	Filme	Polietilenoglicol	-
DermaGran	Derma Sciences	Gel ou filme	Propilenoglicol	Óxido de zinco
Medihoney®	Derma Sciences	Gel ou filme	Alginatos	Mel
Geliperm	Geistlich Sons Ltd	Gel ou filme	Poliacrilamida e agarose	-
Gentell Hydrogel Ag	Gentell Corp.	Gel ou gaze saturada	Carbômero e propilenoglicol	Sulfadiazina de prata
Ca-Alginate Ag	Gentell Corp.	Fibra estruturada em alginato	Alginato de cálcio	Sulfadiazina de prata
Hydrosorb	Hartmann	Filme	Carboximetilcelulose	-
Restore	Hollister	Gel	Polietilenoglicol	Óleo essencial de lavanda
Nu-Gel	Let's Heal	Gel	Propilenoglicol	-
Skintegrity	Medline	Gel	Poli(ácido acrílico)	-
DermaPlex Gel	MPM Medical Inc.	Gel	Carbômero	Ác. hialurônico e óleo de oliva
Regenecare HA	MPM Medical Inc.	Gel	Carbômero	Lidocaína
FlexiGel	Smith&Nephew	Filme ou fios	Poliacrilamida	-
SoloSite	Smith&Nephew	Gel	Carboximetilcelulose	-
Sofargel	Sofar	Gel	Carbopol 974P	-

* Carbômeros: polímeros derivados do ácido acrílico.

Os curativos antimicrobianos se caracterizam por serem produtos que fornecem tratamentos tópicos para feridas, portanto eles devem, preferencialmente, incluir em sua composição compostos que possam agir como antimicrobianos. Desta forma, além de auxiliar na cicatrização dos ferimentos, os curativos ativos impedem que os microrganismos existentes na pele humana atuem como patógenos ao entrar em contato com a ferida (GRAÇA et al., 2021; HESS, 2012; ZHAO; JALILI, 2022).

Em decorrência disso, torna-se interessante que os curativos de hidrogéis apresentem aditivos, sejam eles fármacos ou agentes antimicrobianos, com o intuito de fornecer tratamento diretamente no local do ferimento, contribuir com a cicatrização e reduzir a possibilidade de infecção. Observa-se que diversos curativos comerciais de hidrogéis estão sendo produzidos a partir de misturas de polímeros e incluindo algum tipo de aditivo, isto aumenta as possibilidades de pesquisa e desenvolvimento de novos hidrogéis a partir de materiais e aditivos diversos, na busca de adequar cada vez mais os curativos produzidos aos requisitos necessários para o tratamento dos mais variados tipos de ferimentos.

2.3 POLÍMEROS UTILIZADOS NA PRODUÇÃO DE HIDOGÉIS

Hidrogéis para curativos podem ser produzidos a partir de diversos polímeros precursores. A carboximetilcelulose, a pectina, a agarose e os alginatos figuram entre os biopolímeros comercialmente utilizados para produção de curativos de hidrogéis. Porém, observa-se que os polímeros mais comumente utilizados são aqueles derivados do ácido acrílico (carbômeros) e em sua maioria são utilizados polímeros sintéticos. No entanto, há um crescente interesse na utilização de biopolímeros, principalmente devido à sua origem de fontes renováveis e também porque eles apresentam maior biocompatibilidade e geralmente são mais facilmente biodegradados do que os polímeros sintéticos (SAVENCU et al., 2021).

Essa constatação pode ser observada também na literatura. Diversos autores têm produzido hidrogéis para aplicações biomédicas, principalmente como curativos, à base de biopolímeros como gelatina, alginatos de sódio e de cálcio, gomas (por exemplo, xantana e goma arábica), quitosana, xiloglucano, sericina, ágar e dextrana (AJOVALASIT et al., 2018; AZAM; AMIN, 2018; SINGH; KUMAR; SINGH, 2018; TYEB et al., 2018; UBAID; MURTAZA, 2018; ZHAO; JALILI, 2022).

No entanto, é comum a adição de polímeros sintéticos à formulação dos hidrogéis. Polímeros sintéticos geralmente apresentam melhores propriedades mecânicas que os

biopolímeros, mas sua aderência, absorção e permeabilidade são baixas. Sendo assim, combinações de polímeros sintéticos e naturais têm sido amplamente utilizadas para melhorar a estabilidade e as propriedades mecânicas e prolongar o tempo de degradação, ajustando as principais características do curativo, como permeabilidade ao vapor de água e ao oxigênio e a biocompatibilidade (PAL; BANTHIA; MAJUMDAR, 2007; SAVENCU et al., 2021).

A produção de hidrogéis à base de gelatina e poli(álcool vinílico) utilizados separadamente ou ainda em combinação com outros materiais é bem difundida na literatura (BOSTANCI et al., 2022; DUBRUEL et al., 2007; GAO et al., 2018; MASSARELLI et al., 2021; RACHEVA et al., 2013; SHAMLOO et al., 2021; TAVAKOLI; TANG, 2017; VAN VLIERBERGHE et al., 2007; WANG et al., 2017). Diante do exposto, observa-se que a gelatina e o PVA podem ser combinados, resultando em uma blenda, de forma a combinar suas propriedades com o objetivo de otimizar as características do material produzido. Esses dois materiais serão apresentados a seguir, uma vez que são de interesse deste trabalho.

2.3.1 Gelatina

A gelatina é um polipeptídeo biodegradável solúvel em água que não ocorre naturalmente. É obtida por processos que envolvem a degradação das estruturas terciária, secundária e parte da estrutura primária do colágeno, principalmente por meio de reações de hidrólise. O colágeno é uma proteína fibrosa, localizada principalmente na pele, tecidos conectivos e ossos de animais, sendo uma das principais funções do colágeno a de manter a integridade dos tecidos conectivos, apresentando papel relevante na pele, ossos, cartilagens, tendões e ligamentos (CABALLERO; FINGLAS; TOLDRÁ, 2016; FERNÁNDEZ-DÍAZ; MONTERO; GÓMEZ-GUILLÉN, 2001; KARIM; BHAT, 2009; MARK, 2013; WANG et al., 2017).

O colágeno encontra-se na forma de fibras, nas quais três cadeias de conformação helicoidal estão enroladas juntas e formam uma tripla-hélice (Figura 2.4). Cada tripla-hélice tem em torno de 300 nm de comprimento e cada cadeia da hélice gira no sentido anti-horário. As triplas-hélices são estabilizadas por ligações de hidrogênio entre as cadeias e formam hastes paralelas alinhadas por ligações covalentes localizadas em suas extremidades (MARIOD; ADAM, 2013; PAPON; LEBLOND; MEIJER, 2006).

A desnaturação do colágeno causa a separação das hastes pela quebra das ligações covalentes e total ou parcial separação das cadeias da hélice pela destruição das ligações de hidrogênio e, assim, o desaparecimento da conformação de tripla-hélice. Por isso, os polímeros

encontram-se na forma de bobina e as gelatinas são misturas de diferentes cadeias polipeptídicas. Normalmente, três tamanhos de cadeia principal (α , β e γ) são identificados em soluções de gelatina; a cadeia α é um monômero, enquanto β e γ correspondem a dímeros e trímeros da cadeia α . Em virtude desta conformação, a massa molar da gelatina pode variar de 90 a 300 kDa (RBII et al., 2011). Em soluções que se encontram a temperaturas maiores do que 30 °C, usualmente as cadeias de gelatina estão na conformação de bobina. Quando a temperatura é reduzida (abaixo de 30 °C) e a concentração de gelatina é superior a 0,5 %, as cadeias mudam sua conformação, formando hélices novamente, o que é chamado de transição helicoidal da bobina. Desta forma, a solução perde suas propriedades líquidas e se torna um gel (PAPON; LEBLOND; MEIJER, 2006).

Figura 2.2 – Estrutura do colágeno.



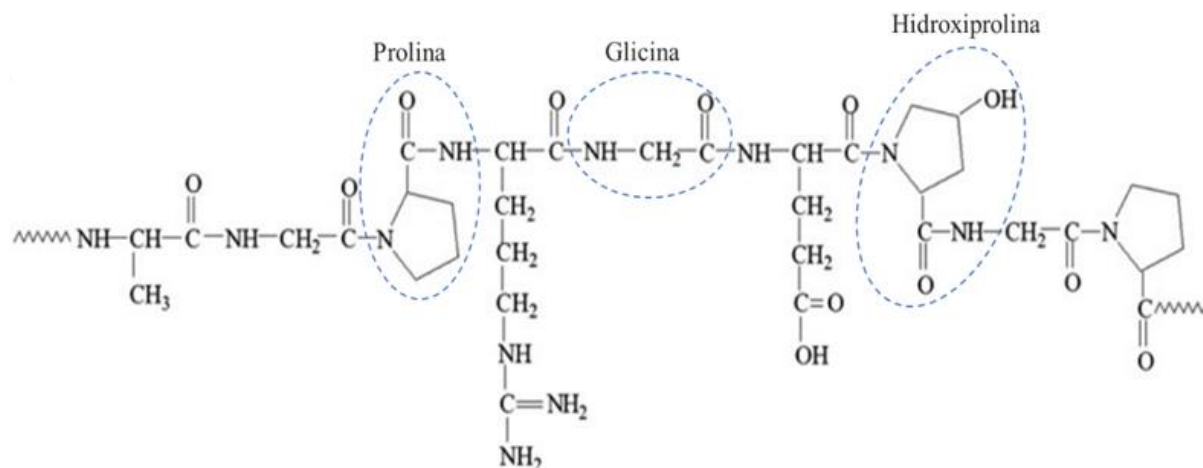
Fonte: Papon, Leblond e Meijer (2006).

Fontes tradicionais de colágeno para a produção de gelatina são a pele suína e o couro bovino. Em geral, a estrutura da gelatina proveniente destas fontes é semelhante à estrutura do colágeno humano, por isso ela tende a apresentar elevada biocompatibilidade. Existem diversos tipos de gelatina que diferem em termos de composição dependendo da fonte do colágeno e dos métodos utilizados para seu processamento. Dependendo do processo de tratamento do colágeno, a gelatina obtida pode ser classificada como tipo A ou tipo B. A gelatina do tipo A é proveniente da hidrólise ácida do colágeno, utilizando ácido clorídrico ou sulfúrico, e é geralmente derivada de peles suína e de peixe; enquanto a gelatina do tipo B é derivada do processamento alcalino do colágeno, normalmente utilizando hidróxido de sódio, e é geralmente derivada de ossos e pele de bovinos (CABALLERO; FINGLAS; TOLDRÁ, 2016; MARK, 2013; MICHAEL LIU; Z HERRICK; PETER MAZIARZ, 2019; RUB et al., 2013; WANG et al., 2017).

A fórmula química básica da gelatina é complexa e depende da sua origem e método de obtenção. No entanto, conforme estrutura apresentada na Figura 2.3, sua cadeia polimérica é constituída basicamente por uma sequência de três monômeros básicos, representados por (Gly-X-Pro) $_n$ e são os aminoácidos majoritários: glicina (Gly \approx 30 %), prolina e hidroxiprolina (Pro \approx 30 %). X representa um dos outros aminoácidos que podem compor a estrutura da gelatina, principalmente lisina, arginina, alanina, metionina e valina, na proporção aproximada

de 6 %. O percentual restante são outros resíduos. No total, o polímero apresenta em torno de 1000 monômeros. Em virtude da diversidade molecular, a gelatina demonstra potencial para formação de diferentes ligações químicas, dependendo da posição, da natureza e da energia aplicada (ELZOGHBY, 2013; MARIOD; ADAM, 2013; MARK, 2013; PAPON; LEBLOND; MEIJER, 2006).

Figura 2.3 – Estrutura molecular da gelatina.



Fonte: Adaptado de Huang et al. (2013).

A gelatina é uma molécula com caráter anfifílico, isto é, possui grupos de aminoácidos hidrofílicos e hidrofóbicos, e também é um polianfólito que possui grupos catiônicos e aniônicos. A molécula de gelatina possui aproximadamente 11 % da cadeia hidrofóbica, devido a prolina, leucina, isoleucina, metionina e valina, é aproximadamente 13 % carregada positivamente (lisina e arginina) e aproximadamente 12 % carregada negativamente (ácido glutâmico e aspártico). A glicina e a hidroxiprolina, que formam o restante da cadeia possuem caráter hidrofílico (ALMORA-BARRIOS; DE LEEUW, 2010; ELZOGHBY, 2013).

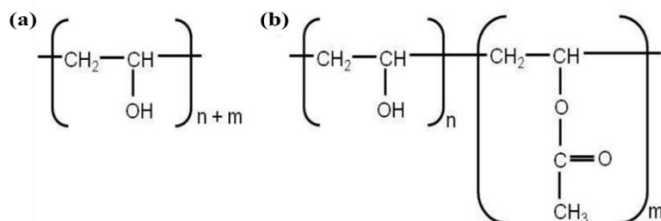
A fonte e as diferenças na composição das gelatinas refletem em suas propriedades e afetam inteiramente o material produzido. Por exemplo, as gelatinas provenientes de bovinos e suínos possuem estruturas polipeptídicas semelhantes às do colágeno dos seres humanos. Por outro lado, as gelatinas derivadas de peixes possuem um número menor de repetições peptídicas (prolina e hidroxiprolina) e, por isso, têm ponto de fusão, temperatura de gelificação e estabilidade térmica menores e são mais viscosas do que as gelatinas derivadas dos mamíferos (KEENAN, 1997; MARIOD; ADAM, 2013; WANG et al., 2017). Essas diferenças entre as cadeias de gelatina ocasionam diferenças na composição dos aminoácidos e na massa molar das gelatinas, levando a diferenças em suas propriedades.

Em geral, as gelatinas são substâncias translúcidas, praticamente incolores, insípidas, inodoras e, normalmente, não alergênicas. A biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa antigenicidade da gelatina em ambientes fisiológicos fazem com que ela seja uma boa opção de material a ser utilizado em engenharia de tecidos, curativos e adesivos cirúrgicos. Além disso, a gelatina apresenta boas propriedades funcionais, baixo custo e abundância e ainda foi considerada um material seguro pela *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos (US FDA). Dentre as principais propriedades da gelatina, destacam-se a gelatinização, a solubilidade, o caráter anfótero, as características reológicas e a capacidade de intumescimento (AHMADY; ABU SAMAH, 2021; CABALLERO; FINGLAS; TOLDRÁ, 2016).

2.3.2 Poli(álcool vinílico) – PVA

O poli(álcool vinílico) é um polímero sintético solúvel em água que tem uma estrutura química relativamente simples, com um grupo hidroxila pendente. Ao contrário de outros membros do grupo vinil, o PVA não é polimerizado a partir de seu monômero por polimerização direta, pois o álcool vinílico é instável e tende a se tautomerizar para a forma de acetaldeído. Por isso, ele é preparado pela polimerização do monômero de acetato de vinila para poli(acetato de vinila) (PVAc), seguida pela hidrólise dos grupos acetato para produzir a cadeia polimérica hidroxilada. O PVAc é um polímero sintético, que quando hidrolisado parcial ou totalmente, é utilizado para produzir poli(álcool vinílico) (Figura 2.4). A hidrólise do poli(acetato de vinila) promove a substituição dos grupos acetato por hidroxilas e o PVA produzido tem o mesmo grau de polimerização que o acetato de polivinila original. Portanto, variando o grau de polimerização do PVAc, o poli(álcool vinílico) produzido pode apresentar propriedades diferentes. A reação de hidrólise não é completa e pode ser controlada para produzir diferentes graus de substituição dos grupos acetato, resultando em polímeros com diferentes graus de hidrólise dependendo da extensão da reação (CHIELLINI et al., 2003; GOODSHIP; JACOBS, 2005).

Figura 2.4 – Estrutura molecular do PVA (a) totalmente hidrolisado e (b) parcialmente hidrolisado.



Fonte: Peresin (2011).

O poli(álcool vinílico) é utilizado em diversas aplicações comerciais e industriais, tais como a fabricação de papel, produtos têxteis e impressão. Outras aplicações do PVA são em áreas de tratamento de águas e efluentes (extração, ultrafiltração, materiais de troca iônica, dentre outros), catálise e processos de separação por membranas, por exemplo. Como produto industrial e comercial, o PVA é valorizado por sua solubilidade e biodegradabilidade, o que contribui para o seu baixo impacto ambiental. Além disso, devido às características do PVA, principalmente a capacidade de formar hidrogéis por meio de reticulação física ou química, não toxicidade, mínima adesão celular e absorção de proteínas, o PVA se destacou como um polímero apropriado para aplicações biomédicas e farmacológicas. Os hidrogéis de PVA são atóxicos, não cancerígenos, demonstram características de adesividade e são facilmente processados. A biossegurança do PVA se dá em decorrência da sua toxicidade oral aguda ser baixa, além disso, o PVA não é um agente mutagênico, é pouco absorvido pelo trato gastrointestinal e não se acumula no organismo em caso de administração oral. Por isso, a *Food and Drug Administration* (FDA) permite que o PVA seja utilizado como aditivo presente em produtos que estão em contato com alimentos (DEMERLIS; SCHONEKER, 2003; RASIA, 2014; SHAMLOO et al., 2021).

O PVA é capaz de simular o tecido natural e tende a ser facilmente aceito pelo corpo humano e, em decorrência dessas características, ele é considerado um excelente biomaterial, sendo amplamente utilizado em engenharia de tecidos. Os hidrogéis de PVA costumam apresentar um elevado grau de intumescimento em água e uma boa elasticidade. Esses hidrogéis têm sido usados para lentes de contato, revestimento de órgãos artificiais e para administração de medicamentos. Recentemente, os hidrogéis inteligentes têm sido usados para produzir dispositivos micro e nanofabricados que buscam desenvolver uma plataforma de funções bem controladas no nível micro e nano. Por exemplo, superfícies de polímero em contato com fluidos biológicos, células ou componentes celulares podem ser adaptadas para proporcionar propriedades de reconhecimento específicas dependendo das aplicações pretendidas. Além de ser largamente utilizado por pesquisadores no desenvolvimento de hidrogéis para aplicação como curativos, outra aplicação recente do PVA está relacionada com o desenvolvimento de materiais biomiméticos para liberação de fármacos (KAMOUN; KENAWY; CHEN, 2017; PATACHIA et al., 2009; SHAMLOO et al., 2021).

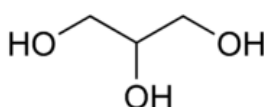
2.4 PLASTIFICANTES

A adição de plastificantes a polímeros ou blendas poliméricas é feita quando eles não são suficientemente dúcteis ou flexíveis para a aplicação em que serão utilizados. Os plastificantes são materiais de baixa massa molar que reduzem as ligações polímero-polímero, formando ligações secundárias com as cadeias de polímero. Dessa forma, os plastificantes modificam as propriedades térmicas, mecânicas e de barreira do material produzido, fornecendo fluidez e possibilitando a diminuição das temperaturas de processamento dos polímeros. Além disso, os plastificantes reduzem as forças intermoleculares ao longo das cadeias poliméricas, aumentando o volume de vazios e os movimentos das cadeias, o que acarreta maior permeabilidade de gases e vapor de água (HAN, 2005; LI et al., 2018).

O glicerol, o polietilenoglicol e o sorbitol são os compostos mais frequentemente utilizados como plastificantes em hidrogéis. Além de melhorar as propriedades de barreira, a adição de plastificantes em hidrogéis possibilita a melhoria das propriedades de adesividade e elasticidade, tornando o hidrogel mais confortável para ser utilizado como curativo (LI et al., 2018; SUN et al., 2018; TYEB et al., 2018).

O glicerol (1, 2, 3-propanotriol) é um composto orgânico de fórmula $C_3H_8O_3$, demonstrado na Figura 2.5. É caracterizado como um álcool, apresentando uma cadeia de três carbonos com um grupo hidroxila ligado a cada carbono. Os três grupos hidroxila fazem com que ele seja completamente solúvel em água e álcoois, levemente solúvel em éter e dioxano, mas insolúvel em hidrocarbonetos. O glicerol é atóxico para o ser humano e para o meio ambiente e é derivado de matérias-primas naturais ou petroquímicas. Fisicamente, é um líquido incolor, inodoro, higroscópico, viscoso e doce. Os pontos de ebulição, fusão e fulgor do glicerol são, respectivamente, 290 °C, 18 °C e 177 °C. Na pressão atmosférica (1 atm), à temperatura de 20 °C ele apresenta massa molar de 92,09 g mol⁻¹, massa específica de 1,261 g cm⁻³ e viscosidade de 1,5 Pa s. A extensa ligação intermolecular do hidrogênio é responsável pela alta viscosidade e alto ponto de ebulição do glicerol. Esse plastificante também apresenta características higroscópicas, sendo capaz de atrair e reter umidade do ar, sem sofrer alterações em sua estrutura (PAGLIARO; ROSSI, 2010; TAN; ABDUL AZIZ; AROUA, 2013).

Figura 2.5 – Estrutura química do glicerol.



Fonte: Han (2005).

O glicerol é um subproduto das reações de saponificação e hidrólise em plantas oleoquímicas e da transesterificação em plantas de biodiesel. Estima-se que 10 kg de glicerol sejam resultantes do processo de produção de 100 kg de biodiesel. Devido ao aumento na produção de biodiesel, grandes volumes de glicerol têm sido produzidos e o seu preço de mercado vêm sofrendo quedas, por isso este composto têm sido utilizado como um produto químico intermediário para a produção de uma vasta gama de produtos, tais como cosméticos, alimentos, produtos farmacêuticos, dentre outros (BAGNATO et al., 2017; TAN; ABDUL AZIZ; AROUA, 2013).

A utilização do glicerol como plastificante na produção de filmes poliméricos é interessante, pois ele pode causar a diminuição da viscosidade do polímero na fusão, o módulo de elasticidade e a temperatura de transição vítrea (T_g). Sabe-se que plastificantes com moléculas relativamente pequenas são mais eficientes para a diminuição da T_g , além disso, as diferenças na propriedade higroscópica dos plastificantes afeta de forma desigual a temperatura de transição vítrea do polímero. Como o glicerol é um composto higroscópico, ele costuma exibir um efeito plastificante superior a outros compostos largamente utilizados, como o sorbitol, por exemplo (HAN, 2005; SOTHORNVIT; KROCHTA, 2005).

2.5 CURATIVOS ATIVOS

O desenvolvimento de curativos que auxiliem no tratamento de determinados tipos de ferimento envolve a adequação das suas propriedades físicas e também a adição de determinados componentes, visando tornar o curativo ativo. Diferentes tipos de compostos podem ser adicionados aos materiais destinados à utilização como curativos para que eles contribuam com o processo de cura do ferimento (KHAN et al., 2021; NAZARNEZHADA et al., 2020).

Alguns medicamentos, como anti-inflamatórios, antibióticos e anestésicos, vêm sendo utilizados como aditivos em curativos, visando realizar o tratamento diretamente no local do ferimento. Por outro lado, existem pesquisas voltadas para a utilização de substâncias mais inovadoras e emergentes como aditivos em curativos. Dentre essas substâncias, podem-se destacar óleos essenciais (e. g. lavanda, orégano, manjeriço, *Zataria multiflora*), mel, *Aloe vera*, açafreão, compostos de prata (e. g. sulfadiazina, sulfato ou nanopartículas), óxidos de zinco, zeólitas carregadas com metais e extratos de plantas, por exemplo (AZAM; AMIN, 2018; GAO et al., 2018; GARCIA-ORUE et al., 2017; HASSAN et al., 2018; JAMRÓZ; JUSZCZAK; KUCHARAK, 2018; KAVOOSI et al., 2017; KHAN et al., 2021; SOFI et al., 2019;

TONGNUANCHAN et al., 2016; WANG et al., 2019). Essas substâncias podem conferir propriedades antibacterianas, antioxidantes e/ou anti-inflamatórias ao curativo, tornando-o ativo e, conseqüentemente, auxiliando no processo de cicatrização do ferimento.

2.5.1 Óleos essenciais como aditivos em curativos ativos

Os óleos essenciais podem ser extraídos de plantas por meio de diversas técnicas de extração, como hidrodestilação, destilação a vapor, extração por Soxhlet, extração com dióxido de carbono supercrítico, micro-ondas e prensagem a frio, por exemplo (ZHU et al., 2020). Os óleos essenciais são compostos por moléculas voláteis resultantes do metabolismo secundário das plantas das quais são extraídos. A composição química de cada óleo essencial depende, dentre outros fatores, do método de extração, da variedade da planta, da parte da planta utilizada na extração e das condições de cultivo (DĂNILĂ et al., 2018; THIELMANN; MURANYI; KAZMAN, 2019).

Os compostos presentes nos óleos essenciais são divididos em três grandes categorias: terpenos e terpenoides, compostos aromáticos e compostos alifáticos. A maior parte dos compostos pertencentes à categoria dos terpenos é derivada de álcoois, fenóis, cetonas, aldeídos e ésteres. Muitos desses compostos são responsáveis pelas atividades biológicas dos óleos essenciais, incluindo propriedades antioxidantes e antimicrobianas de amplo espectro (DĂNILĂ et al., 2018; DHIFI et al., 2016).

A atividade antibacteriana dos óleos essenciais está relacionada com a capacidade dos compostos hidrofóbicos presentes em sua composição de reagirem com os lipídios das membranas das células bacterianas, alterando a permeabilidade da membrana celular e danificando a sua integridade. Por essas razões, os óleos essenciais podem ser utilizados isoladamente ou em combinação com outros compostos para o tratamento de diferentes doenças infecciosas e feridas cutâneas (DĂNILĂ et al., 2018; GUIMARÃES et al., 2019).

Os óleos essenciais de *Lavandula angustifolia* e de *Pinus Sylvestris* apresentam propriedades que os tornam interessantes para atuarem como aditivos em curativos. A utilização do óleo essencial de lavanda tem sido amplamente investigada em cosméticos e preparações farmacêuticas, principalmente em decorrência de sua atividade antimicrobiana e antioxidante (JAMRÓZ; JUSZCZAK; KUCHARZEK, 2018). Por outro lado, o óleo essencial de pinheiro ainda foi pouco explorado, mas possui características e propriedades que sugerem que ele tem potencial para ser utilizado em aplicações biomédicas.

2.5.1.1 Óleo essencial de lavanda

A lavanda é um arbusto da família *Lamiaceae* largamente encontrado no sul da Europa, nos Estados Unidos e na Austrália. O óleo essencial de lavanda é extraído majoritariamente das flores da planta *Lavandula angustifolia*, que tem origem inglesa. Existem outras variedades de lavandas, tais como *L. x intermedia*, *L. stoechas* e *L. x allardii*, que também são nativas do continente europeu, porém são menos conhecidas e utilizadas (MARTUCCI et al., 2015; YUAN et al., 2019).

Desde os tempos antigos, a lavanda vem sendo utilizada como remédio natural e em aromaterapia. O óleo essencial é o produto mais valioso obtido da lavanda e é popularmente utilizado há séculos como medicamento, agente terapêutico ou como aditivo em medicamentos e cosméticos. Durante a Primeira Guerra Mundial este óleo foi largamente utilizado como agente antibacteriano. Sabe-se que o óleo essencial de lavanda, principalmente aquele derivado de *L. angustifolia*, é ativo contra muitas espécies de bactérias, como, por exemplo, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Enterococcus spp.*, e, ainda, possui ação contra bactérias resistentes a antibióticos, sendo a ação antibacteriana sua propriedade mais importante. Atualmente, o óleo essencial de lavanda é comumente utilizado nas indústrias farmacêutica, cosmética, de perfumaria e de alimentos. As atividades antioxidante e antibacteriana do óleo essencial de lavanda propiciam a sua utilização no processamento de produtos alimentícios para protegê-los do ranço oxidativo e da ação de bactérias. Quando adicionado a filmes poliméricos, o óleo essencial de lavanda pode auxiliar na melhoria das propriedades dos filmes formados, além de conferir características de filmes ativos (JAMRÓZ; JUSZCZAK; KUCHARZEK, 2018; MARTUCCI et al., 2015; YUAN et al., 2019). Além disso, o óleo de lavanda também tem sido relatado como um agente antifúngico eficaz contra fungos de importância médica e agrícola. O óleo essencial de lavanda apresentou ainda várias propriedades farmacológicas de interesse, tais como, ação anti-inflamatória, antimutagênica, analgésica e relaxante muscular, o que faz com que esse óleo tenha diversas possibilidades de aplicação (D'AURIA et al., 2005; THIELMANN; MURANYI; KAZMAN, 2019; YUAN et al., 2019).

Efeitos ansiolíticos também têm sido atribuídos ao uso de óleo essencial de lavanda, principalmente em aromaterapia. Alguns estudos demonstram que o óleo essencial de lavanda tem eficácia no alívio de crises de ansiedade causadas por diversos motivos. O efeito ansiolítico da lavanda pode ser atribuído aos sinais de comunicação enviados pelo sistema olfativo, que estimulam o sistema nervoso central a liberar neurotransmissores, como encefalina, serotonina

e endorfinas, e afetando as vias neurotransmissoras (GONG et al., 2020; MOGHADAM et al., 2021).

Os diferentes efeitos que o óleo essencial de lavanda pode apresentar estão diretamente relacionados às características do óleo. A composição do óleo essencial de lavanda depende principalmente das condições climáticas, métodos de extração, local de cultivo, características morfológicas, propagação e genótipo da planta. Supõe-se que as diferenças existentes na composição dos óleos essenciais de lavanda provenientes de diferentes fontes tornam alguns óleos mais eficazes do que outros contra determinadas bactérias. No entanto, foi observado que todos os óleos essenciais de lavanda podem exercer atividade antibacteriana contra algum tipo de bactéria (CAVANAGH; WILKINSON, 2005; THIELMANN; MURANYI; KAZMAN, 2019; YUAN et al., 2019).

Em geral, são utilizados métodos de extração convencionais para a produção do óleo essencial de lavanda, isto é, extração com solventes, destilação à vapor e hidrodestilação. O rendimento da extração, bem como a composição química, atividade antibacteriana e antioxidante do óleo podem ser afetadas pelo método de extração utilizado. A hidrodestilação é o método preferencial, pois exerce menor influência na composição e atividades biológicas do óleo essencial de lavanda (DANH et al., 2012, 2013).

2.5.1.2 Óleo essencial de pinheiro silvestre

O *Pinus* pertence à família Pinaceae e caracteriza-se por pinheiros amarelos. Os pinheiros estão entre as espécies mais valorizadas comercialmente para produção de madeira, porque a madeira do pinheiro é considerada macia e de rápido crescimento. Além disso, os pinheiros crescem em áreas relativamente densas e suas agulhas em decomposição inibem o crescimento de outras plantas concorrentes (CHRISTENSEN et al., 2007).

O *Pinus sylvestris* é um dos precursores do óleo essencial de pinheiro silvestre. O *P. sylvestris* é o mais popular dentre as três espécies originais de pinheiros na Polônia e o único na Grã-Bretanha. Pode ser encontrado na maior parte do norte e leste da Europa, na Nova Zelândia e nas regiões mais frias da América do Norte, sendo apontado como uma espécie invasora em algumas áreas (SINCLAIR; MORMAN; ENNOS, 1999).

O óleo essencial de pinheiro silvestre pode ser obtido pela hidrodestilação de agulhas, galhos e cones dos pinheiros. Este óleo é um líquido incolor ou levemente amarelado, com aroma forte e característico que é conhecido pelo impacto edificante e positivo no humor. Não apresenta toxicidade para organismos vivos e não causa irritabilidade em baixas concentrações.

O óleo essencial de pinheiro possui uma ampla variedade de efeitos terapêuticos, sendo utilizado no tratamento de náuseas e vômitos pós-operatórios. Além disso, possui efeitos analgésico, antibacteriano, antibiótico, anti-infeccioso, anti-inflamatório, antifúngico, calmante e expectorante, auxiliando na abertura dos pulmões e vias aéreas. Ainda, suas propriedades inseticida e desodorizante também são exploradas (CHRISTENSEN et al., 2007; FARRAR; FARRAR, 2020; MITIĆ et al., 2018).

Estima-se que dentre os óleos essenciais de *Pinus*, o óleo proveniente de *P. sylvestris* apresenta o maior efeito antimicrobiano, sendo efetivo contra diversos tipos de bactérias, tais como *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. As diferenças na atividade antibacteriana dos diversos óleos essenciais de *Pinus* se devem, principalmente, às diferentes concentrações de pinenos nos óleos essenciais de cada espécie, contudo os efeitos sinérgicos com outros compostos do óleo não podem ser descartados. Ainda a elevada atividade antibacteriana desse óleo pode ser devida, principalmente, às elevadas concentrações de α - e β -pineno, compostos cujas atividades antibacteriana e antifúngica já são conhecidas (IBÁÑEZ; BLÁZQUEZ, 2019; MITIĆ et al., 2018)

Os efeitos fitotóxicos, antifúngicos e antibacterianos desse óleo essencial variam consideravelmente com a composição química do óleo essencial dependendo de fatores intrínsecos e extrínsecos, como o método de extração, localização geográfica, temperatura e período de secagem e tempo de colheita (IBÁÑEZ; BLÁZQUEZ, 2019).

Até o momento, o óleo essencial de pinheiro silvestre tem sido pouco explorado em aplicações biomédicas. Por outro lado, o óleo essencial de lavanda foi utilizado em diversos estudos desta área e já é comercialmente utilizado nessas aplicações. Levando em consideração as propriedades conhecidas do óleo essencial de pinheiro, ele é uma boa alternativa para ser utilizado em aplicações biomédicas, principalmente devido à sua baixa toxicidade e amplo espectro antibacteriano, o que faz com que seu uso seja inovador e de grande interesse para essa finalidade.

2.7 CONSIDERAÇÕES SOBRE A REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo foi apresentada uma revisão bibliográfica sobre os principais pontos a respeito de hidrogéis, com o intuito de utilização para aplicações biomédicas, principalmente como curativos. Buscou-se abordar, também, o estado da arte em relação aos curativos

comerciais já existentes. Além disso, a fundamentação teórica foi aprofundada acerca dos materiais selecionados para a realização deste trabalho.

Durante a pesquisa, constatou-se a importância de desenvolver curativos que apresentem propriedades que favoreçam o processo de cicatrização do ferimento. Observou-se que a produção de filmes de hidrogel pode reunir características de ambos os materiais (filmes e hidrogéis) que podem ser modificadas conforme a aplicação desejada. Além disso, para o desenvolvimento desses curativos é interessante utilizar materiais de baixo custo, de forma a obter um produto que possua valor acessível aos consumidores. Observou-se que os biopolímeros mais utilizados para o desenvolvimento de hidrogéis para curativos foram a quitosana, a celulose bacteriana, o poli(ácido lático), o poli(álcool vinílico) e a gelatina, bem como suas misturas com outros polímeros. Dentre estes, a gelatina e o PVA se mostraram promissores, por não serem tóxicos e possuírem características favoráveis à formação de filmes. No entanto, observou-se que ainda existem lacunas relacionadas ao desenvolvimento de curativos, principalmente no que se refere à produção de curativos ativos.

Desta forma, alguns aditivos podem ser utilizados na formulação dos curativos com o intuito de torná-los ativos. Dentre os curativos ativos, destacam-se aqueles que apresentam propriedades antibacterianas. Os curativos ativos com agentes antimicrobianos podem impedir que os microrganismos atuem como patógenos ao entrar em contato com o ferimento, o que torna os curativos ativos com agentes antimicrobianos uma importante classe de materiais para aplicações biomédicas. Nos curativos comerciais existentes, constatou-se o uso de aditivos como a sulfadiazina de prata (largamente utilizada para o tratamento de queimaduras), compostos de zinco, extratos (como o de carvalho), óleos de lavanda e de oliva e anestésicos, como a lidocaína, porém não fica claro se estes aditivos são utilizados para fins antimicrobianos. Ademais, verificou-se que o óleo essencial de *Pinus Sylvestris* não é utilizado em curativos comerciais e foi escassamente explorado nos estudos sobre aplicação em curativos, encontrados na literatura. O fato desse óleo ser pouco explorado no desenvolvimento de curativos, e considerando suas propriedades interessantes e intrínsecas, o óleo essencial de pinheiro silvestre foi selecionado como uma alternativa a ser testada para a produção de curativos.

