



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE MATERIAIS

Sonia Maria da Silva Garcia

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGEL DE
QUITOSANA ADITIVADO COM ÓXIDO DE ZINCO E ÓLEO
ESSENCIAL DE *SCHINUS TEREBENTHIFOLIUS RADDI* (PIMENTA
ROSA)**

Recife
2018

Sonia Maria da Silva Garcia

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGEL DE
QUITOSANA ADITIVADO COM ÓXIDO DE ZINCO E ÓLEO
ESSENCIAL DE SCHINUS TEREBENTHIFOLIUS RADDI (PIMENTA
ROSA)**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciência de Materiais.

Área de concentração: Materiais poliméricos

Orientadora: Prof^a. Dra. Glória Maria Vinhas

Coorientadores: Prof. Dr. Severino Alves Júnior

Dra. Iane Bezerra Vasconcelos Alves

Recife
2018

Catálogo na fonte
Bibliotecária Elaine Freitas CRB4-1790

G216d Garcia, Sonia Maria da Silva
Desenvolvimento e caracterização de hidrogel de quitosana aditivado com óxido de zinco e óleo essencial de schinus terebenthifolius raddi (pimenta rosa) / Sonia Maria da Silva Garcia. – 2018.
117 f.: fig., tab.

Orientadora: Glória Maria Vinhas.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Ciência de Materiais. Recife, 2018.
Inclui referências e apêndices.

1. Polímeros. 2. Atividade antimicrobiana. 3. Citotoxicidade. I. Vinhas, Glória Maria (orientadora). II. Título.

620.192 CDD (22. ed.) UFPE-FQ 2019-16

SONIA MARIA DA SILVA GARCIA

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGEL DE QUITOSANA
ADITIVADO COM ÓXIDO DE ZINCO E ÓLEO ESSENCIAL DE SCHINUS
TEREBENTHIFOLIUS RADDI (PIMENTA ROSA)

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciência de Materiais.

Aprovada em: 22/10/2018.

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Glória Maria Vinhas (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Viviane Fonseca Caetano (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Yêda Medeiros Bastos de Almeida (Examinadora interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Ednaldo Cavalcante de Araújo (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Ivone Antonia de Souza (Examinadora Externa)
Universidade Federal da Pernambuco

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo conforto espiritual e por me proporcionar determinação para o desenvolvimento desta pesquisa.

A minha família, Pedro, Rafael, Gabriela e Stela, que sempre me apoiam em tudo e tem sido um forte pilar na minha vida.

Aos orientadores, Professores Dra. Glória Maria Vinhas, Dr. Severino Alves Júnior e Dra. Iane Bezerra Vasconcelos Alves, meus pais científicos, pelos ensinamentos, pela amizade, paciência, confiança e compreensão.

Aos amigos do LMPC, em especial a Gelsoneide da Silva Gois, Michelle Félix de Andrade, Ivo Diego de Lima Silva, Jéssica Camilla da Costa Lima e Carla Fabiana da Silva pela convivência, amizade, ajuda, compreensão, aprendizado.

Aos colegas do BSTR, em particular, José Yago Rodrigues Silva, pela significativa contribuição disponibilizada a este trabalho.

Ao Prof. Rinaldo Aparecido Mota do Departamento de Veterinária da UFRPE por ceder o laboratório e o médico veterinário André de Souza Santos para colaborar na efetivação dos testes microbiológicos.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco – *Campus* Belo Jardim, pela liberação da licença para estudo ancorando desta forma a efetivação do doutorado.

Por fim, a todos que de algum modo, contribuíram direta ou indiretamente na concretização desse estudo.

“O êxito da vida não se mede pelo caminho que você conquistou, mas sim pelas dificuldades que superou no caminho”
(Abraham Lincoln apud PAULA, 2017, p.40).

RESUMO

Diante da preocupação com o aumento de bactérias resistentes, novas alternativas terapêuticas são investigadas, entre as quais, se destaca a utilização de produtos naturais. Exemplo desses produtos pode-se destacar a quitosana, um polímero natural, biodegradável, biocompatível, atóxico. Exerce atividade antimicrobiana, além de possuir, também, ação mucoadesiva, anticoagulante, imunoestimulante, cicatrizante, antitumoral, hemostática, hipolipêmica, dentre outras. Outra substância que pode ser utilizada para fins terapêuticos é o óleo essencial da *Schinus Terebenthifolius Raddi* (Pimenta rosa), pois, possui atividade diurética, adstringente, antidiarreica, anti-inflamatória, cicatrizante, bactericida, antiviral, analgésica, sedativa, expectorante, antipirética, vermífuga e antisséptica. Pode-se também citar exemplos de compostos inorgânicos, como os óxidos metálicos que atuam na inibição bacteriana, em particular o ZnO. O objetivo deste trabalho foi desenvolver hidrogéis à base de quitosana aditivados com óxido de zinco ou/e óleo essencial de *Schinus terebenthifolius Raddi* (Pimenta rosa). O hidrogel Qui/ZnO/OEP foi obtido por diluição de 2g de quitosana solubilizadas em 1mL de ácido acético e, adicionado 30 mL de água destilada. Acrescentado 0,001g de óxido de zinco e 1,75g de óleo essencial de Pimenta rosa sobre agitação. A partir da cromatografia gasosa acoplada com espectrômetro de massa observou-se que o óleo essencial de Pimenta rosa é constituído por cinco compostos, sendo o α -pineno o componente majoritário (48%). A Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier não confirmou a presença do óxido de zinco e o óleo de Pimenta rosa nos hidrogéis elaborados. Entretanto, através Análise de Componentes Principais foi possível identificar mudanças na composição dos três hidrogéis. Por Análise termogravimétrica foi identificado semelhantes perdas de massa, que ocorreram em três estágios. Pela Calorimetria Exploratória Diferencial pode-se verificar que o hidrogel de quitosana apresentou dois eventos básicos, sendo o primeiro endotérmico e o segundo exotérmico. Mas, os hidrogéis Qui/ZnO e o Qui/ZnO/OEP só apresentaram o evento endotérmico. Por meio dos ensaios reológicos foi verificado que o óleo essencial de Pimenta rosa apresentou comportamento de fluido newtoniano, e os hidrogéis, Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP, de fluidos não-newtonianos, pseudoplásticos. Evidenciou-se que *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* foram extremamente sensíveis aos três hidrogéis estudados. O *Staphylococcus epidermidis* muito sensível

e *Escherichia coli*, sensível. Os valores de Concentrações Inibitória Mínima e Bactericida Mínima dos três hidrogéis frente à *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* foram os mesmos ($0,23 \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$), já para *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* evidenciou-se somente Concentração Inibitória Mínima, sendo respectivamente, $0,46 \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ e $0,23 \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$. O hidrogel Qui/ZnO/OEP apresentou efeito citotóxico em concentrações acima de $0,01$ até $1 \text{ mg}/\text{mL}$. O percentual de intumescimento dos hidrogéis Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP aumentou com o acréscimo do tempo de exposição a água, variando entre $29,8\%$ e $503,4\%$.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana. Citotoxicidade. Hidrogel. Intumescimento. Óleo essencial de Pimenta rosa. Óxido de zinco. Quitosana.

ABSTRACT

Faced with the concern with the increase of resistant bacteria, new therapeutic alternatives are investigated, among which, the use of natural products stands out. Examples of these products are chitosan, a natural, biodegradable, biocompatible, non-toxic polymer. It exerts antimicrobial activity, besides possessing, also, mucoadhesive action, anticoagulant, immunostimulating, healing, antitumor, hemostatic, hypolipemic, among others. Another substance that can be used for therapeutic purposes is the essential oil of *Schinus Terebenthifolius* Raddi (Pink pepper), because it has diuretic, astringent, antidiarrheal, anti-inflammatory, cicatrizing, bactericidal, antiviral, analgesic, sedative, expectorant, antipyretic, vermifuge and antiseptic. Mention may also be made of inorganic compounds, such as metal oxides which act on bacterial inhibition, in particular ZnO. The objective of this work was to develop chitosan-based hydrogels added with zinc oxide and / or essential oil of *Schinus terebenthifolius* Raddi (Pink pepper). The Qui / ZnO / OEP hydrogel was obtained by diluting 2 g of chitosan solubilized in 1 ml of acetic acid and adding 30 ml of distilled water. Add 0.001g of zinc oxide and 1.75g of pink pepper essential oil over shaking. From the gas chromatography coupled with mass spectrometer it was observed that the essential oil of Pink pepper is composed of five compounds, with α -pinene being the major component (48%). Infrared Spectroscopy with Fourier Transform did not confirm the presence of zinc oxide and pink pepper oil in the elaborated hydrogels. However, through Principal Component Analysis it was possible to identify changes in the composition of the three hydrogels. By thermogravimetric analysis, similar mass losses were identified, which occurred in three stages. By the Exploratory Differential Calorimetry, it can be verified that the chitosan hydrogel presented two basic events, being the first endothermic and the second exothermic. However, the Qui / ZnO and Qui / ZnO / EPO hydrogels only showed the endothermic event. By means of the rheological tests it was verified that the essential oil of *Pimenta rosa* presented behavior of Newtonian fluid, and the hydrogels, Qui, Qui / ZnO and Qui / ZnO / EPO, of non-Newtonian, pseudoplastic fluids. It was evidenced that *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* were extremely sensitive to the three hydrogels studied. Very sensitive *Staphylococcus epidermidis* and sensitive *Escherichia coli*. The Minimum Inhibitory and Minimum Bactericidal Concentrations of the three hydrogels against *Staphylococcus aureus*,

Staphylococcus epidermidis were the same ($0.23 \mu\text{g} / \text{mL}^{-1}$), for Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa, only Minimal Inhibitory Concentration was found, being $0.46 \mu\text{g} / \text{mL}^{-1}$ and $0.23 \mu\text{g} / \text{mL}^{-1}$, respectively. The Qui / ZnO / OEP hydrogel presented cytotoxic effect at concentrations above 0.01 to $1 \text{ mg} / \text{mL}$. The swelling percentage of the Qui, Qui / ZnO and Qui / ZnO / EPO hydrogels increased with increasing exposure time to water ranging from 29.8% to 503.4%

Keywords: Antimicrobial activity. Cytotoxicity. Hydrogel. Swelling. Essential Oil of Pink Pepper. Chitosan. Zinc oxide.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Estrutura química de celulose, quitina e quitosana	22
Figura 2	Representação da ação antimicrobiana da quitosana	25
Figura 3-	Frutos de Pimenta rosa	33
Figura 4-	Classificação dos fluidos conforme comportamento reológico	37
Figura 5-	Curvas de fluidos newtoniano e não newtonianos.....	38
Figura 6-	Curvas de fluxo para fluidos reopéticos e tixotrópicos.....	39
Figura 7-	Processo de intumescimento: retículos de hidrogel no estado seco e intumescido	43
Figura 8-	Forças presentes em hidrogéis intumescidos	43
Figura 9-	Estrutura representativa de hidrogéis químico e físico.....	48
Figura 10	Densidade de ligação cruzada em polímeros.....	49
Figura 11-	Correlação entre densidade de reticulação e propriedades do hidrogel	50
Figura 12-	Esquema ilustrativo da influência da temperatura no processo de intumescimento.....	51
Figura 13-	Efeito do pH no intumescimento de um hidrogel de quitosana.	53
Figura 14-	Grau de intumescimento de filmes de quitosana em pH 4 e 7	54
Figura 15-	Verificação de pureza do inóculo bacteriano de <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i>	57
Figura 16-	Placa de Petri com ágar Mueller Hinton com 5 poços de 12 mm de diâmetro	58
Figura 17-	Esquema da placa preparada para o ensaio da CIM dos hidrogéis de Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP frente a <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i>	59
Figura 18-	Concentração bactericida mínima (CBM) dos hidrogéis Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP.....	60
Figura 19-	Cromatograma do óleo essencial de Pimenta rosa	66
Figura 20-	Molécula do α -pineno	67
Figura 21-	Espectros de FTIR do óleo essencial de Pimenta rosa e dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP)	69

Figura 22-	Gráficos de scores PC1 X PC2 dos hidrogéis de Qui, hidrogel de Qui/ZnO e hidrogel Qui/ZnO/ OEP	72
Figura 23-	Gráfico dos loadings da PCA dos hidrogéis de Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/ OEP	73
Figura 24-	Termograma de TGA dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP)	74
Figura 25-	Termograma de DSC dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP)	76
Figura 26-	Curvas de tensão de cisalhamento (Pa) em função da taxa de cisalhamento (rad/s) do OEP e dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP)	78
Figura 27-	Curvas de viscosidade (mPa) em função da taxa de cisalhamento (1/s) do OEP e dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP)	79
Figura 28-	Módulo de armazenamento em função da frequência angular do OEP e dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP)	80
Figura 29-	Fator de amortecimento (Tan δ) em função da Frequência Angular do OEP e dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP)	81
Figura 30-	Teste de difusão em ágar, em poço, frente as bactérias gram-positivas (<i>S. aureos</i> , <i>S. epidermidis</i>)	84
Figura 31-	Teste de difusão em ágar, em poço, frente as bactérias gram-negativas (<i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i>)	85
Figura 32-	Gráfico do crescimento de <i>S. cerevisiae</i> sob diferentes concentrações do hidrogel Qui/ZnO/OEP.....	90
Figura 33-	Gráfico de viabilidade celular (%) de <i>S. cerevisiae</i> em distintas concentrações do hidrogel Qui/ZnO/OEP.....	92
Figura 34-	Gráfico da relação entre concentrações do hidrogel Qui/ZnO/OEP e taxa de crescimento celular da levedura <i>S. cerevisiae</i>	93
Figura 35-	Grau de Intumescimento dos hidrogéis de Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP.....	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Micro-organismos empregados na avaliação da atividade antimicrobiana.....	55
Tabela 2-	Proporções (%) dos componentes identificados no óleo essencial de Pimenta rosa	67
Tabela 3-	Principais bandas vibracionais do óleo essencial de Pimenta rosa.....	69
Tabela 4-	Principais bandas vibracionais dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP)	70
Tabela 5-	Valores de temperatura dos estágios de perda de massa (%) e massa residual dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP) .	75
Tabela 6-	Diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano, em mm, frente aos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP) pelo teste de difusão em poço.....	83
Tabela 7-	Concentração Mínima Inibitória e concentração bactericida mínima dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP) frente a <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i>	86
Tabela 8-	Parâmetros de regressão para uma função do tipo $y = a.x + b$	91