Com base na revisão bibliográfica, para o desenvolvimento desta tese de doutorado, optou-se por utilizar a gelatina em combinação com o PVA, visto que gelatina é um biopolímero biocompatível e o PVA um polímero sintético que agrega maior estabilidade ao filme de hidrogel formado. Além disso, a radiação ultravioleta foi selecionada como meio para reticulação dos filmes de hidrogel, principalmente por não demandar o uso de agentes químicos reticulantes, que não são biocompatíveis, podendo ser carcinogênicos, mutagênicos ou tóxicos

ao organismo. Ainda, dentre as formas de radiação que podem ser utilizadas para reticulação, a ultravioleta não necessita de uma estrutura complexa para sua utilização, sendo essa estrutura basicamente composta por uma câmara contendo lâmpadas ultravioleta, o que torna prático o seu uso. Outras formas de reticulação física, tais como irradiação com raios gama ou seções de congelamento e descongelamento sucessivos poderiam ser empregadas, no entanto, a utilização de raios gama é mais complexa e requer uma estrutura física de laboratório isolada e própria para essa finalidade. Já o congelamento/descongelamento é comumente utilizado para produzir *scaffolds*, que geralmente não são utilizados como curativos cutâneos. Com o objetivo de reduzir o número de experimentos e avaliar os diferentes parâmetros envolvidos, realizou-se um planejamento experimental para obter uma formulação otimizada de filme de hidrogel. A incorporação do óleo essencial de lavanda e do óleo essencial de pinheiro silvestre, em diferentes concentrações, foi realizada somente para a formulação otimizada, com o objetivo de conferir propriedades antibacterianas ao material. Foram avaliadas as diferenças entre os filmes produzidos com e sem aditivos, bem como a eficácia da ação antibacteriana.

CAPÍTULO 3

MATERIAIS E MÉTODOS

Nesse capítulo é apresentada a metodologia utilizada no desenvolvimento deste trabalho, descrevendo os materiais, técnicas e equipamentos utilizados, bem como o detalhamento dos procedimentos experimentais adotados. Para melhor visualização das etapas realizadas ao longo do desenvolvimento deste trabalho, um fluxograma é mostrado na Figura 3.1.

3.1 MATERIAIS UTILIZADOS

A gelatina em pó (Merck Millipore, DE) do tipo A⁶, proveniente de pele suína, e o poli(álcool vinílico) (PVA – Sigma Aldrich, US), com massa molar na faixa de 89 a 98 kDA e grau de hidrólise de 99 %, foram utilizados como matérias-primas para a preparação dos filmes de hidrogel. O glicerol P.A. (Química Moderna, BR) foi utilizado como agente plastificante. Os óleos essenciais de lavanda (*Lavandula angustifolia sp Maillette*) e de pinheiro (*Pinus sylvestris*) foram obtidos da cooperativa France-Lavande (FR), Tween 80 (Synth, BR) foi utilizado como emulsificante. Para os testes antimicrobianos, utilizaram-se cepas das bactérias *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), peptona bacteriológica (BD Biosciences, US) e ágar padrão para contagem (plate count agar – PCA, Merck, DE).

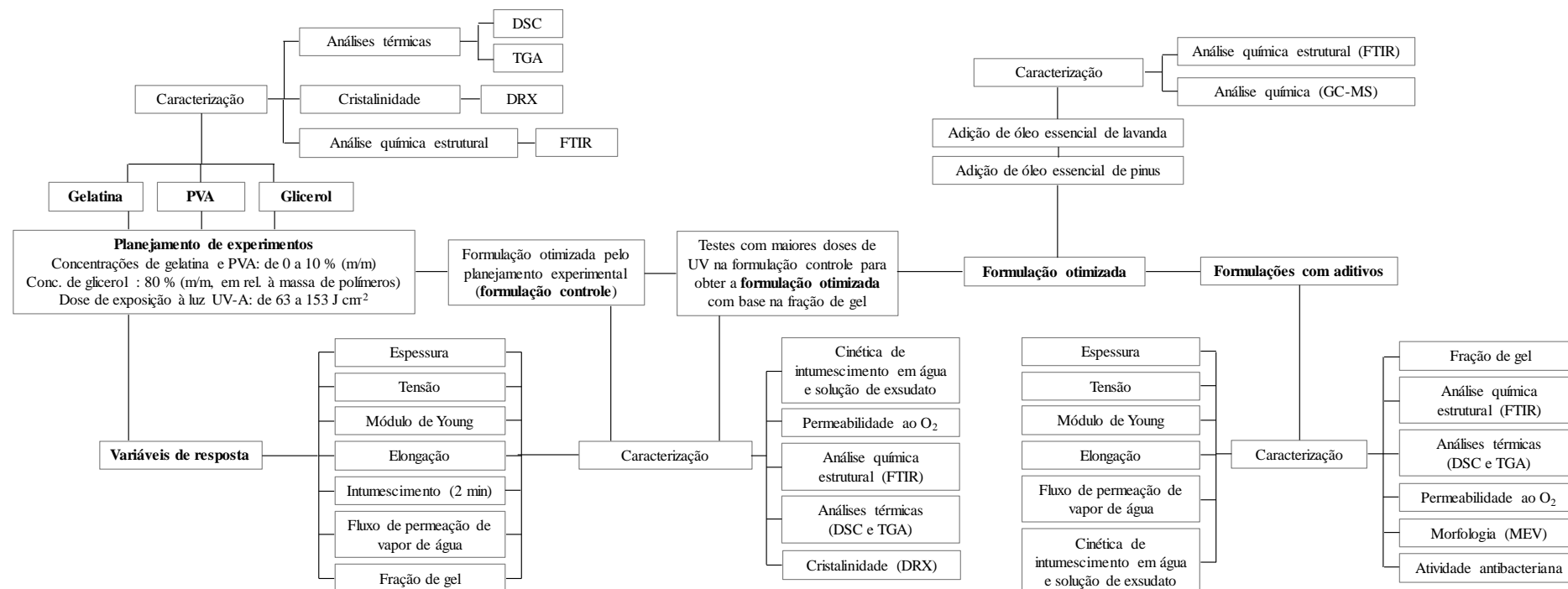
Os materiais utilizados no desenvolvimento dos hidrogéis foram caracterizados em termos da estrutura química, propriedades térmicas e grau de cristalinidade. Vale ressaltar que as análises nas quais o local de realização não está informado foram realizadas no Laboratório de Processamento de Resíduos do Departamento de Engenharia Química da UFRGS.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS

Os materiais utilizados para o desenvolvimento desse trabalho foram caracterizados em termos de propriedades químicas e térmicas, sendo as análises de FTIR, TGA, DSC e DRX realizadas na Central Analítica do Departamento de Engenharia Química da UFRGS.

⁶ As gelatinas do tipo A são obtidas pelo tratamento ácido do colágeno, enquanto as gelatinas do tipo B são obtidas por meio do tratamento alcalino do colágeno.

Figura 3.1 – Fluxograma das etapas realizadas nesta tese.



3.2.1 Análise química estrutural

A gelatina, o PVA, o glicerol e os óleos essenciais de lavanda e de pinheiro silvestre foram caracterizados por meio de espectroscopia de infravermelho por transformada de *Fourier* (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy* – FTIR), a fim de identificar os grupos funcionais existentes nestas matérias primas. O espectro foi obtido em um espectrofotômetro de absorção molecular na região do infravermelho médio por transformada de *Fourier* MIR-FTIR Frontier (Perkin Elmer, US). Foi utilizado o modo de análise UATR (*Universal Attenuated Total Reflectance*) e os espectros foram coletados em transmitância, com 64 varreduras a uma resolução de 4 cm⁻¹.

3.2.2 Análises térmicas

As análises de termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial foram realizadas para a gelatina, o PVA e o glicerol, visando observar o comportamento dos materiais sob ação da temperatura e verificar a faixa de temperaturas a que eles podem ser submetidos sem sofrer degradação.

3.2.2.1 Análise termogravimétrica

As análises termogravimétricas (*Thermogravimetric Analysis* – TGA) foram realizadas em um analisador TA *Instruments* SDT-Q600 (TA *Instruments*, US). Os dados foram coletados por meio do *software Advantage for Q Series Version – Thermal Advantage Release 5.5.20*. Para realização desta análise, as amostras foram aquecidas de 25 a 600 °C, a uma taxa de 10 °C min⁻¹, sob atmosfera de gás nitrogênio a uma vazão de 100 mL min⁻¹.

3.2.2.2 Calorimetria exploratória diferencial

As análises de calorimetria exploratória diferencial (*Differential Scanning Calorimetry* – DSC) foram realizadas no equipamento *Perkin Elmer* DSC 6000 (*Perkin Elmer*, US) e os dados foram coletados pelo *software Pyris – Instrument Managing 11.0*. As amostras foram submetidas a aquecimento de 25 a 400 °C a uma taxa de 10 °C min⁻¹ em atmosfera de nitrogênio a uma vazão de 20 mL min⁻¹.

3.2.3 Cristalinidade

Os perfis de cristalinidade da gelatina e do PVA foram obtidos por meio de difração de raios-X (DRX) em um difratômetro D2 Phaser (Bruker, US) com radiação Cu(K α). Os padrões de difração foram obtidos utilizando ângulo de difração 2 θ , variando 0,02° por segundo entre 5 e 75°. A determinação do índice de cristalinidade (X_c) foi realizada por meio da relação entre a área dos picos obtidos no difratograma e a área total abaixo da curva, em relação à linha de base, utilizando o *software OriginPro 2018* para calcular as áreas dos picos dos difratogramas. O índice de cristalinidade foi calculado conforme a Equação 3.1.

$$X_c = \frac{A_c}{A_c + A_a} \quad (3.1)$$

onde A_c corresponde à área da região cristalina e A_a é a área da região amorfa.

3.2.4 Cromatografia gasosa

Os óleos essenciais utilizados nesse trabalho foram caracterizados por meio de cromatografia gasosa acoplado a espectrômetro de massas no Setor de Cromatografia da Central Analítica do Instituto de Química da UFRGS. Utilizou-se um cromatógrafo Shimadzu GCMS-QP2010 SE (Shimadzu Corporation, JP) equipado com uma coluna Restek RTX-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) (Restek Corporation, US). As condições experimentais utilizadas foram: fluxo de gás Hélio de 1,1 mL min⁻¹; temperatura de 50 °C (2 minutos) a 250 °C (5 minutos), a uma taxa de aquecimento de 5 °C min⁻¹; temperatura do injetor de 280 °C; e modo de injeção “*splitless*”. Os parâmetros de aquisição utilizados no espectrômetro de massas foram: faixa de varredura de 45 a 450 m z⁻¹; temperatura de interface de 300 °C; energia de impacto de elétrons 70 eV e temperatura da fonte de íons 250 °C. Os componentes dos óleos essenciais foram identificados com base na comparação de seus espectros de massa com os espectros das bibliotecas do NIST (*National Institute of Standards and Technology*). A porcentagem relativa dos principais componentes foi calculada utilizando da área sob os picos.

3.3 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Neste trabalho, aplicou-se um delineamento composto central rotacional (DCCR) às variáveis selecionadas do processo de formulação do hidrogel para obter uma formulação otimizada de filme de hidrogel composto por gelatina e PVA, com características específicas. O *software* TICBO *Statistica* 13.5.0 foi utilizado para realização do planejamento experimental e os resultados do mesmo foram avaliados pelo teste de estatístico de Tukey com nível de confiança de 95 % ($p < 0,05$).

A partir de investigações preliminares, diferentes fatores de controle foram selecionados para o estudo de otimização: concentração de gelatina (x_1 , variando de 0 a 10 % m/m), concentração de PVA (x_2 , variando de 0 a 10 % m/m) e dose de radiação ultravioleta a que as amostras foram submetidas (x_3 , variando de 63 a 153 J cm⁻²), conforme Tabela 3.1. A quantidade de glicerol adicionada aos filmes de hidrogel foi mantida constante em 80 % (m/m, em relação à massa de polímeros). Foram aplicados dois níveis (-1 e +1) para cada fator de controle, selecionados conforme pesquisa bibliográfica. As concentrações de ambos os polímeros variaram de 0 a 10 % (m/m) com o objetivo de verificar se a utilização da mistura de polímeros é adequada. Foram feitas cinco repetições do ponto central (nível 0) para a estimativa do erro experimental e da precisão do planejamento, além de seis pontos axiais (níveis -1,68 e +1,68), de modo a avaliar a não linearidade do sistema. No total, 19 experimentos foram realizados aleatoriamente, conforme Tabela 3.2.

Tabela 3.1 – Fatores de controle e níveis utilizados no planejamento experimental do tipo composto central rotacional.

Fatores	Símbolo	Níveis				
		-1,68	-1	0	+1	+1,68
Concentração de Gelatina (% m/m)	x_1	0	2	5	8	10
Concentração de PVA (% m/m)	x_2	0	2	5	8	10
Dose de UV (J cm ⁻²)	x_3	63	81	108	135	153

As variáveis dependentes (variáveis de resposta) selecionadas para o processo de otimização da formulação do filme de hidrogel foram propriedades que influenciam fortemente seu comportamento em aplicações como curativos: espessura (Y_1 , mm), tensão de ruptura (Y_2 ,

MPa), módulo de Young (Y_3 , MPa), alongação (Y_4 , %), intumescimento após 2 minutos (Y_5 , %), fluxo de permeação de vapor de água (Y_6 , WVVPF) e fração de gel (Y_7 , %).

Tabela 3.2 – Corridas experimentais do DCCR com os valores codificados e reais das variáveis independentes.

Experimento	Variáveis independentes codificadas			Variáveis independentes		
	x_1	x_2	x_3	[Gelatina] (% m/m)	[PVA] (% m/m)	Dose UV ($J\ cm^{-2}$)
1	-1	-1	-1	2,03	2,03	81
2	-1	-1	+1	2,03	2,03	135
3	-1	+1	-1	2,03	7,97	81
4	-1	+1	+1	2,03	7,97	135
5	+1	-1	-1	7,97	2,03	81
6	+1	-1	+1	7,97	2,03	135
7	+1	+1	-1	7,97	7,97	81
8	+1	+1	+1	7,97	7,97	135
9	-1,68	0	0	0	5	108
10	+1,68	0	0	10	5	108
11	0	-1,68	0	5	0	108
12	0	+1,68	0	5	10	108
13	0	0	-1,68	5	5	63
14	0	0	+1,68	5	5	153
15	0	0	0	5	5	108
16	0	0	0	5	5	108
17	0	0	0	5	5	108
18	0	0	0	5	5	108
19	0	0	0	5	5	108

Os dados foram ajustados a uma equação de segunda ordem (Equação 3.2) como função dos fatores de controle, sendo gerada uma equação para cada variável de resposta.

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{33} x_3^2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \varepsilon \quad (3.2)$$

Onde Y_i representa cada uma das variáveis de resposta; x_1 , x_2 e x_3 são as variáveis independentes (concentração de gelatina, concentração de PVA e dose de radiação UV, respectivamente); a constante β_0 representa o coeficiente de regressão no ponto central; β_1 , β_2 e β_3 são os coeficientes lineares das variáveis independentes; β_{11} , β_{22} e β_{33} predizem as interações quadráticas de cada fator; β_{12} , β_{13} e β_{23} indicam as interações de segunda ordem entre as

variáveis independentes. O modelo de regressão obtido foi avaliado pela análise de variância (ANOVA). A qualidade do ajuste dos dados ao modelo foi avaliada com base no coeficiente de determinação (R^2) e no coeficiente de determinação ajustado (Ajust. R^2). Foi utilizada a metodologia de superfícies de resposta (*Response Surface Methodology* – RSM) para avaliação da influência das variáveis independentes sobre as variáveis de resposta. Por fim, a função desejabilidade (*desirability*) foi aplicada para obter a formulação otimizada do filme de hidrogel de gelatina, PVA e glicerol, reticulado por luz ultravioleta. Os valores preditos pelos modelos (Y_{pred}) e os observados experimentalmente (Y_{exp}) para cada variável de resposta do planejamento foram comparados por meio do desvio relativo (RD), calculado pela Equação 3.3.

$$RD (\%) = \left(\frac{Y_{exp} - Y_{pred}}{Y_{exp}} \right) \times 100 \quad (3.3)$$

3.4 PREPARAÇÃO DOS FILMES DE HIDROGEL

Após a definição do planejamento experimental, produziram-se as formulações dos filmes de hidrogel correspondentes a cada uma das corridas do planejamento de experimentos. Pelo menos 10 amostras foram obtidas para cada formulação.

Para a obtenção dos filmes de hidrogel, inicialmente preparam-se as soluções de PVA e gelatina, separadamente. Para o preparo da solução de PVA, este foi pesado e água destilada foi adicionada de forma a atingir a concentração de interesse da solução, conforme as formulações de cada corrida do planejamento experimental (Tabela 3.2). Em seguida, esta mistura foi colocada em um agitador magnético Fisatom, 752A (Fisatom Equipamentos Científicos Ltda., BR) a 85 ± 5 °C durante 1 hora, para dissolução do PVA. Paralelamente, preparou-se a solução de gelatina. Para isso, a gelatina foi pesada e água destilada foi adicionada de forma a atingir a concentração desejada para a formulação (Tabela 3.2). A gelatina foi hidratada à temperatura ambiente (~ 22 °C) durante 15 minutos e dissolvida sob aquecimento de 45 ± 5 °C durante 45 minutos em agitador magnético.

Após a preparação das soluções de PVA e gelatina, estas foram misturadas e mantidas sob aquecimento a 45 ± 5 °C. Adicionou-se glicerol na concentração de 80 % em relação à massa de polímeros (PVA + gelatina) existente na solução. A solução permaneceu nas mesmas condições por mais 15 minutos, para ocorrência das reações de plastificação. Por fim, a solução resultante foi disposta em placas de Petri ($\varnothing = 90$ mm) mantendo uma massa constante de 20 g de solução por placa (gramatura = $0,31$ g cm^{-2}). Em seguida, as placas foram colocadas em uma

câmara de radiação ultravioleta por períodos de tempo selecionados, de forma que as doses de radiação ultravioleta pré-definidas no planejamento experimental (Tabela 3.2) fossem aplicadas.

A câmara de luz ultravioleta é composta por duas lâmpadas UV-A (Narva LT 30 W T8/009 UV, DE) que possuem comprimento de onda principal de 365 nm e que, combinadas, fornecem uma intensidade de radiação de aproximadamente 15 mW cm^{-2} , sendo que as amostras são colocadas a uma distância de 20 cm das lâmpadas. Após a exposição à luz UV, os filmes de hidrogel foram submetidos à secagem em estufa com circulação forçada de ar DeLeo A6AFD (DeLeo Equipamentos Laboratoriais, BR) a $35 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas.

Após a secagem, os filmes foram armazenados em dessecador, contendo solução saturada de nitrato de magnésio ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, com umidade relativa de 53 % a temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$), por, pelo menos, 48 horas antes da realização dos ensaios de caracterização.

3.5 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE HIDROGEL

As amostras de hidrogéis obtidas para cada uma das formulações dadas pelo planejamento experimental foram caracterizadas quanto à espessura, propriedades mecânicas (tensão e alongação na ruptura e módulo de Young), intumescimento em 2 minutos, fluxo de permeação de vapor de água e fração de gel, utilizando as metodologias descritas a seguir.

3.5.1 Espessura

A espessura dos filmes de hidrogel foi medida com o auxílio de um paquímetro de 150 mm, com capacidade de aferição de 0,02 mm (*Lee Tools*, BR). Foram realizadas cinco medidas em pontos aleatórios de cada amostra. Os resultados são apresentados como a média das medidas para 10 amostras de cada corrida do planejamento experimental.

3.5.2 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes de hidrogel foram avaliadas por meio de ensaio de tração. Utilizou-se um texturômetro TA.XT2i (*Stable Micro Systems Ltd.*, GB) com célula de carga de 50 N, do Laboratório de Análise de Propriedades Físicas dos Alimentos (LAPFA), pertencente ao Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA) da UFRGS.

Os ensaios foram realizados conforme norma ASTM D882-18 (ASTM INTERNATIONAL, 2018a). Utilizaram-se corpos de prova de 25 x 65 mm, separação inicial entre as garras de 40 mm e velocidade de tração de 2 mm s⁻¹. A partir dos dados obtidos, foi possível traçar curvas de tensão *versus* deformação e, a partir delas, obtiveram-se os valores da tensão de ruptura, percentual de alongação e módulo de elasticidade. Foram avaliadas 5 amostras de cada corrida do planejamento experimental e os resultados foram expressos como a média ± erro padrão.

3.5.3 Intumescimento

O grau de intumescimento (I) foi determinado com base na norma ASTM D570-98 (2018) (ASTM INTERNATIONAL, 2018b). Amostras dos filmes de hidrogel com dimensões 20 x 20 mm, previamente pesadas, foram submersas em 50 mL de água destilada à temperatura de 37 °C durante 2 minutos. Após, a amostra foi retirada da água, o excesso de água foi removido com auxílio de um tecido de algodão e a amostra foi novamente pesada. O percentual de intumescimento de cada filme foi determinado através da Equação 3.4.

$$I (\%) = \frac{m_f - m_i}{m_i} \times 100 \quad (3.4)$$

onde m_i é a massa inicial da amostra (g) e m_f é a massa final da amostra após ser submersa em água (g).

3.5.4 Fluxo de permeação de vapor de água

O fluxo de permeação de vapor de água (WVPF) foi avaliado pelo método ASTM E96-10, com algumas modificações (ASTM INTERNATIONAL, 2016). As amostras dos filmes de hidrogel foram fixadas em células de permeação, com diâmetro interno de 63 mm e altura de 22 mm, preenchidas com sílica gel. As células de permeação foram colocadas em dessecadores contendo solução saturada de nitrato de magnésio (Mg(NO₃)₂) com umidade relativa de 53 % a temperatura de 25 °C. O ganho de massa foi determinado pesando as cápsulas de permeação em uma balança analítica antes e após um período de 48 horas. O fluxo de permeação de vapor de água (g d⁻¹ m⁻²) é dado pela Equação 3.5.

$$WVPF = \frac{m}{tA} \quad (3.5)$$

onde m é a massa de água que permeou através do filme (g), t é o tempo de permeação (dias), A é a área de permeação (m^2).

3.5.5 Fração de gel

A fração de gel dos filmes de hidrogel foi avaliada de acordo com o método adotado por Bakravi et al. (2018). As amostras de filmes de hidrogel ($\varnothing = 4,5$ cm) foram previamente secas durante 24 horas em estufa (DeLeo, A6AFD, BR) a 50 °C, pesadas em balança analítica e submersas em água destilada a 37 °C durante 24 horas. Ao final deste período, os filmes foram retirados da água, secos novamente em estufa a 50 °C durante 24 horas e tiveram sua massa final determinada. A fração de gel (FG) dos filmes de hidrogel foi calculada por meio da Equação 3.6.

$$FG (\%) = \frac{m_s}{m_0} \times 100 \quad (3.6)$$

onde m_s é a massa (g) do filme de hidrogel seco a 50 °C após o processo de extração em água destilada e m_0 é a massa (g) do filme de hidrogel inicialmente seco a 50 °C por 24 horas.

3.6 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE HIDROGEL CONTROLE E OTIMIZADO

O filme de hidrogel obtido pelo resultado da função desejabilidade do planejamento experimental foi chamado de “controle”. Foi obtido outro filme de hidrogel, chamado de “otimizado” utilizando as mesmas concentrações de gelatina e PVA sugeridas pela função desejabilidade, porém com uma dose de radiação UV maior (~ 2600 J cm^{-2}). Esta modificação foi feita com o intuito de aumentar a fração de gel do filme de hidrogel obtido e torná-lo mais estável para a aplicação desejada. Nesta seção serão apresentadas as metodologias adotadas para realização da caracterização desses dois filmes de hidrogel em relação à permeabilidade ao oxigênio, análise química estrutural, análises térmicas e perfil de cristalinidade.

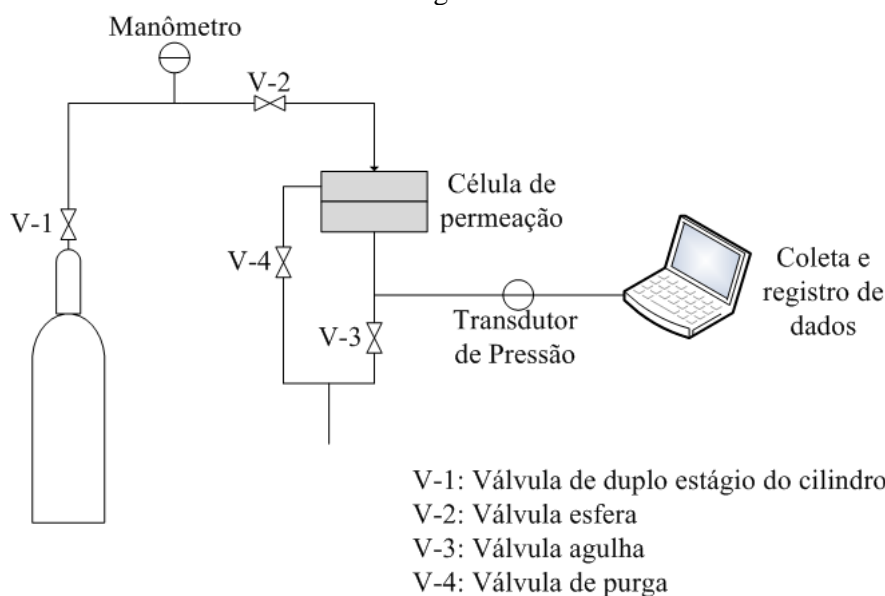
3.6.1 Cinética de intumescimento

A cinética de intumescimento dos filmes de hidrogel controle e otimizado foi avaliada em água destilada e em solução que simula a parte inorgânica do exsudato de ferida (composta por íons sódio e cálcio com concentrações semelhantes às do plasma sanguíneo, 142 mmol L^{-1} e $2,5 \text{ mmol L}^{-1}$, respectivamente (SABOORI et al., 2009; YASSUE-CORDEIRO et al., 2015)). Para estes experimentos, amostras dos filmes de $2 \times 2 \text{ cm}$ foram cortadas, previamente pesadas e submersas em 50 mL de água destilada ou solução que simula o exsudato à temperatura de $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Os períodos de tempo avaliados foram 1, 2, 5, 15, 30, 45, 60 e 120 minutos e a cada duas horas até 8 horas de ensaio. O excesso de água/solução foi removido com auxílio de um tecido de algodão e a massa final foi pesada. O percentual de intumescimento em cada período de tempo foi calculado por meio da Equação 3.4.

3.6.2 Permeabilidade ao oxigênio

A permeabilidade ao oxigênio da formulação controle e otimizada dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA foi determinada utilizando um módulo de permeação de gases, esquematizado na Figura 3.2.

Figura 3.2 – Representação esquemática do sistema utilizado no ensaio de permeabilidade ao oxigênio.



A célula de permeação que permite o escoamento transversal do gás é dividida em duas partes. Em cada teste, uma amostra dos filmes de hidrogel (área ~13 cm²) foi disposta entre as duas partes da célula de permeação, sobre sua parte inferior. A pressão de alimentação foi controlada pela válvula V-1 e mantida constante em 1 bar. Os dados, coletados por meio do *software FieldChart Lite 2.0.2.02* (Novus Produtos Eletrônicos Ltda., BR), foram utilizados para calcular a permeabilidade (p) do filme de hidrogel ao gás oxigênio, conforme Equação 3.7.

$$p = 64,8 \times \frac{dP}{dt} \frac{l}{A} \frac{V}{\Delta P} \frac{T_{CNTP}}{T_{amb} P_{CNTP}} \quad (3.7)$$

onde p é a permeabilidade do filme de hidrogel (cm³ mm m⁻² dia⁻¹ kPa⁻¹), dP/dt é a inclinação da curva de pressão por tempo, l é a espessura do filme (m), A é a área de permeação (cm²), V é o volume da câmara do permeado (cm³), ΔP é a diferença de pressão aplicada na alimentação (bar), T_{CNTP} (K) e P_{CNTP} (bar) são, respectivamente, a temperatura e a pressão nas Condições Normais de Temperatura e Pressão e T_{amb} é a temperatura do ambiente no momento do ensaio (K).

3.6.3 Análise química estrutural

Os filmes de hidrogel controle e otimizado foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho por transformada de *Fourier* (FTIR), com o intuito de avaliar os grupos funcionais das amostras analisadas, utilizando a mesma metodologia descrita no item 3.2.1.

3.6.4 Análises térmicas

Os filmes de hidrogel controle e otimizado foram submetidos à análise termogravimétrica e à análise de calorimetria exploratória diferencial, conforme descrito nos itens 3.1.2.1 e 3.1.2.2.

Para as análises termogravimétricas realizadas para amostras de filmes de hidrogel, foi feita a deconvolução espectral, utilizando algoritmos de ajuste de curva. Foi utilizado o método de ajuste de *Gauss* para a deconvolução e esse procedimento foi realizado com auxílio do *software OriginPro 2018*.

3.6.5 Cristalinidade

O perfil de cristalinidade dos filmes de hidrogel controle e otimizado foi obtido por meio de difração de raios-X, conforme item 3.2.3, e a cristalinidade foi calculada de acordo com a Equação 3.1.

3.7 PREPARAÇÃO DOS FILMES DE HIDROGEL CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS

Utilizando o filme de hidrogel otimizado como filme base, foram preparadas seis diferentes formulações contendo os óleos essenciais de lavanda e de pinheiro silvestre. O processo de preparação dos filmes contendo óleos essenciais foi semelhante àquele detalhado no item 3.4, no entanto os óleos essenciais, nas proporções de 0,5, 1 e 2 % (m/m, com base na massa total de solução), foram adicionados à mistura de gelatina, PVA e glicerol imediatamente após a adição do plastificante. Ainda, visando emulsionar a mistura e dispersar o óleo, adicionou-se 25 % (m/m, em relação à massa de óleo essencial utilizada) de Tween 80.

As soluções foram agitadas por mais 15 minutos após a adição de todos os componentes e foram dispersas em placas de Petri mantendo a gramatura de $0,31 \text{ g cm}^{-2}$. As placas foram submetidas à radiação ultravioleta de 2592 J cm^{-2} , foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 35 °C por 24 horas e permaneceram em atmosfera controlada por, pelo menos, 48 horas antes dos ensaios de caracterização.

Os filmes contendo óleos essenciais foram chamados de OEL 0,5 %, OEL 1 %, OEL 2 %, OEP 0,5 %, OEP 1 % e OEP 2 % para os filmes contendo 0,5, 1 e 2 % de óleo essencial de lavanda e de óleo essencial de pinheiro silvestre, respectivamente.

3.8 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE HIDROGEL CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS

Os filmes de hidrogel contendo óleos essenciais foram caracterizados quanto à espessura (item 3.5.1), propriedades mecânicas (item 3.5.2), fluxo de permeação de vapor de água (item 3.5.4), fração de gel (item 3.5.5), cinética de intumescimento (item 3.6.1), permeabilidade ao oxigênio (item 3.6.2), análise química estrutural (item 3.6.4) e propriedades térmicas (item 3.6.5), conforme ensaios já descritos anteriormente. Além disso, os filmes de hidrogel contendo óleos essenciais foram submetidos à análise de morfologia e a ensaios antimicrobianos, conforme descrito a seguir.

3.8.1 Análise morfológica

Para observar a morfologia dos filmes de hidrogel, a superfície e a seção transversal das amostras foram examinadas usando um microscópio eletrônico de varredura (MEV) *Phenom World ProX* (Phenom World, NL) pertencente à Central Analítica do Departamento de Engenharia Química da UFRGS. As amostras foram previamente secas em dessecador contendo sílica gel por cerca de 30 dias e, em seguida, foram fraturadas em nitrogênio líquido, fixadas em *stubs* com fita de carbono e recobertas com uma camada de ouro para torna-las condutoras. Uma tensão de aceleração de 10 kV e ampliações de 500 x e 300 x, para superfície e seção transversal, respectivamente, foram utilizadas.

3.8.2 Atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana dos filmes de hidrogel contendo óleos essenciais foi avaliada qualitativamente por meio da formação de halo de inibição contra uma bactéria gram-positiva (*S. aureus*) e uma gram-negativa (*E. coli*). Para realização das análises, os microrganismos, que estavam armazenados em *eppendorfs* em uma solução de caldo BHI contendo 20 % de glicerol em ultrafreezer, foram reativados por meio de incubação do conteúdo do *eppendorf* em 10 mL de caldo BHI a 37 °C por 24 horas. Após, esses microrganismos foram espalhados em placa de Petri contendo ágar PCA previamente preparado, esterilizado e solidificado e foram incubados a 37 °C por 24 horas para que ocorresse o crescimento das bactérias no ágar.

Para realização dos ensaios de atividade antibacteriana, os microrganismos foram coletados das placas de Petri onde haviam crescido, com o auxílio de uma alça de platina de 1 µL, e foram suspensos em 10 mL de solução de peptona bacteriológica a 0,1 % (m/v). Em seguida, a mistura foi homogeneizada em vórtex K45-2810 (Kasvi, BR). 0,1 mL das suspensões bacterianas foram inoculadas e espalhadas em placas de ágar PCA, previamente preparado, esterilizado e solidificado. Por fim, amostras de filme de hidrogel com diâmetro de aproximadamente 2 cm foram colocadas sobre o ágar no centro de cada placa. As placas de Petri foram incubadas em incubadora de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) (Tecnal TE381, BR) a 37 °C por 24 h para verificar a formação de halo de inibição após o período de incubação. As bactérias *S. aureus* e *E. coli* inoculadas em placas de ágar PCA foram utilizadas como controles positivos, enquanto o ágar PCA sem inoculação de bactérias foi utilizado como controle negativo.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos no desenvolvimento deste trabalho, bem como a discussão acerca dos mesmos. Primeiramente são apresentados os resultados da caracterização das matérias-primas (gelatina, PVA, glicerol e óleos essenciais). Posteriormente são apresentados os resultados do planejamento experimental e na sequência os resultados das caracterizações feitas para os filmes de hidrogel desenvolvidos, com e sem aditivos.

4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS

Nos itens 4.1.1 a 4.1.4 são apresentados os resultados obtidos para a caracterização química, térmica e de cristalinidade das matérias-primas utilizadas para a produção dos filmes de hidrogel.

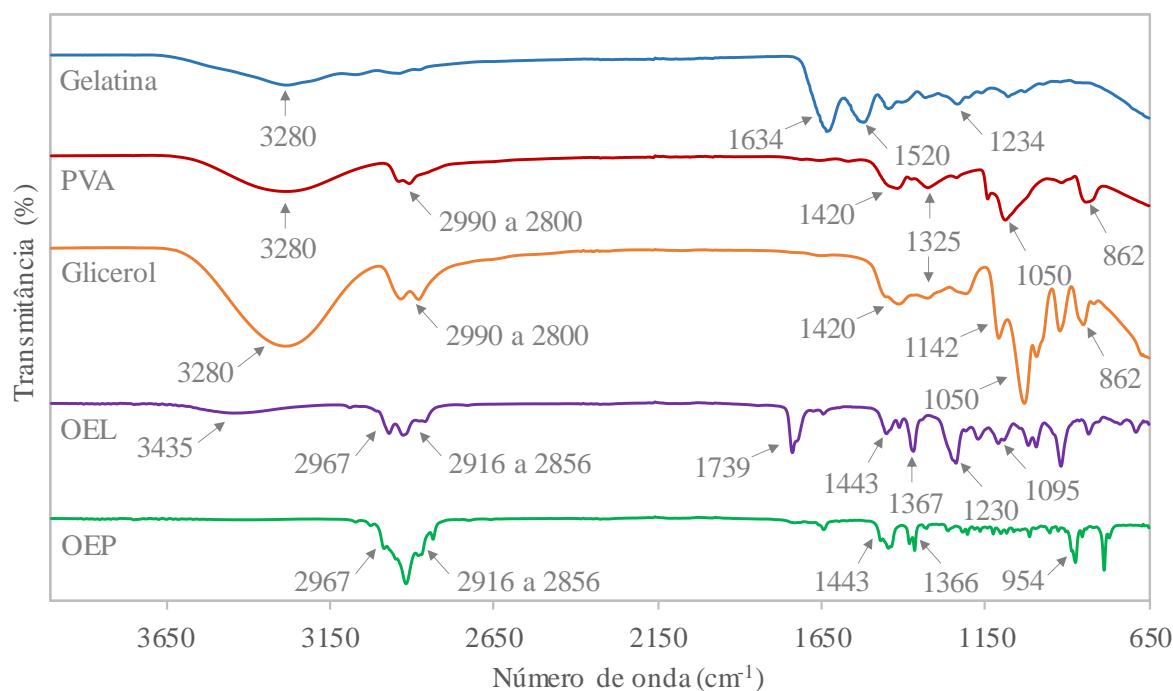
4.1.1 Análise química estrutural

A análise química estrutural da gelatina, do PVA, do glicerol e dos óleos essenciais de lavanda e de pinheiro silvestre foi realizada por espectroscopia de infravermelho por transformada de *Fourier*. Na Figura 4.1 estão apresentados os espectros obtidos, onde foram identificados alguns picos específicos desses materiais.