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ATR	Refletância Total Atenuada
CBM	Concentração Mínima Bactericida
CETENE	Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste
CIM	Concentração Mínima Inibitória
DA	Grau de acetilação
DEQ	Departamento de Engenharia Química
DQF	Departamento de Química Fundamental
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
Eq.	Equação
IPN	Polímeros interpenetrantes
ISO	International Standard Organization
Fig.	Figura
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
GC	Cromatografia gasosa
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada com espectrômetro de massas
GI	Grau de Intumescimento
LAC	Laboratório de combustível
LCST	Low critical solution temperature
LMPC	Laboratório de material polimérico e caracterização
m	Massa da amostra seca
m'	Massa da amostra intumescida
MW	Peso molecular
OE	Óleo essencial
OEP	Óleo essencial de Pimenta rosa
PCA	Análise de Componentes Principais
QUI	Quitosana
ROS	Espécies reativas de oxigênio
tan δ	Fator de amortecimento
TGA	Análise termogravimétrica
TI	Taxa de intumescimento

UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UFPEDA	Coleção de Culturas de Microrganismos do Departamento de Antibióticos
ξ	Tamanho da malha
ω	Frequência angular
ZnO	Óxido de zinco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	21
2.1	OBJETIVO GERAL	21
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
3.1	QUITOSANA	22
3.2	HIDROGEL	26
3.2.1	Hidrogéis de quitosana	29
3.3	ÓLEO ESSENCIAL	31
3.3.1	Óleo essencial de <i>Schinus terebenthifolius</i> Raddi (Pimenta rosa)	32
3.4	ÓXIDO DE ZINCO	34
3.5	REOLOGIA	36
3.6	CITOTOXICIDADE	39
3.7	GRAU DE INTUMESCIMENTO	42
3.7.1	Fatores que afetam o intumescimento polimérico	47
3.7.1.	<i>Natureza química do solvente e do polímero</i>	47
1		
3.7.1.	<i>Reticulação</i>	48
2		
3.7.1.	<i>Efeito da temperatura no intumescimento</i>	50
3		
3.7.1.	<i>Efeito do pH no intumescimento</i>	51
4		
3.7.1.	<i>Experimentos sobre intumescimento de hidrogéis</i>	53
5		
4	MATERIAIS E MÉTODO	55
4.1	MATERIAIS	55
4.1.1	Micro-organismos utilizados nos testes microbiológicos	55
4.2	MÉTODO	56
4.2.1	Preparo dos hidrogéis	56
4.2.2	Determinação da atividade antimicrobiana	56

4.2.2.	<i>Método de difusão em ágar</i>	56
1		
4.2.2.	<i>Método de diluição em microplacas para determinação da</i> <i>Concentração Inibitória Mínima (CIM)</i>	58
2		
4.2.2.	<i>Determinação da concentração bactericida mínima (CBM)</i>	60
3		
4.2.3	Citotoxicidade dos hidrogéis Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP	60
4.2.3.	<i>Viabilidade celular</i>	61
1		
4.2.4	Análise estatística	62
5	TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO	63
5.1	CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA COM ESPECTRÔMETRO DE MASSA (CG-MS) DO ÓLEO ESSENCIAL DE PIMENTA ROSA.....	63
5.2	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	63
5.3	ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA).....	63
5.4	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA).....	64
5.5	CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC).....	64
5.6	REOLOGIA.....	64
5.7	IDENTIFICAÇÃO DO GRAU DE INTUMESCIMENTO	64
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
6.1	CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA COM ESPECTRÔMETRO DE MASSA (CG-MS) DO ÓLEO ESSENCIAL DE PIMENTA ROSA.....	66
6.2	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	68
6.3	ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA).....	71
6.4	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA).....	74
6.5	CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL(DSC).....	76
6.6	REOLOGIA.....	78
6.7	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS HIDROGÉIS QUI, QUI/ZNO E QUI/ZNO/OEP.....	82

6.7.1	Determinação da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em poço.....	83
6.7.2	Método de diluição em microplaca para determinação da Concentração Inibitória Mínima e Concentração bactericida Mínima.....	85
6.8	ENSAIO	89
6.9	DECITOTOXICIDADE.....INTUMES CIMENTO DOS HIDROGÉIS (QUI, QUI/ZNO E QUI/ZNO/OEP)	93
7	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	96
	REFERÊNCIAS.....	98
	APÊNDICES A- ARTIGO PUBLICADO NO JOURNAL OF NURSING UFPE ON LINE	112
	APÊNDICES B- ARTIGO PUBLICADO NO MATERIALS RESEARCH	113
	APÊNDICES C- ACEITE PARA PUBLICAÇÃO NA CIENTEC.....	114

1 INTRODUÇÃO

A quitosana é um polímero que possui aplicações nas mais diversas áreas, como: alimentícia, tratamento de resíduos, indústria farmacêutica, princípios de filtração e agronomia, todavia, o setor onde a quitosana mostrou-se extremamente próspero foi no campo biomédico. A relevância da quitosana nesta área correlaciona-se as suas propriedades biológicas como antimicrobiana, biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa toxicidade e baixa imunogenicidade (RINAUDO, 2006; RAFIQUE, 2016).

A aplicação da quitosana no tratamento de feridas se deve fundamentalmente as suas particularidades biológicas e também, em algum grau, às características físicas e mecânicas. O uso de quitosana em feridas antecipa a renovação tecidual, enquanto relacionado com outros procedimentos consagrados de terapêutica (ALEMDAROGLU, 2006; FRAGUAS et al., 2015).

A quitosana é um polissacarídeo natural que tem a função de aprimorar a neovascularização e a gênese de tecido de granulação, duas etapas relevantes do processo cicatricial das feridas. Isto ocorre pela ampliação da taxa de infiltração de fibroblastos e células inflamatórias, na excitação da geração de colágeno pelos fibroblastos e no acionamento da fabricação de citosinas pelas células, o que efetiva a quitosana como uma dinamizadora da reparação dos tecidos (HOWLING et al., 2001; SILVA et al., 2006; ALSARRA, 2009; FRÁGUAS et al., 2015).

Outra propriedade da quitosana é a solubilidade em meio ácido e a agregação com poliânions, que conferem a quitosana a característica de ser excelente formadora de gel, podendo ser utilizada como hidrogel (FRÁGUAS et al., 2015).

Os hidrogéis são entrecruzamentos tridimensionais de polímeros que conseguem intumescer em ambiente aquoso ou líquido biológico e preservar uma grande parcela de água na sua infraestrutura sem se desintegrar. Os hidrogéis são fundamentados em polímeros hidrofílicos, que são entrelaçados para impedir a sua dissolução em água, podendo assim ser empregados para armazenar células, fármacos ou proteínas. Em consequência da existência de alguns grupos funcionais na extensão das cadeias do polímero, os hidrogéis são

frequentemente suscetíveis às circunstâncias do meio ambiente, tais como constituição do solvente, pH e temperatura (RAFIQUE, 2016).

Os hidrogéis de quitosana são empregados nas áreas farmacêutica, cosmética, médica e especialmente para a terapêutica de feridas, agregação de macromoléculas e sustentáculo para a liberação de fármacos. Essas utilizações são convenientes aos hidrogéis por exibirem peculiaridades, tais como porosidade do soluto, grau de tumescência, cinética de absorvência de um líquido, capacidade de perceber e reagir a mudanças de pH, inexistência de influências hidrofóbicas e particularidades de performance *in vivo* oportunas (RAFIQUE, 2016).

O uso da quitosana torna-se possível na condição de hidrogel, sobretudo relacionado à sua biocompatibilidade (RAFIQUE, 2016). De acordo com Alemdaroglu e colaboradores (2006), o gel de quitosana age na qualidade de extraordinário curativo para lesões diante das suas especificidades cicatrizantes, e também, apresenta predisposição de aderência tecidual conduzindo uma expressiva contração da ferida antecipando seu fechamento (OBARA et al., 2006).

Com a predisposição vigente em empregar itens naturais, a utilização de antimicrobianos naturais extraídos de plantas, tais como os óleos essenciais, tornam-se cada vez mais evidentes o uso dessas substâncias em tratamentos de feridas (PEREIRA et al., 2006).

A Organização Mundial da Saúde (OMS, 2000) mostra que 80% dos habitantes mundiais utilizam ervas medicinais. Segundo Dourado (2012), a Pimenta rosa, popularmente denominada por aroeira, é empregada em décima posição entre 138 plantas medicinais mencionadas. A Pimenta rosa é empregada na medicina popular para a terapêutica de diversos tipos de dores, doenças venéreas, gengivite, reumatismo, febre e diarreias, tratamento coadjuvante do câncer.

Há uma progressiva curiosidade em descobrir propulsores antimicrobianos naturais para aplicação terapêutica, com o propósito de favorecer atividade sinérgica ou em troca aos conservantes químicos, os quais possuem uso reduzido, devido a iminente potencialidade carcinogênica (RAUHA et al., 2000). Dessa maneira, são indispensáveis, adequadas aplicações de recursos financeiros e pesquisas para trocar os aditivos sintéticos por

conservantes naturais existentes nas plantas e que exerçam atividade antimicrobiana.

Além dos polissacarídeos e óleos essenciais como substâncias com princípios bioativos, também vem sendo investigados alguns óxidos metálicos, destacando-se o óxido de zinco (ZnO) com ação antimicrobiana.

O hidrogel de quitosana adicionado com óxido de zinco e óleo essencial de Pimenta rosa torna-se uma alternativa apropriada para terapêutica em combate às bactérias patogênicas, uma vez que exibem ação antimicrobiana (RINAUDO, 2006; RAFIQUE, 2016; DOURADO, 2012; QI et al., 2017).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Desenvolver hidrogéis à base de quitosana aditivados com óxido de zinco ou/e óleo essencial de *Schinus terebenthifolius Raddi* (Pimenta rosa).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

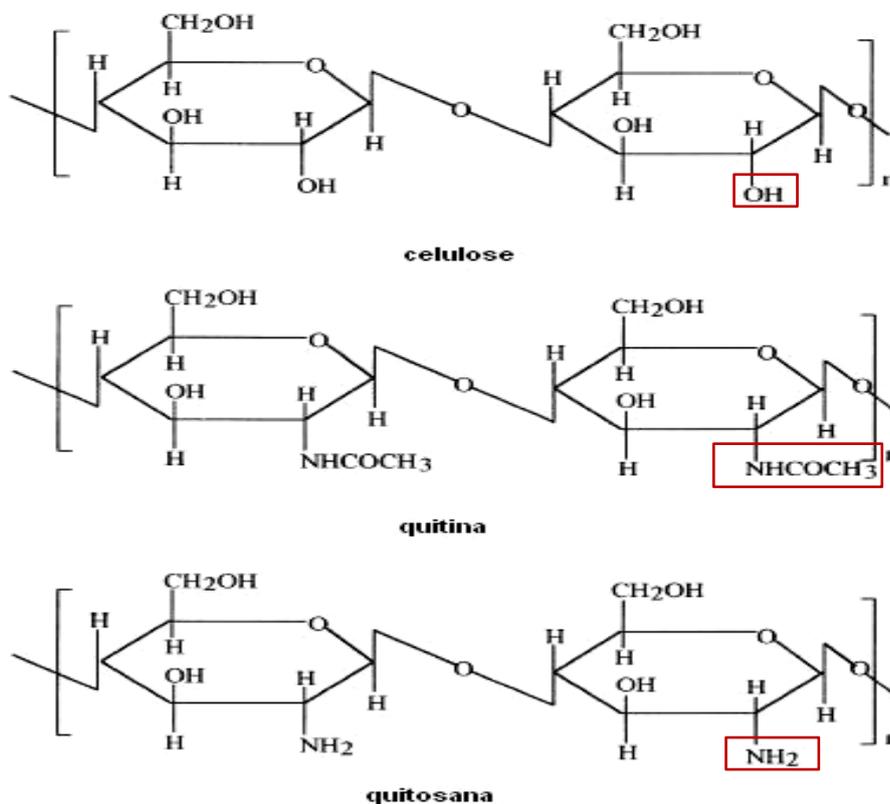
- Desenvolver hidrogéis a partir de quitosana;
- Elaborar géis de quitosana na presença do óxido de zinco para avaliar a dispersão desse óxido na matriz polimérica;
- Preparar géis de quitosana/óxido de zinco/ óleo de Pimenta rosa com a finalidade de avaliar o sinergismo do sistema;
- Caracterizar o hidrogel sintetizado por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier, análise de componentes principais, análise termogravimétrica, calorimetria exploratória diferencial e análise reológica;
- Avaliar *in vitro* as propriedades antimicrobianas dos hidrogéis (quitosana, quitosana/óxido de zinco como também, quitosana/óxido de zinco/óleo de Pimenta rosa) frente às linhagens de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* através da determinação da concentração mínima inibitória (CMI) e teste de Disco-difusão;
- Avaliar a citotoxicidade do hidrogel Qui/ZnO/OEP;
- Investigar a competência de intumescimento dos hidrogéis Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 QUITOSANA

A quitosana é desenvolvida a partir da quitina, que se encontra fartamente na natureza como elemento estrutural do exoesqueleto de artrópodes (compreendendo crustáceos, insetos), algas e paredes celulares de alguns fungos. Estruturalmente a quitina é um mucopolissacarídeo linear e insolúvel em água (KUMAR, 2000). Na Figura 1 pode-se observar a estrutura química da celulose, quitina e quitosana.

Figura 1- Estrutura química da celulose, quitina e quitosana.



Fonte: VAN DEN BROEK et al., (2015).

Segundo Mendes e colaboradores (2011), a quitosana (Figura 1) é quimicamente uma poliamina, produto da desacetilação da quitina. É um polímero biodegradável, natural e renovável, de vasto valor econômico e ambiental. Este biopolímero tem uma estrutura molecular quimicamente idêntica

à da celulose, diferenciando-se somente nos grupos funcionais –OH, -NHCOCH₃ e NH₂.

A solubilidade da quitosana resulta da sua origem biológica, massa molecular e grau de acetilação (GOY et al., 2009). É solúvel em meio de ácidos orgânicos (ácido acético, fórmico, cítrico) e inorgânicos (ácido clorídrico), constituindo um polímero catiônico, com a protonação do grupo amino originando o íon NH₃⁺, que atribui características peculiares como, por exemplo, a formação de uma solução viscosa apta a desenvolver invólucros ou películas de recobrimento. A qualidade e as características da quitosana podem mudar de acordo com seu método de fabricação que interfere nas características do produto final. No estado sólido, a quitosana é um polímero semicristalino (DENKBAS et al., 2002).

A quitosana é caracterizada pelo sua massa molar (MM) e grau de acetilação (DA). A quitosana, que está à disposição no comércio, possui grau de desacetilação >85% (DA < 15%) e massa molecular contido entre 100-1000 kDa. É, comumente, reconhecido que a quitosana de baixa massa tem MM < 50 kDa, a de médio tem MM entre 50-150 kDa e a de alta massa MM > 150 kDa (GOY et al., 2009).