O espectro de FTIR da gelatina apresenta uma banda em 3280 cm^{-1} que corresponde ao alongamento das ligações N-H da amida secundária e ao alongamento do grupo O-H, que é atribuído aos grupos hidroxila do polímero e às ligações de hidrogênio. De acordo com Doyle, Blout e Bendit (1975) a vibração característica do alongamento da ligação N-H ocorre entre 3400 a 3440 cm^{-1} , já quando um grupo N-H de um peptídeo está envolvido em uma ligação de hidrogênio, a banda é deslocada para valores próximos a 3300 cm^{-1} , o que é característico deste espectro. A banda identificada em 1634 cm^{-1} é devida ao alongamento C=O da amida primária e as bandas em 1520 e 1234 cm^{-1} são devidas tanto ao alongamento da ligação C-H, quanto à flexão da ligação N-H, das amidas secundárias e terciárias, respectivamente. Além disso, as bandas em torno de 1400 cm^{-1} são, possivelmente, atribuídas ao estiramento simétrico do grupo

COO das cadeias de aminoácidos (MISHRA et al., 2019; SAI; BABU, 2001; THANGPRASERT et al., 2019).

Figura 4.1 – Espectro de infravermelho por transformada de *Fourier* da gelatina, do PVA, do glicerol e dos óleos essenciais de lavanda (OEL) e de pinheiro silvestre (OEP).



Os espectros obtidos para o PVA e o glicerol são parecidos devido à similaridade molecular desses compostos, exceto pela intensidade das bandas. Esses espectros mostram basicamente as mesmas bandas, porque os grupos funcionais presentes nas duas moléculas são os mesmos. Dessa forma, foi possível identificar uma banda ampla em 3280 cm^{-1} devida ao alongamento do grupo O-H presente nas moléculas de PVA e glicerol, essa banda pode estar associada ao alongamento de ligações de hidrogênio inter ou intramoleculares. As bandas relacionadas às vibrações do grupo C-H foram observadas em diferentes regiões, sendo caracterizadas como: alongamento, de $2990\text{ a }2800\text{ cm}^{-1}$; flexão, de $1420\text{ a }1400\text{ cm}^{-1}$; vibração de balanceamento fora do plano, de $1340\text{ a }1325\text{ cm}^{-1}$; e torção, de $1234\text{ a }1142\text{ cm}^{-1}$. Na região de $1100\text{ a }1050\text{ cm}^{-1}$, foram identificadas algumas bandas provavelmente relacionadas ao alongamento das ligações C-O presentes nos álcoois primários e as bandas de $915\text{ e }862\text{ cm}^{-1}$ podem ser atribuídas, respectivamente, ao balanceamento dos grupos CH_2 e ao alongamento da ligação C-C (CEYLAN; GÖKTÜRK; BÖLGEN, 2016; JIPA et al., 2012; NKHWA et al., 2014).

No espectro do óleo essencial de lavanda, a banda em 3435 cm^{-1} corresponde ao alongamento do grupo O-H, o que indica a presença de grupos álcool. O alongamento dos grupos metil ($-\text{CH}_3$) e metileno ($-\text{CH}_2-$) ocorre devido à presença de componentes como 4-terpineol, linalol e linalila e pode ser indicado pelas bandas em 2967 cm^{-1} e 2916 a 2856 cm^{-1} , respectivamente. A banda em 1739 cm^{-1} corresponde ao alongamento da ligação C=O, o que indica a presença de grupos carbonila dos componentes éster, como linalila e acetato de lavandulila. Ainda, a flexão dos grupos metil e metileno pode ser identificada em 1443 e 1367 cm^{-1} . A presença dos compostos de éster citados anteriormente pode ser confirmada, também, pelas bandas em 1230 e 1095 cm^{-1} , as quais representam o alongamento da ligação C-O desses grupos. Além disso, as vibrações que ocorrem entre 1000 e 690 cm^{-1} representam as deformações do grupo C-H em função da presença de cânfora (BALASUBRAMANIAN; KODAM, 2014; SAMFIRA et al., 2015; SOFI et al., 2019).

No espectro do óleo essencial de pinheiro são observadas bandas em 2967 , 2916 e 2856 cm^{-1} que podem corresponder aos grupos saturados alifáticos existentes nos principais componentes desse óleo essencial. Sendo assim, essas bandas correspondem respectivamente ao alongamento simétrico dos grupos $-\text{CH}_3$ e ao alongamento simétrico e assimétrico dos grupos $-\text{CH}_2-$. Ainda, as bandas em 1443 e 1366 cm^{-1} podem ser relacionadas às vibrações dos grupos metil e metileno dos grupos alifáticos. Bandas menores de terpenos, tais como, α -pineno, canfeno, δ -3-careno, limoneno, trans- β -ocimeno, α -terpineol e β -cariofileno, são verificadas pelas vibrações de alongamento do grupo C-O-C em torno de 1000 cm^{-1} e pelas vibrações do grupo $-\text{CH}_2-$ em torno de 954 cm^{-1} . Além do mais, as bandas entre 900 e 700 cm^{-1} são bandas características das vibrações de flexão de grupos aromáticos monocíclicos, policíclicos e substituídos (BOUNAAS et al., 2018; HERNÁNDEZ-LÓPEZ et al., 2019; TEMIZ et al., 2010).

4.1.2 Análises térmicas

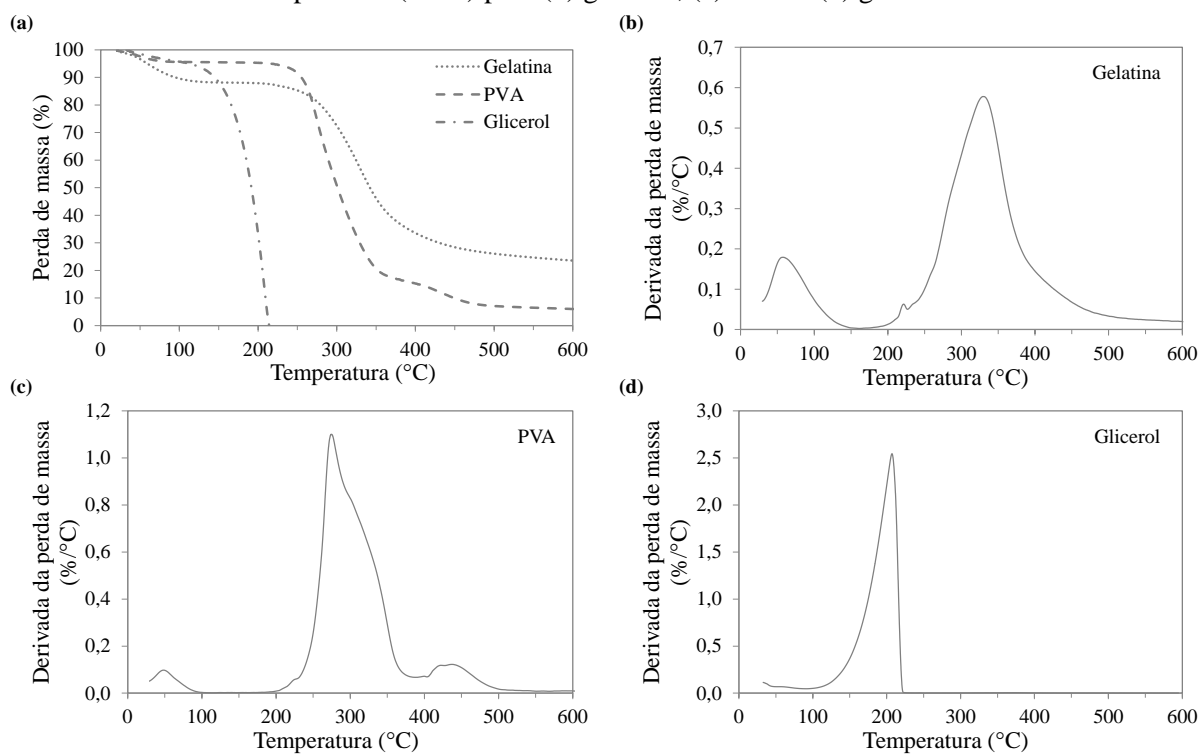
As análises térmicas da gelatina, do PVA e do glicerol foram feitas por termogravimetria e por calorimetria exploratória diferencial, sendo os resultados apresentados a seguir.

4.1.2.1 Análise termogravimétrica

Na Figura 4.2 são mostrados os termogramas de TGA para a gelatina, o PVA e o glicerol. Pelos resultados desta análise, é possível verificar que há basicamente duas regiões de

perda de massa para a gelatina e para o glicerol, enquanto o PVA apresenta três regiões de perda de massa. A primeira perda de massa é geralmente atribuída à evaporação da água e/ou componentes voláteis e a segunda região corresponde à quebra das cadeias e à degradação do material (CHIELLINI et al., 2001; SONKER et al., 2018). A degradação térmica dos polímeros é devida à baixa estabilidade das moléculas orgânicas dentro da matriz polimérica, que são estáveis apenas até uma certa faixa de temperatura. A estabilidade do polímero depende das características inerentes à amostra e das interações existentes entre as moléculas do polímero, como interações dipolo-dipolo, van der Waals e ligações de hidrogênio, por exemplo (MOHSIN; HOSSIN; HAIK, 2011).

Figura 4.2 – Termogramas obtidos por TGA para gelatina, PVA e glicerol. (a) Curva da perda de massa em função da temperatura (TG) e curvas da derivada da perda de massa em função da temperatura (DTG) para (b) gelatina, (c) PVA e (d) glicerol.



Pelos resultados obtidos, foi possível avaliar os percentuais de perda de massa de cada um dos materiais, bem como estimar a temperatura de início da degradação dos mesmos. Dessa forma, verificou-se que a gelatina apresentou perda de massa em torno de 80 %. Sendo ~12 % correspondente à perda de matéria volátil, na faixa de 25 a 110 °C, e ~68 % correspondente à perda de massa devido à degradação do material na faixa de 220 a 500 °C. O PVA apresentou perda de massa de aproximadamente 95 %, sendo ~5 % relativo à perda de matéria volátil, que ocorre na faixa de 25 a 80 °C, e ~77 % correspondente à perda de massa na faixa de 230 a

370 °C, devido à degradação parcial do material. O PVA também apresenta uma terceira região de perda de massa, de ~13 % na faixa de 370 a 480 °C, a qual se dá pela decomposição completa do material (SONKER et al., 2018). Para o glicerol, a perda de massa decorrente de evaporação de material volátil foi de aproximadamente 5 %, na faixa de 40 a 110 °C; a perda de massa devido à degradação ocorre aproximadamente de 120 a 220 °C e nenhum resíduo foi obtido no final do ensaio. A temperatura extrapolada de início da degradação (T_{onset}) foi identificada como 265, 250 e 160 °C, para a gelatina, o PVA e o glicerol, respectivamente.

4.1.2.2 Calorimetria exploratória diferencial

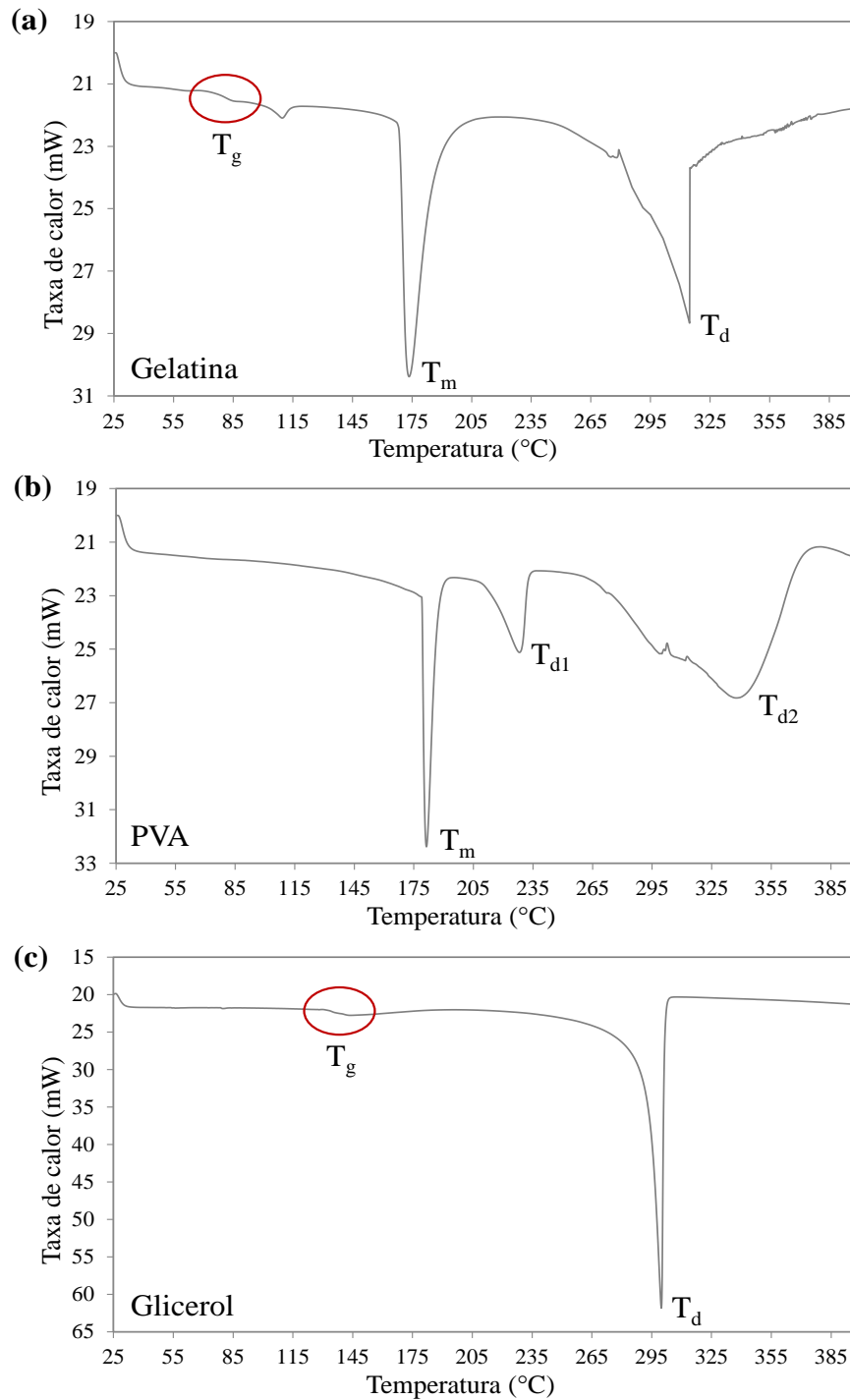
O ensaio de calorimetria exploratória diferencial (DSC) também foi realizado com o intuito de avaliar as propriedades térmicas da gelatina, do PVA e do glicerol. Os resultados desta análise estão apresentados na Figura 4.3.

Na curva de DSC da gelatina geralmente é possível identificar uma transição vítrea (T_g) seguida por uma transição tripla em hélice. A transição de tripla-hélice representa a fusão (T_m) da gelatina e a temperatura de máxima degradação (T_d) do material também pode ser identificada (SOBRAL; HABITANTE, 2001). Neste trabalho, para a gelatina, foi identificada uma T_g de 75 °C, uma T_m de aproximadamente 175 °C e uma T_d de cerca de 295 °C. Pela curva DSC do PVA, não foi possível identificar nitidamente a transição vítrea, que estaria relacionada ao relaxamento na parte cristalina da estrutura do PVA (MOHSIN; HOSSIN; HAIK, 2011). A temperatura de fusão foi em torno de 180 °C e foram identificadas duas temperaturas de degradação, correspondentes à degradação parcial e à degradação máxima, aproximadamente em 230 e 340 °C, respectivamente. Esses valores estão de acordo com os resultados de outros autores (MOHSIN; HOSSIN; HAIK, 2011; MUKHERJEE; ROSOLEN, 2013). Para o glicerol, foi possível observar a T_g , próxima a 145 °C, e a T_d ocorrendo em 300 °C, sendo que o glicerol não apresentou ponto de fusão porque seu estado natural é líquido.

Pelas análises térmicas das matérias-primas utilizadas neste trabalho, observou-se que as temperaturas de fusão das mesmas são mais altas do que a temperatura do corpo humano, por isso, provavelmente, os filmes de hidrogel produzidos com esses materiais não apresentarão problemas relacionados à estabilidade térmica quando utilizados como curativos. Além disso, a temperatura de degradação da gelatina é alta em comparação à de outros biopolímeros e sua mistura com PVA permite a elevação da temperatura de degradação da blenda, indicando uma boa estabilidade térmica. O glicerol, por sua vez, quando adicionado à mistura tende a reduzir a estabilidade térmica devido à sua ação plastificante. Esses fatores demonstram vastas

possibilidades de utilização da gelatina, do PVA e do glicerol para fabricação de filmes de hidrogel por diferentes processos, pois fornecem flexibilidade para adequação da mistura de acordo com as características desejadas para o produto final.

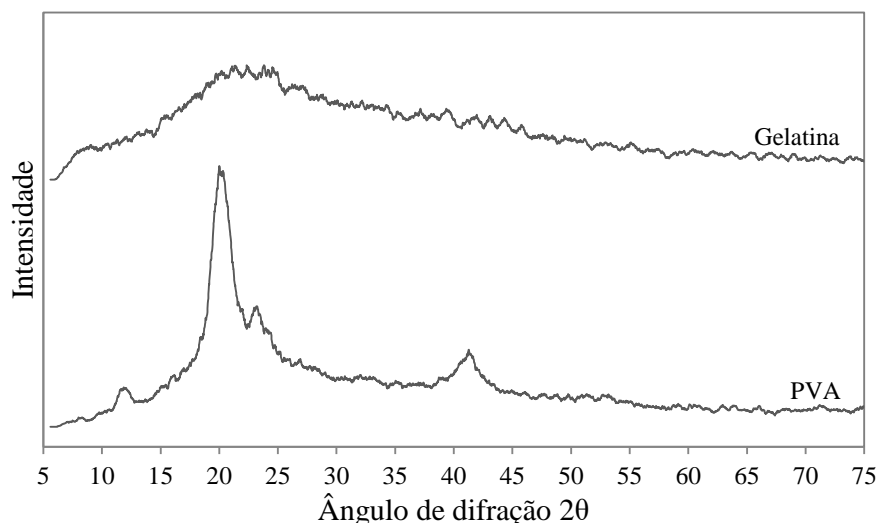
Figura 4.3 – Curvas da análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) para (a) gelatina, (b) PVA e (c) glicerol.



4.1.3 Cristalinidade

Na Figura 4.4 estão mostrados os espectros de difração de raios-X (DRX) obtidos para a gelatina e para o PVA.

Figura 4.4 – Perfil de cristalinidade obtido por difração de raios-X para a gelatina e o PVA.



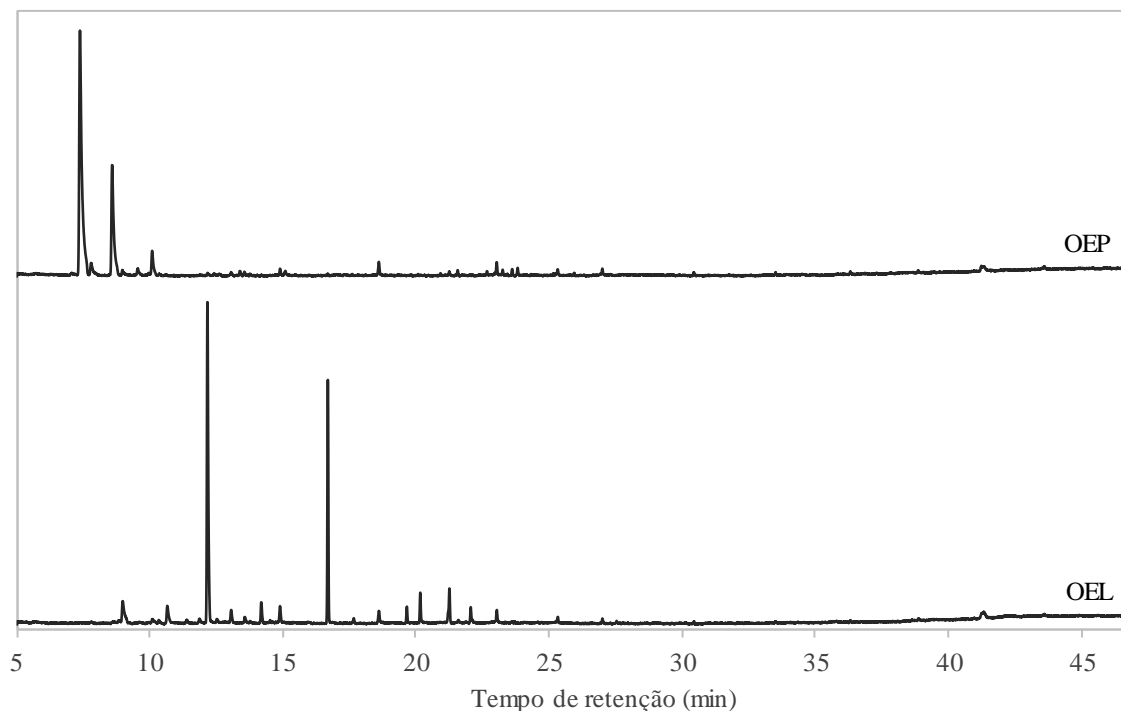
Para a gelatina, identificou-se majoritariamente uma estrutura amorfa, sendo o percentual de cristalinidade (X_c) de aproximadamente 5%. O difratograma obtido para esse material é decorrente das estruturas de α -hélice e tripla hélice presentes na gelatina (ALDANA; ABRAHAM, 2017). O difratograma do PVA é característico dos materiais semicristalinos e apresentou um pico amplo e intenso em torno de $2\theta = 20^\circ$, e outros picos de menor intensidade em $2\theta = 23^\circ$ e $2\theta = 41^\circ$, indicando que a amostra de PVA contém regiões amorfas e regiões cristalinas e resultando em um percentual de cristalinidade em torno de 46% (NAGAHAMA et al., 2009; PAWDE; DESHMUKH, 2008).

4.1.4 Cromatografia gasosa

A cromatografia gasosa pode ser utilizada em conjunto com a espectrometria de massas para a identificação dos componentes majoritários presentes em uma amostra e, também, para a realização de análise quantitativa de misturas complexas (WADHWA et al., 2017). Quando a quantificação direta dos componentes presentes na amostra não é possível, as quantidades relativas dos compostos podem ser estimadas pelo meio do cálculo da área sob os picos identificados no cromatograma (MITIĆ et al., 2017). Nesse trabalho, a cromatografia

gasosa acoplada à espectrometria de massas foi utilizada para obter o perfil químico dos óleos essenciais de lavanda e de pinheiro silvestre, conforme apresentado na Figura 4.5.

Figura 4.5 – Cromatogramas de GC-MS dos óleos essenciais de lavanda (OEL) e de pinheiro silvestre (OEP).



A lista de componentes existentes em ambos os óleos essenciais e suas quantidades estimadas estão apresentadas na Tabela 4.1. As classes dos componentes identificados compreendem hidrocarbonetos monoterpênicos, monoterpênicos oxigenados, hidrocarbonetos sesquiterpênicos e sesquiterpênicos oxigenados. Com base na biblioteca NIST, foi possível identificar um total de 28 e 21 compostos para OEL e OEP, respectivamente, representando 97,5 e 98,1 % do total de compostos presentes nesses óleos essenciais. Os compostos predominantes do óleo essencial de lavanda foram linalol (40 %), acetato de linalol (22 %) e β -pineno (5,6 %). Para o óleo essencial de pinheiro silvestre, os compostos predominantes foram α -pineno (56,3 %), β -pineno (22,4 %) e limoneno (4,3 %).

Os resultados relacionados ao perfil químico e às quantidades estimadas dos componentes dos óleos essenciais obtidos nesse trabalho são semelhantes aos resultados de outros autores para OEL e OEP (MITIĆ et al., 2017, 2018; SHELLIE et al., 2002; SINGH et al., 2015). No entanto, algumas diferenças nas composições obtidas podem ser observadas em comparação com outros resultados encontrados na literatura. Isso é possível devido às variedades de plantas, sua origem, condições climáticas de cultivo, métodos de extração do óleo

essencial, entre outros, que acarretam a produção de óleos essenciais com diferentes características (IBÁÑEZ; BLÁZQUEZ, 2019; YUAN et al., 2019).

Tabela 4.1 – Composição dos óleos essenciais de lavanda (OEL) e de pinheiro silvestre (OEP).

OEL (<i>Lavandula angustifolia</i>)			OEP (<i>Pinus sylvestris</i>)		
Componente	Tempo de retenção (min)	Teor (%)	Componente	Tempo de retenção (min)	Teor (%)
Canfeno ¹	7,82	0,2	Tricileno ¹	7,09	0,6
β -Pinoeno ¹	8,98	5,6	α -Pinoeno ¹	7,39	56,3
p-Cimeno ¹	9,97	0,1	Canfeno ¹	7,81	3,8
Limoneno ¹	10,10	0,6	β -Pinoeno ¹	8,60	22,4
trans- β -Ocimeno ¹	10,34	0,7	β -Mirceno ¹	8,98	1,3
β -ocimeno ¹	10,67	3,6	δ -3-Careno ¹	9,56	1,7
Óxido de cis-linalol ²	11,37	0,9	p-Cimeno ¹	9,97	0,2
1,8-Cineol ²	11,87	1,5	Limoneno ¹	10,09	4,3
Linalol ²	12,17	40	trans- β -Ocimeno ¹	10,35	0,1
Acetato de amil vinil carbinol ²	12,50	0,9	Pinocarveol ²	13,40	0,8
Cânfora ²	13,58	1,2	cis-Verbenol ²	13,56	0,6
Borneol ²	14,20	2,8	α -Terpineol ²	14,90	0,9
4-Terpineol ²	14,53	0,4	Mirtenol ²	15,10	0,7
α -Terpineol ²	14,90	2,5	Copaeno ³	20,09	0,1
cis-Geraniol ²	15,94	0,2	Longifoleno ³	20,94	0,3
Acetato de linalol ²	16,70	22	β -Cariofileno ³	21,26	0,7
Acetato de bornil ²	17,61	0,2	Tujopseno ³	21,58	0,7
Acetato de lavandulil ²	17,67	0,6	γ -Muuroleno ³	22,67	0,5
Acetato de neril ²	19,67	1,8	α -Amorfeno ³	23,26	0,7
Acetato de geraniol ²	20,17	3,1	γ -Cadineno ³	23,63	0,7
α -Santalene ³	21,23	1,3	Óxido de cariofileno ⁴	25,34	0,7
β -Cariofileno ³	21,26	3,4	Outros constituintes	-	1,9
α -Bergamoteno ³	21,60	0,6			
β -Farneseno ³	22,06	1,8			
γ -Cadineno ³	23,64	0,1			
Teresantalol ²	23,70	0,4			
Óxido de cariofileno ⁴	25,34	0,9			
α -Bisabolol ⁴	26,62	0,1			
Outros constituintes	-	2,5			

¹Hidrocarbonetos monoterpênicos

²Monoterpenos oxigenados

³Hidrocarbonetos sesquiterpênicos

⁴Sesquiterpenos oxigenados

Os óleos essenciais são líquidos majoritariamente hidrofóbicos isolados de plantas e que contêm compostos químicos voláteis (GARZOLI et al., 2022). Sabe-se que alguns óleos essenciais possuem propriedades antibacterianas satisfatórias. Além disso, pode-se afirmar que a atividade antibacteriana apresentada pelos óleos essenciais não se deve apenas à presença de um único componente, mas sim, aos efeitos sinérgicos ou aos efeitos antagônicos da combinação de diversos componentes (BASSOLÉ; JULIANI, 2012; DĂNILĂ et al., 2018; NURZYŃSKA-WIERDAK; ZAWIŚLAK, 2016). Dessa forma, os componentes minoritários existentes no OEL e no OEP, tais como, 4-terpineol, α -terpineol, acetato de linalil, acetato de

neril, acetato de geraniol e α -pineno, podem influenciar na sua atividade antibacteriana. Por outro lado, hidrocarbonetos como limoneno e canfeno tendem a apresentar uma ação antibacteriana fraca (BASSOLÉ; JULIANI, 2012; DĂNILĂ et al., 2018; DORMAN; DEANS, 2000; GUIMARĂES et al., 2019).

Em relação aos componentes majoritários do óleo essencial de lavanda, o linalol, foi reportado como um componente que apresenta ação antibacteriana satisfatória contra diversas bactérias, tais como *Bacillus cereus*, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *E. coli*, *Staphylococcus epidermidis* e *S. aureus*. Ainda, o linalol pode ser responsável por desempenhar um papel importante na atividade anti-inflamatória dos óleos essenciais. Além disso, outros compostos, como o terpineol, demonstraram excelente atividade antibacteriana contra cepas de *S. aureus* e o geraniol apresentou rápido efeito bactericida contra cepas de *E. coli* (DĂNILĂ et al., 2018; GUIMARĂES et al., 2019).

No óleo essencial de pinheiro silvestre observa-se a predominância de hidrocarbonetos monoterpenos, o que é uma característica dos óleos essenciais obtidos da família *Pinaceae*. Além disso, a concentração de limoneno pode contribuir para as propriedades antibacterianas deste óleo, pois o limoneno é conhecido por inibir o crescimento de várias bactérias, como *E. coli*, *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas aeruginosa*, por exemplo (DĂNILĂ et al., 2018; IBĂÑEZ; BLÁZQUEZ, 2019; VUUREN; VILJOEN, 2007). Além disso, a atividade antibacteriana do limoneno pode estar relacionada ao substituinte alquênil incorporado em sua estrutura de anel apolar (DORMAN; DEANS, 2000) e seu efeito sinérgico em combinação com α -pineno, pode melhorar a atividade antibacteriana (BASSOLÉ; JULIANI, 2012).

4.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

De acordo com o planejamento experimental DCCR, 19 formulações de teste foram preparadas e todas foram caracterizadas em relação à espessura, propriedades mecânicas, intumescimento, fluxo de permeação de água e fração de gel. Todos os experimentos de caracterização foram realizados, pelo menos, em triplicata e os resultados obtidos para essas caracterizações estão apresentados na Tabela 4.2.

Esses resultados foram utilizados para ajustar os modelos polinomiais das equações de cada uma das variáveis de resposta por meio de regressões múltiplas e a análise de variância (ANOVA) foi aplicada para verificar a significância de cada fator, bem como a influência de cada fator nas variáveis de resposta. As tabelas ANOVA detalhadas para cada variável de

resposta estão apresentadas no Apêndice A. As equações do modelo, após a remoção de parâmetros não significativos, são apresentadas na Tabela 4.3, onde x_1 é a concentração de gelatina (% m/m) e x_2 é a concentração de PVA (% m/m).

A significância dos modelos previstos foi avaliada pelo valor-p e pelos coeficientes de determinação (R^2) (Tabela 4.3). Quando o valor-p é menor que 0,05, o modelo é significativo (KAMOUN et al., 2018; KARIMIAN; MASHAYEKHAN; BANIASADI, 2016). O coeficiente de determinação é uma medida da variabilidade da resposta fornecida pelo modelo de regressão. O R^2 é definido como a medida da quantidade de variação de resposta e essa variação diminui quando um novo termo é adicionado ao modelo, independentemente da introdução desse ser estatisticamente significativa. O coeficiente de determinação ajustado (Ajust. R^2) depende do número de termos do modelo; dessa forma, o R^2 ajustado aumentará apenas se novos termos melhorarem o modelo e diminuirá se termos desnecessários forem adicionados (AFSHAR; BANIASADI, 2018). Quanto mais próximo o R^2 ajustado estiver do R^2 , e quanto mais próximos os dois coeficientes forem de 1, melhor a equação do modelo se ajusta ou explica a relação entre as variáveis de resposta e os fatores de controle (ENNOURI et al., 2017).

Os valores-p obtidos para as equações de todos os modelos foram menores que 0,01, o que indica a alta significância dos modelos. Além disso, foram observados bons coeficientes de determinação (R^2) para a maioria das variáveis de resposta: espessura (0,80), tensão na ruptura (0,87), módulo de Young (0,80), alongação na ruptura (0,91), intumescimento em 2 minutos (0,88) e fração de gel (0,93), mas um R^2 baixo foi observado para o fluxo de permeação de vapor de água (0,75). Esses resultados indicam que os modelos obtidos podem explicar a maior parte da variação experimental encontrada para as variáveis de resposta. Além disso, pela análise ANOVA (Apêndice A), observou-se que nenhuma falta de ajuste foi significativa para os modelos obtidos, de modo que as variáveis de resposta podem ser previstas pelos modelos. Em geral, os valores positivos nas equações significam que a variável independente em questão apresenta um efeito positivo na formulação, enquanto o sinal negativo indica uma relação inversa (AHMED et al., 2018).

Tabela 4.2 – Resultados de espessura, tensão na ruptura, módulo de Young, alongação na ruptura, intumescimento em 2 minutos, fluxo de permeação de vapor de água e fração de gel para os filmes de hidrogel preparados a partir do delineamento composto central rotacional com 3 variáveis independentes. A concentração de glicerol nos filmes de hidrogel foi mantida constante e igual a 80 % (m/m) em relação à massa de polímeros.