A quitosana pode ser manipulada nos formatos de lâminas, filmes, fibras e géis. É uma molécula extremamente funcional, exercendo ação mucoadesiva, anticoagulante, imunoestimulante, cicatrizante, antitumoral, hemostática, hipolipêmica, antimicrobiana, dentre outras (AZEVEDO et al., 2007; KURITA, 2006; TAVARIA et al., 2013).

Kean e Thanou (2010) informaram que a quitosana é biodegradada pela enzima lisozima, gerando compostos aminados não tóxicos, não imunogênicos e não carcinogênicos, que são totalmente expelidos pelo organismo.

Esse polissacarídeo ainda apresenta amplas aplicações peculiares na indústria alimentícia, dentre elas estão o desenvolvimento de filmes biodegradáveis e preservação de alimentos contra degradação microbiana. Na indústria farmacêutica e alimentícia, são amplamente aproveitadas no transporte para liberação de fármacos e compostos bioativos (SINGH et al., 2009, KANATT; CHANDER; SHARMA, 2008; KUMAR, 2000; ALEXAKIS et al., 1995).

Em meio às numerosas propriedades biológicas expostas para a quitosana, a competência anti-inflamatória, antimicrobiana e cicatrizante são

provavelmente a de maior relevância para a área de saúde (AZEVEDO et al., 2007).

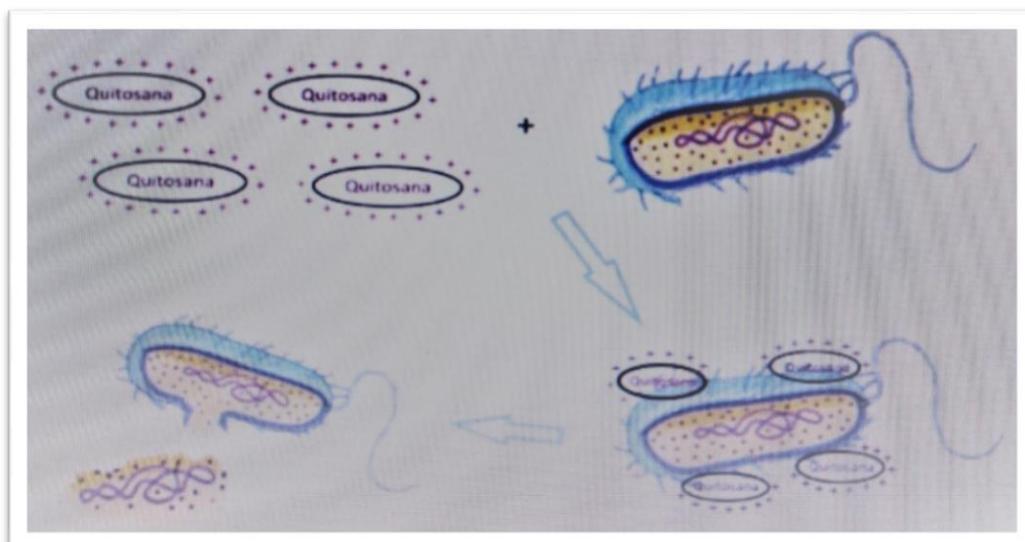
A quitosana tem sido pesquisada como agente antimicrobiano frente a uma extensa variedade de micro-organismos como bactérias, leveduras, fungos e algas (GOY, 2009).

Esse polímero gera a inibição do crescimento ou destruição de micro-organismos, tais como *E. coli*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *S. faecalis*, *S. pyogenes*, *Vibrio*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *P. aeruginosa*, *Candida*, *Xanthomonas campestris*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, entre outros (KUMAR, 2000).

Pesquisas mostram que a forma de atividade antimicrobiana da quitosana é consequência das propriedades físico-químicas do polímero e às peculiaridades da membrana do micro-organismo (KULIKOV et al., 2014; TAYEL et al., 2010).

Três modos de atuação antibacteriana foram sugeridos, para esclarecer a ação antibacteriana desse polímero. O mecanismo de ação mais aceito, fundamenta-se na interação iônica na superfície celular decorrendo em abertura da parede celular. As forças eletrostáticas ocorrem entre a molécula de quitosana carregada positivamente (NH_3^+) e resíduos negativos na superfície celular. Na ausência da quitosana a estabilidade de carga ocorre entre a membrana e por Ca^{2+} . Possivelmente, há uma disputa entre o NH_3^+ e Ca^{2+} por pontos eletronegativos na superfície da membrana celular. Esse fato gera distúrbio no balanço osmótico e/ou hidrolisa peptidoglicanos na membrana do micro-organismo, decorrendo no detrimento de íons de potássio e constituintes proteicos de baixa massa molecular (KULIKOV et al., 2014; TAYEL et al., 2010; GOY, 2009). Conforme ilustração da Figura 2.

Figura 2- Representação da ação antimicrobiana da quitosana



Fonte: MARANGON (2015)

Um segundo modo de atuação está relacionado com inibição da síntese de RNAm e proteínas: a quitosana após atravessar a membrana celular da bactéria, ingressa no núcleo e une-se ao DNA, evitando a síntese de RNAm e proteínas (KULIKOV et al., 2014; TAYEL et al., 2010; GOY, 2009).

O terceiro mecanismo de desempenho sugerido está relacionado com complexação de metais: a quitosana desenvolve um envoltório externo complexando metais e desse modo eliminando nutrientes fundamentais para o crescimento microbiano (KULIKOV et al., 2014; TAYEL et al., 2010; GOY, 2009).

Em pesquisas realizadas por Costa et al., (2012) e Elsaka e Elnaghy (2012), a quitosana foi avaliada como possuidora de atividade bactericida/bacteriostática, sem diferenciação entre estas atividades.

Estudos evidenciaram que a atividade antimicrobiana da quitosana se diferencia entre as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. No caso das Gram-positivas, pressupõe-se que a quitosana fragmenta a membrana, ao passo que nas Gram-negativas o citoplasma se aglomera e o espaço intracelular é expandido (BATISTA et al., 2011; SILVA et al., 2006).

A propriedade antimicrobiana da quitosana vem sendo comprovada por distintas pesquisas, emergindo como uma provável opção frente aos antibacterianos de procedência sintética que são habitualmente empregados (BATISTA et al., 2011; KIM et al., 2011; HOLAPPA et al., 2006).

Não existe método padronizado para apresentar os resultados de testes antimicrobianos de produtos naturais. A metodologia de microdiluição em placas apresenta-se como a mais usada e preconizada para definir a Concentração Mínima Inibitória (CIM) ou a Concentração Mínima Bactericida (CBM) de produto natural tais como a quitosana e óleo essencial. Em consequência da sua sensibilidade e quantia ínfima de reagentes, o que permite um máximo número de replicações, acrescentando a credibilidade dos resultados (MENDES et al., 2011).

Como não tem uniformização sobre o coeficiente de inibição aceitável para produtos naturais quando confrontados com antibióticos padrões, Aligianis et al., (2001) sugeriram a classificação para materiais derivados de plantas fundamentado nos resultados de CIM, avaliando como: forte inibição com CIM até 500 µg/mL; inibição moderada os de CIM entre 600 a 1500 µg/mL e como fraca inibição os que exibirem CIM acima de 1600 µg/mL.

3.2 HIDROGEL

Rosiak e Ulansky (1999) como também Hoffman (2012) conceituam hidrogéis como sistemas, com dois ou mais componentes, constituídos por entrecruzamento tridimensional de cadeias poliméricas e água, que completa o ambiente entre as macromoléculas.

Os hidrogéis constituem uma categoria relevante de materiais poliméricos que podem intumescer retendo uma quantidade significativa de água no interior de suas estruturas, sem se dissolver, e podem ser denominados como uma categoria de polímeros absorventes (MOGHADAM, 2017). A existência de grupos funcionais hidrofílicos (-OH, -COOH, -CONH₂, -SO₃H) na composição dos hidrogéis define a sua competência para infiltrar-se e conservar grande quantidade de água. Por sua vez, a apresentação de pontos de reticulação produz a sua insolubilidade e estabilidade (GIL et al., 2006; PATEL e MEQUANINT, 2011).

Os hidrogéis podem ser categorizados segundo várias propriedades. Conforme a reticulação, os hidrogéis categorizam-se em hidrogéis físicos ou temporários, os quais são constituídos por forças de van der Waals, ligações de hidrogênio e suas redes podem ser quebradas por meio de estímulos externos

como: temperatura, mudanças de pH e solução salina. A segunda denominação de hidrogéis, segundo reticulação, químicos ou permanentes são descritos como aqueles os quais são conectados fundamentalmente por ligações covalentes. O desenvolvimento das ligações cruzadas pode decorrer de reações químicas ou por radiação raios gama, raios-x ou ultravioleta. Os hidrogéis obtidos por reticulações químicas, uma vez sintetizadas as redes, não serão mais capazes de se desfazer (RATNER et al., 2013).

As cargas possibilitam qualificar os hidrogéis em neutros, aniônicos, catiônicos e anfotéricos. Hidrogéis neutros são, também, denominados como hidrogéis não iônicos. São redes de homopolímeros ou copolímeros, ausentes de carga na sua composição. Estes hidrogéis podem proceder de diversos métodos de polimerização ou por conversão de polímeros já permanentes. A degradação ou intumescimento de redes de um hidrogel neutro está intensamente relacionado à temperatura do ambiente envolvente (COSTA, 2013).

Os hidrogéis aniônicos são comumente homopolímeros de ácidos com carga negativa, monômeros aniônicos ou copolímeros de monômeros aniônicos e neutros. Estes hidrogéis destacam-se pela sua habilidade de exibir uma alta razão de intumescimento com o aumento do pH do ambiente que o envolve (COSTA, 2013). Por sua vez, hidrogéis catiônicos consistem em redes de polímeros que exibem grupos carregados positivamente (HOFFMAN, 2012).

No que diz respeito aos hidrogéis anfotéricos, eles consistem em macromoléculas que têm cargas positivas e negativas em todas as partes da sua rede polimérica (COSTA, 2013).

Quanto à biodegradabilidade, os hidrogéis subdividem-se em biodegradáveis e não biodegradáveis. A biodegradação pode resultar de ações biológicas, físicas e químicas. *In vivo*, os hidrogéis biodegradáveis sofrem decomposição macromolecular por ação de micro-organismos tais como bactérias, fungos, algas e enzimas. Enquanto, os que não são biodegradáveis não alcançam a decomposição de modo a serem absorvidos pela natureza (VILLANOVA et al., 2010).

Conforme a origem, os hidrogéis podem ser naturais, sintéticos ou híbridos. Hidrogéis naturais são desenvolvidos por polímeros de procedência natural, com ou sem alteração química, por exemplo, ácido hialurônico, alginato,

amido, quitosana. Esses hidrogéis exibem o benefício de ser biocompatíveis e biodegradáveis, por outro lado possuem baixas propriedades mecânicas (VILLANOVA et al., 2010).

Hidrogéis sintéticos são produzidos por polimerização de monômeros sintéticos, tendo como exemplo ácido metacrílico, acrilamida, entre outros. Os polímeros sintéticos apresentam, comumente, estrutura bem determinada que pode ser alterada com a finalidade de conseguir degradabilidade e funcionalidade exigidas. Os polímeros sintéticos correspondem a uma categoria de materiais multifuncionais por oferecer muitas aplicações, entre as quais, no âmbito cosmético e farmacêutico (VILLANOVA et al., 2010).

Os Hidrogéis híbridos são sintetizados a partir da combinação de polímeros naturais e sintéticos, tornando-se, em muitos casos, uma excelente estratégia para melhorar as propriedades do material alcançado (VILLANOVA et al., 2010).

Referente ao método de preparação os hidrogéis podem ser Homopolímeros, os quais são constituídos por apenas uma categoria de monômero hidrofílico, que pode apresentar ligações cruzadas (reticulações) decorrendo da categoria do monômero e do método de polimerização (BORTOLIN, 2014; ENAS, 2013). Já os Hidrogéis Copolímeros são formados por dois ou mais tipos distintos de monômeros com no mínimo um elemento hidrofílico, organizados numa conformação aleatória, em blocos ou alternados por toda a extensão da rede de polímero (BORTOLIN, 2014).

Os hidrogéis são, também, nomeados de Polímeros interpenetrantes (IPN) os quais são compostos constituídos fundamentalmente por dois polímeros, onde um é reticulado na rede polimérica do outro, permanecendo, portanto, suas cadeias entrançadas uma na outra em plano molecular (BORTOLIN, 2014).

A composição da rede dos hidrogéis pode apresentar-se como macroporosa, microporosa ou não porosa. Hidrogéis macroporosos exibem poros, com tamanho diversificando de 0,1 a 1,0 μm . Hidrogéis microporosos têm poro com dimensão minúscula, entre 100-1000 Å. Hidrogéis não porosos apresentam poros com tamanho macromolecular entre 10-100 Å e possuem cadeias poliméricas densas, além de proporcionar condução de solutos completamente restringidos, por difusão em meio das áreas livres (GANJI, 2010).

Segundo Ganji et al., (2010), a cinética de intumescimento é uma das propriedades significativa do hidrogel; esta é definida pela particularidade da estrutura porosa, dimensão da amostra, pelo tamanho dos poros, temperatura e variação de pH, dentre outras. A estabilização no intumescimento é produzida pelo equilíbrio obtido em meio à força osmótica, que beneficia a entrada do solvente e a força elástica contrária que compensa a distensão da rede polimérica e evita sua deformação.

Quanto à cristalinidade, os hidrogéis são classificados em amorfos e semicristalinos. Amorfos, aqueles que possuem redes poliméricas desorganizadas e emaranhadas. Entretanto, hidrogéis semicristalinos possuem cadeias que se adequam sob empacotamento sistemático em certas regiões, ou melhor, detecta-se a existência de cristalitos (HOFFMAN, 2012).

Os polímeros semicristalinos possuem maior dureza e resistência em consequência das intensas interações intermoleculares, são bastantes opacos devido ao espalhamento de luz das regiões cristalinas, ao mesmo tempo em que polímeros amorfos na maioria das vezes são macios e transparentes (HOFFMAN, 2012).

3.2.1 Hidrogéis de quitosana

Várias pesquisas foram encontradas subsidiando o desenvolvimento tecnológico de hidrogéis com ênfase na área biomédica. Nesse item serão tratadas algumas referências sobre o assunto.