Experimento	[Gelatina] (% m/m)	[PVA] (% m/m)	Dose UV (J cm ⁻²)	Espessura (mm)	Tensão na ruptura (MPa)	Módulo de Young (MPa)	Elongação na ruptura (%)	Intumesc. (2 min.) (%)	WVPF (g d ⁻¹ m ⁻²)	Fração de gel (%)
1	2,03	2,03	81	0,25 ± 0,02 ^{fg}	2,0 ± 0,6 ^{bcd}	9 ± 1 ^g	190 ± 7 ^{bcd}	141 ± 7 ^b	102 ± 2 ^{cde}	25 ± 4 ^c
2	2,03	2,03	135	0,20 ± 0,02 ^g	2,7 ± 0,2 ^{abc}	12 ± 0 ^{defg}	178 ± 3 ^{cde}	185 ± 15 ^a	140 ± 4 ^{ab}	26 ± 1 ^c
3	2,03	7,97	81	0,47 ± 0,06 ^{bcdefg}	3,3 ± 0,4 ^a	16 ± 1 ^{cd}	138 ± 13 ^{def}	47 ± 10 ^{def}	151 ± 3 ^a	46 ± 1 ^{ab}
4	2,03	7,97	135	0,60 ± 0,08 ^{abc}	3,7 ± 0,1 ^a	24 ± 2 ^a	96 ± 7 ^f	50 ± 8 ^{cdef}	143 ± 3 ^a	46 ± 3 ^{ab}
5	7,97	2,03	81	0,50 ± 0,04 ^{bcdef}	1,0 ± 0,1 ^d	7 ± 0 ^{gh}	259 ± 10 ^a	83 ± 9 ^{cd}	81 ± 3 ^{fgh}	6 ± 4 ^e
6	7,97	2,03	135	0,53 ± 0,04 ^{bcde}	1,6 ± 0,1 ^{cd}	11 ± 0 ^{defg}	220 ± 11 ^{abc}	27 ± 6 ^f	68 ± 1 ^{hi}	10 ± 0 ^e
7	7,97	7,97	81	0,83 ± 0,06 ^a	1,3 ± 0,1 ^d	12 ± 3 ^{defg}	254 ± 2 ^{ab}	49 ± 10 ^{cdef}	76 ± 1 ^{ghi}	6 ± 2 ^e
8	7,97	7,97	135	0,69 ± 0,06 ^{abc}	1,3 ± 0,1 ^d	10 ± 1 ^{fg}	260 ± 23 ^a	37 ± 5 ^{ef}	91 ± 2 ^{ef}	5 ± 3 ^e
9	0	5	108	0,29 ± 0,03 ^{efg}	2,9 ± 0,5 ^{ab}	22 ± 2 ^{ab}	169 ± 14 ^{cde}	74 ± 7 ^{cde}	152 ± 2 ^a	51 ± 0 ^a
10	10	5	108	0,72 ± 0,07 ^{ab}	1,2 ± 0,1 ^d	9 ± 0 ^g	262 ± 7 ^a	47 ± 5 ^{def}	63 ± 1 ⁱ	0 ± 0 ^e
11	5	0	108	0,33 ± 0,03 ^{defg}	1,7 ± 0,2 ^{bcd}	2 ± 0 ^h	252 ± 6 ^{ab}	188 ± 8 ^a	92 ± 3 ^{def}	0 ± 0 ^e
12	5	10	108	0,71 ± 0,07 ^{abc}	2,8 ± 0,2 ^{ab}	15 ± 0 ^{cde}	169 ± 16 ^{cde}	36 ± 3 ^{ef}	127 ± 2 ^b	41 ± 1 ^{abc}
13	5	5	63	0,51 ± 0,06 ^{bcdef}	3,6 ± 0,4 ^a	19 ± 1 ^{abc}	123 ± 16 ^{def}	45 ± 2 ^{def}	111 ± 2 ^c	30 ± 3 ^{cd}
14	5	5	153	0,71 ± 0,07 ^{abc}	3,3 ± 0,2 ^a	11 ± 0 ^{defg}	155 ± 20 ^{cdef}	43 ± 8 ^{def}	90 ± 4 ^{efg}	36 ± 2 ^{bcd}
15	5	5	108	0,60 ± 0,05 ^{abcd}	2,7 ± 0,3 ^{abc}	18 ± 1 ^{bc}	116 ± 18 ^{ef}	54 ± 4 ^{cdef}	103 ± 3 ^{cde}	30 ± 1 ^{cd}
16	5	5	108	0,44 ± 0,07 ^{cdefg}	3,5 ± 0,1 ^a	18 ± 1 ^{bc}	135 ± 17 ^{def}	89 ± 4 ^c	111 ± 4 ^c	28 ± 5 ^c
17	5	5	108	0,72 ± 0,06 ^{ab}	3,0 ± 0,3 ^{ab}	15 ± 1 ^{cde}	150 ± 9 ^{def}	72 ± 8 ^{cde}	109 ± 2 ^c	26 ± 1 ^c
18	5	5	108	0,58 ± 0,06 ^{abcd}	3,5 ± 0,1 ^a	16 ± 1 ^{cd}	133 ± 11 ^{def}	34 ± 6 ^{ef}	106 ± 2 ^{cd}	34 ± 3 ^{bcd}
19	5	5	108	0,52 ± 0,05 ^{bcde}	3,0 ± 0,3 ^{ab}	18 ± 1 ^{bc}	147 ± 16 ^{def}	46 ± 4 ^{def}	80 ± 4 ^{fgh}	29 ± 4 ^{cd}

*Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de significância (p < 0,05).

Tabela 4.3 – Equações do modelo obtidas por regressões lineares múltiplas e seus valores previstos e observados para as variáveis de resposta do planejamento experimental.

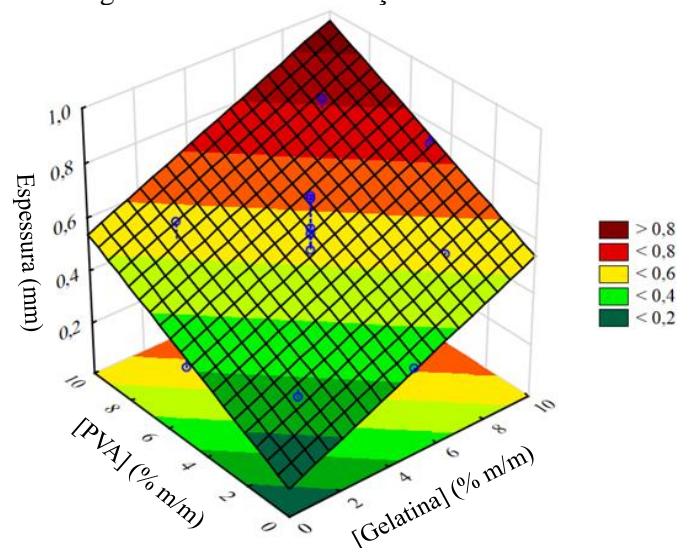
Variável de resposta	Equação do modelo	R ²	Ajust. R ²	Valor-p	Valor predito	Valor experimental	RD (%)
Espessura (mm)	$y = 0,11 + 0,04x_1 + 0,04x_2$	0,80	0,77	0,000023	0,49	$0,48 \pm 0,03$	-2,5
Tensão na ruptura (MPa)	$y = 0,50 + 0,47x_1 - 0,05x_1^2 + 0,73x_2 - 0,05x_2^2 - 0,03x_1x_2$	0,87	0,82	0,000017	3,0	$3,4 \pm 0,2$	10,9
Módulo de Young (MPa)	$y = 2,42 + 0,006x_1 + 5,33x_2 - 0,32x_2^2 - 0,21x_1x_2$	0,80	0,74	0,000003	14,5	$15,6 \pm 0,6$	7,2
Elongação na ruptura (%)	$y = 318,94 - 31,32x_1 + 3,30x_1^2 - 48,58x_2 + 3,10x_2^2 + 2,35x_1x_2$	0,91	0,87	0,000010	147	146 ± 13	-0,7
Intumescimento (2 min.) (%)	$y = 279,81 - 20,92x_1 - 49,31x_2 + 2,26x_2^2 + 2,85x_1x_2$	0,84	0,79	0,000975	71	65 ± 2	-9,9
WVPF (g d ⁻¹ m ⁻²)	$y = 150,34 - 9,06x_1$	0,75	0,74	0,000003	105	112 ± 2	6,2
Fração de gel (%)	$y = 6,87 - 1,03x_1 - 0,28x_1^2 + 10,50x_2 - 0,48x_2^2 - 0,64x_1x_2$	0,93	0,90	0,000011	27	26 ± 1	-3,8

4.2.1 Efeitos na espessura

Com base nos resultados do planejamento experimental, observou-se que a espessura alcançou valores maiores à medida que a concentração de polímeros aumentou na formulação dos filmes de hidrogel. O modelo de regressão linear é representado pela superfície de resposta linear. Isso indica que a espessura dos filmes de hidrogel foi influenciada pela concentração de gelatina e PVA e a faixa de doses de radiação UV utilizada no projeto experimental não influenciou a espessura dos filmes de hidrogel.

Na Figura 4.6 está apresentada a superfície de resposta para a espessura em função das duas variáveis independentes que apresentaram efeitos significativos nesta propriedade (concentrações de gelatina e PVA). Observou-se que a espessura dos filmes aumenta com o aumento da concentração de gelatina e com o aumento da concentração de PVA, em proporção linear. Por outro lado, a dose de radiação UV não influencia na espessura, como pode ser visto na equação do modelo e nas demais superfícies de resposta, apresentadas no Apêndice B – Figura B1.

Figura 4.6 – Superfície de resposta para o efeito das concentrações de gelatina e PVA na espessura dos filmes de hidrogel a uma dose de radiação UV constante de 108 J cm^{-2} .



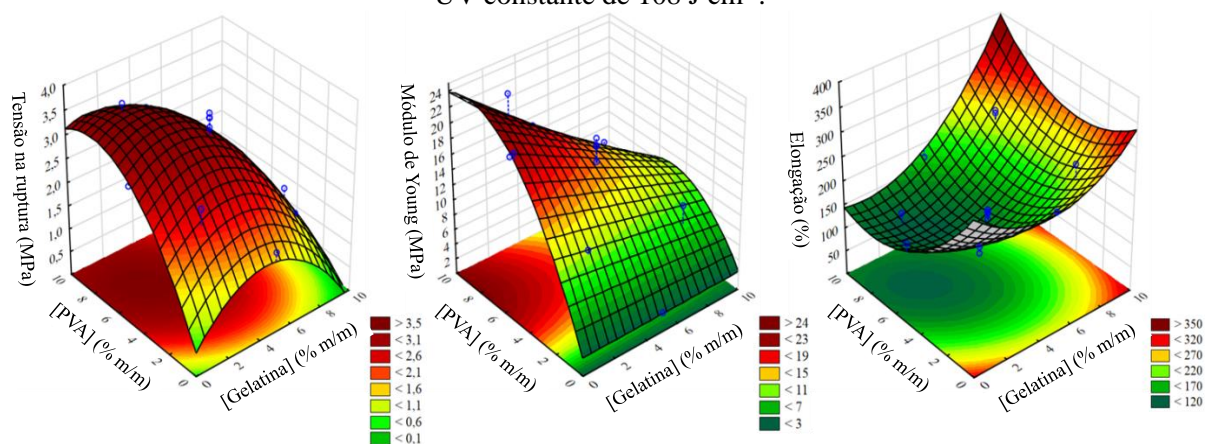
O menor valor de espessura foi obtido no experimento 2 ($0,20 \pm 0,02 \text{ mm}$), que possui cerca de 4,06 % (m/m) de polímeros, e o maior valor, no experimento 7 ($0,83 \pm 0,06 \text{ mm}$), que possui cerca de 15,94 % (m/m) de polímeros, corroborando as observações anteriores. A faixa de valores de espessura de curativos observada na literatura é bastante ampla, sendo encontrados valores na faixa de 0,03 a 1,2 mm (AHMED et al., 2020; COMOTTO et al., 2019;

DANA et al., 2013; WANG et al., 2019). Sendo assim, os valores obtidos para a espessura dos filmes de hidrogel desenvolvidos neste trabalho estão de acordo com as espessuras observadas em outros estudos para a aplicação pretendida.

4.2.2 Efeitos nas propriedades mecânicas

As superfícies de resposta obtidas para as propriedades mecânicas (tensão e alongamento na ruptura e módulo de Young) estão apresentadas na Figura 4.7. Essas superfícies de resposta foram construídas em função das variáveis ou interações independentes significativas (concentrações de gelatina e PVA). As superfícies de resposta construídas em função das diferentes doses de radiação aplicadas são apresentadas no Apêndice B – Figura B2.

Figura 4.7 – Superfícies de resposta para o efeito das concentrações de gelatina e PVA na tensão na ruptura, no módulo de Young e na alongação na ruptura dos filmes de hidrogel a uma dose de radiação UV constante de 108 J cm^{-2} .



Os valores de tensão na ruptura para os filmes de hidrogel do planejamento experimental variaram de $1,0 \pm 0,1 \text{ MPa}$ (experimento 5) a $3,7 \pm 0,1 \text{ MPa}$ (experimento 4). Os resultados demonstram que essa propriedade foi consideravelmente afetada pelas concentrações de gelatina e PVA, aumentando com o aumento da concentração de PVA e diminuindo com o aumento da concentração de gelatina. O perfil quadrático demonstrou que um valor máximo de resistência à tração pode ser alcançado e corroborou o modelo obtido. Por outro lado, a dose de radiação UV e as interações entre a dose de radiação UV e as concentrações de gelatina e PVA não mostraram efeitos significativos nesta variável de resposta. O comportamento observado para a tensão na ruptura é considerado típico de sistemas homogêneos e termodinamicamente miscíveis (SILVA et al., 2008) e são similares aos resultados obtidos por Alves et al. (2011),

que também produziram filmes de gelatina e PVA reticulados e observaram um aumento na resistência à tração de filmes à base de proteínas quando aumentaram a concentração de PVA.

A tensão é uma medida da resistência do filme relacionada à deformação plástica do material, por outro lado, o módulo de Young está relacionado à deformação elástica linear do material, sendo uma medida de sua rigidez (ATARÉS; CHIRALT, 2016; ROYLANCE, 2001). Nos resultados obtidos para os filmes de hidrogel produzidos neste trabalho, o módulo de Young variou de 2 ± 0 MPa (experimento 11) a 24 ± 2 MPa (experimento 4). O comportamento dessa propriedade foi semelhante ao da tensão na ruptura, sendo afetado pelas concentrações de gelatina e PVA e não afetado pela dose de radiação UV, exceto que o efeito da concentração de gelatina foi linear. Observou-se que os maiores valores de módulo de Young foram obtidos para as maiores concentrações de PVA na formulação. O PVA é um polímero semicristalino, podendo apresentar, ao mesmo tempo, estruturas amorfas e cristalinas. Por outro lado, a estrutura da gelatina é predominantemente amorfa, o que se deve à forma de bobina das suas moléculas. Quando a gelatina apresenta alguma cristalinidade, a estrutura cristalina se deve principalmente às zonas reticuladas (GUIRGUIS; MOSELHEY, 2012; KATO et al., 2001). Geralmente, quando ocorre um aumento na cristalinidade do material, ocorre uma diminuição na sua alongação e um aumento no módulo de Young e na resistência à tração (ROCCA-SMITH et al., 2016). Com base nisso e nos resultados obtidos, observa-se que o PVA tende a ter maior cristalinidade do que a gelatina e o aumento da concentração de PVA na formulação pode aumentar a resistência à tração e o módulo de Young e diminuir a alongação dos filmes de hidrogel produzidos.

A propriedade de alongação dos filmes de hidrogel produzidos neste trabalho variou de 96 ± 7 % (experimento 4) a 262 ± 7 % (experimento 10) e também foi influenciada pelas concentrações de gelatina e PVA utilizadas. Nesse caso, observou-se que os filmes com concentração de gelatina superior à concentração de PVA apresentaram maior alongação. A concentração de gelatina teve um efeito linear nessa propriedade, enquanto a concentração de PVA teve um comportamento quadrático.

As três propriedades mecânicas avaliadas neste trabalho (tensão e alongação na ruptura e módulo de Young) foram influenciadas pelas concentrações de gelatina e PVA e pela interação entre esses componentes. Essa interação pode ser devida principalmente aos grupos hidrofílicos (OH, NH₂) existentes nas estruturas da gelatina e do PVA, nos quais a interação entre as macromoléculas dos polímeros ocorre por ligações de hidrogênio (BERGO; MORAES; SOBRAL, 2012; THOMAZINE; CARVALHO; SOBRAL, 2006). Essa interação também pode ser influenciada pelo glicerol adicionado à formulação, uma vez que o glicerol também possui

grupos hidroxila, contudo como a concentração de glicerol foi mantida constante em todos os experimentos realizados, sua influência foi considerada similar em todas as formulações. Assim, devido ao comportamento mecânico dos filmes de hidrogel, é possível inferir que existe uma boa miscibilidade entre as moléculas de gelatina e PVA devido à interação das ligações intermoleculares de hidrogênio (PAWDE; DESHMUKH, 2008).

4.2.3 Efeitos no intumescimento

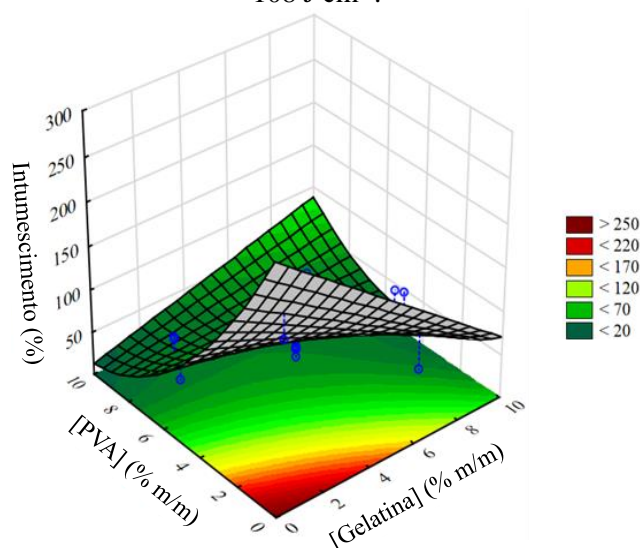
A capacidade de intumescimento dos hidrogéis é uma importante característica que permite verificar se o material é capaz de absorver os exsudatos dos ferimentos quando utilizado como curativos (MUKTAR et al., 2018). O intumescimento em um tempo fixo de 2 minutos foi escolhido para avaliar o comportamento do intumescimento de todas as formulações de filmes de hidrogel produzidas a partir do planejamento experimental. O intumescimento variou de $27 \pm 6\%$ (experimento 6) a $188 \pm 8\%$ (experimento 11) e atingiu os maiores valores nas menores concentrações de polímeros. Pela equação do modelo e pela superfície de resposta apresentada na Figura 4.8, é possível observar que a concentração de gelatina exerce influência linear, enquanto a concentração de PVA exerce influência quadrática nessa propriedade, além disso, a interação entre a gelatina e o PVA também afeta o intumescimento. A forma da superfície de resposta obtida é característica da forte interação entre os componentes poliméricos do filme de hidrogel e demonstra que o menor intumescimento pode ser atingido utilizando menores concentrações de gelatina e maiores concentrações de PVA. As demais superfícies de resposta obtidas para a propriedade de intumescimento são apresentadas no Apêndice B – Figura B3.

Teoricamente, considerando as estruturas da gelatina e do PVA, as misturas desses polímeros podem resultar em filmes com alta capacidade de absorção de água, devido à natureza hidrofílica dos polímeros (PAWDE; DESHMUKH, 2008). O que ocorre no processo de absorção de água é que as moléculas de água interagem com as macromoléculas dos grupos hidrofílicos dos polímeros por ligações de hidrogênio, resultando na absorção de água (BERGO; MORAES; SOBRAL, 2012). No entanto, o intumescimento pode estar relacionado também com a espessura dos filmes de hidrogel, conforme evidenciado por Chebil et al. (2017).

Como citado anteriormente no item 4.2.1, a espessura é totalmente dependente da concentração de polímeros e os maiores percentuais de intumescimento foram observados para os filmes com menores concentrações de gelatina e PVA e, conseqüentemente, menor espessura; o que confirma o efeito das concentrações de gelatina e PVA observadas na

propriedade de intumescimento. Avaliando estes comportamentos, em relação às ligações químicas entre a gelatina e o PVA pode-se inferir que à medida que a concentração de polímeros na formulação aumenta, o intumescimento diminui. Isso provavelmente se deve à ocorrência de ligações de hidrogênio entre a gelatina e o PVA, o que faz com que ocorra uma redução dos locais disponíveis para que ocorram ligações de hidrogênio com as moléculas de água (UBAID; MURTAZA, 2018). Portanto, o efeito da interação entre as concentrações de gelatina e PVA no intumescimento é a redução nesta propriedade, devido à ocorrência das ligações de hidrogênio evidenciadas anteriormente.

Figura 4.8 – Superfície de resposta para o efeito das concentrações de gelatina e PVA no intumescimento em 2 minutos dos filmes de hidrogel a uma dose de radiação UV constante de 108 J cm^{-2} .



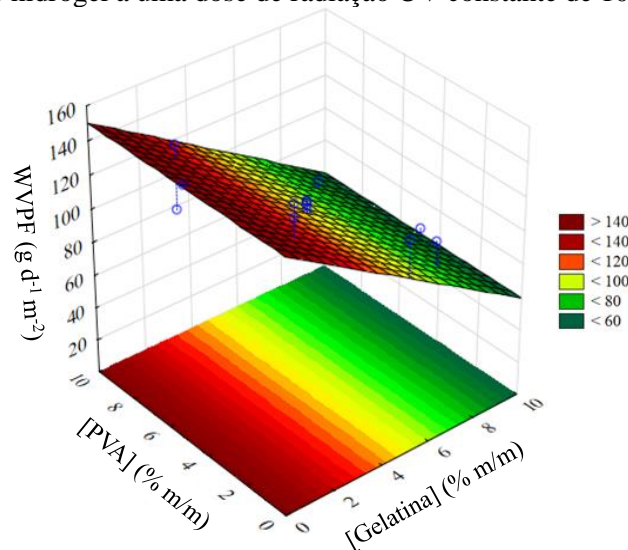
4.2.4 Efeitos no fluxo de permeação de vapor de água

O fluxo de permeação de vapor de água (WVPF) dos filmes de hidrogel produzidos variou de $63 \pm 1 \text{ g d}^{-1} \text{ m}^{-2}$ (experimento 10) a $152 \pm 2 \text{ g d}^{-1} \text{ m}^{-2}$ (experimento 9). Esta propriedade não foi significativamente influenciada pela concentração de PVA e pela dose de radiação UV, como pode ser verificado na equação do modelo e na superfície de resposta (Figura 4.9 e Apêndice B – Figura B4) obtidos. O WVPF variou de forma linear com a concentração de gelatina, o que indica que um WVPF máximo pode ser alcançado variando a concentração de gelatina. Dentro da faixa de concentração avaliada, as formulações com menores concentrações de gelatina apresentaram maior WVPF.

O WVPF depende da afinidade do filme de hidrogel com a água. Em geral, filmes à base de gelatina são sensíveis à umidade relativa do ar, o que pode resultar na absorção da umidade do ar devido ao caráter higroscópico do biopolímero (SOBRAL et al., 2011). De acordo com Silva et al. (2008) uma das alternativas para reduzir a higroscopicidade da gelatina é produzir uma blenda com PVA, visto que o PVA é menos higroscópico do que a gelatina e, assim, a mistura tende a ser menos higroscópica do que a gelatina pura. Além disso, neste trabalho foi utilizado um PVA com elevado grau de hidrólise (99 %) e sabe-se que quanto maior o grau de hidrólise do PVA, menor a higroscopicidade do polímero (MORAES et al., 2008). Todos esses fatores podem contribuir para produzir filmes de hidrogel com um WVPF adequado para a aplicação desejada.

O WVPF de um curativo deve evitar desidratação excessiva e, ao mesmo tempo, prevenir o acúmulo de exsudatos no ferimento. Em virtude disso, essa propriedade desempenha um papel importante em manter o leito da ferida úmido, pois determina a capacidade do filme de hidrogel de transmitir o vapor de água através do filme (AHMED et al., 2018; HUANG; YANG, 2008).

Figura 4.9 – Superfície de resposta para o efeito das concentrações de gelatina e PVA no WVPF dos filmes de hidrogel a uma dose de radiação UV constante de 108 J cm^{-2} .



4.2.5 Efeitos na fração de gel

A propriedade de fração de gel é uma medida que determina a extensão da reticulação das cadeias poliméricas. Portanto, quanto maior a fração de gel, maior o grau de reticulação (AHMED et al., 2018). Os resultados obtidos estão na mesma faixa dos valores encontrados

por outros autores que produziram hidrogéis à base de biopolímeros (AZAM; AMIN, 2018; MUKTAR et al., 2018; WANG et al., 2019). Em geral, espera-se que a adição de um polímero sintético à mistura polimérica aumente a fração de gel do hidrogel (BUKHARI et al., 2015; KIM et al., 2014; NAWAZ et al., 2018). No entanto, considera-se que percentuais de reticulação superiores a 30 % fazem com que os filmes de hidrogel sejam estáveis e resistentes à degradação (VAZ et al., 2003).

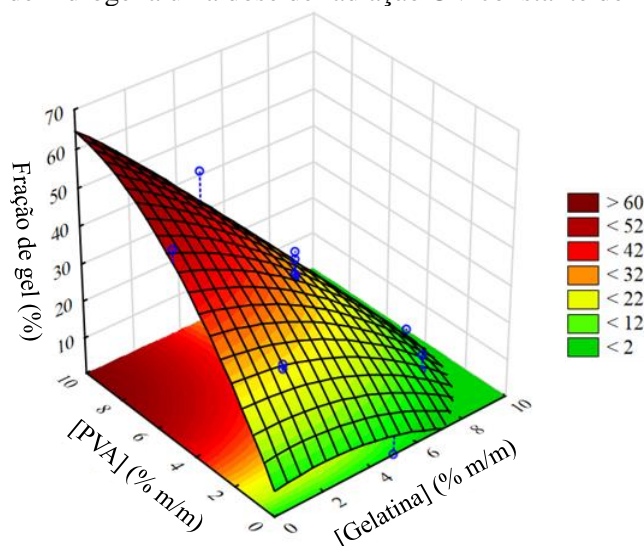
Na Figura 4.10 está apresentada a superfície de resposta para o efeito das concentrações de gelatina e PVA na fração de gel dos filmes de hidrogel produzidos. As demais superfícies de resposta obtidas para a fração de gel estão apresentadas no Apêndice B – Figura B5. Basicamente, observa-se um efeito linear da concentração de gelatina e um efeito quadrático da concentração de PVA, o que é confirmado pelo modelo de equação. A menor fração de gel, 0 %, foi obtida nas corridas 10 e 11, sendo formulações que continham elevadas concentrações de gelatina em relação à concentração de PVA. A maior fração de gel foi obtida no experimento da corrida 9 (51 ± 0 %), sendo que esses filmes foram formulados apenas com PVA.

Como ocorreu nas demais variáveis de resposta, não foi percebida influência da dose de radiação UV na reticulação dos filmes de hidrogel, levando a inferir que, considerando a faixa de dose de radiação UV utilizada no delineamento experimental, a fração de gel depende mais das concentrações de gelatina e PVA do que da dose de UV aplicada. Esse mesmo comportamento foi verificado por Kim et al. (2014) que produziram hidrogéis à base de PVA e observaram que a fração de gel dos hidrogéis aumentou levemente com o aumento da dose de radiação UV e foi mais dependente da concentração de PVA. Isso pode estar relacionado à capacidade das concentrações mais altas de PVA induzirem o aumento dos pontos de reticulação, devido a maiores emaranhados de cadeias moleculares na mistura polimérica. Além disso, aparentemente a dose de UV aplicada não foi suficiente para que ocorresse um maior número de interações do tipo ligação de hidrogênio entre as moléculas poliméricas, que resultariam em um maior grau de reticulação.

Vale ressaltar, também, que a interação entre as concentrações de gelatina e PVA pode estar afetando o grau de reticulação. Observando a equação do modelo e a superfície de resposta para a fração de gel, verifica-se que quanto maior a concentração de PVA, maior a fração de gel. Por outro lado, quando a concentração de ambos os polímeros é igual, a fração de gel diminui; e quando a concentração de gelatina aumenta, a fração de gel também reduz, sugerindo que a gelatina pode estar interferindo na reticulação do filme de hidrogel e, conseqüentemente, diminuindo a fração de gel. Portanto, a interação entre as concentrações de gelatina e PVA pode

estar afetando a reação de reticulação (AHMED et al., 2018), o que corrobora a equação do modelo para a fração de gel, onde a interação entre as concentrações de gelatina e PVA tem um efeito significativo e negativo nessa propriedade.

Figura 4.10 – Superfície de resposta do efeito das concentrações de gelatina e PVA na fração de gel dos filmes de hidrogel a uma dose de radiação UV constante de 108 J cm^{-2} .



4.3 OTIMIZAÇÃO DA FORMULAÇÃO DO FILME DE HIDROGEL

Visando otimizar uma formulação do filme de hidrogel, foi utilizada a função deseabilidade do *software Statistica*®. Os critérios considerados para otimização foram:

(1) espessura intermediária – para que o filme de hidrogel não seja muito espesso, o que pode prejudicar as propriedades da barreira, e nem muito fino, o que pode prejudicar as propriedades mecânicas;

(2) tensão na ruptura e módulo de Young intermediários e maximização da alongação – para que o filme de hidrogel possa ser utilizado como curativo confortavelmente, sendo resistente e elástico ao mesmo tempo;

(3) minimização do intumescimento – porque o tempo selecionado para esta variável de resposta do planejamento experimental é pequeno e, após um período de tempo maior do que este, os filmes de hidrogel devem ser capazes de absorver cerca de 200 % de fluidos do fermento (SHOJAEI et al., 2015);

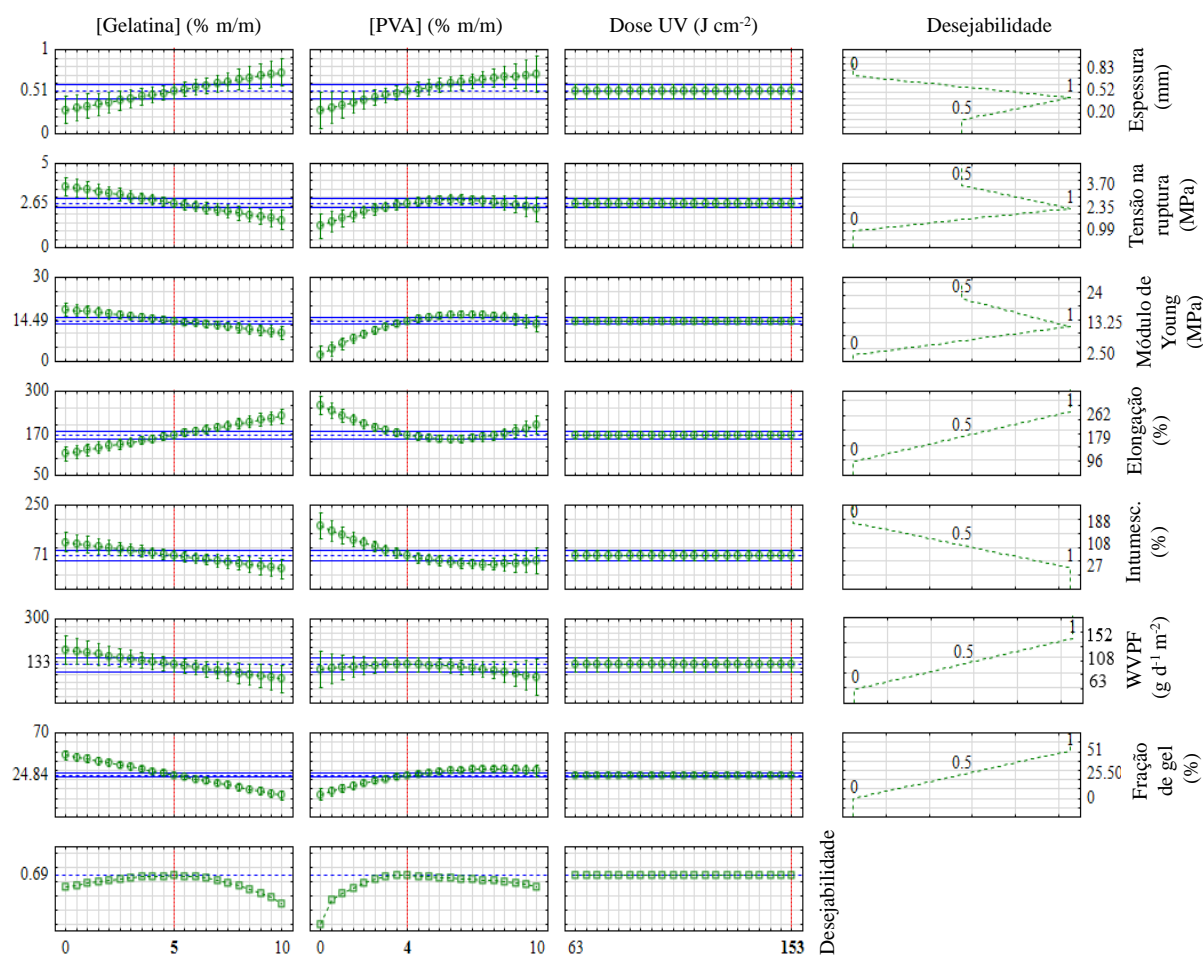
(4) maximização do fluxo de permeação de vapor de água – porque, apesar dos valores obtidos estarem na faixa encontrada em curativos comerciais para esta propriedade,

alguns autores recomendam um fluxo maior do que o obtido (MUKTAR et al., 2018; SCHMID et al., 2017; XU et al., 2016);

(5) maximização da fração de gel – buscando um filme de hidrogel estável para absorver os fluidos liberados pelos ferimentos.

Na Figura 4.11 estão mostrados os perfis obtidos pela função desejabilidade, que relaciona as variáveis de resposta às variáveis independentes do planejamento experimental e fornece as condições otimizadas de acordo com as definições relacionadas ao que é indesejável ou completamente desejável para as variáveis de resposta.

Figura 4.11 – Perfis obtidos por meio da função desejabilidade para as variáveis de resposta avaliadas no planejamento experimental. A linha vertical vermelha indica a condição ideal.



De acordo com os gráficos mostrados na Figura 4.11, a formulação otimizada pelo planejamento experimental, considerando as faixas de valores aplicadas para as variáveis independentes, deve conter 5 % (m/m) de gelatina, 4 % (m/m) de PVA e a dose de radiação UV aplicada no filme de hidrogel deve ser de 153 J cm⁻². O fato da maior dose de radiação UV

avaliada ter sido obtida na otimização da formulação do filme de hidrogel demonstra que não é possível afirmar com total certeza que esta é a dose de radiação UV que produzirá os filmes com as propriedades mais adequadas. Nestes casos, quando o extremo da faixa avaliada coincide com o valor otimizado, o ideal é que um intervalo maior seja utilizado no planejamento de experimentos. Contudo, no desenvolvimento deste trabalho, seria inviável refazer todo o planejamento experimental e decidiu-se, portanto, utilizar as concentrações de gelatina e PVA fornecidas na otimização da formulação e estudar a influência de diferentes doses de radiação UV nesta formulação, avaliando o comportamento da fração de gel destes novos filmes de hidrogel produzidos. Em decorrência disso, o filme obtido pela otimização por meio da função desejabilidade foi chamado de filme de hidrogel controle.

Os valores obtidos para as propriedades do filme de hidrogel controle estão apresentados na Tabela 4.3. Os resultados experimentais obtidos para todas as variáveis de resposta estão de acordo com os valores previstos obtidos pelas equações dos modelos. A comparação com os valores previstos pelos modelos foi realizada pelo desvio relativo (RD). O RD entre os valores previstos e observados situou-se na faixa de -11,6 a 10,9 %, o que pode indicar que, embora o coeficiente de determinação (R^2) tenha sido baixo para algumas variáveis de resposta, a modelagem estatística proposta pode ser utilizada para estudar os efeitos das variáveis utilizadas com o intuito de avaliar as propriedades dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA. Além disso, pelos resultados do planejamento experimental, foi observada uma dependência de todas as variáveis de resposta com as concentrações de gelatina e PVA e não foi identificado o efeito da dose de radiação UV nas propriedades avaliadas.

Analisando os resultados de espessura, propriedades mecânicas e intumescimento em 2 minutos e comparando-os com os resultados encontrados na literatura e com os valores observados para curativos comerciais, acredita-se que este filme de hidrogel pode ser adequado para aplicação como curativo. A espessura ($0,48 \pm 0,03$ mm), a tensão na ruptura ($3,4 \pm 0,2$ MPa), o Módulo de Young ($15,6 \pm 0,6$ MPa) e a alongação (146 ± 13 %) do filme de hidrogel controle estão de acordo com os resultados obtidos por outros autores que produziram filmes para aplicação como curativo (KAVOOSI et al., 2014; LI et al., 2018). Os curativos comercialmente disponíveis e semelhantes aos que se deseja obter neste trabalho geralmente apresentam espessura maior do que 2 mm (LEE et al., 2016; YANG; HU, 2017), sendo mais espessos do que os filmes de hidrogel encontrados na literatura (0,03 a 1,2 mm) (AHMED et al., 2020; COMOTTO et al., 2019; DANA et al., 2013; WANG et al., 2019). Quanto às propriedades mecânicas, o curativo comercial *Geliperm* apresenta tensão de 2,47 MPa e alongação de aproximadamente 300 % (KICKHÖFEN et al., 1986) estando na mesma faixa de

valores observada para outros curativos comerciais, cuja tensão vai de 0,3 a 2,4 MPa e alongação, de 180 a 1100 % (LEE et al., 2016).

O valor de tensão na ruptura do filme de hidrogel controle é ligeiramente maior do que os observados para curativos comerciais, enquanto a alongação é menor. No entanto, para aplicação como curativo, o filme de hidrogel deve ficar próximo à superfície da pele e não deve rasgar facilmente ao ser tracionado (FAN et al., 2016). O glicerol adicionado à formulação altera as propriedades mecânicas do filme, reduzindo a tensão e o módulo de Young e aumentando a alongação, além de tornar o filme de hidrogel mais confortável quando em contato com a pele, fornecendo uma sensação de aderência e permitindo maior mobilidade do curativo. Assim, aparentemente, o filme de hidrogel controle possui características que o tornam um material com potencial para ser usado como base para produção de um curativo, pois pode suportar algumas tensões de atrito durante as atividades diárias e é flexível ao mesmo tempo (PAL; BANTHIA; MAJUMDAR, 2007).