Ferreira et al., (2016) sintetizaram um hidrogel de quitosana com nerolidol e investigaram suas propriedades antimicrobiana e curativa. O hidrogel foi caracterizado por termogravimetria, calorimetria exploratória diferencial e espectroscopia de infravermelho. A atividade antimicrobiana foi testada frente *Staphylococcus aureus* que demonstrou ação bactericida. O hidrogel com nerolidol a 2% exibiu extraordinária ação curativa, pois, no 7º dia de tratamento ocorreu reepitelização e reorganização do colágeno, demonstrando um bom efeito no processo cicatricial. Os autores concluíram que o hidrogel sintetizado mostrou-se promissor como agente bactericida e curativo.

No estudo de Fráguas et al., (2015), o objetivo foi caracterizar a quitosana e analisar sua implicação no processo cicatricial em ratos. A quitosana foi caracterizada através de análise elementar, termogravimétrica, espectroscopia na região do infravermelho, e identificada a viscosidade, massa molar e grau de acetilação. Os autores concluíram que as propriedades químicas da quitosana (viscosidade de 5 mPa s, baixo grau de acetilação (GA=5,9%) e massa molar de 132,0 kDa) torna esse polímero notável para aproveitamentos em distintas áreas. Referente às propriedades cicatrizantes, a quitosana gerou diminuição de 81,4% da largura das lesões, contribuindo no tratamento de lesões cutâneas, o que confirma sua potencialidade para utilização na área médica.

Sámano-Valencia et al., (2013) pesquisaram um hidrogel híbrido constituído por nanopartículas de quitosana e prata. As nanopartículas de prata foram sintetizadas e caracterizadas por espalhamento de luz dinâmica e microscopia eletrônica de transmissão antes de serem incorporadas no hidrogel. As nanopartículas de prata apresentaram tamanho de 7 nm e o formato esférico. O hidrogel de quitosana foi sintetizado com nanopartículas de prata e caracterizado por calorimetria exploratória diferencial e microscopia eletrônica de varredura. Foi analisada a eficácia de liberação de íons de prata e, além disso, a ação antimicrobiana. Como conclusão, foi identificado que o hidrogéis de quitosana com nanopartículas de prata e o hidrogel de quitosana sem nanopartículas de prata possuem características térmicas bastante similares. A liberação de íons de prata ocorreu durante um período aproximadamente duas semanas, com ação bactericida contra *S. mutans*.

Nascimento e colaboradores (2009) estudaram um hidrogel de quitosana com sulfadiazina de prata a 1%. Fizeram caracterizações reológicas, biológicas e terapêuticas deste hidrogel. Os autores identificaram que o hidrogel de quitosana apresentou pseudoplasticidade e bioadesividade que beneficiou a neovascularização e a ação inflamatória em queimaduras. Como também, este gel mostrou propriedades reológicas adequadas coerentes a eficiente liberação do fármaco.

Oliveira (2004) analisou a ação antimicrobiana da quitosana com clorexidina contra *S. mutans*. Os experimentos da ação antimicrobiana foram alcançados utilizando soluções de quitosana e quitosana/clorexidina diluídas em ácido acético 1% em diversos valores de pH (3,5 – 5,0) e de concentração

variando entre 0,1 e 1,5%. A autora identificou que a ação antimicrobiana aumentou com o pH, com a concentração da clorexidina, com o tempo de exposição e com a agregação quitosana/clorexidina.

3.3 ÓLEO ESSENCIAL

O emprego de plantas medicinais com propósitos farmacológicos aumentou, expressivamente, nas últimas décadas, sobretudo, como consequência de atuações da Organização Mundial da Saúde (OMS), que estimularam interesse em instituições privadas e governamentais (BRASIL, 2006).

Óleos essenciais (OE) são líquidos de aspecto oleoso, formados por diversos elementos voláteis à temperatura ambiente e aromáticos produzidos por células secretoras existentes em flores, folhas, sementes, cascas, frutos e raízes de plantas aromáticas (SILVA, 2015).

A *International Standard Organization* (ISO) distingue os óleos essenciais, também denominados de óleos voláteis, como: “produtos obtidos de partes de plantas através de destilação a vapor d’água, fluidos supercríticos, hidrodestilação, prensagem a frio, extração por solventes, turbodestilação, enfleurage e micro-ondas sem solvente”.

Segundo Romani (2015) e Bakkali et al., (2008), os óleos essenciais são constituídos por 20 a 60 componentes em diversas concentrações. Mas, dois ou três encontram-se em concentrações significativamente em torno de 20 a 70%.

Os integrantes fundamentais que compõem um óleo essencial fazem parte das classes químicas dos sesquiterpenos, sesquiterpenos oxigenados, monoterpenos oxigenados e monoterpenos (BUSATO et al., 2014). A diferença da atuação biológica dos óleos essenciais é condicionada a constituição de seus componentes químicos como carvacrol, citral, limoneno, pineno, furanodieno, cineol, cariofileno, eucaliptol, elemeno, eugenol e outros (FREIRE et al., 2016).

Essas distintas misturas de constituintes químicos apresentadas pelos óleos essenciais são encarregadas das características tais como ação antioxidante (WANNES et al., 2010), antiespasmódica, analgésica, anti-inflamatória, antisséptica (MENDES et al., 2010), antiviral, antibacterianos,

inseticidas e antifúngica (SCHUCK et al., 2001; CARMO et al., 2008). Ainda, têm atuação repelente contra insetos (ROMANI, 2015) e atividade antitumoral (SILVA, 2008).

A ação antimicrobiana dos óleos essenciais tem sido conferida, sobretudo, aos terpenos e derivados. Mas, os componentes existentes em baixas concentrações também assessoram a atividade antimicrobiana (GUTIERREZ et al., 2009; BURT, 2004).

Diversas pesquisas têm analisado a ação contra micro-organismos destes compostos e descreveram distintos processos de atuação, como bloqueio da síntese de ácidos nucleicos, das funções da membrana citoplasmática e do metabolismo energético (CUSHNIE; LAMB, 2005).

Segundo Kalemba e Kunicka (2003), a atuação antimicrobiana dos óleos essenciais pode ser decorrente de três mecanismos: intervenção na dupla camada fosfolipídica da parede celular bacteriana, pelo acréscimo da permeabilidade e desvio dos componentes da célula, e por modificação de uma diversidade de enzimas como as participantes na produção de energia celular e síntese de elementos estruturais ou eliminação do material genético.

Conforme Solórzano-Santos e Miranda-Novales (2012), a potencialidade antibacteriana dos óleos essenciais é resultante da hidrofobicidade destes, que admite separação dos lipídios da membrana celular e mitocôndrias das bactérias, acarretando alteração das composições celulares e modificando a permeabilidade da membrana, desencadeando o extravasamento de moléculas fundamentais à sua sobrevivência e induzindo a morte das bactérias.

3.3.1 Óleo Essencial de *Schinus terebenthifolius* Raddi (Pimenta rosa)

A *Schinus terebenthifolius* Raddi (Figura 3) possui diferentes nomes populares, como: pimenta rosa, aroeira-pimenteira, aroeira-vermelha, aroeira-mansa, aroeira, aroeira-da-praia, aroeira-do-brejo, aroeirado campo, aroeira-de-sabiá, aroeirinha, coração-de-bugre, fruto-de-sabiá, fruto-de-raposa, fruto-de-cutia, araguaráiba, corneíba, árvore-da-pimenta, cabuí, cambuí, lentisco. É uma planta com folhas abundantes, pertencente à família Anacardiaceae, natural da América do Sul, especialmente do Brasil, Paraguai e Argentina. As partes utilizadas que oferecem propriedades terapêuticas são a casca, folhas e frutos,

que são bastante utilizadas na medicina popular para a terapêutica de diversas enfermidades (CLEMENTE, 2006; GUERRA et al., 2000).

Figura 3 – Frutos de Pimenta rosa.



Fonte: ROMANI (2015)

A partir de 2009, através da Portaria nº 2.982 de 26 de novembro de 2009 GM/MS do Ministério da Saúde, surgiu a expansão da oferta de fitoterápicos na Assistência Farmacêutica do SUS, disponibilizando vários fitoterápicos, usando como uma das matéria-primas a Pimenta rosa (BRASIL, 2006).

É consenso entre vários pesquisadores que a Pimenta rosa exerce atividade diurética, adstringente, antidiarreica, anti-inflamatória, cicatrizante, bactericida, antiviral, analgésica, sedativa, expectorante, antipirética, vermífuga e antisséptica (BULLA et al., 2015).

A constituição química dos frutos e folhas da Pimenta rosa foi pesquisada e foram identificados ácidos, hidrocarbonetos terpênicos e cetonas na sua composição. É confirmada a ação antimicrobiana da Pimenta rosa contra bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*) e bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*), assim como contra *Candida albicans* (DOURADO, 2012).

Martins et al., (2014) constataram que o óleo essencial de Pimenta rosa possui propriedades antioxidantes e antimicrobianas contra bactérias, Gram positivas e negativas, e fungos degeneradores de alimentos.

A ação antioxidante do óleo de Pimenta rosa está correlacionada com os constituintes químicos presentes, existência de flavonoides e com sua estabilidade (MARTINS et al., 2014).

As pesquisas efetuadas por Bendaoud et al., (2010) revelaram que os óleos essenciais de Pimenta rosa apresentaram uma promissora atividade antioxidante *in vitro* e exibiram citotoxicidade em combate ao câncer de mama. A melhor ação biológica foi localizada no óleo essencial que compreendia o teor superior de sesquiterpenos. Averiguou-se ainda, a atividade antimicrobiana contra micro-organismos de procedência alimentícia.

Matsuo et al., (2011) pesquisaram o modo de ação do α -pineno e seu aproveitamento terapêutico. Os autores referiram que o α -pineno que é uma substância, frequentemente, presente em óleos essenciais e extratos de Pimenta rosa, foi eficiente na terapêutica do melanoma metastático.

3.4 ÓXIDO DE ZINCO.

O óxido de zinco (ZnO) distingue-se como um material semicondutor, possui tonalidade branca ou ligeiramente amarela, com massa característica de $5,6 \text{ g cm}^{-3}$, sofre decomposição em temperaturas acima de 2070 K. Em consequência das suas características térmicas, ópticas, eletrônicas e químicas torna-se objeto de imensurável valor (SOUZA, 2015).

Entre os materiais antibacterianos inorgânicos, o óxido de zinco (ZnO) ganhou atenção gradativa nas décadas recentes por ser estável em circunstâncias de rigorosas condições de manipulação, grande área superficial com referência ao volume e exibe características químicas e físicas excepcionais. Além disso, é comumente avaliado como material biocompatível, atóxico e seguro para seres humanos e animais (MOHR et al, 2017; PORTO et al, 2017; LIU et al, 2009).

Diante da série de problema da evolução de micro-organismos resistentes a antibióticos, agentes antimicrobianos originais com nanopartículas de óxido de zinco são investigados, objetivando o avanço de materiais que assegurem ação antimicrobiana. Os quais estão sendo cada vez mais pesquisados e empregados em aplicações onde características antimicrobianas são exigidas, especialmente na área biomédica (MOHR et al, 2017).

Sua aplicação na área de saúde vem crescendo, principalmente, em consequência de não ser considerado um metal pesado, bem como, por sua extraordinária eficácia antitumoral, bactericida e fungicida. O que possibilita seu emprego como propulsor ativo nas manufaturas de pomadas ou pós antissépticos, desodorantes e protetores solares e de embalagens ativas para acréscimo do tempo de prateleira de produtos (MOHR et al, 2017; PORTO et al., 2017; LIU et al., 2009).

O óxido de zinco é eficaz no controle de uma extensa quantidade de micro-organismos incluindo *S. aureus*, *S. epidermidis*, *K. pneumoniae* e *E. coli*, já que exhibe a competência de modificar os elementos da membrana celular da bactéria, alterando-a e abrindo-a, o que induz ao prejuízo de elementos intracelulares e conseqüentemente morte do micro-organismo (LIU et al., 2009).

Segundo Espitia et al., (2012), o procedimento preciso de atuação que o óxido de zinco origina essas alterações e destruição até agora não é estabelecido. Os procedimentos mais aceitáveis que existem na literatura são: soltura de íons Zn^{2+} ; interação do óxido de zinco com a membrana íntegra da bactéria e a elaboração de espécies ativas de oxigênio, que predispõe ao estresse oxidativo. Conclui que, as nanopartículas de ZnO apresentam resultado antimicrobiano positivo frente as bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, possuindo melhor ação frente as Gram-positivas.

De acordo com Qi et al., (2017), vários mecanismos e observações conflitantes nas propriedades antibacterianas das Nanopartículas de ZnO. Em síntese: 1) as ROS (espécies reativas de oxigênio) geradas por nanopartículas de ZnO podem matar bactérias e foram identificadas como a maior vantagem destes materiais; 2) o Zn^{2+} liberado pode se ligar à membrana celular e causar danos mecânicos à parede celular; 3) a interação entre ZnO e bactérias pode atrapalhar o equilíbrio de cargas na superfície celular e, conseqüentemente, matar bactérias; 4) A internalização da Nanopartículas também induz a morte bacteriana. A atividade antibacteriana é notavelmente influenciada pelas características morfológicas das Nanopartículas ZnO. Tem sido sugerido que os bastonetes e fios de ZnO podem penetrar nas paredes celulares das bactérias mais facilmente do que os esféricos devido à morfologia.

Diante do exposto, as nanopartículas de óxido de zinco oferecem características relevantes para vários propósitos técnico-científicos,

respondendo as exigências de diversas esferas industriais, tais como a de látex, maquiagem, química, medicamentos, alimentações e materiais para odontologia (SOUZA, 2015).

3.5 REOLOGIA

Reologia é a ciência que investiga como a matéria escoou ou deforma quando submetida a forças externas. É um campo da física que inclui os fenômenos de fluxo da matéria (sólidos, líquidos e gases) e, notadamente, envolve o comportamento dependente do tempo sob a influência de tensões. Abrange características tais como: elasticidade, viscosidade e plasticidade (BRODKEY, 1967; VLIET; LYKLEMA, 2005). A reologia apresenta relevância na área tecnológica (BRODKEY, 1967; VLIET; LYKLEMA, 2005).

A deformação de um sólido é descrita por leis que especificam a modificação do volume, tamanho ou forma. Ao mesmo tempo que o escoamento de um fluido é caracterizado por leis que retratam a mudança contínua da taxa ou grau de deformação em conformidade com a tensão aplicada (VINOGRADOV; MALKIN, 1980).

A relação entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação utilizada subdivide o comportamento reológico dos fluidos em newtoniano e não newtoniano, conforme exposto na Figura 4 (TABILO-MUNIZAGA; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005). Essa relação foi instituída por Newton, e representada pela equação (Eq.1) para os fluidos Newtonianos:

$$\tau = \mu\gamma \quad \text{Eq. 1}$$

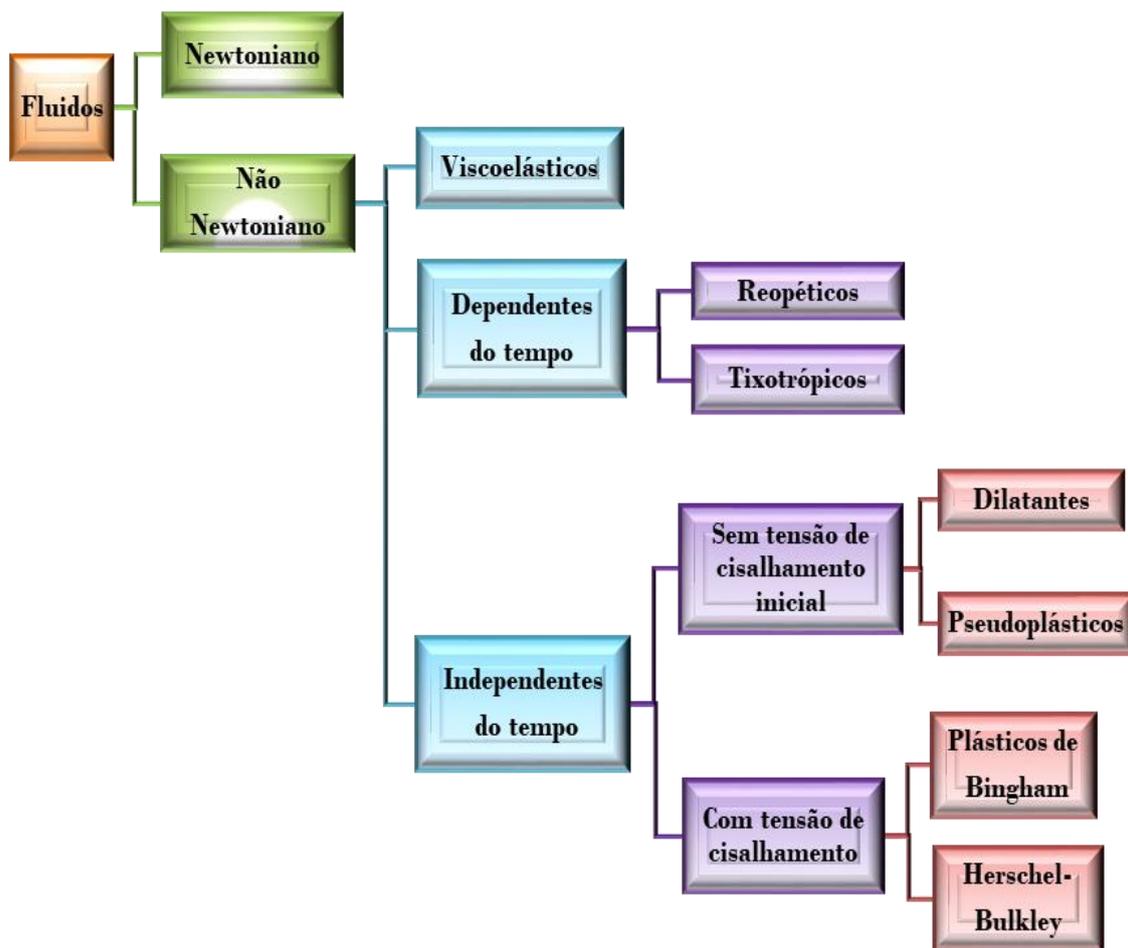
em que:

τ - tensão de cisalhamento [Pa];

γ - taxa de deformação [s⁻¹];

μ - viscosidade [Pa.s]

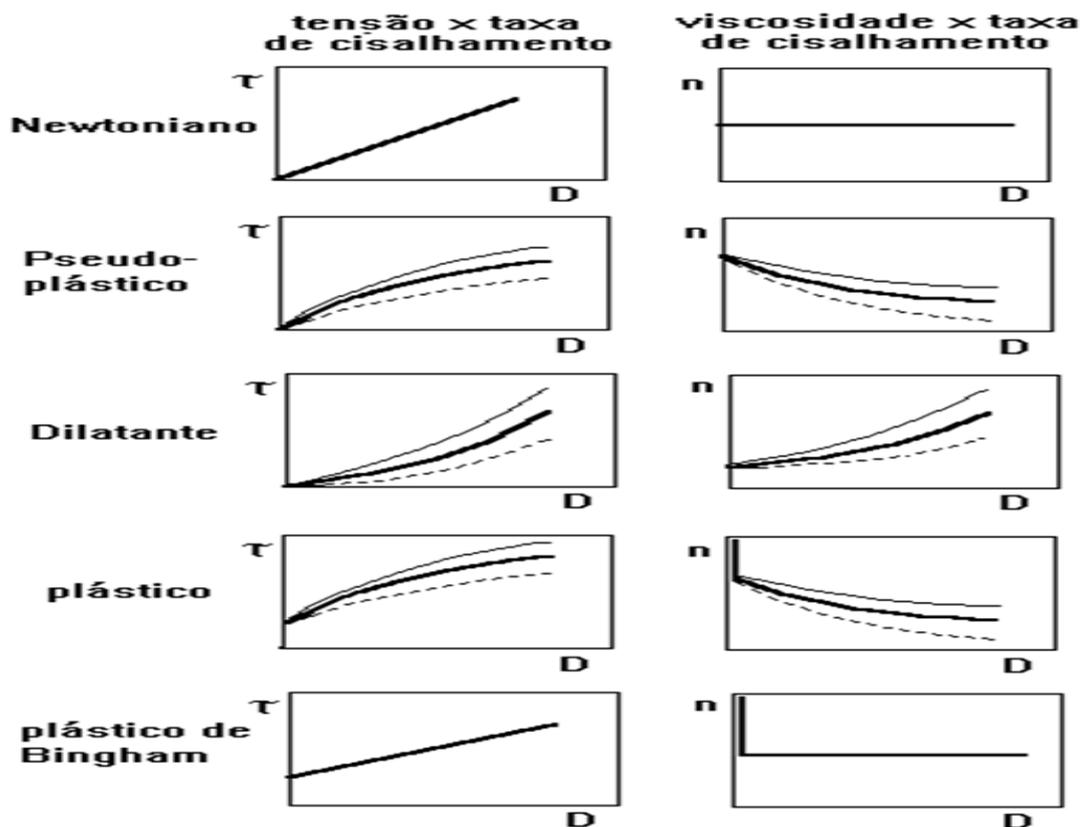
Figura 4- Classificação dos fluidos conforme comportamento reológico.



Fonte: Adaptado de BRODKEY (1967)

Os fluidos newtonianos são reconhecidos por exibir uma relação linear entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação utilizada conforme a Eq. 1. Como exemplos mais simples de fluidos Newtonianos tem-se o óleo, a água, a glicerina, o ar, as soluções salinas e outros. Conseqüentemente, sua apresentação gráfica consiste em uma reta com início na origem dos eixos, assim sendo a sua viscosidade é constante. Enquanto que, a maioria dos fluidos não-newtonianos possuem uma relação não linear entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação utilizada, e podem oferecer dependência ou independência do tempo. Os principais fluidos não newtonianos que se distribuem como independentes do tempo são os dilatantes, pseudoplástico e fluido de Bingham (NAVARRO, 1997). Na Figura 5 estão ilustradas as curvas destes fluidos.

Figura 5- Curvas de fluidos newtoniano e não newtonianos

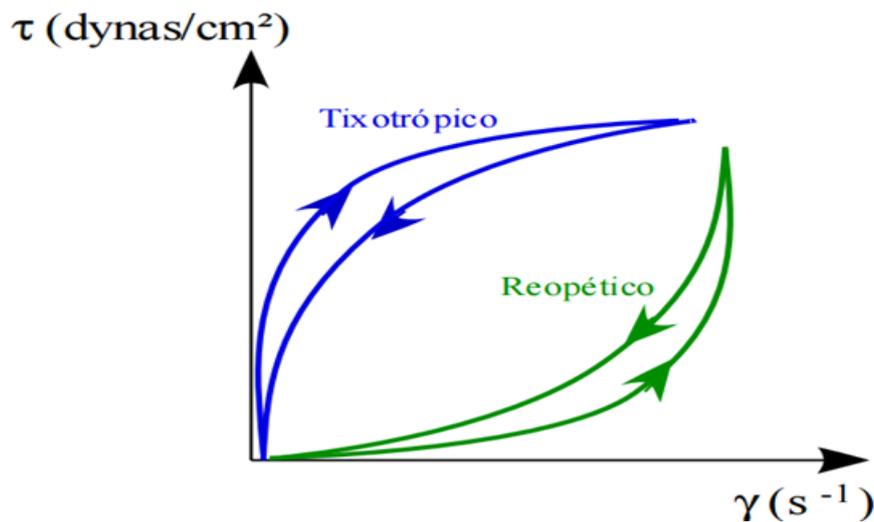


Fonte: http://www.freedom.inf.br/artigos_tecnicos/hc56/ricardopedro.asp, 2009.

O fluido será pseudoplástico quando este exibir uma redução da viscosidade aparente por toda a extensão das taxas de deformação; se ocorrer um aumento da viscosidade do fluido com as taxas de deformação aplicadas, é denominado dilatante. O fluido de Bingham tem um comportamento bem similar com os fluidos Newtonianos, no entanto necessita de uma tensão inicial para escoar (TABILO-MUNIZAGA; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005).

Necessita-se referir que nenhum dos modelos mencionados considerou a implicação do tempo versus tensão de cisalhamento-taxa de cisalhamento. Entretanto, têm fluidos que dependem do tempo, e são considerados como reopéticos e tixotrópicos (SHIROMA, 2012; TABILO-MUNIZAGA; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005), conforme Figura 6.

Figura 6- Curvas de fluxo para fluidos reopéticos e tixotrópicos



Fonte: SKELLAND (1967)

Nos fluidos tixotrópicos a viscosidade decresce com o tempo de emprego da tensão de cisalhamento, retornando a ficar mais viscoso quando a tensão aplicada cessa. Quando a viscosidade destes fluidos se torna maior com o tempo de cisalhamento, a uma taxa de cisalhamento constante denominam-se fluidos reopéticos. Os dois fenômenos podem tornar-se irreversíveis, reversíveis ou parcialmente reversíveis (SHIROMA, 2012; STEFFE, 1996).

3.6 CITOTOXICIDADE

Citotoxicidade ou toxicidade de células é a competência característica de uma substância em causar modificação no metabolismo das células em cultura, sendo capaz de resultar ou não em morte das células (OLIVEIRA, 2009). Pode ser conceituada como uma condição antagônica a uma resposta apropriada do hospedeiro, ou melhor, a não compatibilidade de um material. É a particularidade prejudicial de uma substância com relação às células. Representa uma modificação na função celular em consequência de dano celular nas vias metabólicas, processos intracelulares ou estruturas (FRESHNEY, 2010).

O ensaio de citotoxicidade detém a finalidade de definir as implicações dos biomateriais ou fármacos nas células. Identificar a potencialidade de um biomaterial ou substância em causar efeitos fatais ou subletais no sistema orgânico ao ambiente da célula. Por meio de normas e procedimentos a serem

seguidos na análise, pode-se definir se existiu morte celular ou se os danos ocasionados nas células permaneceram reduzidos às modificações metabólicas. Esta avaliação necessita ser efetuada para qualquer classe de biomateriais (OLIVEIRA, 2009).

Os aspectos éticos e metodológicos que compreendem as pesquisas com seres vivos têm aumentado o conhecimento das analogias entre os ensaios *in vivo* e *in vitro*. As firmes normas elaboradas pelas instituições protetoras de animais, com referência ao seu emprego em experimento, foram determinantes para a ampliação de pesquisas de métodos eficientes de análise *in vitro*. Experimentos *in vitro* devem ser frequentemente executados como ensaio de triagem preliminar da análise da biocompatibilidade e vêm sobrepondo os testes *in vivo*, sobretudo pela sua tarifa mínima, elevada reprodutibilidade, simplicidade de efetivação e ação sustentável para o público consumidor (GALUCIO, 2014; VICENTE, 2012).

O Comitê Técnico da *Biological Evaluation of Medical Devices*, através do documento 10993, normatizada a segurança da utilização médica dos materiais. Esta norma, ISO 10993, está fragmentada em 20 segmentos. O segmento 1 compreende as normas para a escolha dos testes, o segmento 5 traz as normas para os ensaios de citotoxicidade, métodos *in vitro*. E a parte 12, inclui normas para o preparo das amostras e materiais de referências (ISO 10993 TECHNICAL COMMITTEE, 2007).

Os testes de citotoxicidade *in vitro* incluem em exibir direta ou indiretamente uma cultura de células a uma certa substância, analisando, em seguida, as modificações acarretadas, a título de exemplo: lise celular, modificação na permeabilidade da membrana, bloqueio no desenvolvimento de colônias celulares, desvio do tecido, inibição enzimática, etc. (GALUCIO, 2014).

As pesquisas de toxicidade *in vitro* têm confirmado que experimentos com culturas celulares são técnicas rápidas, reprodutíveis, de baixo custo e percebíveis com clareza quando usadas para análise de biomateriais. Deve ser o primeiro ensaio para analisar a biocompatibilidade de qualquer material quando apresentar o propósito de ser empregado como biomaterial (GALUCIO, 2014). Em testes *in vitro*, a citotoxicidade de substâncias-teste é avaliada qualitativamente nas categorias: não citotóxica, levemente citotóxica,

moderadamente citotóxica e severamente citotóxica (ISO 10993-5 TECHNICAL COMMITTEE, 2007).

Vários experimentos toxicológicos, tais como os testes de viabilidade celular, estão acessíveis e padronizados para se analisar a reação biológica a um material. Entre os experimentos para a análise da citotoxicidade, pode-se referir o teste de coloração com o azul de tripan, teste de redução do brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo) -2,5- difeniltetrazólio (MTT), o teste do corante vermelho neutro, ou o teste de liberação de enzimas citoplasmáticas como a lactato desidrogenase (LDH). Dentre esses, os mais utilizados são teste do MTT ou o teste do vermelho neutro, pois proporcionam dados sobre diversas funções celulares (VICENTE, 2012).

O teste de exclusão por azul de tripan é um método empregado para analisar a citotoxicidade calculando a viabilidade celular através da integridade da membrana celular. Fundamenta-se no princípio que as células mortas sugam o Azul de Tripan para seu citoplasma por prejuízo de capacidade seletiva da membrana, ao mesmo tempo que as células vivas continuam íntegras, ou melhor, o número relativo de células mortas e vivas é obtido por microscopia óptica contando o número de células mortas (coradas) e as vivas (não coradas) por meio de um hemocitômetro (AVELAR-FREITAS et al., 2014).