Quanto à propriedade de intumescimento, o filme de hidrogel controle foi capaz de absorver 65 ± 2 % de água em relação à sua massa inicial. Este valor é próximo ao que foi observado para o curativo *Geliperm*, que apresenta intumescimento em torno de 80 % tanto em água quanto em soluções salinas (KICKHÖFEN et al., 1986). O valor obtido também se encontra na faixa observada na literatura, de 69 a 260 %, para filmes de hidrogel de gelatina e PVA (IMTIAZ et al., 2019; PAL; BANTHIA; MAJUMDAR, 2007; PAWDE; DESHMUKH, 2008; TAREQ; HUSSEIN; MUSTAFA, 2016).

Por outro lado, os valores obtidos para fluxo de permeação de vapor de água (112 ± 2 g d⁻¹ m⁻²) e fração de gel (26 ± 1 %) foram relativamente baixos em comparação com os resultados obtidos por outros autores para a aplicação desejada (AZAM; AMIN, 2018; BUKHARI et al., 2015; KIM et al., 2014; NAWAZ et al., 2018).

Os valores de WVPF para curativos comerciais se encontram na faixa de 800 a 1200 g d⁻¹ m⁻² (LEE et al., 2016; YANG; HU, 2017). No entanto, um WVPF de aproximadamente 2000 g d⁻¹ m⁻² é recomendado para evitar a desidratação excessiva e o acúmulo de exsudatos no ferimento (MI et al., 2001; WU et al., 2004). Um baixo WVPF pode inibir a formação de crostas na ferida e facilitar a reepitelização, porém a evaporação não deve ser muito baixa para evitar infecção e a saturação do ferimento com os exsudatos produzidos. Dificilmente os curativos de hidrogéis produzidos atingem o valor recomendado para o WVPF, por isso, um bom parâmetro é que esse valor seja maior do que o da pele normal, sem injúrias, que é aproximadamente 190 g d⁻¹ m⁻² (HUANG; YANG, 2008; MI et al., 2001; YANG; HU, 2018). Neste caso, considerando o valor de WVPF obtido, o filme de hidrogel desenvolvido

apresenta propriedades oclusivas, visto que um curativo é considerado oclusivo quando seu WVPF é menor que $840 \text{ g d}^{-1} \text{ m}^{-2}$ (BOLTON; JOHNSON; RIJSWIJK, 1992). Uma explicação para o baixo valor obtido para o WVPF do filme controle é que a gelatina e o PVA são materiais hidrofílicos e interagem fortemente com as moléculas de água, o que pode causar uma redução na transmissão do vapor de água através do filme de hidrogel, porque parte da água pode ficar retida no material (AVENA-BUSTILLOS et al., 2011; MUKHERJEE et al., 2018). Isso pode ser confirmado pelo teste de intumescimento, onde é percebida a afinidade do filme de hidrogel com a água, uma vez que em apenas 2 minutos de ensaio ele absorveu 65 % de água em relação à sua massa inicial.

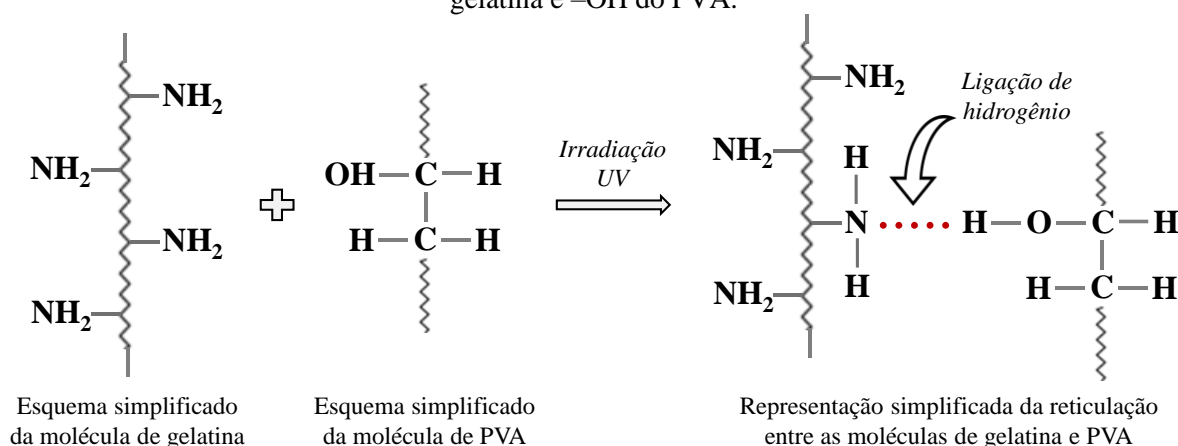
No caso da fração de gel, não são encontrados valores recomendados para essa propriedade para filmes de hidrogel que se deseja utilizar como curativos, mas sabe-se que o filme de hidrogel deve ser estável e não deve solubilizar durante a absorção de exsudatos, portanto é interessante que o filme apresente uma fração de gel maior do que a obtida para o filme de hidrogel controle. Conforme discutido anteriormente, não se identificou o efeito da dose de radiação UV nas propriedades avaliadas no planejamento experimental, indicando que a dose de radiação UV aplicada não foi suficiente para atingir maiores frações de gel. Esperava-se que o aumento da dose de radiação UV aumentasse a fração de gel do filme de hidrogel, porém esse comportamento não foi verificado. Daí a decisão de estudar outras doses de radiação UV na formulação de filme de hidrogel contendo 5 % (m/m) de gelatina e 4 % (m/m) de PVA.

A reticulação de filmes à base de polímeros naturais ou sintéticos pode ocorrer por reações entre seus grupos funcionais mais reativos, como hidroxila ($-\text{OH}$), ácido carboxílico ($-\text{COOH}$) e amina ($-\text{NH}_2$). Além disso, polímeros em solução aquosa podem formar hidrogéis se forem induzidos por radiação UV, devido à geração e recombinação de radicais livres. Além disso, a presença de água é indicada na reticulação UV de cadeias de gelatina e PVA como fonte de radicais hidroxila, necessários para a reação de reticulação (GULREZ; AL-ASSAF; PHILLIPS, 2011; HU et al., 2012; HUANG et al., 2013). Como foi evidenciado anteriormente, a gelatina parece estar prejudicando a reticulação do filme de hidrogel, devido à conformação e à complexidade da sua molécula (Figura 2.3).

Em uma reação de reticulação, são esperados basicamente dois processos distintos. O primeiro é a reticulação intermolecular, que ocorre entre diferentes moléculas poliméricas, por exemplo a reticulação entre as moléculas de gelatina e as moléculas de PVA. O segundo é a reticulação intramolecular, que é uma reticulação interna entre as moléculas de um mesmo polímero (GEBBEN et al., 1985). O mecanismo esperado de reticulação entre a gelatina e o PVA sob a ação da luz ultravioleta é mostrado na Figura 4.12 e demonstra que ocorre a

formação de uma rede física induzida por interações entre os grupos hidrofílicos (-OH e -NH₂) da gelatina, PVA e glicerol por ligações de hidrogênio (CHAIBI et al., 2015). Esse tipo de interação é considerado uma reticulação física, pois o hidrogênio atua como um elo de ligação entre os átomos com os quais interage. O hidrogel formado com ligações de hidrogênio pode ser sensível à quantidade de líquidos absorvidos, temperatura, pH, entre outros fatores. Desta forma, dependendo das condições às quais o filme hidrogel está exposto, a ligação de hidrogênio e, conseqüentemente, o hidrogel podem se desfazer.

Figura 4.12 – Esquema de reação que ilustra a reticulação física envolvendo os grupos -NH₂ da gelatina e -OH do PVA.



A formulação controle do filme de hidrogel seria eficaz o suficiente para manter um ambiente úmido e ao mesmo tempo absorver o exsudato da ferida, com base em seus resultados de intumescimento e WVPF. Além disso, as propriedades mecânicas parecem ser apropriadas para um potencial curativo. Contudo, em decorrência do baixo valor obtido para a fração de gel, serão apresentados a seguir os resultados para um estudo realizado com o objetivo de aumentar a fração de gel dos filmes de hidrogel com 5 % (m/m) de gelatina e 4 % (m/m) de PVA submetidos a diferentes doses de radiação UV.

4.3.1 Estudo da fração de gel da formulação controle

Os filmes de hidrogel compostos por 5 % (m/m) de gelatina e 4 % (m/m) de PVA foram produzidos da mesma forma que está descrito no item 3.4 e submetidos a doses de radiação UV maiores do que as aplicadas no planejamento experimental (de 216 a 5184 J cm⁻²). Na Tabela 4.4 estão apresentados os resultados da fração de gel para os filmes de hidrogel submetidos às diferentes doses de radiação UV, bem como a análise estatística utilizando teste

de Tukey para verificar a partir de qual dose de radiação UV há diferença estatística entre os valores obtidos.

Tabela 4.4 – Fração de gel dos filmes de hidrogel com 5 % (m/m) de gelatina, 4 % (m/m) de PVA e 80 % (m/m, em relação à massa de polímeros) de glicerol submetidos a diferentes doses de radiação ultravioleta.

Dose de UV (J cm⁻²)	Fração de gel (%)
216	26 ± 1 ^b
324	28 ± 2 ^b
432	28 ± 5 ^b
1296	37 ± 4 ^{ab}
2592	46 ± 2 ^a
3888	47 ± 1 ^a
5184	48,5 ± 0,3 ^a

*Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de significância ($p < 0,05$).

Com base nos resultados mostrados na Tabela 4.4, observou-se que a máxima fração de gel obtida foi de 48,5 %, porém este resultado é estatisticamente igual àqueles obtidos para os filmes submetidos a 1296, 2592 e 3888 J cm⁻² de radiação UV. Por outro lado, o filme obtido com 1296 J cm⁻² apresentou fração de gel estatisticamente igual àqueles submetidos a menores doses de radiação. Em decorrência disso, decidiu-se utilizar a dose de 2592 J cm⁻² para seguir com os experimentos, dessa forma o filme de hidrogel composto por 5 % (m/m) de gelatina, 4 % (m/m) de PVA, 80 % (m/m, em relação à massa de polímeros) de glicerol e submetido à dose de radiação UV de 2592 J cm⁻² foi considerado a formulação otimizada.

A modificação do filme controle submetendo-o a maiores doses de radiação UV objetivou aumentar a fração de gel do filme, de forma a torna-lo mais estável, principalmente ao absorver fluidos. A dose de radiação UV de 2592 J cm⁻² foi selecionada para produzir o filme otimizado por causar aumento significativo na fração de gel, confirmando o aumento da reticulação ao expor o filme de hidrogel a uma maior dose de radiação UV.

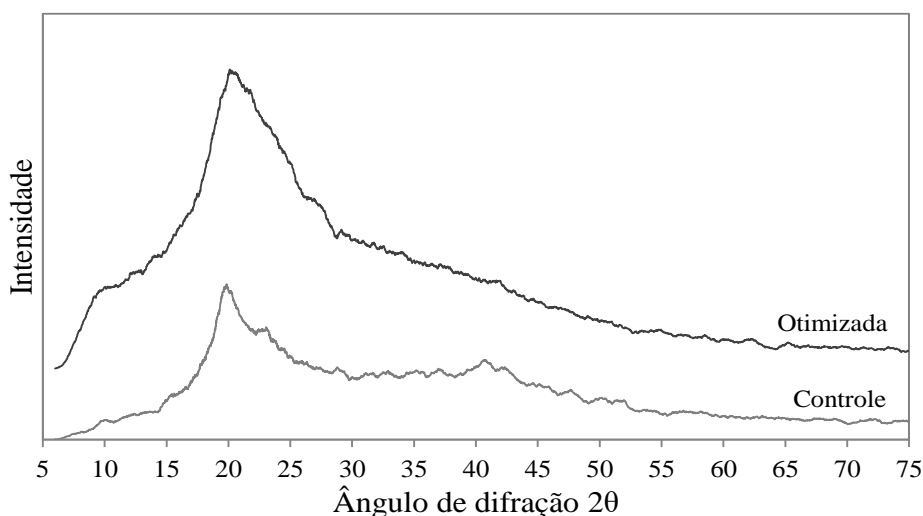
Os filmes de hidrogel controle e otimizado foram submetidos à análise de difração de raios-X com o intuito de verificar a ação das diferentes doses de radiação UV na cristalinidade dos filmes de hidrogel, sendo que essa característica também evidencia as diferenças no grau de reticulação da matriz polimérica.

4.3.2 Cristalinidade

Na Figura 4.13 estão apresentados os espectros de difração de raios-X para as amostras de filmes de hidrogel controle e otimizado. Para ambas as formulações de filmes de hidrogel foi identificado uma banda em torno de $2\theta = 19^\circ$, sendo os perfis de DRX obtidos característicos de materiais semicristalinos. Contudo, foi observada uma redução na intensidade e um alargamento desses picos, quando comparados ao padrão de DRX do PVA. Isso é devido, provavelmente, às mudanças ocorridas da estrutura do PVA, que resultaram em diminuição da sua cristalinidade em decorrência das interações intermoleculares ocorridas com a gelatina. Assim, é possível inferir que a cristalinidade dos filmes de hidrogel se deve principalmente à presença de PVA. Além disso, pode-se concluir que houve boa miscibilidade entre as moléculas de gelatina e PVA devido ao comportamento apresentado pelos espectros de difração de raios-X, que podem estar relacionados à interação das ligações intermoleculares de hidrogênio entre as moléculas dos polímeros (NAGAHAMA et al., 2009; PAWDE; DESHMUKH, 2008).

Comparando os espectros de DRX das amostras controle e otimizada dos filmes de hidrogel, pode-se observar que a banda apresentada pela amostra otimizada é mais intensa do que a apresentada pela amostra controle. O aumento da cristalinidade é confirmado pelos valores dos percentuais de cristalinidade, que foram 19 e 27 % para as amostras controle e otimizada, respectivamente. Esses resultados corroboram os resultados observados no estudo da fração de gel, nos quais se pôde inferir que houve aumento de reticulação da amostra otimizada devido à sua exposição à maior dose de radiação UV.

Figura 4.13 – Espectros de difração de raios-X para os filmes de hidrogel controle e otimizado.



*Filmes de hidrogel compostos por 5 % (m/m) de gelatina, 4 % (m/m) de PVA e 80 % (m/m, em relação à massa de polímeros) de glicerol. Filme controle submetido à 153 J cm^{-2} e filme otimizado submetido à 2592 J cm^{-2} de radiação UV.

Para analisar e comparar o comportamento dos filmes de hidrogel controle e otimizado, bem como dos filmes que contém óleos essenciais, nos próximos itens estão apresentados os resultados das análises de espessura, propriedades mecânicas, cinética de intumescimento, fluxo de permeação de vapor de água, propriedades térmicas, atividade antibacteriana e morfologia.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE HIDROGEL

Com o intuito de verificar o comportamento dos filmes de hidrogel desenvolvidos nesse trabalho em relação a diversas propriedades, os mesmos foram submetidos a outros ensaios de caracterização visando avaliar seu potencial de aplicação como curativos por meio de avaliações mais específicas deste tipo de material. Assim, nesta seção estão apresentados os resultados das caracterizações destes filmes de hidrogel controle e otimizado quanto à cinética de intumescimento, permeabilidade ao oxigênio, análise química estrutural, análises térmicas e cristalinidade. Além disso, os filmes contendo óleos essenciais foram caracterizados quanto à morfologia e quanto à atividade antibacteriana.

Cabe ressaltar que os filmes de hidrogel denominados como controle e otimizado apresentam formulações que contém 5 % (m/m) de gelatina, 4 % (m/m) de PVA e 80 % (m/m, em relação à massa de polímeros) de glicerol, diferindo entre si apenas na dose de radiação UV aplicada à amostra, que foi de 153 e de 2592 J cm⁻² para a formulação controle e para a formulação otimizada, respectivamente. Os filmes contendo OEL e OEP variam em termos de concentração de óleo essencial de 0,5 a 2 % e foram preparados utilizando o filme otimizado como base.

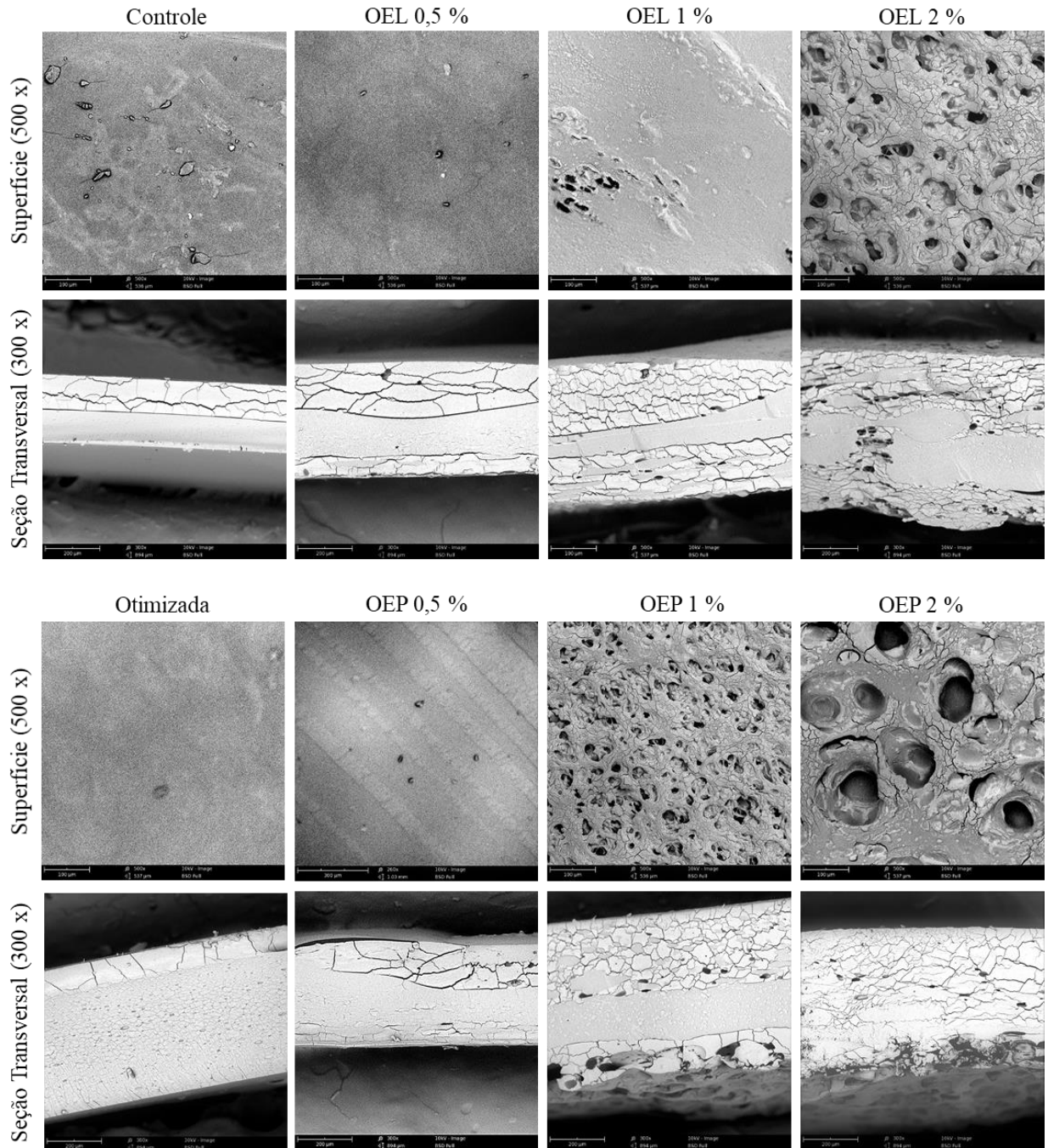
4.4.1 Análise morfológica

A superfície e a seção transversal dos filmes de hidrogel controle, otimizado e contendo óleos essenciais de lavanda e de pinheiro silvestre foram avaliadas por meio da análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV). As micrografias obtidas estão apresentadas na Figura 4.14.

Na Figura 4.14 observa-se que a superfície dos filmes de hidrogel controle e otimizado apresentam uma estrutura compacta sem a presença de poros e/ou trincas. Por outro lado, observam-se diferenças nas superfícies dos filmes de hidrogel com a incorporação de óleos essenciais. Em geral, a adição dos óleos essenciais de lavanda e de pinheiro tornou a superfície

do filme de hidrogel mais rugosa e opaca, fato que também foi evidenciado por outros autores (HOSSEINI et al., 2016; KAVOOSI et al., 2014; MARTUCCI et al., 2015).

Figura 4.14 – Micrografias de MEV da superfície e da seção transversal dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA controle, otimizado e contendo óleo essencial de lavanda (OEL) ou pinheiro silvestre (OEP).



Nos filmes de hidrogel que contêm óleos essenciais foi possível observar a formação de estruturas semelhantes a bolhas. A formação dessas estruturas, provavelmente se deve ao

rompimento da interação proteína-proteína na matriz do filme de hidrogel causada pela incorporação de óleos essenciais. A modificação das interações da rede polimérica pode ser responsável pela formação de poros à medida que a concentração de óleo essencial na matriz do filme de hidrogel aumenta, conforme pode ser observado nas imagens da superfície e também da seção transversal (HOSSEINI et al., 2016; KAVOOSI et al., 2014; TONGNUANCHAN; BENJAKUL; PRODPRAN, 2012).

Para a menor concentração de ambos os óleos essenciais (0,5 %), as gotículas de óleo ficaram bem integradas na matriz do filme de hidrogel e foram menos visíveis na superfície e na seção transversal. Além disso, as gotículas de óleo ficaram melhor distribuídas ao longo da espessura do filme de hidrogel. Assim, pode-se observar que os óleos essenciais ficaram melhor dispersos na matriz polimérica para o menor teor de óleo e a tendência de formar vazios e aumentou à medida que o teor de óleo essencial aumentou. Além disso, para as concentrações maiores dos óleos essenciais observou-se que pode estar ocorrendo floculação e coalescência durante o processo de secagem e/ou reticulação do filme (HERNÁNDEZ-LÓPEZ et al., 2019; PENG; LI, 2014; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2009).

O fenômeno de coalescência, processo pelo qual as gotículas os óleos essenciais colidem e se unem para formar uma gota maior, pode ser prevenido pelo uso do emulsificante Tween 80, que pode ser responsável pela estabilização da carga e pelas interações eletrostáticas repulsivas das gotículas. É importante manter a estrutura esférica das gotículas dos óleos essenciais, pois isso facilita a penetração do óleo na membrana da célula bacteriana e confere a atividade antibacteriana ao filme de hidrogel. Esse fator é importante, pois afeta a capacidade dos exsudatos do fermento de minimizarem o processo de colonização, organização celular e angiogênese (CHINNAIYAN et al., 2022).

As diferenças visíveis entre a microestrutura dos filmes de hidrogel contendo óleos essenciais em comparação à microestrutura dos filmes controle e otimizado pode estar associada à redução da resistência à tração, ao aumento da permeação de vapor de água e do intumescimento dos filmes contendo OEL e OEP, permitindo inferir que a estrutura dos filmes têm forte influência nas suas propriedades.

4.4.2 Propriedades físicas e mecânicas

Os resultados das propriedades físicas, como espessura e fração de gel, e das propriedades mecânicas, tensão e alongação na ruptura e módulo de Young, para todas as formulações de filmes de hidrogel, são apresentados na Tabela 4.5. Os resultados de espessura

demonstraram que nenhuma das formulações apresenta diferença significativa nessa propriedade, ou seja, as diferentes doses de radiação UV e a adição de óleos essenciais aos filmes de hidrogel não causaram diferenças na espessura. Embora diferentes concentrações de ambos os óleos essenciais tenham sido adicionadas aos filmes de hidrogel, como a mesma gramatura foi mantida, uma espessura estatisticamente igual foi obtida para todas as formulações. Esse resultado pode estar relacionado à alta concentração de polímeros na solução, o que faz com que a quantidade de óleo essencial adicionada não influencie na espessura dos filmes de hidrogel.

De acordo com Li et al. (2018) a fração de gel indica a extensão da reticulação das cadeias poliméricas no filme de hidrogel. Conforme discutido anteriormente, a dose de radiação UV foi aumentada visando aumentar a fração de gel do filme, portanto o filme controle apresenta a menor fração de gel dentre aqueles apresentados na Tabela 4.5. No entanto, a adição de 0,5 % de ambos os óleos essenciais reduziu a fração gel, em comparação com o filme otimizado. Por outro lado, a adição de 1 e 2 % de LEO e PEO demonstrou uma tendência a aumentar a fração gel. Este resultado indica que a menor concentração dos óleos essenciais pode estar impactando o processo de reticulação entre as cadeias, enquanto as maiores concentrações podem favorecer a reticulação.

Conforme exposto anteriormente, a radiação ultravioleta pode induzir a reticulação pela geração e recombinação de radicais livres da solução polimérica que é exposta à luz UV. Esses radicais livres podem reagir com os grupos mais reativos (-OH, -COOH, -NH₂) dos componentes da solução formando a rede polimérica (CHAIBI et al., 2015; GULREZ; AL-ASSAF; PHILLIPS, 2011; HU et al., 2012; HUANG et al., 2013). Desta forma, uma rede reticulada é formada pela ligação de hidrogênio entre os grupos mais reativos da gelatina, do PVA, do glicerol e dos óleos essenciais. Com isso, pode-se inferir que os óleos essenciais podem auxiliar no processo de reticulação do material.

Wu et al. (2014) desenvolveram filmes de gelatina e quitosana incorporados com óleo essencial de orégano e observaram que a fração de gel foi reduzida quando concentrações superiores a 3 % (m/m) foram adicionadas ao filme. Kavooosi et al. (2014) produziram filmes de hidrogel de gelatina e PVA incorporados com 10 % (m/m) de óleo essencial de *Zataria multiflora* e observaram que essa concentração de óleo essencial aumentou significativamente a solubilidade dos filmes de hidrogel em comparação ao filme de hidrogel sem óleo essencial, indicando uma redução na fração de gel. Considera-se que hidrogéis com graus de reticulação superiores a 30 % são estáveis e resistentes à degradação (VAZ et al., 2003), portanto as frações

de gel dos filmes de hidrogel obtidos no presente trabalho são satisfatórias e fazem com que os filmes sejam estáveis para a aplicação como curativos.

Tabela 4.5 – Propriedades físicas (espessura e fração de gel) e mecânicas (tensão e alongação na ruptura e módulo de Young) dos filmes de hidrogel controle e otimizado e dos filmes contendo diferentes concentrações de óleos essenciais de lavanda (OEL) ou pinheiro silvestre (OEP).

Amostra	Espessura (mm)	Fração de Gel (%)	Tensão na Ruptura (MPa)	Módulo de Young (MPa)	Elongação na Ruptura (%)
Controle	0,48 ± 0,03 ^a	26 ± 2 ^d	3,4 ± 0,2 ^a	15,6 ± 0,3 ^a	146 ± 6 ^a
Otimizada	0,51 ± 0,02 ^a	45 ± 1 ^b	3,2 ± 0,2 ^a	15,3 ± 0,3 ^a	147 ± 6 ^a
OEL 0,5 %	0,55 ± 0,03 ^a	34 ± 1 ^c	2,1 ± 0,2 ^b	4,5 ± 0,1 ^{bc}	91 ± 14 ^b
OEL 1 %	0,62 ± 0,02 ^a	44 ± 1 ^b	1,3 ± 0,1 ^{bc}	3,8 ± 0,3 ^c	82 ± 6 ^b
OEL 2 %	0,64 ± 0,02 ^a	46 ± 1 ^b	1,4 ± 0,1 ^{bc}	4,6 ± 0,1 ^{bc}	89 ± 9 ^b
OEP 0,5 %	0,60 ± 0,04 ^a	35 ± 1 ^c	1,9 ± 0,2 ^{bc}	6,4 ± 0,4 ^b	106 ± 8 ^{ab}
OEP 1 %	0,52 ± 0,02 ^a	44 ± 1 ^b	1,1 ± 0,1 ^c	3,1 ± 0,2 ^c	106 ± 7 ^{ab}
OEP 2 %	0,61 ± 0,04 ^a	50 ± 0 ^a	1,9 ± 0,3 ^{bc}	4,9 ± 0,6 ^{bc}	93 ± 7 ^b

*Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de significância ($p < 0,05$). Filmes de hidrogel compostos por 5 % (m/m) de gelatina, 4 % (m/m) de PVA e 80 % (m/m, em relação à massa de polímeros) de glicerol. Filme controle submetido à 153 J cm⁻² e filme otimizado submetido à 2592 J cm⁻² de radiação UV.

Na Tabela 4.5 estão apresentados, também, os resultados das propriedades mecânicas dos filmes de hidrogel controle e otimizado e dos filmes contendo 0,5, 1 e 2 % de OEL e OEP. Resistência mecânica e flexibilidade são características necessárias para filmes de hidrogel cuja aplicação pretendida é como curativo. Essas propriedades permitem manter a integridade do curativo e facilitam a adaptação do mesmo a superfícies irregulares de lesões cutâneas (SCHAEFER et al., 2020). Observou-se que as propriedades mecânicas não foram afetadas pelas diferentes doses de radiação UV aplicadas aos filmes controle e otimizado, no entanto tais características foram afetadas pelo tipo e pela concentração dos óleos essenciais adicionados aos filmes. Além disso, a presença de óleos essenciais causou uma redução nos valores de tensão na ruptura, alongação na ruptura e módulo de Young dos filmes de hidrogel, provavelmente devido às descontinuidades estruturais induzidas pela incorporação do óleo na matriz polimérica.

A resistência à tração e o módulo de Young dos filmes de hidrogel variaram de 1,1 a 3,4 MPa e de 3,1 a 15,6 MPa, respectivamente. Observou-se uma diminuição significativa da tensão na ruptura e do módulo de Young com a adição dos óleos essenciais, o que indica que houve a formação de filmes de hidrogel menos rígidos. Conforme discutido anteriormente, as

ligações originais e/ou interações entre as cadeias poliméricas podem ser substituídas por novas ligações ou interações entre as moléculas do polímero e os componentes do óleo essencial. Essas substituições podem ser responsáveis pelo aumento da flexibilidade e pela diminuição da rigidez dos filmes de hidrogel, reduzindo os valores de tensão na ruptura e módulo de Young (HOSSEINI et al., 2016; KAVOOSI et al., 2017). Um comportamento de redução na tensão na ruptura de filmes à base de gelatina quando incorporados com diferentes tipos de extratos foi verificado, também, por outros autores (KAVOOSI et al., 2017; LI et al., 2014; MARTUCCI et al., 2015; PENG; LI, 2014; TONGNUANCHAN; BENJAKUL; PRODPRAN, 2012).

A elongação na ruptura é uma medida da elasticidade dos filmes (HOSSEINI et al., 2016). Esperava-se que a adição de óleos essenciais aumentasse a deformação dos filmes de hidrogel, devido à natureza química de seus componentes que podem causar efeito plastificante (HOSSEINI et al., 2016; TONGNUANCHAN; BENJAKUL; PRODPRAN, 2012). No entanto, notou-se uma redução na elongação para todas as amostras contendo óleos essenciais, em comparação com as amostras controle e otimizada. Esta propriedade variou entre 82 e 147 % e resultados semelhantes foram observados por outros autores. Uma possível explicação para a redução da elongação é que a incorporação de óleos essenciais às matrizes poliméricas pode resultar na expansão de uma estrutura heterogênea do filme, como pode ser evidenciado nas imagens de MEV, observando as estruturas em forma de bolhas formadas. Essas descontinuidades ou irregularidades na matriz reduzem o alongamento do filme, fazendo com que seu rompimento seja mais rápido do que nos filmes que não contêm óleos, o que reduz a elongação (AHMAD et al., 2012; LI et al., 2014; MARTUCCI et al., 2015).

As propriedades mecânicas dos filmes de hidrogel encontradas neste trabalho demonstram que eles são adequados para aplicação como curativos, pois são semelhantes aos apresentados pelos curativos comerciais. Lee et al. (2016) avaliaram as propriedades mecânicas de curativos comerciais compostos de espuma à base de poliuretano em forma de filmes e encontraram valores de resistência à tração variando de 0,1 a 2,5 MPa e percentual de elongação variando entre 180 e 428 %. Todos os filmes contendo óleos essenciais obtidos nesse estudo apresentaram tensão na ruptura na faixa dos curativos comerciais. O percentual de elongação dos filmes desse trabalho ficou menor do que os apresentados por curativos comerciais, no entanto, ainda se encontra na faixa observada por outros autores para filmes de hidrogel à base de gelatina e/ou PVA (LI et al., 2018; TAVAKOLI; MIRZAEI; TANG, 2018; THANGPRASERT et al., 2019).

4.4.3 Cinética de intumescimento

A cinética de intumescimento dos filmes de hidrogel é uma característica importante que deve ser avaliada em filmes hidrofílicos para aplicações biomédicas, principalmente quando se trata da aplicação como curativos. Isso se deve ao fato de que esta propriedade determina a capacidade dos filmes de absorverem os exsudatos, evitando a maceração do ferimento (STEFANOV et al., 2018; WANG et al., 2019). A propriedade de intumescimento de filmes de hidrogel pode ser influenciada por diversos fatores, tais como a higroscopicidade dos materiais, o tipo e o grau de reticulação, a temperatura e o valor de pH do ambiente, dentre outros (NGUYEN; LIU, 2013). Sabe-se que uma alta capacidade de intumescimento pode causar ressecamento da ferida, no entanto uma certa quantidade de umidade é necessária para auxiliar na cicatrização do ferimento (SHOJAEI et al., 2015).

Dessa forma, o comportamento do intumescimento em função do tempo foi avaliado em água destilada e em solução que simula os exsudatos liberados pelo ferimento. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 4.15. A absorção mais acentuada no início do experimento pode estar relacionada à forte ligação da água ao biopolímero. Ou seja, no início da hidratação, a água se liga fortemente aos grupos hidroxila da matriz polimérica e ocupa, também, espaços da rede reticulada que podem atrair e acomodar moléculas de água. Devido a isso, grande parte dos locais disponíveis para absorção de água é preenchido logo no início do processo de intumescimento e, à medida que a força de retração elástica da rede impede que o filme atinja proporções maiores, o intumescimento tende a atingir o equilíbrio (BERGO; MORAES; SOBRAL, 2012; UTTAYARAT et al., 2019).

Os resultados apresentados na Figura 4.15 (a.1, b.1 e c.1), permitem observar que a absorção de água do filme de hidrogel controle atingiu o equilíbrio em torno de 270 %, após 1 hora. O filme de hidrogel otimizado absorveu em torno de 260 % de água e atingiu o equilíbrio após 3 horas. Isso demonstra as diferenças na rede do filme de hidrogel em decorrência do aumento do percentual de reticulação. Quanto maior a reticulação do filme, mais próximas se encontram as cadeias poliméricas, o que pode reduzir os espaços vazios existentes para o preenchimento com água e, conseqüentemente, reduzir o intumescimento (GHORPADE et al., 2018). Esse fator também pode estar relacionado à mobilidade das cadeias poliméricas no filme de hidrogel. Quanto menor o grau de reticulação do material, maior a mobilidade e a elasticidade das cadeias e maior a facilidade com que a água penetra no filme de hidrogel, pois os espaços onde a água pode se alocar são maiores do que em um material com elevado grau de reticulação. Por outro lado, o aumento no grau de reticulação diminui a mobilidade das

cadeias na estrutura do hidrogel, levando a uma redução no intumescimento (HAUGEN et al., 2020; THANGPRASERT et al., 2019). Com base nisso, acredita-se que o maior tempo necessário para atingir o equilíbrio nos filmes com maior grau de reticulação se deve à maior dificuldade que as moléculas de água encontram para acessarem os espaços vazios do filme, tornando o processo de intumescimento mais lento.