3.7 GRAU DE INTUMESCIMENTO (GI)

O intumescimento ou grau de expansão é designado como o acréscimo no volume de uma substância à medida que é submersa em algum solvente. É uma das características mais significativas de um hidrogel (AQUINO, 2015).

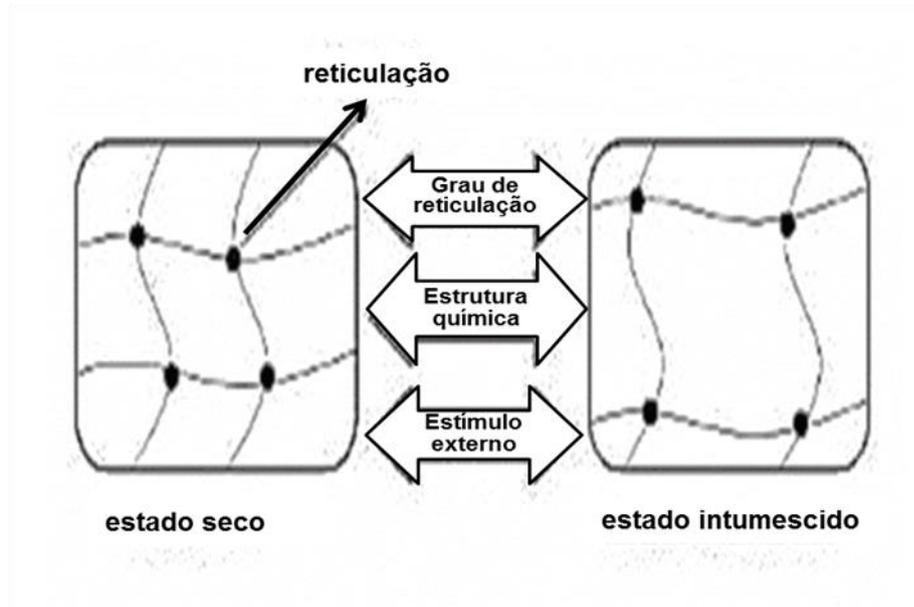
O intumescimento pode ser explicado como um procedimento de dissolução de um polímero em certo solvente. Esse procedimento acontece em duas etapas: na primeira, as moléculas do solvente se propagam no interior do polímero, causando o intumescimento do material. Na segunda, é evidenciada a dissolução do polímero, em consequência da superação das forças existentes no material pela inclusão de intensas interações polímero-solvente (AQUINO, 2015; BILLMEYER, 1984).

Segundo Costa Júnior (2008), o processo de intumescimento consiste em um polímero seco hidrofílico, ao ser exposto a um solvente, desencadeia uma interação entre a sua rede macromolecular com as partículas deste solvente, em consequência de uma uniformidade termodinâmica apropriada. Desse modo, a cadeia amplia-se para a condição solvatada.

O intumescimento pode ser compreendido como o resultado da formação química polimérica que compõem o hidrogel, do pH e da força iônica do ambiente em que ele está introduzido. Portanto, ao mesmo tempo em que o hidrogel se umedece, as cadeias do polímero agem mutuamente com as moléculas do solvente e se ampliam. Nesse meio tempo, a região reticulada apresenta uma força de retração para reprimir o alargamento dos polímeros. Ressalta-se que o grau de intumescimento está conexo aos percentuais de fluxo ou permeabilidade a solventes, e sofre influência pela resistência química da matriz polimérica no hidrogel (BISPO, 2009).

No momento em que um hidrogel é exposto em algum ambiente de intumescimento, seja água ou outro solvente, as cadeias poliméricas deste hidrogel sofrem influências do meio produzindo um alargamento de suas cadeias, aumentando o volume das cadeias e a extensão entre seus retículos. Segundo ilustrado na Figura 7.

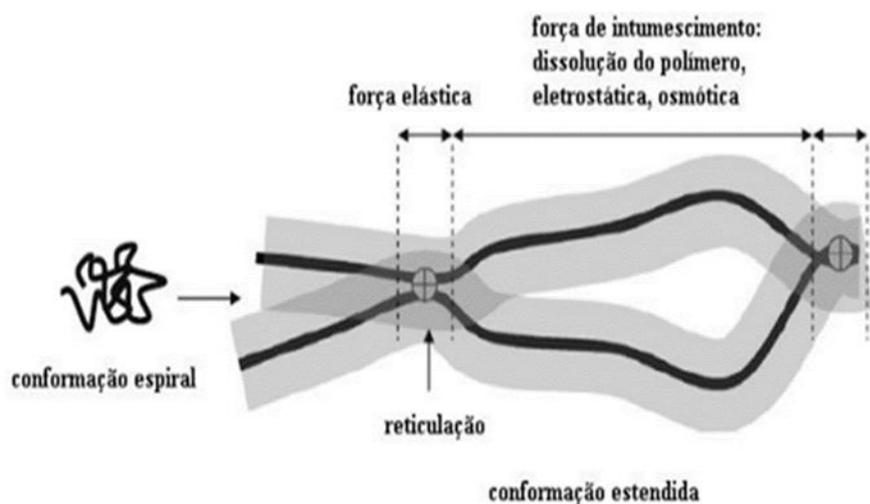
Figura 7- Processo de intumescimento: retículos de um hidrogel no estado seco e no estado intumescido.



Fonte: FLORY (1953)

Nessa ocasião, a força osmótica que auxilia o deslocamento do solvente para o interior do hidrogel é equilibrada por uma força elástica retrátil, causada pela modificação conformacional das cadeias dos polímeros. O equilíbrio de intumescimento será alcançado no momento em que as duas forças (força osmótica e força elástica retrátil) se equilibrarem (FLORY, 1953), conforme exposto na Figura 8.

Figura 8- Forças presentes em hidrogéis intumescidos



Fonte: OTTENBRITE; PARK; OKANO (2010)

Conforme Izárk et al (2007), o intumescimento resulta de uma variação entre os episódios de atração e repulsão, incluindo: a termodinâmica, as forças atrativas e elásticas entre as cadeias do polímero, a mistura do solvente com as cadeias poliméricas, a conexão entre agrupamentos de cargas fixas e íons livres. O grau de intumescimento é considerado o resultado do equilíbrio entre duas forças opostas, a pressão osmótica, que tende a expandir o gel e a elasticidade do polímero, que encolhe a rede de gel. Contudo, a estabilização do intumescimento é alcançada no momento em que estas forças são equilibradas pela reação elástica das cadeias integrantes de sua matriz, referente a uma força que se contrapõe ao intumescimento. A elasticidade é, por sua vez, fortemente influenciada pelo grau de reticulação da matriz de gel.

Um elemento significativo do desempenho físico do hidrogel é sua absorção de fluido. Já que, desde o preparo ele encontra-se em conexão com fluido com o propósito de que seu arranjo de rede passe pelo processo de solvatação (SILVA, 2015), ou seja, se dilua em uma substância polar ou iônica, sem formar uma outra substância.

O intumescimento origina-se do ingresso de água ou outro solvente na matriz polimérica através de capilaridade e difusão. Desse modo, os grupos hidrofílicos (hidroxilas, carboxilas e aminas) sugam a água por intermédio da geração de ligação de hidrogênio (BRITO et al, 2013).

Determinados elementos físicos, por exemplo, aparecimento de grupos hidrofílicos, (-OH, -NH₂, -COOH, -CONH₂, -SO₃H) na composição da rede polimérica seja na rede principal ou lateral, reticulação com densidade mínima e uma cadeia polimérica com elevada elasticidade, colaboram decisivamente para um intumescimento melhor do material. Em contrapartida, a existência de grupos hidrofóbicos, reticulação com densidade máxima e a existência de íons prejudicam a filtração de água pelo hidrogel (BRITO et al, 2013).

Flory, em 1953, elaborou a teoria do intumescimento. Ele afirma que o intumescimento é regulado essencialmente por três forças: i) a alteração de entropia pela combinação solvente-polímero; ii) a modificação de entropia conformacional ocasionada pela diminuição na quantidade de ajustamentos das cadeias, em decorrência de seu estiramento e iii) a entalpia de combinação do solvente e polímero. Portanto, o intumescimento polimérico está na dependência do grau de intercâmbio entre as moléculas de solvente e do polímero, que pode

ser incluído com a característica de interação solvente/polímero (AOUADA et al, 2009).

Flory e Huggins (1953) apresentaram o princípio de interação, entre o polímero e o solvente. O procedimento de dissolução polimérica acontece em duas fases termodinâmicas: a primeira fase incide no intumescimento polimérico e a segunda na mobilidade das moléculas. O ponto crítico de absorção de solvente consiste no intumescimento polimérico, onde ocorre acréscimo de massa e volume característicos.

Conforme a Teoria de Flory-Huggins (1953), o intumescimento é o momento no qual o somatório das contribuições de entalpia e entropia são semelhantes; o polímero não tem energia satisfatória para gerar modificações no amoldamento molecular, não tem mobilidade em solução. A segunda fase consiste no acréscimo do volume de solvente infiltrado, acrescentando a contribuição entrópica do sistema, deixando que o polímero apresente independência e mude ligeiramente para as conformações energeticamente adequadas em solução.

Em termodinâmica, a solubilidade polimérica, resulta das contribuições de interação intermolecular da agregação polímero-solvente e temperatura de tratamento. Mas, a conformação molecular é uma etapa limitante do processo, já que envolve a difusão do solvente na matriz do polímero.

A teoria de Flory-Huggins é útil para avaliar as grandezas termodinâmicas implicadas nesse procedimento de mistura. O intumescimento possui uma força termodinâmica que é expressa pela força das ligações cruzadas estruturais. O equilíbrio é alcançado, para um solvente específico em uma temperatura definida, no momento em que as duas forças coincidem (PEPPAS et al, 2000).

No estado intumescido, a fração em massa de água em um hidrogel é superior a fração em massa do polímero. De modo efetivo, para conseguir altos graus de intumescimento, é comum empregar polímeros sintéticos não reticulados que são solúveis em água (AHMED, 2015).

Pode-se determinar o grau de intumescimento (GI) através da subtração do peso intumescido e o peso seco, dividida pelo peso seco, multiplicado por 100 (CHEN, 2004).

$$GI\% = \frac{(m' - m)}{m} \times 100 \quad \text{Eq.2}$$

onde:

m' é a massa da amostra intumescida e

m é a massa da amostra seca.

As proporções de intumescimento são relevantes em hidrogéis, já que subsidia a identificação do teor de água nestes materiais. O teor de água é um dos pré-requisitos fundamentais para o material ser julgado biocompatível. Os géis são sistemas atraentes pela similaridade física com os tecidos vivos, que possuem alta quantidade de água e aspecto macio e elástico (BISPO, 2009).

Segundo Silva (2015), o grau de intumescimento de um hidrogel define as suas propriedades físico-químicas. Esse critério é uma característica indireta de resistência do material. O grau de intumescimento está intimamente relacionado com a força do hidrogel. De forma característica, à proporção que os polímeros intumescem num solvente plastificante, a temperatura de transição vítrea do hidrogel decresce.

Numerosas aplicabilidades de intumescimento polimérico são encontradas na indústria alimentícia, farmacêutica, de tintas, de maquiagens dentre outras. Dentre estas, são exemplificados os estudos a seguir.

Fraga et al., (2010) realizaram uma pesquisa que teve por objetivo o desenvolvimento e a avaliação de matrizes hidrofílicas contendo quitosana e o efeito desse sistema sobre a liberação do captopril. É conhecido que em ambiente ácido a quitosana fica mais hidrofílica, originando o intumescimento da matriz e gerando a formação de uma camada externa gelificada, que age como uma barreira para a liberação do fármaco.

Eles empregaram a quitosana como polímero formador de matriz em diferentes percentuais (10, 15, 20 e 25%) com o propósito de definir a implicação desse critério no intumescimento e gelificação da quitosana com relação à liberação do fármaco captopril. Foi identificado que o percentual do polímero é um aspecto que intervém nas propriedades físico-químicas das formulações. A amostra com 25 % de quitosana liberou cerca de 80 % do fármaco em 180 minutos em pH 1,2, e em 240 minutos em pH 6,8. Deste modo, essa formulação pode ser empregada como uma possível opção para a liberação prolongada de captopril.

Monteiro et al., (2015) verificaram o efeito da modificação química nas propriedades físico-químicas de esferas de goma do cajueiro carboximetilada e quitosana para possível aplicação como veículo para liberação de fármaco administrado por via oral. A análise de intumescimento das esferas foi efetivada empregando microscópio óptico.

Os diâmetros das esferas foram medidos utilizando micrografia com ampliação idêntica, em pH 1,2 e 6,8, no período de 5 min na primeira meia hora, 10 min na segunda meia hora e 20 min na segunda hora. A taxa de intumescimento (TI) foi calculada utilizando a equação: $TI = Dt/Do$. Onde, Dt é o diâmetro relativo em um determinado período e Do é o diâmetro inicial.

Monteiro et al., (2015) identificaram que a percentagem de intumescimento das esferas reduziu com o acréscimo da concentração de glutaraldeído. Esta redução resultou da ampliação da densidade de reticulação com a composição de uma estrutura de rede mais restrita, onde o relaxamento das macromoléculas e a propagação das moléculas do solvente são restringidos.

As esferas amostrais analisadas intumesceram em grau superior nas duas horas iniciais de preparação em pH 1,2, sobretudo as esferas modificadas com glutaraldeído. Em ambiente ácido aconteceu uma repulsão eletrostática entre os grupos amino ($-NH^2$) da quitosana, gerando a expansão da rede polimérica, e dessa forma aumento do intumescimento.

No momento em que o pH foi alterado para 6,8, o diâmetro das esferas diminuiu, em consequência da desprotonação dos grupos ionizados ($-NH^3+$) da quitosana e perda de água da rede polimérica nesse meio, sucedendo uma redução do intumescimento.

As amostras reticuladas com genipina exibiram um intumescimento superior que as esferas reticuladas com glutaraldeído e uma melhor reação de intumescimento à alteração do pH de 1,2 para 6,8.

3.7.1 Fatores que afetam o intumescimento polimérico

3.7.1.1 Natureza química do solvente e do polímero

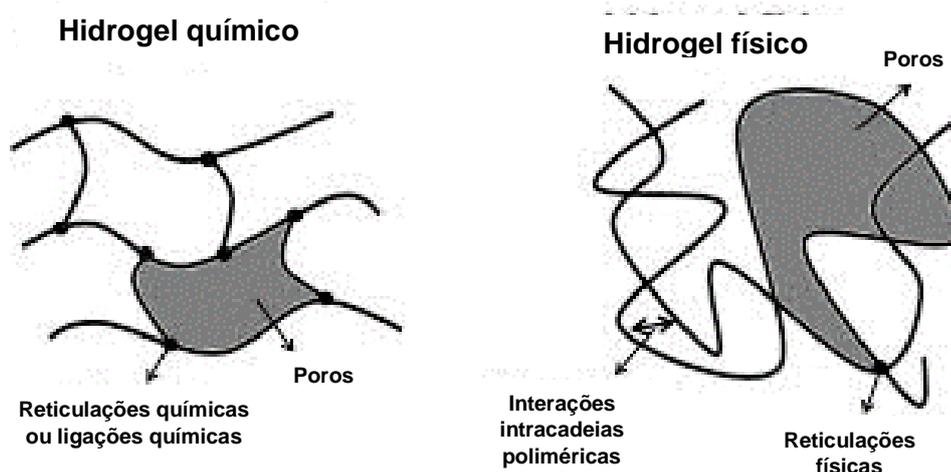
A solubilidade das substâncias resulta da sua constituição química. A quantidade de solvente sorvida pelo hidrogel é regulada pela hidrofiliabilidade do

polímero, a quantidade ou consistência de ligações cruzadas e o aglomerado de agrupamentos ionizados na rede polimérica. O grau de intumescimento é pertinente ao percentual de absorção a solventes (GEHRKE, 2000).

3.7.1.2 Reticulação

A reticulação polimérica é consequência do rearranjo bilateral de macrorradicais constituídos. Em geral, é um processo que acontece no momento em que cadeias poliméricas lineares ou ramificadas são conectadas por ligações covalentes, gerando polímeros tridimensionais com alta massa molar. Com o acréscimo da reticulação, a estrutura polimérica fica mais resistente e, com isso, a relaxação das macromoléculas e a difusão das moléculas do solvente são reduzidas, resultando em diminuição do grau de intumescimento (IMMICH, 2009), segundo ilustração da Figura 9.

Figura 9- Estrutura representativa de hidrogéis químico e físico



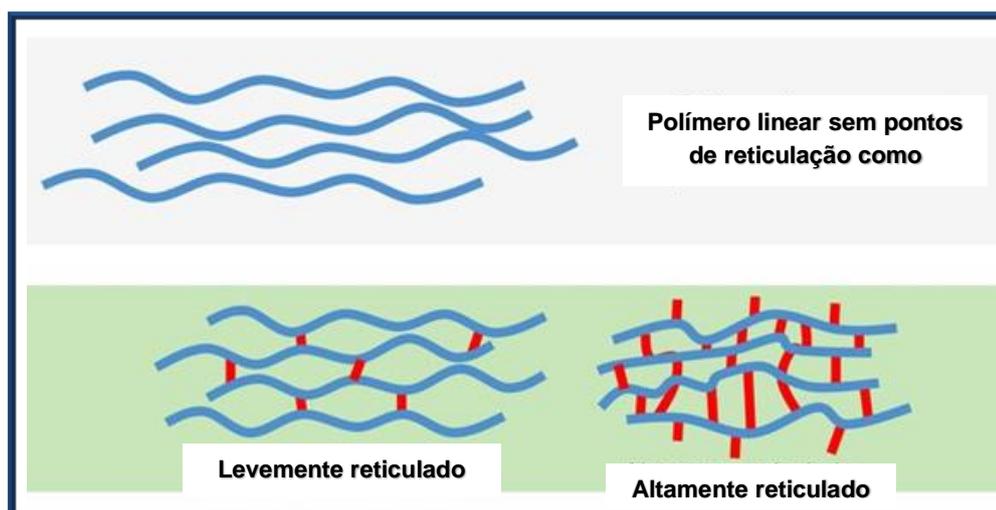
Fonte: YONEZAWA (2016)

O procedimento de intumescimento de um gel é conduzido por forças físicas e químicas que levam a introdução de líquido na matriz do polímero. O intumescimento é iniciado a partir de um procedimento de difusão, em que grupos hidrofílicos, por meio da instauração de ligações de hidrogênio, absorvem a água. A competência de absorção resulta do volume livre presente no meio das cadeias poliméricas, que é máximo em estruturas não reticuladas, onde as

cadeias dos polímeros encontram-se bastante separadas umas das outras. As ligações cruzadas, ainda que em quantidade reduzida, dificultam o afastamento das cadeias do polímero e seu acesso para a solução.

Em caso de polímeros com reticulação reduzida, as moléculas do solvente que possuem baixo peso molecular ingressam na fase polimérica. Conseqüentemente, um polímero reticulado é capaz de experimentar limitado intumescimento (Figura 10).

Figura 10- Ilustração da densidade de ligação cruzada em polímeros



Fonte: PURCOM (2013)

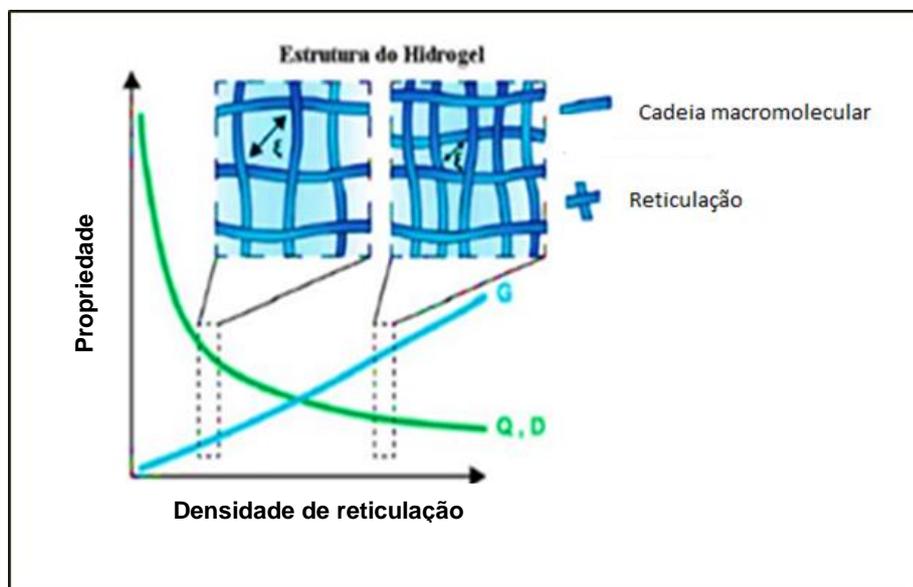
Com o acréscimo de reticulação, a habilidade de absorção de líquido pela matriz polimérica enfraquece. Quando as partes que constituem o retículo são pequenas, menor a distância entre as macromoléculas e conseqüentemente, o polímero perde totalmente a competência de intumescer. Enfim, a existência de uma grande densidade de ligações cruzadas desencadeia um pequeno espaço livre para a penetrabilidade de um solvente.

Diversas propriedades estruturais dos hidrogéis são controladas pela densidade de reticulação, tais como a difusibilidade, o intumescimento e o módulo. Conforme ilustrada nas Figuras 10 e 11, à medida que a densidade de reticulação torna-se mais intensa, o volume de intumescimento, a difusividade e, concomitantemente, o tamanho na malha (ξ) reduzem. A dimensão da malha determina o espaço em meio às cadeias macromoleculares livres para a

condução molecular e, por conseguinte influencia o conteúdo de água e a difusividade (KIRSCHNER; ANSETH, 2013).

Na Figura 11 é feita uma ilustração da correlação entre densidade de reticulação e propriedades do hidrogel.

Figura 11- Correlação entre densidade de reticulação e propriedades do hidrogel.



Fonte: KIRSCHNER; ANSETH (2013)

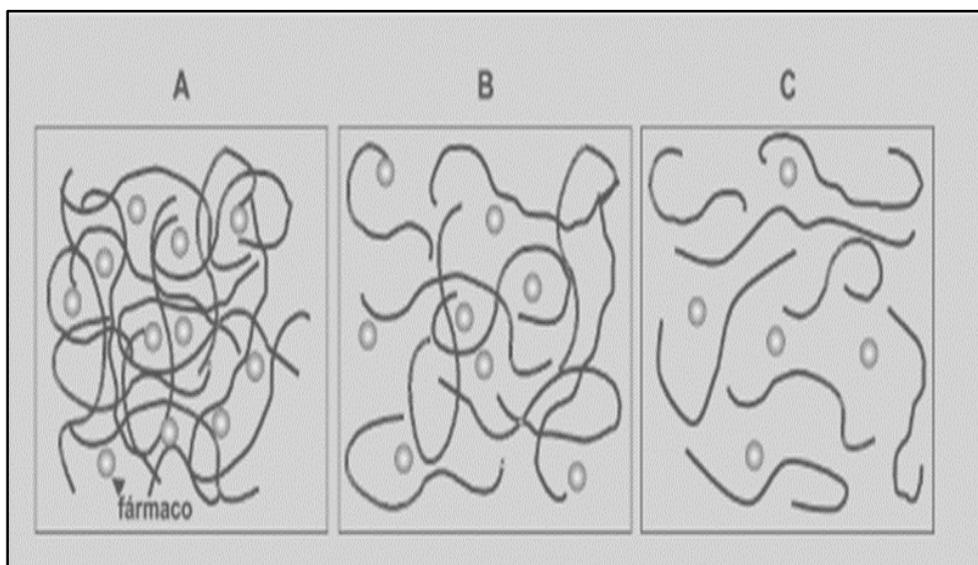
É relevante ressaltar que o grau de intumescimento depende da quantidade de agente que acarreta a reticulação. O intumescimento tem tendência a diminuir com o aumento da concentração do reticulante, em consequência da disponibilidade mínima dos grupos amina livres. Como também, a natureza do reticulante é capaz de acarretar alterações na transição sol-gel, tornando mais rápido ou dificultando o processo (FLORY, 1953; BISPO, 2009).

3.7.1.3 Efeito da temperatura no intumescimento

A temperatura é mais um fator que pode influenciar o intumescimento de sistemas poliméricos, visto que, à medida que a temperatura aumenta, o polímero intumescerá mais rapidamente, e a taxa de dilatação do equilíbrio aumenta em conformidade. Isso resulta do desemaranhamento das cadeias

poliméricas interpenetradas e à destruição das ligações de hidrogênio entre as moléculas do polímero (GUPTA; SHIVAKUMAR, 2012), conforme representação da Figura 12.

Figura 12- Esquema ilustrativo da influência da temperatura no processo de intumescimento



Fonte: LOPES, LOBO, COSTA (2005)

O aumento de intumescimento do hidrogel com aumento da temperatura deve-se fundamentalmente à natureza das interações poliméricas internas, assim como à natureza da elasticidade dentro da matriz. Além do mais, em temperaturas mais altas, a mobilidade da cadeia aumenta, o que facilita a expansão da rede e leva a um aumento na taxa de capacidade de expansão (GUPTA; SHIVAKUMAR, 2012).

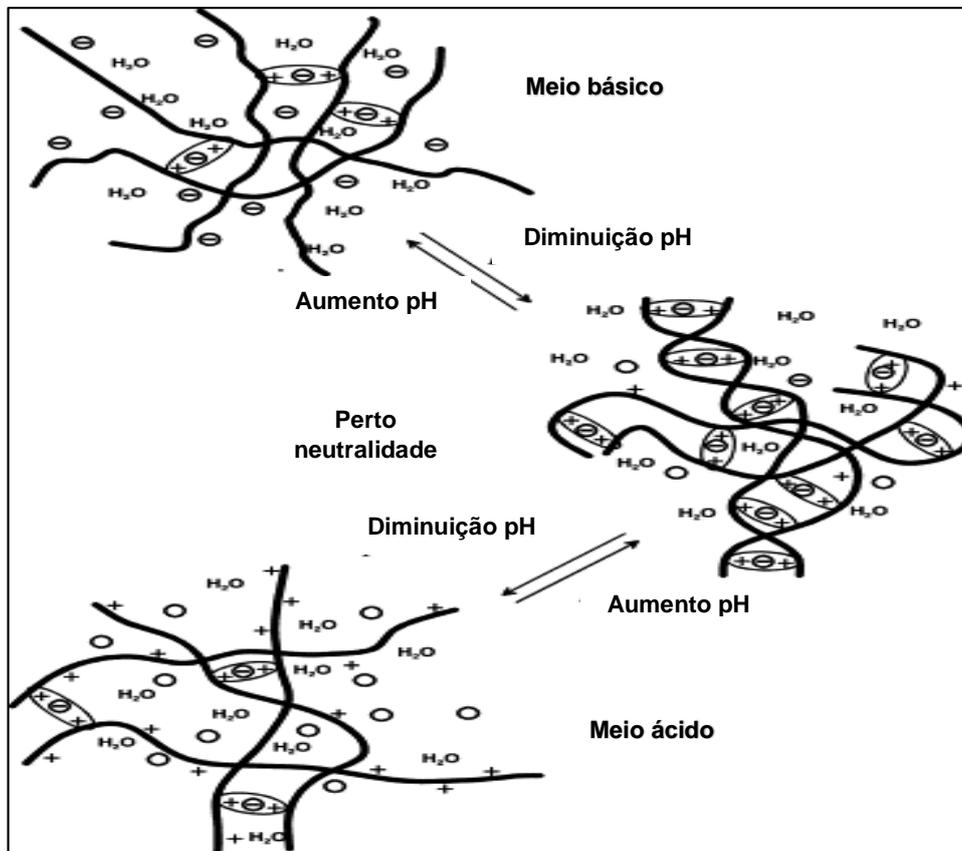
3.7.1.4 Efeito do pH no intumescimento

A mudança do pH do meio, comumente resulta em uma oscilação no volume livre possível para o acesso de moléculas de água, o que influencia as características de intumescimento do hidrogel (BRITO et al, 2013; RUBIRA et al, 2009).

O efeito do pH no intumescimento pode ser explicada pela repulsão eletrostática. A mudança no pH do meio de intumescimento afeta os perfis de carga do polímero em um meio aquoso que eventualmente influencia a capacidade de sorção de água do hidrogel. Em pH baixo, o volume da matriz

polimérica fica protonado, devido à repulsão mútua tendendo a relaxar as cadeias e resulta em maior taxa de intumescimento. À medida que o pH do meio aumenta, as forças de repulsão existentes continuam diminuindo, o que conseqüentemente produz um intumescimento decrescente (BAJPAI; LIKHITKAR, 2013), ilustrado na Figura 13.