Figura 4.15 – Cinética de intumescimento dos filmes de hidrogel controle, otimizado e contendo óleos essenciais de lavanda (OEL) ou pinheiro silvestre (OEP) em água destilada (a.1, b.1 e c.1) e em solução que simula exsudato de ferida (a.2, b.2, c.2).



*Filmes de hidrogel compostos por 5 % (m/m) de gelatina, 4 % (m/m) de PVA e 80 % (m/m, em relação à massa de polímeros) de glicerol. Filme controle submetido à 153 J cm⁻² e filme otimizado submetido à 2592 J cm⁻² de radiação UV.

Além disso, observa-se que o intumescimento dos filmes de hidrogel controle e otimizado na solução que simula exsudato foi menor do que em água destilada. Isto ocorre

porque em meio aquoso, o intumescimento depende primordialmente do grau de reticulação, mas em soluções salinas o comportamento depende também de outros fatores, como a pressão osmótica (BAKRAVI et al., 2018). Neste contexto, Bakravi et al. (2018) e Rashidzadeh et al. (2014) observaram que a absorção de soluções salinas por hidrogéis foi significativamente menor do que a absorção de água pelos mesmos materiais. De acordo com os autores, esse fenômeno pode ser explicado pela pressão osmótica e pela mobilidade da rede do hidrogel. A pressão osmótica resulta da diferença entre a concentração de íons na matriz do filme de hidrogel e na solução na qual ele está submerso. Quando a força iônica da solução salina aumenta, o intumescimento dos filmes de hidrogel diminui, visto que ocorre uma redução na diferença de pressão osmótica entre o hidrogel e a solução.

Para os experimentos realizados com a solução que simula os exsudatos do ferimento (Figura 4.15 (a.2, b.2 e c.2)), observou-se que o percentual de intumescimento no equilíbrio para o filme controle foi de aproximadamente 70 % e, para o filme otimizado, 60 %. Em ambos os casos o equilíbrio foi atingido após 120 minutos. Da mesma forma que ocorreu na análise feita com água destilada, o filme otimizado absorveu um percentual menor de líquidos do que o filme controle. Este comportamento pode ser devido ao filme otimizado apresentar uma rede polimérica mais reticulada e, conseqüentemente, mais fechada, o que pode reduzir a absorção dos líquidos, conforme discutido anteriormente.

Em relação aos filmes contendo OEL e OEP, de maneira geral, esperava-se que a adição de óleo essencial a uma matriz polimérica hidrofílica diminuísse sua hidrofiliçidade, conseqüentemente reduzindo a capacidade de intumescimento, porém, isso não foi observado no presente trabalho. Tanto para os testes de intumescimento em água quanto em solução que simula exsudato, os filmes de hidrogel contendo OEL e OEP absorveram mais fluidos do que os filmes controle e otimizado. Uma possível explicação para isso é que as quantidades de óleo essencial adicionadas aos filmes de hidrogel não foram suficientes para reduzir sua hidrofiliçidade, no entanto, os óleos essenciais alteraram a estrutura física dos filmes de hidrogel, criando vazios (conforme observado na análise de MEV). Esses vazios podem ter permitido uma maior absorção de fluidos em comparação com os filmes controle e otimizado.

As amostras contendo óleos essenciais, OEL 0,5 %, OEL 1 %, OEL 2 %, OEP 0,5 %, OEP 1 % e OEP 2 %, respectivamente, absorveram 290 ± 4 , 337 ± 6 , 362 ± 6 , 283 ± 8 , 300 ± 7 , e 247 ± 4 % de água e 292 ± 9 , 273 ± 2 , 248 ± 7 , 284 ± 9 , 263 ± 7 , e 195 ± 4 % de solução que simula o exsudato da ferida após 4 horas do ensaio, não sendo possível afirmar que esses filmes atingiram o equilíbrio de absorção. Para a maioria das amostras, a absorção de água foi maior que a absorção de solução de exsudato. Conforme comentado, além das modificações

estruturais causadas pela adição de óleo essencial ao filme, em ambientes aquosos o intumescimento depende principalmente do grau de reticulação, mas em soluções salinas, o inchaço pode depender da pressão osmótica e da elasticidade da rede do filme de hidrogel (BAKRAVI et al., 2018; RASHIDZADEH et al., 2014).

4.4.4 Propriedades de barreira

A permeabilidade ao vapor de água (WVP), o fluxo de permeação de vapor de água (WVPF) e a permeabilidade ao oxigênio dos filmes de hidrogel controle, otimizado e daqueles contendo óleos essenciais estão apresentados na Tabela 4.6.

Tabela 4.6 – Permeabilidade ao vapor de água (WVP), fluxo de permeação de vapor de água (WVPF) e permeabilidade ao oxigênio dos filmes de hidrogel controle, otimizado e contendo óleos essenciais de lavanda (OEL) ou pinheiro silvestre (OEP).

Amostra*	WVP (g mm h ⁻¹ m ⁻² kPa ⁻¹)	WVPF (g d ⁻¹ m ⁻²)	Permeabilidade ao O ₂ (Barrer**)
Controle	1,88 ± 0,03 ^b	112 ± 2 ^{cd}	0,44 ± 0,08 ^{cd}
Otimizada	0,92 ± 0,01 ^d	94 ± 1 ^d	0,38 ± 0,06 ^d
OEL 0,5 %	1,43 ± 0,03 ^c	113 ± 2 ^{cd}	0,97 ± 0,05 ^a
OEL 1 %	2,1 ± 0,1 ^{ab}	144 ± 8 ^b	0,74 ± 0,05 ^{abc}
OEL 2 %	2,25 ± 0,03 ^a	172 ± 2 ^a	0,76 ± 0,08 ^{ab}
OEP 0,5 %	1,93 ± 0,06 ^b	154 ± 4 ^{ab}	0,43 ± 0,08 ^{bcd}
OEP 1 %	1,34 ± 0,04 ^c	123 ± 3 ^c	0,39 ± 0,01 ^d
OEP 2 %	1,56 ± 0,06 ^c	114 ± 3 ^{cd}	0,52 ± 0,05 ^{bcd}

*Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade ($p < 0,05$). Filmes de hidrogel compostos por 5 % (m/m) de gelatina, 4 % (m/m) de PVA e 80 % (m/m, em relação à massa de polímeros) de glicerol. Filme controle submetido à 153 J cm⁻² e filme otimizado submetido à 2592 J cm⁻² de radiação UV

** Barrer = Unidade de medida para permeabilidade gasosa. 1 Barrer = 1 x 10⁻¹⁰ cm³(CPTP) cm s⁻¹ cm⁻² cmHg⁻¹

Em relação às propriedades de barreira ao vapor de água, o WVP do filme controle foi significativamente maior do que o do filme otimizado. Isso indica que a maior dose de reticulação aplicada ao filme otimizado modificou sua estrutura de forma a reduzir a passagem das moléculas de vapor de água através do mesmo. No entanto, quando é considerado o fluxo de permeação de vapor de água, observa-se que os valores de WVPF para os filmes controle e otimizado são estatisticamente iguais. Observa-se que tanto o WVP quanto o WVPF aumentaram significativamente com a adição dos óleos essenciais, apresentando uma tendência ascendente com o aumento da concentração de óleo essencial de lavanda e uma tendência

descendente com o aumento da concentração de óleo essencial de pinheiro silvestre. Isso pode ser devido às diferenças nos componentes dos óleos essenciais, que possuem grupos funcionais distintos, fazendo com que o vapor de água interaja de maneira distinta nos filmes contendo OEL e OEP. Li et al. (2022) prepararam filmes de policaprolactona contendo linalol e observaram um aumento da permeabilidade ao vapor de água com o aumento da concentração desse composto nos filmes. Como ocorreu neste trabalho, o principal constituinte do óleo essencial de lavanda parece promover o aumento da WVP. Por outro lado, o principal constituinte do óleo essencial de pinheiro silvestre (α -pineno) parece reduzir a permeabilidade ao vapor de água conforme sua concentração aumenta. Por fim, pode-se inferir que a WVP e o WVPF dos filmes são afetados pela combinação de alguns fatores, como o equilíbrio entre a hidrofobicidade e hidrofiliabilidade de todos os componentes presentes na mistura e também de mudanças estruturais, como, por exemplo, a criação de poros, que podem ser causadas nos filmes com a adição de óleos essenciais (KAVOOSI; DADFAR; PURFARD, 2013; LI et al., 2022).

Gelatina, PVA e glicerol são materiais que apresentam características hidrofílicas e que podem interagir com moléculas de água, causando redução na transmissão de vapor de água através do filme, visto que essas moléculas podem ficar retidas na rede polimérica em vez de passar através dela (KAVOOSI et al., 2014; MUKHERJEE et al., 2018). A incorporação de óleo essencial em filmes à base de gelatina e PVA pode alterar a transmissão de vapor de água, devido ao caráter hidrofóbico do óleo essencial. A ligação de hidrogênio original formada entre as cadeias de gelatina, PVA e glicerol pode ser substituída por novas ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila dos polímeros e óleos essenciais. Este fenômeno pode ser responsável por um aumento na distância entre as cadeias poliméricas e pode dificultar as interações entre as cadeias poliméricas e as moléculas de vapor de água. Assim, a absorção de moléculas de água, induzida pelo caráter hidrofílico da gelatina e do PVA, diminui e a transmissão de vapor de água através das amostras do filme aumenta (KAVOOSI et al., 2014, 2017).

A permeabilidade ao oxigênio é uma característica importante para materiais destinados à aplicação como curativos, pois uma elevada transmissão de vapor pode promover o ressecamento do ferimento, produzindo escaras, enquanto uma baixa transmissão de vapor pode levar ao acúmulo de exsudatos que podem prejudicar o processo de cicatrização e aumentar o risco de infecções bacterianas (MUKHERJEE et al., 2018). O oxigênio é essencial para a cicatrização de ferimentos. Sabe-se que uma quantidade adequada de oxigênio permeando pelo curativo pode auxiliar na homeostase tecidual, manutenção da membrana celular, função mitocondrial e reparo celular; enquanto que uma baixa concentração de oxigênio

no fermento diminui a regeneração das células e tecidos e pode propiciar a proliferação de bactérias anaeróbias (FEIZ; NAVARCHIAN; JAZANI, 2018; ZHANG et al., 2015).

Em relação à permeabilidade ao oxigênio dos filmes controle e otimizado, observa-se que os resultados obtidos são estatisticamente iguais ($p < 0,05$), isto indica que o aumento no percentual de reticulação da amostra otimizada não dificultou a permeação de gás oxigênio através do filme. A adição do óleo essencial de lavanda aos filmes de hidrogel causou um aumento na permeabilidade ao oxigênio enquanto a adição do óleo essencial de pinheiro silvestre não causou um efeito significativo. Os óleos essenciais provocaram alterações na estrutura física dos filmes de hidrogel, como pode ser observado nas imagens de MEV (Figura 4.14). Essas mudanças parecem resultar no aparecimento de alguns vazios na estrutura dos filmes, no entanto, o OEL parece estar melhor disperso e pode ter criado uma maior quantidade de microvazios do que o OEP, aumentando a permeabilidade ao oxigênio desses filmes.

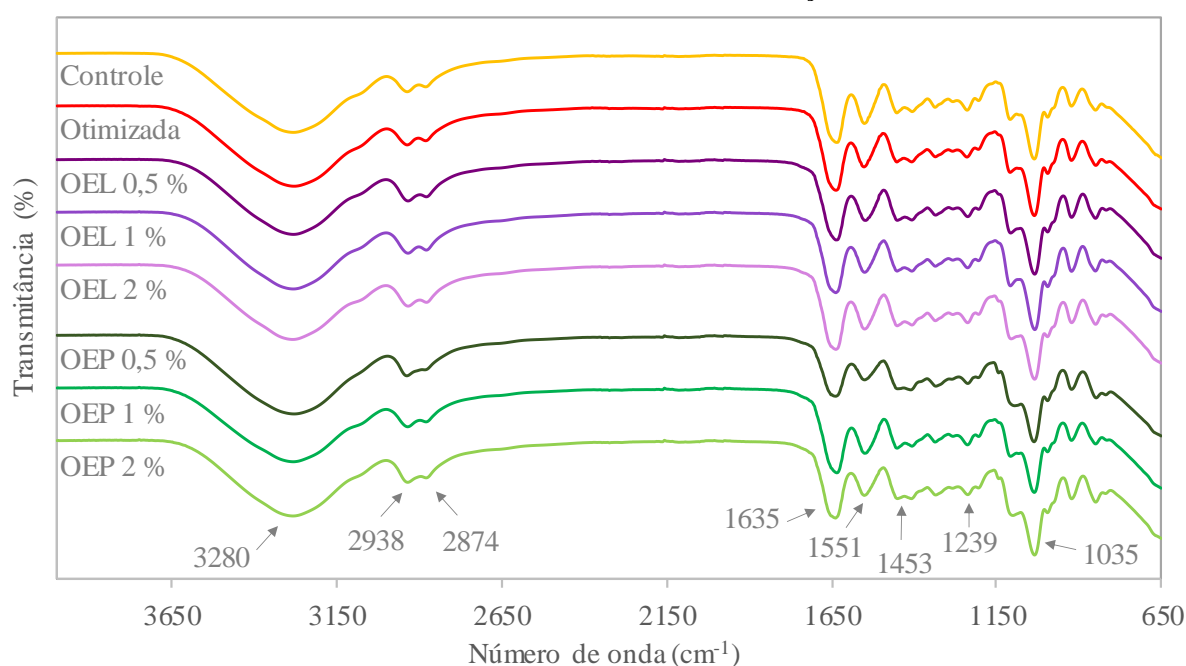
Os valores de permeabilidade ao oxigênio encontrados neste trabalho estão na mesma faixa de valores relatados por outros autores (AYCAN et al., 2019; FEIZ; NAVARCHIAN; JAZANI, 2018). É importante enfatizar que a permeabilidade ao oxigênio aumenta com o aumento de líquidos dentro da estrutura do filme de hidrogel, ou seja, à medida que o filme absorve os exsudatos do fermento, conforme evidenciado por Demianenko et al. (2016). Esses autores observaram que conforme aumenta o teor de água do filme de hidrogel, aumenta a sua permeabilidade ao oxigênio. Isso ocorre em virtude do papel desempenhado pela água na difusão do oxigênio através da rede polimérica, pois existe uma hipótese de que as moléculas de oxigênio primeiramente se dissolvem na água e, após isso, se movem dentro do hidrogel com suas moléculas de solvência, isto é, as moléculas de água.

4.4.5 Análise química estrutural

Os espectros obtidos pelo ensaio de FTIR para os filmes de hidrogel controle, otimizado e para os filmes contendo óleos essenciais estão apresentados na Figura 4.16. Basicamente, nos espectros de todos os filmes de hidrogel foram identificadas as mesmas bandas presentes nos espectros da gelatina, do PVA e do glicerol puros. Em relação aos filmes controle e otimizado, não foi possível observar diferenças expressivas nos espectros obtidos para ambas as amostras em função das diferentes doses de radiação UV aplicadas, exceto pela variação na intensidade de algumas bandas. Isto pode indicar que a dose de radiação UV utilizada não induziu a formação de ligações covalentes de reticulação, sendo as ligações produzidas apenas de natureza física e mais fracas do que as ligações covalentes. Além disso,

também é possível inferir que não houve degradação das amostras devido à dose de radiação UV aplicada (BENBETTAÏEB et al., 2016). Em todos os espectros, em geral, não foram observadas modificações expressivas nas bandas observadas, indicando que não foram formadas novas ligações, mas a intensidade das bandas variou com a adição de óleos essenciais em comparação ao filme de hidrogel otimizado. Comportamento semelhante foi observado por Tongnuanchan et al. (2016) que produziram filmes à base de gelatina contendo óleos essenciais de citronela e manjeriço.

Figura 4.16 – Espectros de FTIR obtidos para os filmes de hidrogel controle, otimizado e contendo óleos essenciais em diferentes concentrações.



*Filmes de hidrogel compostos por 5 % (m/m) de gelatina, 4 % (m/m) de PVA e 80 % (m/m, em relação à massa de polímeros) de glicerol. Filme controle submetido à 153 J cm^{-2} e filme otimizado submetido à 2592 J cm^{-2} de radiação UV.

Observa-se que os espectros dos filmes que contêm óleos essenciais são muito semelhantes aos dos filmes controle e otimizado, isso pode ser devido à pequena quantidade de óleos essenciais presentes nos filmes, que não influenciou nos espectros obtidos. Sendo assim, é possível inferir que a banda encontrada em 3280 cm^{-1} corresponde tanto ao alongamento do grupo N-H da amida secundária, encontrada na molécula de gelatina, quanto ao alongamento das hidroxilas encontradas nas moléculas de gelatina, PVA e glicerol. As bandas observadas em 2938 e 2874 cm^{-1} estão relacionadas ao alongamento da ligação C-H, presente nas moléculas de gelatina, PVA e glicerol e podem ser devidas, também, ao alongamento dos grupos metil ($-\text{CH}_3$) e metileno ($-\text{CH}_2-$) encontrados em alguns componentes dos óleos essenciais. As demais bandas foram identificadas da seguinte forma: 1635 cm^{-1} (alongamento

de C=O da amida primária); 1551 cm^{-1} (flexão de C-H e N-H da amida secundária); 1453 cm^{-1} (flexão de C-H, -CH₂- e -CH₃); 1336 cm^{-1} (vibração de balanceamento fora do plano de C-H); 1239 cm^{-1} (alongamento de C-H e N-H da amida terciária); 1108 a 1035 cm^{-1} (alongamento dos grupos C-O dos álcoois primários); 922 cm^{-1} (balanceamento da ligação CH₂) e 849 cm^{-1} (alongamento da ligação C-C) sendo que as vibrações observadas na região de 900 a 700 cm^{-1} representam as deformações devido à presença de cânfora ou à flexão de grupos aromáticos (HERNÁNDEZ-LÓPEZ et al., 2019; JIPA et al., 2012; SOFI et al., 2019; TAREQ; HUSSEIN; MUSTAFA, 2016; THANGPRASERT et al., 2019).

As diferenças na intensidade de absorção de algumas bandas observadas nos espectros de FTIR podem ser dependentes de vários fatores, como o teor de umidade, topologia da superfície da amostra e índice de difração das amostras que contribuem para a profundidade de penetração e ângulo do feixe infravermelho (TONGNUANCHAN et al., 2016). Portanto, a partir dos resultados obtidos não se pode afirmar que a presença dos óleos essenciais de lavanda e pinheiro influenciou na interação molecular das cadeias poliméricas na matriz do filme.

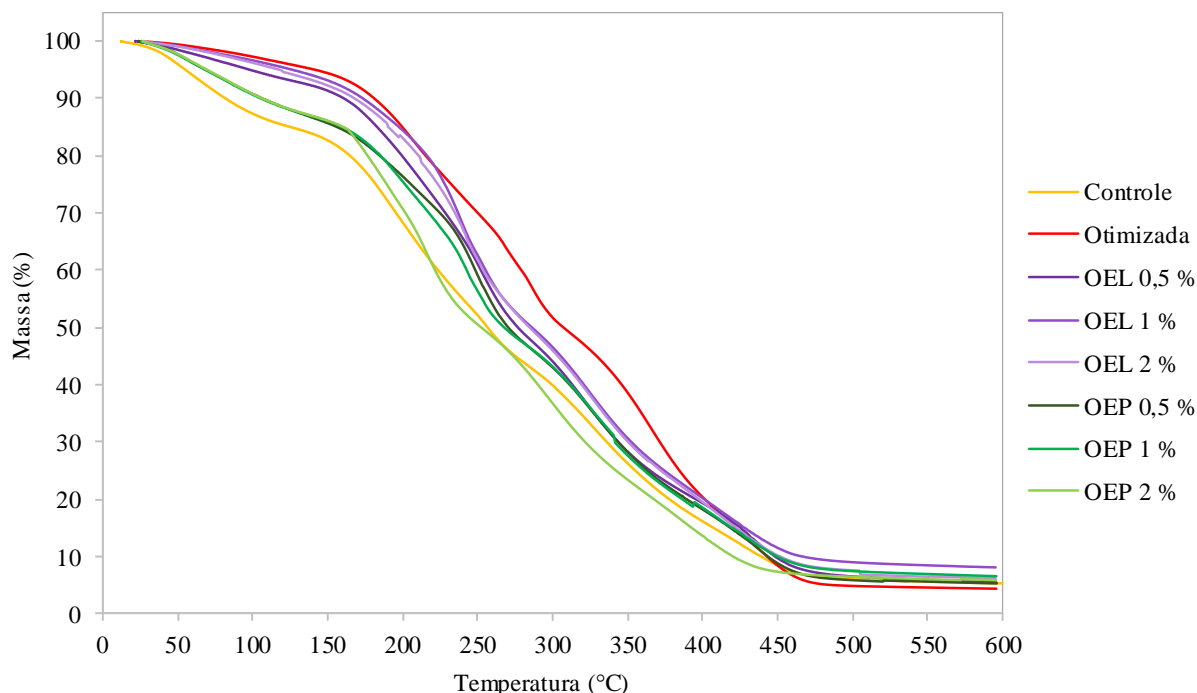
4.4.6 Análises térmicas

Nesta seção são apresentados os resultados das análises térmicas realizadas por meio de TGA e DSC para os filmes de hidrogel controle, otimizado e para os filmes otimizados contendo óleos essenciais de lavanda e de pinheiro silvestre.

4.4.6.1 Análise termogravimétrica

Na Figura 4.17 estão apresentados os resultados obtidos para a análise de TGA das formulações controle, otimizada e dos filmes de hidrogel contendo óleos essenciais de lavanda e de pinheiro silvestre. As temperaturas de degradação (T_d), perda de massa (Δm), percentagem de massa residual e temperatura de máxima degradação ($T_{d, \max}$) de todas as amostras de filme de hidrogel são apresentadas na Tabela 4.7. Ainda, na curva da TG é difícil observar com precisão todas as regiões de perda de massa dos filmes de hidrogel, por isso, na Figura 4.18 pode-se avaliar a curva da derivada primeira da TG, na qual cada um dos picos representa uma fase da perda de massa dos materiais.

Figura 4.17 – Curvas obtidas pela análise termogravimétrica dos filmes de hidrogel controle, otimizado e contendo óleo essencial de lavanda (OEL) ou de pinheiro silvestre (OEP).



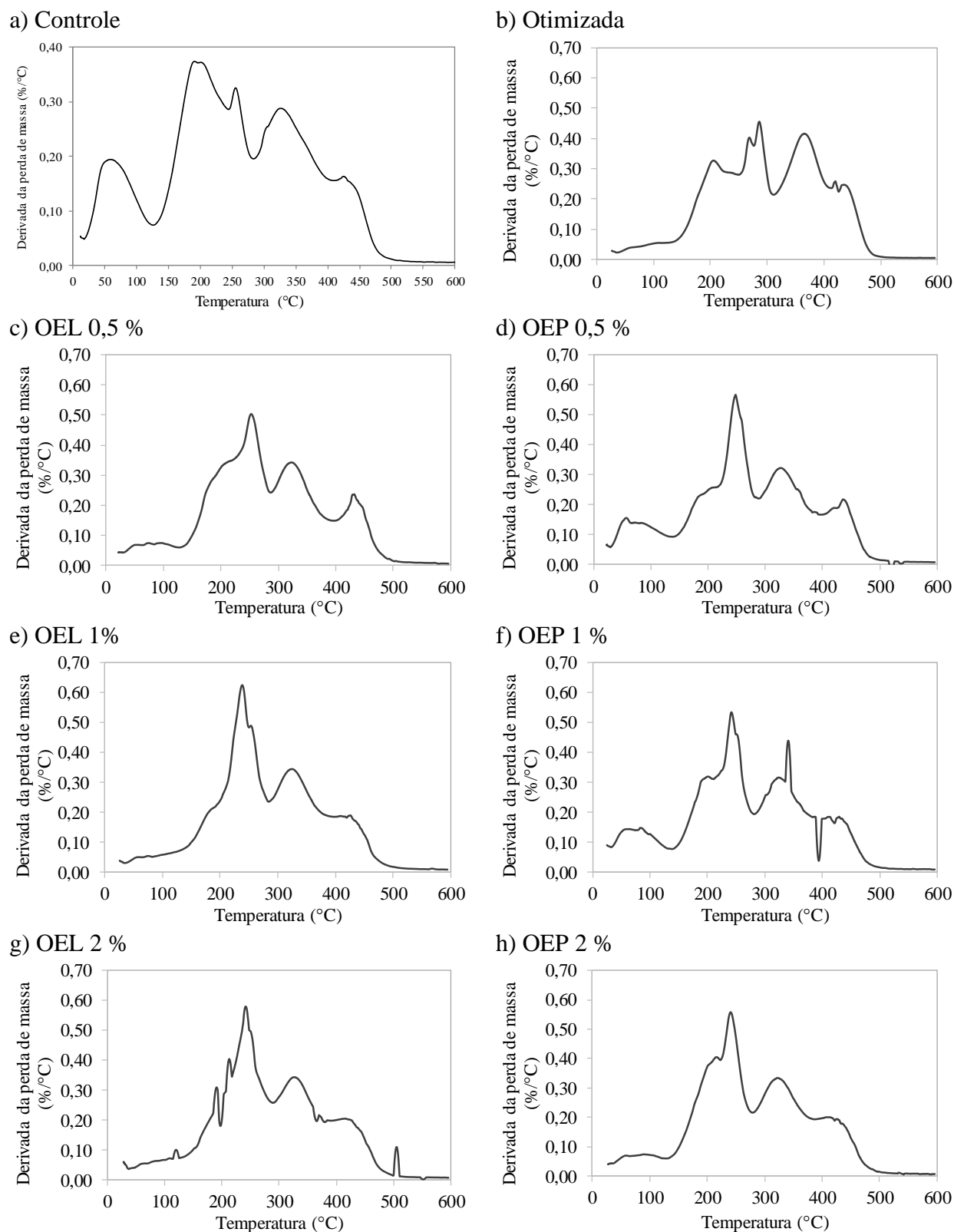
*Filmes de hidrogel compostos por 5 % (m/m) de gelatina, 4 % (m/m) de PVA e 80 % (m/m, em relação à massa de polímeros) de glicerol. Filme controle submetido à 153 J cm⁻² e filme otimizado submetido à 2592 J cm⁻² de radiação UV.

Tabela 4.7 – Temperaturas de degradação térmica (Td, °C) e perda de massa (Δm, %) dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA controle, otimizado e contendo óleos essenciais de lavanda (OEL) e de pinheiro silvestre (OEP).

Amostra	Δ ₁		Δ ₂		Δ ₃		Δ ₄		Δ ₅		Massa Residual (%)	T _{d,max} (°C)
	T _{d1} (°C)	Δm ₁ (%)	T _{d2} (°C)	Δm ₂ (%)	T _{d3} (°C)	Δm ₃ (%)	T _{d4} (°C)	Δm ₄ (%)	T _{d5} (°C)	Δm ₅ (%)		
Controle	30	14	127	33	245	11	285	25	404	12	5	328
Otimizada	47	5	170	17	230	29	320	32	415	12	5	365
OEL 0,5 %	50	12	175	28	255	23	320	23	430	8	6	324
OEL 1 %	39	6	149	10	212	33	287	27	378	16	8	325
OEL 2 %	43	6	138	10	209	34	297	26	378	18	6	326
OEP 0,5 %	39	14	164	14	227	27	290	26	397	14	5	325
OEP 1 %	38	13	163	16	220	25	292	27	398	12	7	324
OEP 2 %	41	13	159	19	228	24	281	27	385	11	6	325

*Filmes de hidrogel compostos por 5 % (m/m) de gelatina, 4 % (m/m) de PVA e 80 % (m/m, em relação à massa de polímeros) de glicerol. Filme controle submetido à 153 J cm⁻² e filme otimizado submetido à 2592 J cm⁻² de radiação UV.

Figura 4.18 – Curvas da derivada da perda de massa obtidas pela análise termogravimétrica dos filmes de hidrogel controle, otimizado e dos filmes contendo óleo essencial de lavanda (OEL) ou de pinheiro silvestre (OEP) em diferentes concentrações.



Os estágios de perda de massa dos filmes de hidrogel são mais complexos do que aqueles identificados para os componentes puros. Nesse caso, podem ser identificadas basicamente 5 regiões de perda de massa para todos os filmes de hidrogel. Para todas as amostras de filmes de hidrogel, o primeiro estágio de perda de massa ($\Delta m_1 = 5\text{--}14\%$) ocorreu entre 30 e 47 °C e pode estar relacionado à evaporação de componentes de baixa massa molar presentes nos filmes de hidrogel, provavelmente incluindo glicerol e compostos aromáticos dos óleos essenciais (TONGNUANCHAN; BENJAKUL; PRODPRAN, 2014). O segundo estágio de perda de massa ($\Delta m_2 = 10\text{--}33\%$) identificado na faixa de 127 a 175 °C pode ser devido à perda de água estruturalmente ligada na rede do filme de hidrogel (HOQUE; BENJAKUL; PRODPRAN, 2011). O terceiro estágio de perda de massa ($\Delta m_3 = 11\text{--}34\%$) entre 209 e 255 °C ocorreu, provavelmente, devido à degradação de compostos de glicerol e à perda de frações proteicas de menor massa molar (HOQUE; BENJAKUL; PRODPRAN, 2011; TONGNUANCHAN; BENJAKUL; PRODPRAN, 2012). O quarto estágio de perda de massa ($\Delta m_4 = 23\text{--}32\%$) ocorreu na faixa de 281 a 320 °C e possivelmente está associado à degradação de frações proteicas altamente associadas ou de maior massa molar, correspondendo à degradação química dos filmes de hidrogel compostos (HOSSEINI et al., 2016; TONGNUANCHAN; BENJAKUL; PRODPRAN, 2014). O quinto estágio de perda de massa ($\Delta m_5 = 8\text{--}18\%$), identificado em torno de 378 e 415 °C, pode estar associado à perda de componentes mais estáveis termicamente existentes na matriz do filme de hidrogel.

Observa-se que a maioria das regiões de perda de massa da amostra otimizada iniciou em temperaturas ligeiramente maiores do que as da amostra controle. Isso pode evidenciar a existência de uma rede mais reticulada no filme de hidrogel otimizado, o que promove uma maior retenção das moléculas voláteis e maior estabilidade térmica (ROCHA-GARCÍA et al., 2017; TREESUPPHARAT et al., 2017). Além disso, com base nos resultados obtidos, não foi possível observar uma variação considerável no percentual de perda de massa em cada etapa para as diferentes composições dos filmes de hidrogel, exceto para Δm_1 que foi maior para os filmes de hidrogel contendo OEP do que para o filme otimizado e para as amostras contendo OEL 1 e 2 %. Devido a esse comportamento, é possível inferir que o óleo essencial de pinheiro silvestre possui maior teor de compostos que são facilmente volatilizados do que o OEL. Em geral, os monoterpenos possuem massa molar menor do que os monoterpenos oxigenados, o que pode contribuir para sua maior volatilidade. Como o principal constituinte do óleo essencial de pinheiro (56,3 % de α -pineno) é um monoterpeno, pode existir uma maior tendência do OEP à volatilização do que o OEL, cujo principal constituinte é um monoterpeno (40 % de linalol). O percentual de massa residual dos filmes de hidrogel ao final do experimento foi semelhante

para todas as amostras, indicando que as quantidades de óleo essencial adicionadas aos filmes de hidrogel não influenciaram na perda de massa total, provavelmente porque a maioria dos compostos dos óleos essenciais são voláteis e são perdidos durante o experimento TGA.

Temperaturas de degradação maiores foram observadas no segundo, quarto e quinto estágios do filme de hidrogel otimizado em comparação com a amostra controle e com as amostras contendo ambos os óleos essenciais. Esse comportamento foi verificado também por Tongnuanchan, Benjakul e Prodpran (2014) que associaram a menor estabilidade térmica dos filmes contendo óleos essenciais à menor interação inter e intramolecular das proteínas na rede do filme devido à presença dos óleos essenciais. Além disso, a temperatura máxima de degradação ($T_{d, \max}$) para o filme de hidrogel otimizado foi maior do que a $T_{d, \max}$ dos filmes de hidrogel contendo OEL e OEP. Esse resultado corrobora com a hipótese de que a adição de óleo essencial pode dificultar a interação entre a gelatina e as moléculas de PVA na rede do filme de hidrogel, consequentemente reduzindo sua estabilidade térmica (HOSSEINI et al., 2016). Rocha-García et al. (2017) sugeriram que o comportamento térmico dos hidrogéis depende do mecanismo termorresponsivo da sua estrutura reticulada. Dessa forma, infere-se que quando há maior quantidade de pontos de reticulação na amostra, a ocorrência de um mesmo evento térmico na estrutura pode requerer temperaturas mais elevadas.

4.4.5.2 Calorimetria exploratória diferencial

Os resultados obtidos por meio da análise de DSC para os filmes de hidrogel controle, otimizado e contendo óleos essenciais de lavanda ou de pinheiro silvestre estão apresentados na Tabela 4.8.

Para todas as amostras de filmes foi possível observar os três fenômenos visualizados nas curvas dos componentes puros (gelatina, PVA e glicerol – item 4.1.2.2): transição vítrea, fusão e degradação. A transição vítrea apresentou temperaturas bastante distintas para os filmes controle e otimizado, passando a sofrer menor variação com a adição dos óleos essenciais. As temperaturas de fusão e de degradação se mantiveram em uma mesma faixa de valores para os filmes controle, otimizado e contendo óleo essencial de lavanda ou de pinheiro silvestre. As temperaturas identificadas para os três fenômenos, transição vítrea, fusão e degradação, se encontram na faixa dos valores identificados para os componentes puros do filme de hidrogel, esse resultado pode ser uma indicação de que os polímeros são miscíveis e que a mistura ocorreu satisfatoriamente (CANEVAROLO, 2003).

Tabela 4.8 – Temperaturas de transição vítrea, fusão e degradação obtidas pelo ensaio de calorimetria exploratória diferencial (DSC) para os filmes de hidrogel controle e otimizado e contendo óleo essencial de lavanda (OEL) ou de pinheiro silvestre (OEP).

Amostra	Temperatura de transição vítrea Tg (°C)	Temperatura de fusão Tm (°C)	Temperatura de degradação Td (°C)
Controle	55	185	305
Otimizada	110	175	310
OEL 0,5 %	110	160	310
OEL 1 %	134	213	318
OEL 2 %	125	181	310
OEP 0,5 %	110	188	314
OEP 1 %	116	150	303
OEP 2 %	126	173	308

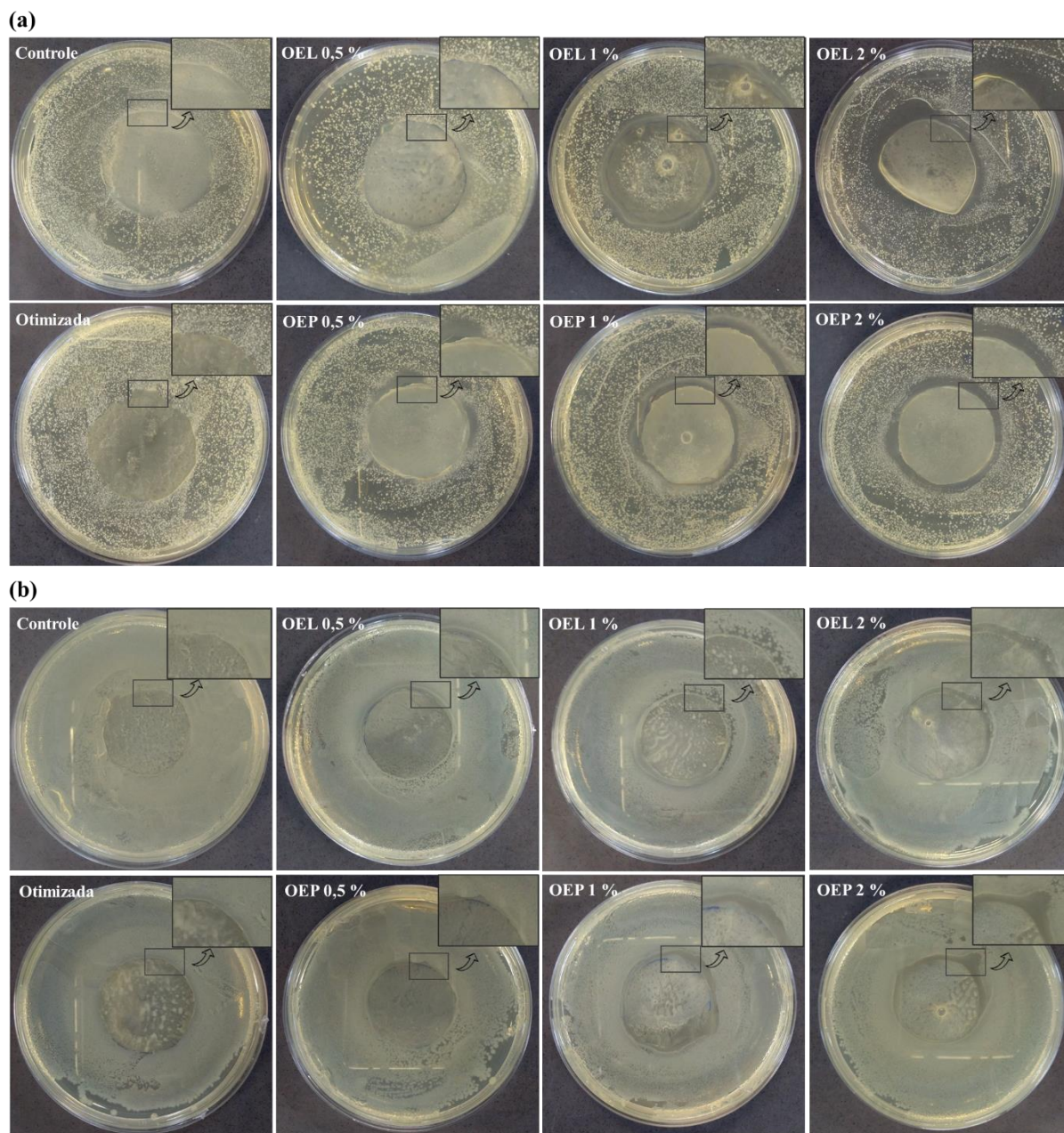
*Filmes de hidrogel compostos por 5 % (m/m) de gelatina, 4 % (m/m) de PVA e 80 % (m/m, em relação à massa de polímeros) de glicerol. Filme controle submetido à 153 J cm⁻² e filme otimizado submetido à 2592 J cm⁻² de radiação UV.

Em geral, as temperaturas identificadas para estes eventos térmicos foram próximas para as formulações controle e otimizada, sendo observado que a T_d da amostra otimizada é ligeiramente maior do que a da amostra controle. Este fator corrobora a análise termogravimétrica e pode ser mais um indicativo das diferenças nas propriedades térmicas dos filmes de hidrogel com o aumento do percentual de reticulação ocasionado pela maior dose de radiação UV à qual o filme otimizado foi submetido.

4.4.7 Atividade antibacteriana

Os resultados dos ensaios antibacterianos de difusão em placas de Petri para todos os filmes de hidrogel realizados com as bactérias *S. aureus* e *E. coli* são mostrados na Figura 4.19. Diversos estudos relatam a excelente atividade antibacteriana do óleo essencial de lavanda (BALASUBRAMANIAN; KODAM, 2014; JAMRÓZ; JUSZCZAK; KUCHARZEK, 2018; YUAN et al., 2019), no entanto, no presente trabalho, o filme de hidrogel contendo 0,5 % de OEL não apresentou uma ação antibacteriana visível. Os filmes de hidrogel contendo 1 e 2 % de OEL apresentaram halo de inibição no teste com *S. aureus*, sendo que o diâmetro do halo aumentou com o aumento da concentração de óleo. Já no teste com *E. coli* percebeu-se uma redução do crescimento bacteriano ao redor do filme de hidrogel para a concentração de 1 % de OEL e uma formação de um pequeno halo para 2 % do óleo essencial de lavanda.

Figura 4.19 – Análise antibacteriana dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA contendo óleos essenciais de lavanda (OEL) e pinheiro silvestre (OEP) com as bactérias *Staphylococcus aureus* (a) e *Escherichia coli* (b) em ágar PCA.



Por outro lado, os filmes de hidrogel contendo óleo essencial de pinheiro silvestre apresentaram maior eficiência antibacteriana do que aqueles que continham óleo essencial de lavanda. Os filmes de hidrogel contendo 0,5 % de OEP mostraram uma fraca ação antibacteriana contra *S. aureus*. No entanto, ao contrário do filme com 0,5 % de OEL, algumas áreas de redução de microrganismos foram percebidas, indicando que essa concentração de OEP é suficiente para causar uma redução bacteriana, mas não para criar um halo de inibição. O diâmetro do halo de inibição aumentou com o aumento da concentração de OEP no filme de hidrogel, levando a um halo bem definido em torno do filme de hidrogel que continha 2 % de

OEP. Em relação ao teste com *E. coli*, não houve formação de halo de inibição no teste com o filme de hidrogel contendo 0,5 % de OEP, enquanto os filmes com 1 e 2 % de óleo essencial de pinheiro apresentaram a formação de halos de inibição menores que os observados no teste com *S. aureus* e mais aparentes do que aqueles formados ao redor dos filmes contendo OEL.

A ação antibacteriana dos óleos essenciais pode ser atribuída tanto à sua hidrofobicidade quanto à sua composição. A hidrofobicidade permite que o óleo essencial rompa e penetre nos lipídios da membrana celular bacteriana, levando à sua destruição (DĂNILĂ et al., 2018; PENG; LI, 2014). Quanto à composição, dentre os compostos que podem ser responsáveis pela atividade antibacteriana dos óleos essenciais destacam-se os terpenos, como α - e β -pineno, que estão presentes em altas concentrações no OEP e podem justificar a maior atividade antibacteriana deste em comparação ao OEL, que tem o linalol como componente majoritário. Além disso, a composição da parede celular de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas apresenta diferenças significativas e os agentes antibacterianos apresentam formas de ação distintas contra diferentes tipos de bactérias. A inibição foi geralmente mais forte contra as bactérias Gram-positivas (*S. aureus*), do que contra Gram-negativas (*E. coli*) (MITIĆ et al., 2018; THIELMANN; MURANYI; KAZMAN, 2019). Dessa forma, os resultados obtidos no presente trabalho demonstram que o óleo essencial de pinheiro silvestre pode ser tão ou mais eficaz que óleo essencial de lavanda contra *S. aureus* e *E. coli* desde que suas concentrações sejam ajustadas na formulação do filme de hidrogel.

CAPÍTULO 5

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados experimentais obtidos durante o desenvolvimento desta tese, conclui-se que:

- foi possível obter filmes de hidrogel de gelatina e PVA pela técnica de *casting* e realizar a sua reticulação por meio de luz UV-A;
- os resultados do planejamento experimental utilizando um delineamento composto central rotacional mostraram que as concentrações de gelatina e PVA têm influência significativa nas variáveis de resposta, enquanto a faixa de dose de UV utilizada não mostrou efeito significativo;
- a formulação de filme de hidrogel denominada como controle, foi obtida pela utilização da função desejabilidade aplicada aos resultados do planejamento experimental, sendo composta por 5 % (m/m) de gelatina, 4 % (m/m) de PVA e dose de radiação UV de 153 J cm^{-2} ;
- a formulação denominada controle apresentou baixa fração de gel (26 %), o que pode prejudicar a aplicação do filme de hidrogel como curativo;
- o aumento da dose de radiação UV na formulação controle para 2592 J cm^{-2} permitiu o aumento da fração de gel para 46 %, conferindo maior estabilidade ao filme de hidrogel produzido, sendo esta formulação denominada como otimizada;
- pela análise de DRX, observou-se que a amostra otimizada apresentou um pico de cristalinidade mais intenso do que a amostra controle, o que também pode ser decorrente do maior percentual de reticulação da amostra otimizada;
- foi possível produzir filmes de hidrogel ativos adicionando 0,5; 1 e 2 % (m/v) de óleos essenciais de lavanda e de pinheiro silvestre ao filme otimizado;
- as formulações controle e otimizada do filme de hidrogel apresentaram valores estatisticamente iguais para espessura, tensão e alongação na ruptura, módulo de Young e fluxo de permeação de vapor de água, demonstrando que o aumento na fração de gel não causou modificações nas propriedades físicas e de barreira ao vapor de água dos filmes;
- a adição dos óleos essenciais não causou diferenças significativas nas propriedades físicas (espessura e fração de gel) dos filmes de hidrogel;

- as propriedades mecânicas dos filmes foram reduzidas com a adição dos óleos essenciais em comparação ao filme otimizado, o que se deve às modificações causadas na estrutura dos filmes em decorrência da adição dos óleos;
- as formulações controle e otimizada apresentaram permeabilidades ao oxigênio iguais, demonstrando que a redução dos espaços entre as cadeias poliméricas decorrente do aumento do percentual de reticulação não influenciou na permeação de moléculas pequenas, como o O₂;
- as propriedades de barreira foram modificadas com a incorporação dos óleos essenciais ao filme de hidrogel, o que se deve à existência de vazios na estrutura dos filmes que contêm óleos essenciais e também aos grupos funcionais existentes nos óleos, que ocasionam diferentes interações com as moléculas de água e de oxigênio;
- a formulação otimizada apresentou menor intumescimento do que a formulação controle, possibilitando inferir que o aumento no percentual de reticulação causou uma diminuição dos espaços existentes na rede polimérica, dificultando a absorção de líquidos;
- a propriedade de intumescimento foi aumentada com a adição dos óleos essenciais, o que é devido principalmente às alterações causadas na estrutura e na interação polímero-polímero dos filmes quando os óleos são adicionados, permitindo maior absorção de líquidos;
- as análises térmicas (TGA e DSC) demonstraram que a amostra otimizada é mais estável termicamente do que a amostra controle, evidenciando a provável formação de uma rede polimérica com maior grau de reticulação;
- a adição dos óleos essenciais não causou diferenças expressivas nas propriedades térmicas dos filmes de hidrogel, mantendo a boa estabilidade térmica de todos os filmes produzidos;
- as imagens de MEV demonstraram que ocorreram mudanças físicas na estrutura dos filmes de hidrogel com a adição dos óleos essenciais, sendo observadas principalmente estruturas na forma de bolhas ou vazios na estrutura polimérica, bem como algumas rachaduras;
- todos os filmes de hidrogel contendo óleo essencial de pinheiro silvestre apresentaram ação antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e causaram uma redução no crescimento da bactéria *Escherichia coli*;
- os filmes contendo óleo essencial de lavanda apresentaram ação antibacteriana mais fraca do que os filmes contendo OEP, pois os halos de inibição formados não foram tão bem definidos quanto aqueles formados nos filmes com OEP;

Considerando todas as propriedades avaliadas para o filme de hidrogel otimizado, verifica-se que ele apresenta propriedades adequadas para atuar como base para o desenvolvimento de materiais com aplicações biomédicas. Ainda, observa-se que os filmes de hidrogel contendo óleos essenciais de lavanda e de pinheiro silvestre apresentam características promissoras para utilização como curativo. Além disso, constatou-se que o óleo essencial de pinheiro apresenta propriedades antibacterianas mais acentuadas do que o óleo essencial de lavanda, fazendo com que o OEP seja uma alternativa inovadora e de grande interesse para ser utilizada na produção de curativos. Vale ressaltar que mais ensaios relacionados à citotoxicidade e proliferação celular são necessários para confirmar se os filmes de hidrogel desenvolvidos neste trabalho podem ser usados como curativos.

REFERÊNCIAS

- AFSHAR, S.; BANIASADI, H. Investigation the effect of graphene oxide and gelatin/starch weight ratio on the properties of starch/gelatin/GO nanocomposite films: The RSM study. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 109, p. 1019–1028, 1 abr. 2018.
- ÅGREN, M. S. An amorphous hydrogel enhances epithelialisation of wounds. **Acta Dermato-Venereologica**, v. 78, n. 119–122, 1998.
- ÅGREN, M. S. (ED.). **Wound Healing Biomaterials Volume 2: Functional Biomaterials**. 1. ed. Sawston: Woodhead Publishing, 2016.
- AHMAD, M. et al. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. **Food Hydrocolloids**, v. 28, n. 1, p. 189–199, jul. 2012.
- AHMADY, A.; ABU SAMAH, N. H. A review: Gelatine as a bioadhesive material for medical and pharmaceutical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 608, p. 121037, 25 out. 2021.
- AHMED, A. et al. In-vitro and in-vivo study of superabsorbent PVA/Starch/g-C₃N₄/Ag@TiO₂ NPs hydrogel membranes for wound dressing. **European Polymer Journal**, v. 130, 5 maio 2020.
- AHMED, A. S. et al. PVA-PEG physically cross-linked hydrogel film as a wound dressing: experimental design and optimization. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 23, n. 8, p. 751–760, 2018.
- AHMED, E. M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. **Journal of Advanced Research**, v. 6, n. 2, p. 105–121, mar. 2015.
- AJOVALASIT, A. et al. Xyloglucan-based hydrogel films for wound dressing: Structure-property relationships. **Carbohydrate Polymers**, v. 179, p. 262–272, jan. 2018.
- ALDANA, A. A.; ABRAHAM, G. A. Current advances in electrospun gelatin-based scaffolds for tissue engineering applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 523, n. 2, p. 441–453, 2017.
- ALMORA-BARRIOS, N.; DE LEEUW, N. H. Modelling the interaction of a Hyp-Pro-Gly peptide with hydroxyapatite surfaces in aqueous environment. **CrystEngComm**, v. 12, n. 3, p. 960–967, 2010.
- ALVES, P. M. A. et al. Development of films based on blends of gelatin and poly(vinyl alcohol) cross linked with glutaraldehyde. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 7, p. 1751–1757, out. 2011.
- ASTM INTERNATIONAL. **ASTM E96/E96M-16: Standard test methods for water vapour transmission of materials** Annual book of American standards testing methods standard, 2016.
- ASTM INTERNATIONAL. **ASTM D882-18: Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting** American Society for Testing and Materials, 2018a.
- ASTM INTERNATIONAL. **ASTM D 570-98(2018) - Standard test method for water absorption of plastics** American Society for Testing and Materials, 2018b.
- ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. **Trends in Food Science and Technology**, v. 48, p. 51–62, 2016.
- AVENA-BUSTILLOS, R. J. et al. Gelation, Oxygen Permeability, and Mechanical Properties

- of Mammalian and Fish Gelatin Films. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 7, p. E519–E524, set. 2011.
- AYCAN, D. et al. Conductive polymeric film loaded with ibuprofen as a wound dressing material. **European Polymer Journal**, v. 121, p. 109308, dez. 2019.
- AZAM, N. A. N. M.; AMIN, K. A. M. **Influence of Manuka Honey on Mechanical Performance and Swelling Behaviour of Alginate Hydrogel Film**. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. **Anais...Institute of Physics Publishing**, 31 out. 2018
- BAE, S.-H. et al. Evaluation of the potential anti-adhesion effect of the PVA/Gelatin membrane. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 102, n. 4, p. 840–849, maio 2014.
- BAGNATO, G. et al. Glycerol production and transformation: A critical review with particular emphasis on glycerol reforming reaction for producing hydrogen in conventional and membrane reactors. **Membranes**, v. 7, n. 17, 1 jun. 2017.
- BAKRAVI, A. et al. Synthesis of gelatin-based biodegradable hydrogel nanocomposite and their application as drug delivery agent. **Advances in Polymer Technology**, v. 37, n. 7, p. 2625–2635, nov. 2018.
- BALASSA, L. L.; PRUDDEN, J. F. Chitosan, a wound healing accelerator. In: MUZZARELLI, R. A. A.; PARISER, E. R. (Eds.). . **Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan**. 7. ed. Cambridge: MIT Sea Grant Program, Massachusetts Institute of Technology, 1978.
- BALASUBRAMANIAN, K.; KODAM, K. M. Encapsulation of therapeutic lavender oil in an electrolyte assisted polyacrylonitrile nanofibres for antibacterial applications. **RSC Advances**, v. 4, n. 97, p. 54892–54901, 2014.
- BASSOLÉ, I. H. N.; JULIANI, H. R. **Essential oils in combination and their antimicrobial properties****Molecules**, abr. 2012.
- BENBETTAÏEB, N. et al. Release of coumarin incorporated into chitosan-gelatin irradiated films. **Food Hydrocolloids**, v. 56, p. 266–276, 2016.
- BERGO, P.; MORAES, I. C. F.; SOBRAL, P. J. A. Effects of Different Moisture Contents on Physical Properties of PVA-Gelatin Films. **Food Biophysics**, v. 7, n. 4, p. 354–361, dez. 2012.
- BHAT, S. V. (ED.). **Biomaterials**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2002.
- BOLTON, L. L.; JOHNSON, C. L.; RIJSWIJK, L. VAN. Occlusive Dressings: Therapeutic Agents and Effects on Drug Delivery. **Clinics in Dermatology**, v. 9, p. 573–583, 1992.
- BOSTANCI, N. S. et al. pH responsive release of curcumin from photocrosslinked pectin/gelatin hydrogel wound dressings. **Materials Science and Engineering: C**, p. 112717, fev. 2022.
- BOUNAAS, K. et al. Essential oil counterfeit identification through middle infrared spectroscopy. **Microchemical Journal**, v. 139, p. 347–356, 1 jun. 2018.
- BUKHARI, S. M. H. et al. Synthesis and Characterization of Chemically Cross-Linked Acrylic Acid/Gelatin Hydrogels: Effect of pH and Composition on Swelling and Drug Release. **International Journal of Polymer Science**, v. 2015, p. 1–15, 2015.
- CABALLERO, B.; FINGLAS, P. M.; TOLDRÁ, F. (EDS.). **Encyclopedia of Food and Health**. Waltham: Academic Press, 2016.

- CANEVAROLO, S. V. **Técnicas de Caracterização de Polímeros**. São Paulo: Artliber, 2003.
- CASCONE, S.; LAMBERTI, G. Hydrogel-based commercial products for biomedical applications: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 573, p. 118803, 5 jan. 2020.
- CAVANAGH, H. M. A.; WILKINSON, J. M. Lavender essential oil: a review. **Australian Infection Control**, v. 10, n. 1, p. 35–37, 2005.
- CEYLAN, S.; GÖKTÜRK, D.; BÖLGEN, N. Effect of crosslinking methods on the structure and biocompatibility of polyvinyl alcohol/gelatin cryogels. **Bio-Medical Materials and Engineering**, v. 27, n. 4, p. 327–340, 28 set. 2016.
- CHAIBI, S. et al. The role of crosslinking on the physical properties of gelatin based films. **Colloid and Polymer Science**, v. 293, n. 10, p. 2741–2752, 2015.
- CHEBIL, M. S. et al. Reversibility in glass transition behavior after erasing stress induced by spin coating process. **Polymer**, v. 122, p. 45–51, 28 jul. 2017.
- CHIELLINI, E. et al. Gelatin-based blends and composites. Morphological and thermal mechanical characterization. **Biomacromolecules**, v. 2, n. 3, p. 806–811, set. 2001.
- CHIELLINI, E. et al. Biodegradation of poly (vinyl alcohol) based materials. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 28, p. 963–1014, 2003.
- CHINNAIYAN, S. K. et al. Fabrication of basil oil Nanoemulsion loaded gellan gum hydrogel—evaluation of its antibacterial and anti-biofilm potential. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 68, p. 103129, fev. 2022.
- CHRISTENSEN, H. H. et al. Essential oil composition and plant-insect relations in scots pine (*Pinus sylvestris* L.). **Food Chemistry and Biotechnology**, v. 71, n. 1008, 2007.
- COATS, T. J. et al. The effect of gel burn dressings on skin temperature. **Emerg Med J**, v. 19, p. 224–225, 2002.
- COMOTTO, M. et al. Breathable hydrogel dressings containing natural antioxidants for management of skin disorders. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 33, n. 9, p. 1265–1276, 1 abr. 2019.
- D'AURIA, F. D. et al. Antifungal activity of *Lavandula angustifolia* essential oil against *Candida albicans* yeast and mycelial form. **Medical Mycology**, v. 43, n. 5, p. 391–396, ago. 2005.
- DANA, S. F. et al. UV-curable pressure sensitive adhesive films: Effects of biocompatible plasticizers on mechanical and adhesion properties. **Soft Matter**, v. 9, n. 27, p. 6270–6281, 24 jul. 2013.
- DANH, L. T. et al. Antioxidant activity, yield and chemical composition of lavender essential oil extracted by supercritical CO₂. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 70, p. 27–34, out. 2012.
- DANH, L. T. et al. Comparison of Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Lavender (*Lavandula angustifolia* L.) Essential Oils Extracted by Supercritical CO₂, Hexane and Hydrodistillation. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 12, p. 3481–3489, dez. 2013.
- DĂNILĂ, E. et al. Chemical composition, antimicrobial and antibiofilm efficacy of *C. limon* and *L. angustifolia* EOs and of their mixtures against *Staphylococcus epidermidis* clinical strains. **Industrial Crops and Products**, v. 122, p. 483–492, 15 out. 2018.
- DAVIDENKO, N. et al. Optimisation of UV irradiation as a binding site conserving method for crosslinking collagen-based scaffolds. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 27, n.

14, 2016.

DEMERLIS, C. ; SCHONEKER, D. . Review of the oral toxicity of polyvinyl alcohol (PVA). **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, n. 3, p. 319–326, mar. 2003.

DEMIANENKO, P. et al. How the structural and physicochemical properties of polyacrylamide/alginate hydrogel influence its oxygen permeability. **Polymer Testing**, v. 53, p. 299–304, 1 ago. 2016.

DHIFI, W. et al. Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. **Medicines**, v. 3, n. 4, p. 25, 22 set. 2016.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. **Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils** *Journal of Applied Microbiology*. [s.l: s.n.].

DOYLE, B. B.; BENDIT, E. G.; BLOUT, E. R. Infrared spectroscopy of collagen and collagen-like polypeptides. **Biopolymers**, v. 14, n. 5, p. 937–957, maio 1975.

DUBRUEL, P. et al. Porous gelatin hydrogels: 2. In vitro cell interaction study. **Biomacromolecules**, 2007.

ELZOGHBY, A. O. Gelatin-based nanoparticles as drug and gene delivery systems: Reviewing three decades of research. **Journal of Controlled Release**, v. 172, n. 3, p. 1075–1091, 2013.

ENNOURI, K. et al. Multiple linear regression and artificial neural networks for delta-endotoxin and protease yields modelling of *Bacillus thuringiensis*. **3 Biotech**, v. 7, n. 3, 1 jul. 2017.

FAN, L. et al. Preparation and characterization of chitosan/gelatin/PVA hydrogel for wound dressings. **Carbohydrate Polymers**, v. 146, p. 427–434, 1 ago. 2016.

FAROOQ, M. et al. Highly biocompatible formulations based on Arabic gum Nano composite hydrogels: Fabrication, characterization, and biological investigation. **International Journal of Biological Macromolecules**, mar. 2022.

FARRAR, A. J.; FARRAR, F. C. **Clinical Aromatherapy** *Nursing Clinics of North America* W.B. Saunders, , 1 dez. 2020.

FEIZ, S.; NAVARCHIAN, A. H.; JAZANI, O. M. Poly(vinyl alcohol) membranes in wound-dressing application: microstructure, physical properties, and drug release behavior. **Iranian Polymer Journal (English Edition)**, v. 27, n. 3, p. 193–205, 1 mar. 2018.

FERNÁNDEZ-DÍAZ, M. D.; MONTERO, P.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. Gel properties of collagens from skins of cod (*Gadus morhua*) and hake (*Merluccius merluccius*) and their modification by the coenhancers magnesium sulphate, glycerol and transglutaminase. **Food Chemistry**, v. 74, n. 2, p. 161–167, ago. 2001.

GAO, D. et al. Preparation and Characterization of Silver Sulfadiazine–Loaded Polyvinyl Alcohol Hydrogels as an Antibacterial Wound Dressing. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 107, n. 9, p. 2377–2384, 1 set. 2018.

GARCIA-ORUE, I. et al. Novel nanofibrous dressings containing rhEGF and Aloe vera for wound healing applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 523, n. 2, p. 556–566, 2017.

GARZOLI, S. et al. *Lavandula dentata* L.: Phytochemical Analysis, Antioxidant, Antifungal and Insecticidal Activities of Its Essential Oil. v. 11, p. 311, 2022.

- GEBBEN, B. et al. Intramolecular crosslinking of poly(vinyl alcohol). **Polymer**, v. 26, p. 1737–1740, 1985.
- GHORPADE, V. S. et al. Citric acid crosslinked carboxymethylcellulose-poly(ethylene glycol) hydrogel films for delivery of poorly soluble drugs. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 118, p. 783–791, 2018.
- GONG, M. et al. **Effects of aromatherapy on anxiety: A meta-analysis of randomized controlled trials**. **Journal of Affective Disorders** Elsevier B.V., , 1 set. 2020.
- GOODSHIP, V.; JACOBS, D. **Polyvinyl alcohol: materials, processing and applications**. Rapra Rev Reports, 2005. v. 16
- GRAÇA, M. F. P. et al. Hyaluronic acid—Based wound dressings: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 241, p. 116364, 1 ago. 2020.
- GRAÇA, M. F. P. et al. Electrospun Asymmetric Membranes as Promising Wound Dressings: A Review. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 2, p. 183, 30 jan. 2021.
- GUIMARÃES, A. C. et al. Antibacterial activity of terpenes and terpenoids present in essential oils. **Molecules**, v. 24, n. 13, 2019.
- GUIRGUIS, O. W.; MOSELHEY, M. T. H. Thermal and structural studies of poly (vinyl alcohol) and hydroxypropyl cellulose blends. **Natural Science**, v. 04, n. 01, p. 57–67, 2012.
- GULREZ, S. K. H.; AL-ASSAF, S.; PHILLIPS, G. O. Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications. In: **Progress in Molecular and Environmental Bioengineering - From Analysis and Modeling to Technology Applications**. [s.l.] InTech, 2011.
- GUPTA, B.; AGARWAL, R.; ALAM, M. S. Textile-based smart wound dressings. **Indian Journal of Fibre and Textile Research**, v. 35, p. 174–187, 2010.
- HAN, J. H. (ED.). **Innovations in Food Packaging**. San Diego: Elsevier, 2005.
- HASSAN, A. et al. Development of Anti-bacterial PVA/Starch Based Hydrogel Membrane for Wound Dressing. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 26, n. 1, p. 235–243, 1 jan. 2018.
- HAUGEN, H. J. et al. Injectable biomaterials for dental tissue regeneration. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 10, 2 maio 2020.
- HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M. et al. Bio-based composite fibers from pine essential oil and PLA/PBAT polymer blend. Morphological, physicochemical, thermal and mechanical characterization. **Materials Chemistry and Physics**, v. 234, p. 345–353, 1 ago. 2019.
- HESS, C. T. **Clinical Guide to Skin and Wound Care**. 7. ed. Filadélfia: Lippincott Williams & Wilkins, 2012.
- HOLLOWAY, S.; HARDING, K. G. Wound dressings. **Surgery (Oxford)**, v. 40, n. 1, p. 25–32, jan. 2022.
- HOQUE, M. S.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin incorporated with cinnamon, clove and star anise extracts. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 5, p. 1085–1097, jul. 2011.
- HOSSEINI, S. F. et al. Development of bioactive fish gelatin/chitosan nanoparticles composite films with antimicrobial properties. **Food Chemistry**, v. 194, p. 1266–1274, mar. 2016.

- HU, J. et al. Visible light crosslinkable chitosan hydrogels for tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, v. 8, n. 5, p. 1730–1738, maio 2012.
- HU, W. et al. Advances in crosslinking strategies of biomedical hydrogels. **Biomaterials Science**, v. 7, n. 3, p. 843–855, 1 mar. 2019.
- HUANG, M. H.; YANG, M. C. Evaluation of glucan/poly(vinyl alcohol) blend wound dressing using rat models. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 346, n. 1–2, p. 38–46, 4 jan. 2008.
- HUANG, X. et al. Influence of radiation crosslinked carboxymethyl-chitosan/gelatin hydrogel on cutaneous wound healing. **Materials Science and Engineering: C**, v. 33, n. 8, p. 4816–4824, dez. 2013.
- IBÁÑEZ; BLÁZQUEZ. Phytotoxic Effects of Commercial Eucalyptus citriodora, Lavandula angustifolia, and Pinus sylvestris Essential Oils on Weeds, Crops, and Invasive Species. **Molecules**, v. 24, n. 15, p. 2847, 5 ago. 2019.
- IMTIAZ, N. et al. Fabrication of an original transparent PVA/gelatin hydrogel: In vitro antimicrobial activity against skin pathogens. **International Journal of Polymer Science**, 2019.
- JAMRÓZ, E.; JUSZCZAK, L.; KUCHARÉK, M. Investigation of the physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of ternary potato starch-furcellaran-gelatin films incorporated with lavender essential oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 114, p. 1094–1101, jul. 2018.
- JIPA, I. M. et al. Effect of gamma irradiation on biopolymer composite films of poly(vinyl alcohol) and bacterial cellulose. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms**, v. 278, p. 82–87, 2012.
- KAMOUN, E. A. et al. Poly (vinyl alcohol)-alginate physically crosslinked hydrogel membranes for wound dressing applications: Characterization and bio-evaluation. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 8, n. 1, p. 38–47, 2015.
- KAMOUN, E. A. et al. Photopolymerized PVA-g-GMA Hydrogels for Biomedical Applications: Factors Affecting Hydrogel Formation and Bioevaluation Tests. **Arabian Journal for Science and Engineering**, v. 43, n. 7, p. 3565–3575, 1 jul. 2018.
- KAMOUN, E. A.; KENAWY, E. R. S.; CHEN, X. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings. **Journal of Advanced Research**, v. 8, p. 217–233, 2017.
- KARIM, A. A.; BHAT, R. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 3, p. 563–576, maio 2009.
- KARIMIAN, S. A. M.; MASHAYEKHAN, S.; BANIASADI, H. Fabrication of porous gelatin-chitosan microcarriers and modeling of process parameters via the RSM method. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 88, p. 288–295, 1 jul. 2016.
- KATO, Y. et al. The Effect of Thermal History on The Glass Transition of Dried Gelatin Gel. **Transactions of the Materials Research Society of Japan**, v. 26, n. 2, p. 659–662, 2001.
- KAVOOSI, G. et al. Effects of essential oil on the water binding capacity, physico-mechanical properties, antioxidant and antibacterial activity of gelatin films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, n. 2, p. 556–561, jul. 2014.
- KAVOOSI, G. et al. Preparation and characterization of a novel gelatin-poly(vinyl alcohol) hydrogel film loaded with Zataria multiflora essential oil for antibacterial-antioxidant wound-dressing applications. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 39, p. 45351, 15 out. 2017.

- KAVOOSI, G.; DADFAR, S. M. M.; PURFARD, A. M. Mechanical, Physical, Antioxidant, and Antimicrobial Properties of Gelatin Films Incorporated with Thymol for Potential Use as Nano Wound Dressing. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 2, fev. 2013.
- KEENAN, T. R. Gelatin. In: DOMB, A. J.; KOST, J.; WISEMAN, D. M. (Eds.). . **Handbook of Biodegradable Polymers**. Boca Raton: CRC Press, 1997. p. 312–322.
- KHAN, B. A. et al. Preparation and properties of High sheared Poly(Vinyl Alcohol)/Chitosan blended Hydrogels films with Lawsonia inermis extract as wound dressing. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 61, p. 102227, fev. 2021.
- KICKHÖFEN, B. et al. Chemical and physical properties of a hydrogel wound dressing. **Biomaterials**, v. 7, p. 67–72, 1986.
- KIM, M. J. et al. Preparation of poly(vinyl alcohol)/silver-zeolite composite hydrogels by UV-irradiation. **Fibers and Polymers**, v. 15, n. 1, p. 101–107, 28 jan. 2014.
- KODAVATY, J. Poly (vinyl alcohol) and hyaluronic acid hydrogels as potential biomaterial systems - A comprehensive review. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 71, p. 103298, maio 2022.
- KOPEČEK, J. Hydrogels: From soft contact lenses and implants to self-assembled nanomaterials. **Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry**, v. 47, p. 5929–5946, 2009.
- LEE, S. M. et al. Physical, morphological, and wound healing properties of a polyurethane foam-film dressing. **Biomaterials Research**, v. 20, n. 1, 2016.
- LEW, D. H.; LIU, P. H. T.; ORGILL, D. P. Optimization of UV cross-linking density for durable and nontoxic collagen GAG dermal substitute. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 82, n. 1, p. 51–56, jul. 2007.
- LI, J. H. et al. Preparation and characterization of active gelatin-based films incorporated with natural antioxidants. **Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 166–173, jun. 2014.
- LI, L. et al. Mechanical and Adhesive Properties of Ploy(ethylene glycerol) Diacrylate Based Hydrogels Plasticized with PEG and Glycerol. **Chemical Research in Chinese Universities**, v. 34, n. 2, p. 311–317, 1 abr. 2018.
- LI, T. et al. Preparation of Linalool/Polycaprolactone Coaxial Electrospinning Film and Application in Preserving Salmon Slices. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 15 abr. 2022.
- LU, G. et al. A novel in situ-formed hydrogel wound dressing by the photocross-linking of a chitosan derivative. **Wound Repair and Regeneration**, v. 18, p. 70–79, 2010.
- LUGAO, A. B.; MALMONGE, S. M. Use of radiation in the production of hydrogels. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms**, v. 185, p. 37–42, 2001.
- MAKUUCHI, K. Critical review of radiation processing of hydrogel and polysaccharide. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 79, n. 3, p. 267–271, 2010.
- MARIOD, A. A.; ADAM, H. F. Review: Gelatin, source, extraction and industrial applications. **Acta Scientiarum Polonorum**, v. 12, n. 2, p. 135–147, 2013.
- MARK, H. F. **Encyclopedia of Polymer Science and Technology**. 3. ed. Nova York: John Wiley &

Sons, 2013.

MARTUCCI, J. F. et al. Oregano and lavender essential oils as antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films. **Industrial Crops and Products**, v. 71, p. 205–213, set. 2015.

MASSARELLI, E. et al. Polyvinyl alcohol/chitosan wound dressings loaded with antiseptics. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 593, 25 jan. 2021.

MI, F.-L. et al. Fabrication and characterization of a sponge-like asymmetric chitosan membrane as a wound dressing. **Biomaterials**, v. 22, n. 2, p. 165–173, jan. 2001.

MICHAEL LIU, X.; Z HERRICK, D.; PETER MAZIARZ, E. Analysis of gelatin using various separation and detection technologies. **Journal of Analytical & Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 6, 1 fev. 2019.

MISHRA, R. et al. Synthesis and characterization of gelatin-PVP polymer composite scaffold for potential application in bone tissue engineering. **European Polymer Journal**, v. 119, p. 155–168, out. 2019.

MITIĆ, Z. S. et al. Needle Terpenes as Chemotaxonomic Markers in Pinus: Subsections Pinus and Pinaster. **Chemistry and Biodiversity**, v. 14, n. 5, 1 maio 2017.

MITIĆ, Z. S. et al. Comparative study of the essential oils of four Pinus species: Chemical composition, antimicrobial and insect larvicidal activity. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 55–62, 1 jan. 2018.

MOEINI, A. et al. **Wound healing and antimicrobial effect of active secondary metabolites in chitosan-based wound dressings: A review** *Carbohydrate Polymers* Elsevier Ltd, , 1 abr. 2020.

MOGHADAM, Z. E. et al. Effectiveness of aromatherapy with inhaled lavender essential oil and breathing exercises on ECT-related anxiety in depressed patients. **EXPLORE**, dez. 2021.

MOHSIN, M.; HOSSIN, A.; HAIK, Y. Thermal and mechanical properties of poly(vinyl alcohol) plasticized with glycerol. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 122, n. 5, p. 3102–3109, 5 dez. 2011.

MORAES, I. C. et al. Influência do grau de hidrólise do poli(vinil álcool) nas propriedades físicas de filmes à base de blendas de gelatina e poli(vinil álcool) plastificados com glicerol. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 738–745, 2008.

MUKHERJEE, D. et al. Development and characterization of chitosan-based hydrogels as wound dressing materials. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 46, p. 498–510, 1 ago. 2018.

MUKHERJEE, I.; ROSOLEN, M. Thermal transitions of gelatin evaluated using DSC sample pans of various seal integrities. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 114, n. 3, p. 1161–1166, dez. 2013.

MUKTAR, M. Z. et al. Accelerated wound healing of physically cross linked gellan gum-virgin coconut oil hydrogel containing Manuka honey. **ASM Science Journal**, v. 2018, n. 1, p. 166–182, 2018.

NAGAHAMA, H. et al. Preparation and characterization of novel chitosan/gelatin membranes using chitosan hydrogel. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 2, p. 255–260, mar. 2009.

NAWAZ, S. et al. Biocompatible hydrogels for the controlled delivery of anti-hypertensive agent: Development, characterization and in vitro evaluation. **Designed Monomers and Polymers**, v. 21, n. 1, p. 18–32, 1 jan. 2018.

- NAZARNEZHADA, S. et al. Alginate hydrogel containing hydrogen sulfide as the functional wound dressing material: In vitro and in vivo study. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 3323–3331, 1 dez. 2020.
- NEMOURS, E. I. DU P. DE. Methacrylate Resins. **Industrial & Engineering Chemistry**, v. 28, n. 10, p. 1160–1163, out. 1936.
- NGUYEN, N. T.; LIU, J. H. Fabrication and characterization of poly(vinyl alcohol)/chitosan hydrogel thin films via UV irradiation. **European Polymer Journal**, 2013.
- NKHWA, S. et al. Poly(vinyl alcohol): Physical Approaches to Designing Biomaterials for Biomedical Applications. **Conference Papers in Science**, v. 2014, p. 1–7, 2014.
- NURZYŃSKA-WIERDAK, R.; ZAWIŚLAK, G. Chemical composition and antioxidant activity of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) aboveground parts. **Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus**, v. 15, n. 5, p. 225–241, 2016.
- PAGLIARO, M.; ROSSI, M. **The Future of Glycerol: New Usages for a Versatile Raw Material**. Cambridge: RSCPublishing, 2010.
- PAL, K.; BANTHIA, A. K.; MAJUMDAR, D. K. Preparation and characterization of polyvinyl alcohol-gelatin hydrogel membranes for biomedical applications. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, n. 1, p. E1–E5, 2007.
- PAL, K.; BANTHIA, A. K.; MAJUMDAR, D. K. Polymeric hydrogels: Characterization and biomedical applications. **Designed Monomers and Polymers**, v. 12, n. 3, p. 197–220, 1 maio 2009.
- PAPON, P.; LEBLOND, J.; MEIJER, P. H. E. (EDS.). Gelation and Transitions in Biopolymers. In: **The Physics of Phase Transitions**. 2. ed. Berlin: Springer, 2006. p. 189–213.
- PATACHIA, S. et al. **Poly (Vinyl Alcohol) [PVA] - Based Polymer Membranes**. Nova York: Nova Science Publishers, 2009.
- PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitosan and alginate wound dressings: a short review. **Trends in Biomaterials & Artificial Organs**, v. 18, n. 1, p. 18–23, 2004.
- PAWDE, S. M.; DESHMUKH, K. Characterization of polyvinyl alcohol/gelatin blend hydrogel films for biomedical applications. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 109, n. 5, p. 3431–3437, 5 set. 2008.
- PENG, Y.; LI, Y. Combined effects of two kinds of essential oils on physical, mechanical and structural properties of chitosan films. **Food Hydrocolloids**, 2014.
- PERESIN, M. S. **Novel Lignocellulosic Composites**. North Carolina State University, 2011.
- RACHEVA, M. et al. Influence of Drying Procedures on Network Formation and Properties of Hydrogels from Functionalized Gelatin. **Macromolecular Symposia**, v. 334, n. 1, p. 24–32, dez. 2013.
- RAMAZANI, A.; AGHAHOSSEINI, H. The biological properties of hydrogels based on natural polymers. In: **Hydrogels Based on Natural Polymers**. Elsevier, 2019. p. 247–269.
- RASHIDZADEH, A. et al. On the preparation and swelling properties of hydrogel nanocomposite based on Sodium alginate-g-Poly (acrylic acid-co-acrylamide)/Clinoptilolite and its application as slow release fertilizer. **Journal of Polymer Research**, v. 21, 2014.

- RASIA, G. M. **Síntese e funcionalização de hidrogéis de poli(álcool vinílico)**. Porto Alegre, 2014.
- RBII, K. et al. Study of gelatin renaturation in aqueous solution by AFIFFF-MALS: Influence of a thermal pre-treatment applied on gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 3, p. 511–514, maio 2011.
- ROCCA-SMITH, J. R. et al. Impact of corona treatment on PLA film properties. **Polymer Degradation and Stability**, v. 132, p. 109–116, out. 2016.
- ROCHA-GARCÍA, D. et al. Thermal and kinetic evaluation of biodegradable thermo-sensitive gelatin/poly(ethylene glycol) diamine crosslinked citric acid hydrogels for controlled release of tramadol. **European Polymer Journal**, v. 89, p. 42–56, 1 abr. 2017.
- ROMANO, I. et al. Controlled antiseptic/eosin release from chitosan-based hydrogel modified fibrous substrates. **Carbohydrate Polymers**, v. 131, p. 306–314, 2015.
- ROYLANCE, D. **Stress-strain curves**. Cambridge: 2001.
- RUB, M. A. et al. Interaction of gelatin with promethazine hydrochloride: Conductimetry, tensiometry and circular dichroism studies. **Journal of Molecular Structure**, v. 1050, p. 35–42, out. 2013.
- SABOORI, A. et al. Sol–gel preparation, characterisation and in vitro bioactivity of Mg containing bioactive glass. **Advances in Applied Ceramics**, v. 108, n. 3, p. 155–161, 18 abr. 2009.
- SAI, K. P.; BABU, M. Studies on Rana tigerina skin collagen. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, v. 128, n. 1, p. 81–90, 2001.
- SAINI, K. Preparation method, Properties and Crosslinking of hydrogel: a review. **PharmaTutor**, v. 5, n. 1, p. 27–36, 2017.
- SAMFIRA, I. et al. Characterization and identity confirmation of essential oils by mid infrared absorption spectrophotometry. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, v. 10, n. 2, p. 557-566, 2015.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L. et al. Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 8, p. 2102–2109, dez. 2009.
- SAVENCU, I. et al. Review of advances in polymeric wound dressing films. **Reactive and Functional Polymers**, v. 168, p. 105059, 1 nov. 2021.
- SCHAEFER, E. W. et al. Influence of turmeric incorporation on physicochemical, antimicrobial and mechanical properties of the cornstarch and chitosan films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 148, p. 342–350, abr. 2020.
- SCHMID, M. et al. UV Radiation Induced Cross-Linking of Whey Protein Isolate-Based Films. **International Journal of Polymer Science**, v. 2017, p. 1–6, 2017.
- SHAMLOO, A. et al. Fabrication and evaluation of chitosan/gelatin/PVA hydrogel incorporating honey for wound healing applications: An in vitro, in vivo study. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 592, p. 120068, 5 jan. 2021.
- SHELLIE, R. et al. Characterisation of lavender essential oils by using gas chromatography-mass spectrometry with correlation of linear retention indices and comparison with comprehensive two-dimensional gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 970, p. 225-234, 2002.

- SHETH, S. et al. UV Dose Governs UV-Polymerized Polyacrylamide Hydrogel Modulus. **International Journal of Polymer Science**, 2017.
- SHOJAEI, M. et al. Fabrication and characterization of ovalbumin films for wound dressing applications. **Materials Science and Engineering C**, v. 48, p. 158–164, 2015.
- SILVA, G. G. D. et al. Biodegradable films based on blends of gelatin and poly (vinyl alcohol): Effect of PVA type or concentration on some physical properties of films. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 16, n. 4, p. 276–285, 2008.
- SINCLAIR, W. T.; MORMAN, J. D.; ENNOS, R. A. The postglacial history of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in western Europe: evidence from mitochondrial DNA variation. **Molecular Ecology**, v. 8, p. 83–88, 1999.
- SINGH, B.; KUMAR, A.; SINGH, B. Development of Silver Particle Impregnated Hydrogel by Radiation Induced Cross-Linking for Wound Dressing Applications. **American Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 5, n. 1, p. 1, 2018.
- SINGH, P. et al. GC-MS Analysis of Essential Oil from *Lavandula angustifolia* Cultivated in Garhwal Himalaya. **The Natural Products Journal**, v. 5, n. 4, p. 268–272, 14 set. 2015.
- SINGH, S. K.; DHYANI, A.; JUYAL, D. Hydrogel: Preparation, Characterization and Applications. **The Pharma Innovation Journal**, v. 6, n. 6, p. 25–32, 2017.
- SIONKOWSKA, A. et al. Surface characteristics of UV-irradiated collagen/PVP blended films. **Surface Science**, v. 566–568, p. 608–612, 2004.
- SOBRAL, P. J. A.; HABITANTE, A. M. Q. B. Phase transitions of pigskin gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 377–382, 2001.
- SOBRAL, P. J. DO A. et al. Phase transitions in biodegradable films based on blends of gelatin and poly (vinyl alcohol). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 372–379, jun. 2011.
- SOFI, H. S. et al. Novel lavender oil and silver nanoparticles simultaneously loaded onto polyurethane nanofibers for wound-healing applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 569, 5 out. 2019.
- SONKER, A. K. et al. Crosslinking of Polyvinyl Alcohol (PVA) and Effect of Crosslinker Shape (Aliphatic and Aromatic) Thereof. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 26, n. 5, p. 1782–1794, 1 maio 2018.
- SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. Plasticizers in edible films and coatings. In: HAN, J. H. (Ed.). **Innovations in food packaging**. San Diego: Oxford, 2005. p. 403–433.
- STEFANOV, I. et al. Enzymatic synthesis of a thiolated chitosan-based wound dressing crosslinked with chicoric acid. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 6, n. 47, p. 7943–7953, 2018.
- SUN, G. et al. Rheological behaviors and physical properties of plasticized hydrogel films developed from κ -carrageenan incorporating hydroxypropyl methylcellulose. **Food Hydrocolloids**, v. 85, p. 61–68, 1 dez. 2018.
- TAN, H. W.; ABDUL AZIZ, A. R.; AROUA, M. K. Glycerol production and its applications as a raw material: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 118–127, 2013.
- TANG, Y. et al. A review on recent advances of Protein-Polymer hydrogels. **European Polymer**

Journal, v. 162, p. 110881, 5 jan. 2022.

TAREQ, A.; HUSSEIN, M.; MUSTAFA, A. Synthesis and Characterization of PVA-Gelatin Hydrogel Membranes for Controlled Delivery of Captopril. **International Research Journal of Pure and Applied Chemistry**, v. 12, n. 4, p. 1–10, 10 jan. 2016.

TAVAKOLI, J.; MIRZAEI, S.; TANG, Y. Cost-effective double-layer hydrogel composites for wound dressing applications. **Polymers**, 2018.

TAVAKOLI, J.; TANG, Y. Honey/PVA hybrid wound dressings with controlled release of antibiotics: Structural, physico-mechanical and in-vitro biomedical studies. **Materials Science and Engineering C**, v. 77, p. 318–325, 1 ago. 2017.

TEMIZ, A. et al. Efficiency of bio-oil against wood destroying organisms. **Journal of Biobased Materials and Bioenergy**, v. 4, n. 4, p. 317–323, dez. 2010.

THANGPRASERT, A. et al. Mimicked hybrid hydrogel based on gelatin/PVA for tissue engineering in subchondral bone interface for osteoarthritis surgery. **Materials & Design**, v. 183, p. 108113, dez. 2019.

THIELMANN, J.; MURANYI, P.; KAZMAN, P. Screening essential oils for their antimicrobial activities against the foodborne pathogenic bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Heliyon**, v. 5, n. 6, 1 jun. 2019.

THOMAZINE, M.; CARVALHO, R. A.; SOBRAL, P. J. A. Physical Properties of Gelatin Films Plasticized by Blends of Glycerol and Sorbitol. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 3, p. E172–E176, 31 maio 2006.

TOMADONI, B. et al. Vanillin as a natural cross-linking agent in chitosan-based films: Optimizing formulation by response surface methodology. **Polymer Testing**, v. 78, 1 set. 2019.

TONGNUANCHAN, P. et al. Mechanical, thermal and heat sealing properties of fish skin gelatin film containing palm oil and basil essential oil with different surfactants. **Food Hydrocolloids**, v. 56, p. 93–107, 2016.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Properties and antioxidant activity of fish skin gelatin film incorporated with citrus essential oils. **Food Chemistry**, 2012.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Structural, morphological and thermal behaviour characterisations of fish gelatin film incorporated with basil and citronella essential oils as affected by surfactants. **Food Hydrocolloids**, v. 41, p. 33–43, dez. 2014.

TREESUPPHARAT, W. et al. Synthesis and characterization of bacterial cellulose and gelatin-based hydrogel composites for drug-delivery systems. **Biotechnology Reports**, v. 15, n. July, p. 84–91, 2017.

TYEB, S. et al. Flexible agar-sericin hydrogel film dressing for chronic wounds. **Carbohydrate Polymers**, v. 200, p. 572–582, 15 nov. 2018.

UBAID, M.; MURTAZA, G. Fabrication and characterization of genipin cross-linked chitosan/gelatin hydrogel for pH-sensitive, oral delivery of metformin with an application of response surface methodology. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 114, p. 1174–1185, jul. 2018.

ULLAH, F. et al. Classification, processing and application of hydrogels: A review. **Materials Science and Engineering: C**, v. 57, p. 414–433, dez. 2015.

UTTAYARAT, P. et al. Processing and characterization of antibacterial hydrogel sheet dressings composed of poly(vinyl alcohol) and silk fibroin for wound healing application. **Walailak Journal of**

Science and Technology, v. 16, n. 5, p. 349–359, 2019.

VAN VLIERBERGHE, S. et al. Porous Gelatin Hydrogels: 1. Cryogenic Formation and Structure Analysis. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 2, p. 331–337, fev. 2007.

VAZ, C. M. et al. Effect of crosslinking, thermal treatment and UV irradiation on the mechanical properties and in vitro degradation behavior of several natural proteins aimed to be used in the biomedical field. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 14, p. 789–796, 2003.

VUUREN, S. F. VAN; VILJOEN, A. M. Antimicrobial activity of limonene enantiomers and 1,8-cineole alone and in combination. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 22, n. 6, p. 540–544, nov. 2007.

WADHWA, G. et al. Essential oil–cyclodextrin complexes: an updated review. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 89, n. 1-2, p. 39-58, 2017.

WANG, T. et al. Preparation and properties of ZnO/sodium alginate bi-layered hydrogel films as novel wound dressings. **New Journal of Chemistry**, v. 43, n. 22, p. 8684–8693, 2019.

WANG, X. et al. Gelatin-Based Hydrogels for Organ 3D Bioprinting. **Polymers**, v. 9, n. 12, p. 401, 30 ago. 2017.

WATHONI, N. et al. Physically crosslinked-sacran hydrogel films for wound dressing application. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 89, p. 465–470, 2016.

WICHTERLE, O.; LÍM, D. Hydrophilic Gels for Biological Use. **Nature**, v. 185, p. 117–118, 1960.

WU, J. et al. Properties and antimicrobial activity of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin-chitosan films incorporated with oregano essential oil for fish preservation. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 2, n. 1, p. 7-16, 2014.

WU, S. et al. Evaluation of gelatin-hyaluronic acid composite hydrogels for accelerating wound healing. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 0, n. 0, p. 1–11, 2017.

WU, Y.-B. et al. Preparation and characterization on mechanical and antibacterial properties of chitsoan/cellulose blends. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, n. 4, p. 435–440, set. 2004.

XU, R. et al. Controlled water vapor transmission rate promotes wound-healing via wound re-epithelialization and contraction enhancement. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 24596, 18 abr. 2016.

YANG, Y.; HU, H. Spacer fabric-based exuding wound dressing – Part II: Comparison with commercial wound dressings. **Textile Research Journal**, v. 87, n. 12, p. 1481–1493, 2017.

YANG, Y.; HU, H. Application of superabsorbent spacer fabrics as exuding wound dressing. **Polymers**, v. 10, n. 2, 22 fev. 2018.

YAO, C. H. et al. Novel bilayer wound dressing based on electrospun gelatin/keratin nanofibrous mats for skin wound repair. **Materials Science and Engineering C**, v. 79, p. 533–540, 2017.

YASSUE-CORDEIRO, P. H. et al. Desenvolvimento e caracterização de filmes compósitos de quitosana e zeólitas com prata. **Polímeros**, v. 25, n. 5, p. 492–502, 2015.

YUAN, C. et al. Physicochemical characterization and antibacterial activity assessment of lavender essential oil encapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. **Industrial Crops and Products**, v. 130, p. 104–110, 1 abr. 2019.

ZHANG, D. et al. Carboxyl-modified poly(vinyl alcohol)-crosslinked chitosan hydrogel films for

potential wound dressing. **Carbohydrate Polymers**, v. 125, p. 189–199, jul. 2015.

ZHAO, Y.; JALILI, S. Dextran, as a biological macromolecule for the development of bioactive wound dressing materials: A review of recent progress and future perspectives. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 207, p. 666–682, 15 maio 2022.

ZHU, J. J. et al. Comparative antioxidant, anticancer and antimicrobial activities of essential oils from Semen Platycladi by different extraction methods. **Industrial Crops and Products**, v. 146, 1 abr. 2020.

APÊNDICE A – TABELAS ANOVA

Este apêndice apresenta as tabelas da análise de variância (ANOVA) das variáveis de resposta obtidas por meio do planejamento experimental para modelagem estatística de filmes de hidrogel de gelatina e PVA. Para algumas variáveis de resposta, como resistência à tração e fluxo de permeação de vapor de água (WVPF), optou-se por considerar alguns fatores cujo valor-p foi maior do que 0,05, porém próximo deste valor, com o objetivo de melhorar o ajuste da equação do modelo.

Tabela A1 – Tabela ANOVA para a espessura dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA.

Fator	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	Valor F	Valor-p
[Gelatina] (L)	0,2251	1	0,2251	20,9946	0,0102*
[PVA] (L)	0,2242	1	0,2242	20,9146	0,0102*
Falta de ajuste	0,0699	12	0,0058	0,5431	0,8142
Erro puro	0,0429	4	0,0107		
Soma total dos quadrados	0,5620	18			

*Variáveis consideradas significativas com 95 % de confiança.

Tabela A2 – Tabela ANOVA para a tensão na ruptura dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA.

Fator	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	Valor F	Valor-p
[Gelatina] (L)	6,4492	1	6,4492	52,4325	0,0019*
[Gelatina] (Q)	3,2146	1	3,2146	26,1347	0,0069*
[PVA] (L)	1,2421	1	1,2421	10,0984	0,0336*
[PVA] (Q)	2,3749	1	2,3749	19,3080	0,0117*
[Gelatina] (L) por [PVA] (L)	0,6786	1	0,6786	5,5172	0,0786
Falta de ajuste	1,4851	9	0,1650	1,3416	0,4151
Erro puro	0,4920	4	0,1230		
Soma total dos quadrados	15,3390	18			

*Variáveis consideradas significativas com 95 % de confiança.

Tabela A3 – Tabela ANOVA para o módulo de Young dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA.

Fator	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	Valor F	Valor-p
[Gelatina] (L)	132,6216	1	132,6216	66,3108	0,0012*
[PVA] (L)	145,4282	1	145,4282	72,7141	0,0010*
[PVA] (Q)	113,6887	1	113,6887	56,8444	0,0016*
[Gelatina] (L) por [PVA] (L)	28,5012	1	28,5012	14,2506	0,0195*
Falta de ajuste	99,9276	10	9,9928	4,9964	0,0674
Erro puro	8,0000	4	2,0000		
Soma total dos quadrados	528,1674	18			

*Variáveis consideradas significativas com 95 % de confiança.

Tabela A4 – Tabela ANOVA para a elongação na ruptura dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA.

Fator	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	Valor F	Valor-p
[Gelatina] (L)	21992,16	1	21992,16	121,0356	0,0004*
[Gelatina] (Q)	11968,58	1	11968,58	65,8700	0,0012*
[PVA] (L)	4155,28	1	4155,28	22,8689	0,0088*
[PVA] (Q)	10562,33	1	10562,33	58,1306	0,0016*
[Gelatina] (L) por [PVA] (L)	3570,12	1	3570,12	19,6485	0,0114*
Falta de ajuste	4432,97	9	492,55	2,7108	0,1749
Erro puro	726,80	4	181,70		
Soma total dos quadrados	54973,68	18			

*Variáveis consideradas significativas com 95 % de confiança.

Tabela A5 – Tabela ANOVA para o intumescimento em 2 minutos dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA.

Fator	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Valor F	Valor-p
[Gelatina] (L)	5457,84	1	5457,84	11,5632	0,0273*
[PVA] (L)	18912,80	1	18912,80	40,0695	0,0032*
[PVA] (Q)	5705,64	1	5705,64	12,0882	0,0254*
[Gelatina] (L) por [PVA] (L)	5253,13	1	5253,13	11,1295	0,0289*
Falta de ajuste	4982,39	10	498,24	1,0556	0,5238
Erro puro	1888,00	4	472,00		
Soma total dos quadrados	42199,79	18			

*Variáveis consideradas significativas com 95 % de confiança.

Tabela A6 – Tabela ANOVA para o fluxo de permeação de vapor de água (WVPF) dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA.

Fator	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	Valor F	Valor-p
[Gelatina] (L)	10008,40	1	10008,40	63,4648	0,0013*
[Gelatina] (Q)	46,06	1	46,06	0,2921	0,6176
Falta de ajuste	2659,69	12	221,64	1,4055	0,4003
Erro puro	630,80	4	157,70		
Soma total dos quadrados	13344,95	18			

*Variáveis consideradas significativas com 95 % de confiança.

Tabela A7 – Tabela ANOVA para a fração de gel dos filmes de hidrogel de gelatina e PVA.

Fator	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	Valor F	Valor-p
[Gelatina] (L)	2980,40	1	2980,40	338,6820	0,00005*
[Gelatina] (Q)	84,77	1	84,77	9,6332	0,0361*
[PVA] (L)	803,02	1	803,02	91,2528	0,0007*
[PVA] (Q)	250,75	1	250,75	28,4939	0,0059*
[Gelatina] (L) por [PVA] (L)	264,50	1	264,50	30,0568	0,0054*
Falta de ajuste	302,28	9	33,59	3,8166	0,1049
Erro puro	35,20	4	8,80		
Soma total dos quadrados	4690,00	18			

*Variáveis consideradas significativas com 95 % de confiança.

APÊNDICE B – SUPERFÍCIES DE RESPOSTA

Figura B1 – Superfícies de resposta para o efeito (a) da concentração de gelatina e da dose de UV com concentração de PVA constante de 5 % e (b) da concentração de PVA e da dose de UV com concentração de gelatina constante de 5 % na espessura dos filmes de hidrogel.

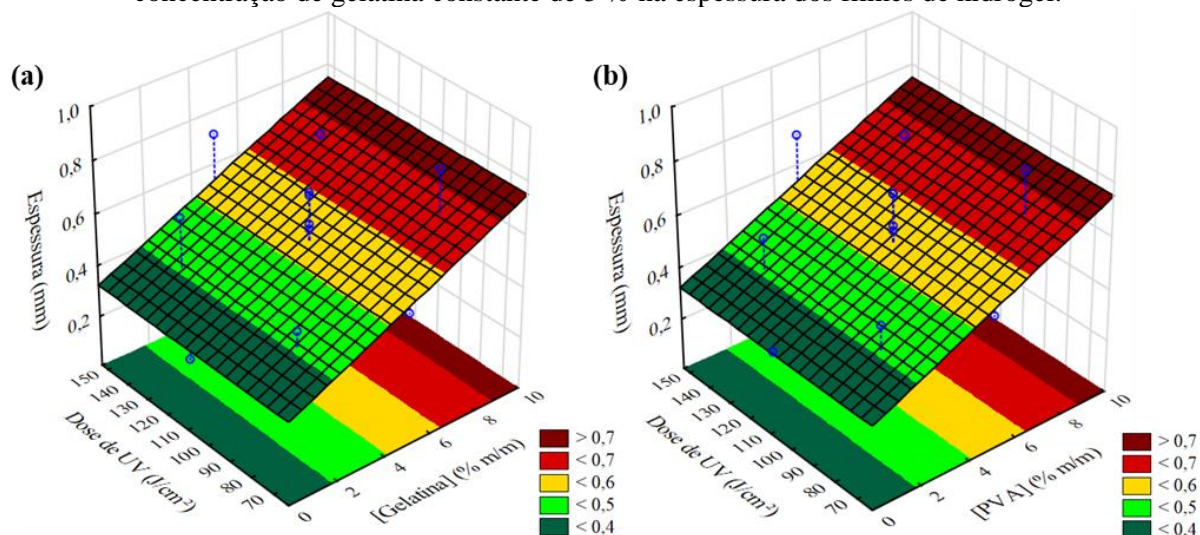


Figura B2 – Superfícies de resposta para o efeito (a) da concentração de gelatina e da dose de UV com concentração de PVA constante de 5 % e (b) da concentração de PVA e da dose de UV com concentração de gelatina constante de 5 % na tensão de ruptura, módulo de Young e elongação na ruptura dos filmes de hidrogel.

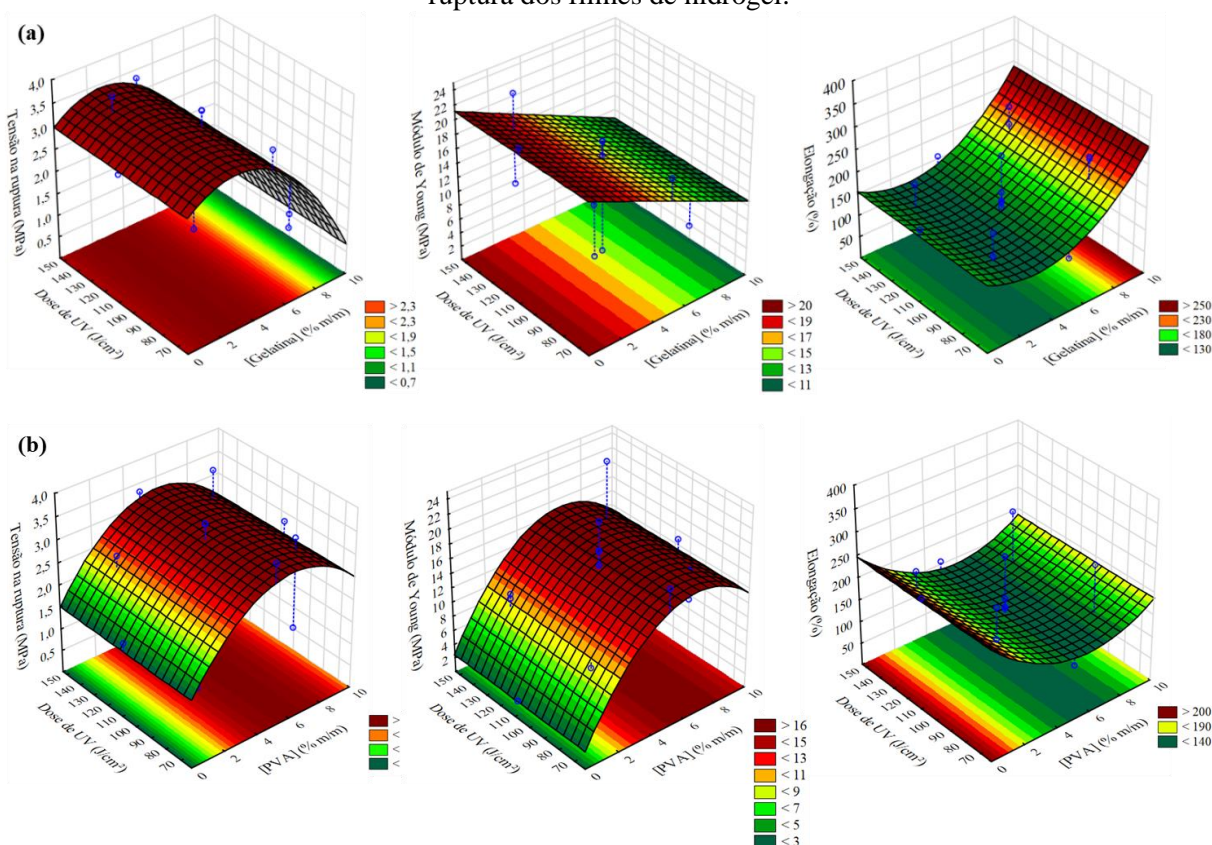


Figura B3 – Superfícies de resposta para o efeito (a) da concentração de gelatina e da dose de UV com concentração de PVA constante de 5 % e (b) da concentração de PVA e da dose de UV com concentração de gelatina constante de 5 % no intumescimento dos filmes de hidrogel.

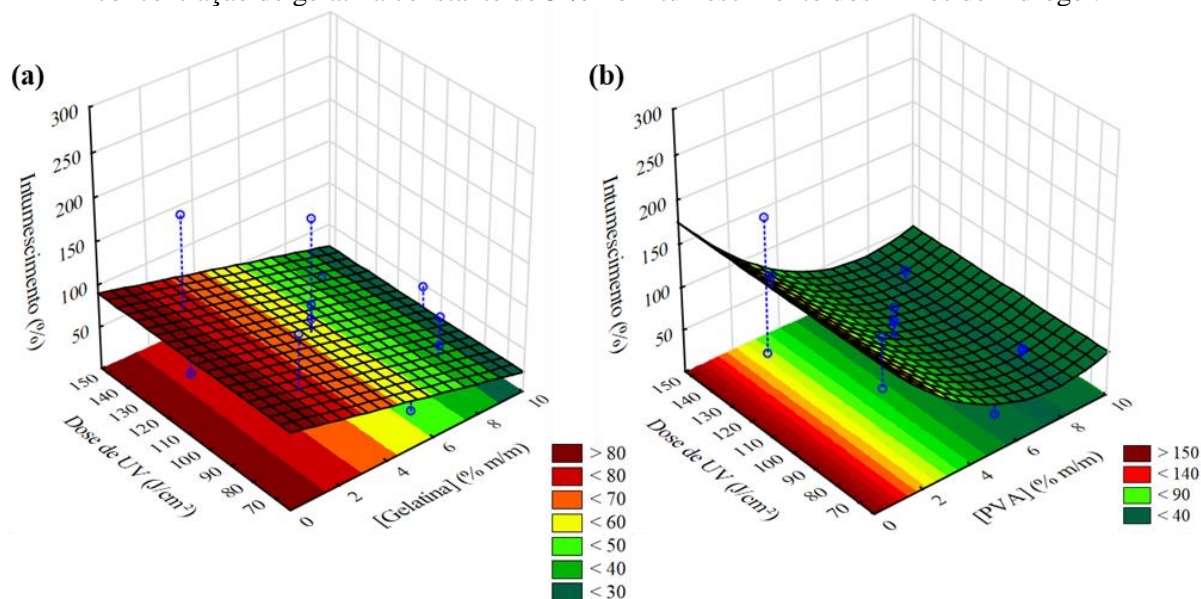


Figura B4 – Superfícies de resposta para o efeito (a) da concentração de gelatina e da dose de UV com concentração de PVA constante de 5 % e (b) da concentração de PVA e da dose de UV com concentração de gelatina constante de 5 % no fluxo de permeação de vapor de água (WVVP) dos filmes de hidrogel.

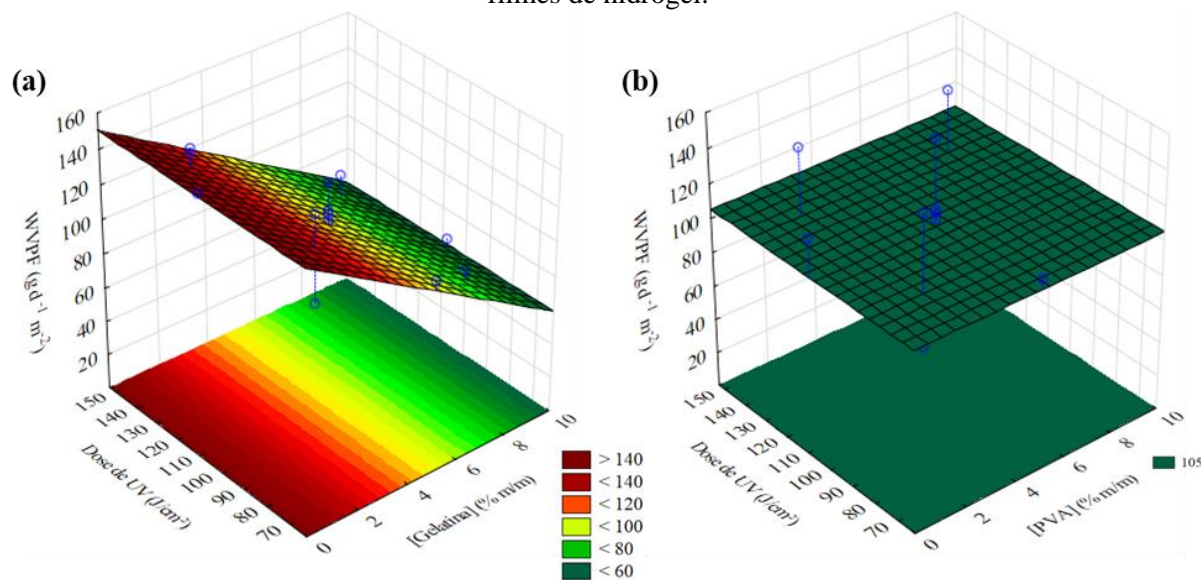
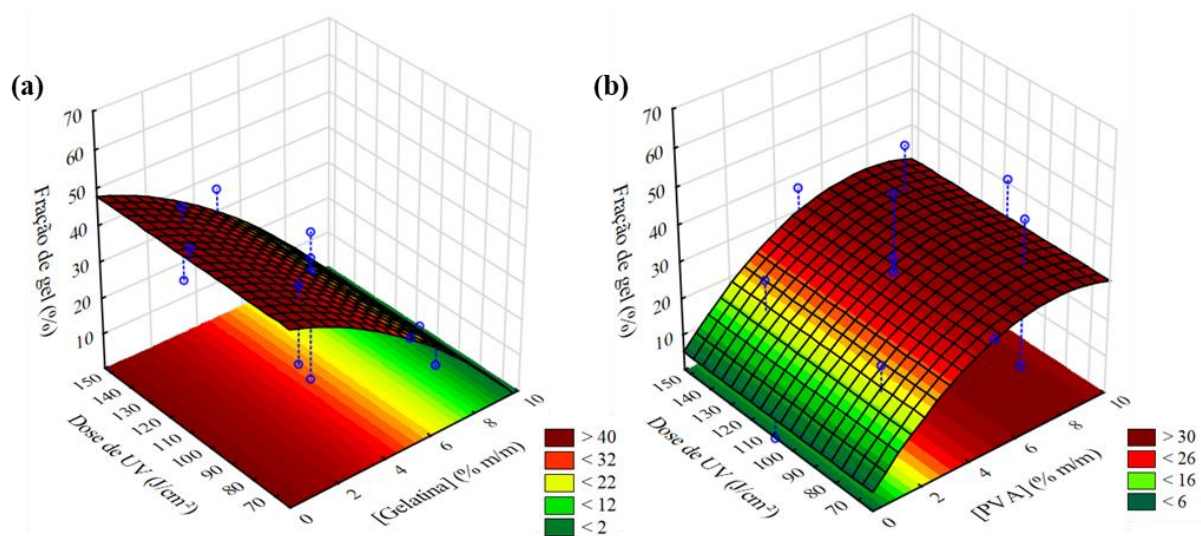


Figura B5 – Superfícies de resposta para o efeito (a) da concentração de gelatina e da dose de UV com concentração de PVA constante de 5 % e (b) da concentração de PVA e da dose de UV com concentração de gelatina constante de 5 % na fração de gel dos filmes de hidrogel.



APÊNDICE C – CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL

Figura C1 – Curvas obtidas pelo ensaio de calorimetria exploratória diferencial (DSC) para os filmes de hidrogel controle, otimizado e contendo óleo essencial de lavanda (OEL) ou de pinheiro silvestre (OEP) em diferentes concentrações.