Figura 13- Efeito do pH no intumescimento de um hidrogel de quitosana



Fonte: BERGER et al., (2004)

Um experimento de intumescimento desenvolvido por Oliveira; Costa Júnior, (2014) evidenciaram que o pH ácido na preparação de hidrogel colaborou para um maior acúmulo de água, resultando em um grau de intumescimento superior (OLIVEIRA; COSTA JÚNIOR, 2014; ZEPON, KANIS, SOLDI, 2013).

O intumescimento que responde ao pH é desejável para certas aplicações como nos sistemas de administração de fármacos (UNAL; HEDDEN, 2009).

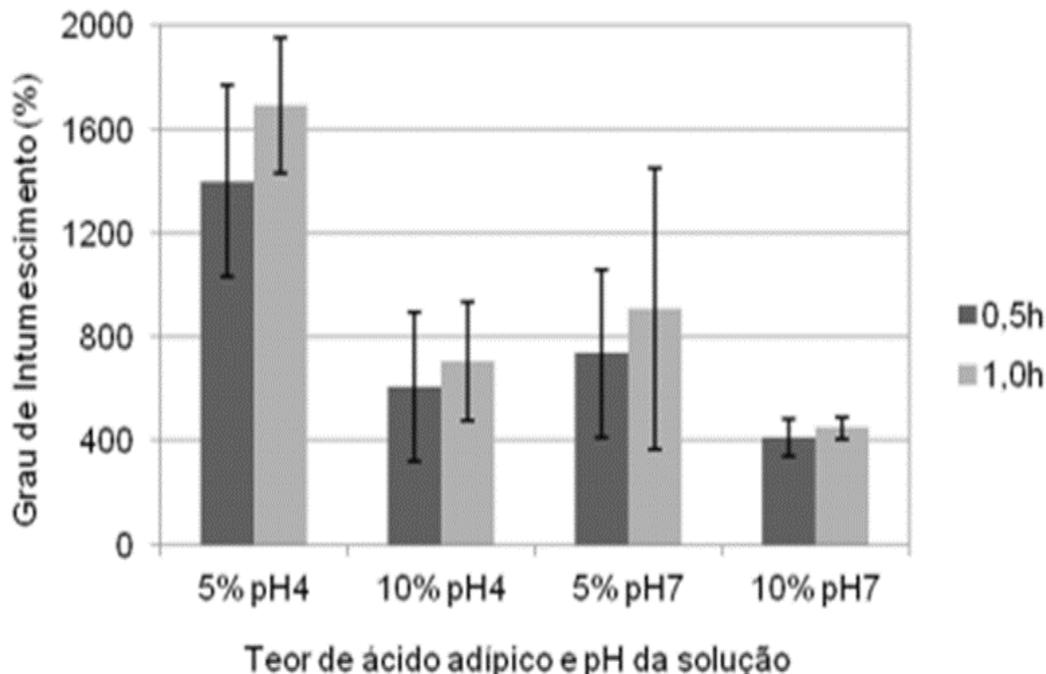
3.7.1.5 Experimentos sobre intumescimento de hidrogéis

Diversas investigações foram constatadas, subsidiando o desenvolvimento tecnológico de hidrogéis com destaque na área biomédica.

Em uma pesquisa realizada por Cremonez; Bentley; Lara (2013) foram analisadas as implicações de fatores como pH e temperatura do meio de imersão sobre o intumescimento. Os autores concluíram que o intumescimento sofreu influência em meio ácido, aumentando a capacidade de absorção de água pelo Polihexametilenobiguanida (PHMB) e conseqüentemente, acréscimo do intumescimento.

Oliveira e Costa Júnior (2014) identificaram que o grau de intumescimento de filmes de quitosana com 5% e 10% de ácido adípico é intensificado com a diminuição do pH (acidez), visto que em ambiente ácido, os grupos amino da quitosana ficam protonados, o que aumenta a solvatação das suas cadeias, acrescentando a absorção de fluido da amostra e conseqüentemente o intumescimento (OLIVEIRA; COSTA JÚNIOR, 2014).

A Figura 14 expõe o grau de intumescimento dos filmes de quitosana com 5% e 10% de ácido adípico submersos em pH 4 e pH 7 por 0,5 h e 1h. Foi identificado que o aumento do tempo de submersão, de 0,5 h para 1h, aumentou a absorção de líquido. Portanto, o grau de intumescimento do filme, indiferente do meio e do percentual de ácido adípico na amostra. Identificou-se ainda que o intumescimento foi maior em pH 4 (OLIVEIRA; COSTA JÚNIOR, 2014).

Figura 14- Grau de Intumescimento de filmes de Quitosana em pH 4 e 7.

Fonte: OLIVEIRA; COSTA JÚNIOR (2014).

Ginani et al., (1999) estudaram a propriedade de intumescimento de géis de quitosana. Na síntese do gel foram empregadas duas dissoluções de quitosana (7,14 g/L e 14,28 g/L) em ácido acético 3% (v/v).

Para aquisição do grau de intumescimento foi usado um escalímetro composto de tubos de ensaio de 10x300mm, com escala milimétrica, onde foram acomodados 0,5g da massa fixa do gel seco equivalendo a 1,0 cm de altura (V_o) imersa em 10 mL de solução tampão (pH: 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0) em ambiente a 30 C, por 48 horas. Em seguida a este tempo, foi medida a altura da coluna de massa intumescida (V_f) e avaliado o grau de intumescimento pela relação $Dsw = V_f/V_o$.

Os autores identificaram que existiu uma alteração brusca de intumescimento dos hidrogéis em função do pH. Em ambiente ácido, o hidrogel exibiu extenso intumescimento, ao mesmo tempo em que, em ambiente básico, o hidrogel é colapsado. Concluíram, portanto, que o hidrogel de quitosana é um sistema pH-sensível.

4 MATERIAIS E MÉTODO

4.1 MATERIAIS

Para o desenvolvimento da pesquisa foram utilizados os seguintes materiais:

- Quitosana da Sigma Aldrich;
- Ácido Acético Glacial P.A, da empresa Dinâmica;
- Água destilada;
- Óxido de Zinco P.A, com peso molecular 81,37g/mol, do fabricante Vetec;
- Óleo Essencial de Pimenta rosa (OEP) da empresa Laszlo;

4.1.1 Micro-organismos utilizados nos testes microbiológicos

Quatro bactérias, de acordo com a Tabela 1, foram cedidas pela Coleção de Culturas de Micro-organismos do Departamento de Antibióticos - UFPEDA da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE e empregadas nos testes antimicrobianos. As bactérias foram escolhidas por sua importância clínico-microbiológica, analisando-se prontamente a reconhecida resistência aos fármacos, conforme Tabela 1.

Tabela 1- Micro-organismos empregados na avaliação da atividade antimicrobiana.

Micro-organismos	Informações		
	Gram	Nº UFPEDA	Origem
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram-positiva	02	Coleção de Culturas UFPEDA
<i>Staphylococcus epidermidis</i>		183	
<i>Escherichia coli</i>	Gram-negativa	224	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		416	

Fonte: Própria

4.2 METÓDO

4.2.1 Preparo dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP)

Foram pesadas em um béquer 2g de quitosana, que foram solubilizadas em 1mL de ácido acético e posteriormente, adicionado 30 mL de água destilada, em seguida, a solução foi submetida a agitação constante em agitador magnético por 1 h para efetivar a homogeneização.

Para o hidrogel de quitosana e óxido de zinco foi acrescentado à solução anterior 0,001g de óxido de zinco.

No hidrogel quitosana/óxido de zinco/óleo de Pimenta rosa foi acrescentado também à mistura acima 1,75g do óleo essencial de Pimenta rosa.

4.2.2 Determinação da atividade antimicrobiana

Esta fase da pesquisa foi realizada com a colaboração do Professor Rinaldo Aparecido Mota do Departamento de Veterinária da UFRPE. Foram utilizados dois métodos os quais serão descritos a seguir.

4.2.2.1 Método de difusão em ágar – técnica do poço

Com a finalidade de identificar culturas com possíveis contaminação e viabilizar cepas recém-isoladas para os ensaios foi avaliada a pureza das cepas bacterianas. Cada inóculo bacteriano foi semeado em uma placa de ágar sangue de carneiro. Esta placa foi incubada a 37 °C durante 24 horas, em estufa bacteriológica. Em seguida, foi analisado se ocorreu desenvolvimento de micro-organismo contaminante, conforme ilustração na Figura 15.

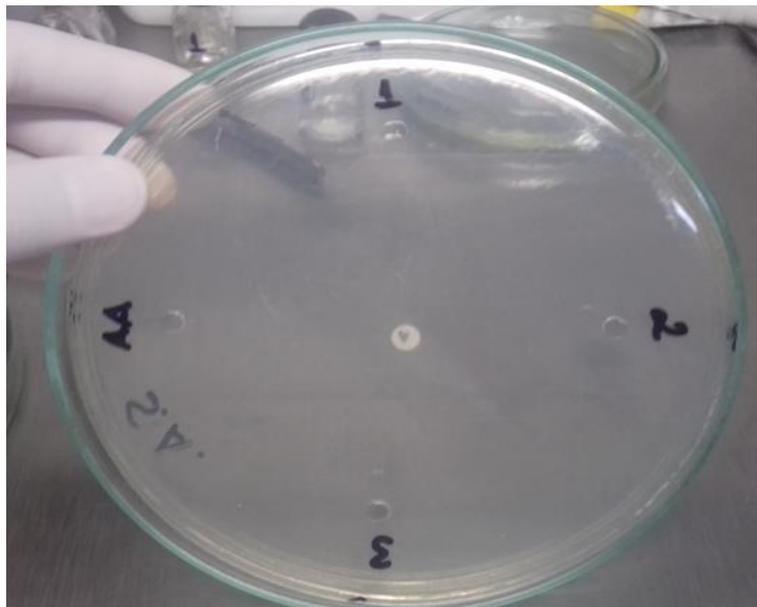
Figura 15 - Verificação de pureza do inóculo bacteriano de *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* e *P. aeruginosa*



Fonte: Própria

Após a etapa de verificação da pureza do inóculo bacteriano, foi iniciada a efetivação da análise da atividade antimicrobiana dos hidrogéis em estudo. Para tanto, em placas de Petri, com ágar Mueller Hinton foram feitos 05 poços de 12 mm de diâmetro. Com um swab estéril, o inóculo bacteriano com turvação 0,5 da escala de MacFarland foi aplicado de forma homogênea sobre a superfície do ágar e mantidas em repouso em temperatura ambiente, cerca de 3 minutos. Empregando-se uma pipeta automática foi colocado em cada poço, corretamente, identificado 20 μ L dos controles positivo (gentamicina) e negativo (ácido acético), como também de cada gel: Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP. Foi utilizada uma placa para cada micro-organismo pesquisado. As placas foram incubadas em estufa a 37°C, por 24 horas. Utilizou-se régua milimetrada para a medição do halo de inibição do crescimento. A Figura 16 ilustra esta etapa do experimento.

Figura 16- Placa de Petri com ágar Mueller Hinton com 05 poços de 12 mm de diâmetro.



Fonte: Própria.

4.2.2.2 Método de diluição em microplacas para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

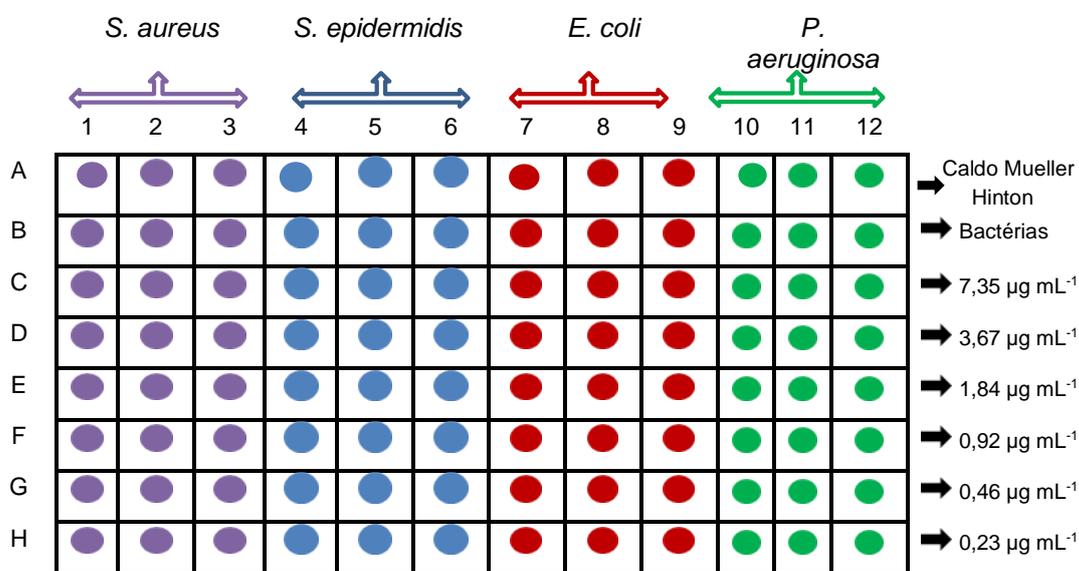
A CIM foi realizada pelo método de diluição em microplacas (96 poços) conforme a metodologia referida na norma M7-A6 do Manual 38 *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2006) com algumas alterações. A determinação da concentração mínima inibitória foi efetivada empregando placa de microdiluição de poliestireno, estéreis, com 96 poços, adequada para microdiluição. Os testes foram efetivados em triplicata.

Inicialmente 1mL de cada hidrogel (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP) foi diluído em 3mL de caldo Mueller Hinton e homogeneizado. Em seguida, foram retirados 100 μ L desta solução de géis e colocados à primeira coluna (A) juntamente com 100 μ L de caldo Mueller Hinton; depois, retirados 100 μ L de cada poço da linha C para a coluna D, e assim sucessivamente até a linha H. Variando, então, as concentrações do hidrogel de 7,35 μ g mL⁻¹ a 0,23 μ g mL⁻¹. Posteriormente, acrescentou-se uma alíquota de 5 μ L do inóculo bacteriano em cada poço da microplaca: de *S. aureus* (colunas 1-3), *S. epidermidis* (colunas 4-

6), *E. coli* (colunas 7-9), *P. aeruginosa* (colunas 10-12) e incubou-se a 35 °C em estufa bacteriológica por 24 horas.

Foram preparadas quatro placas. Em cada microplaca foi testado hidrogel Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP, respectivamente. Estes foram empregados em concentrações apropriadas para cada micro-organismo, tendo em vista obter a CIM. Além disso, foram efetivados um controle negativo (caldo Mueller-Hinton: coluna A) e um controle positivo (bactéria: coluna B). As microplacas foram incubadas por 24 horas e posteriormente foram realizadas leituras a 600 nm em leitora de Elisa Muitiskan GO. A Figura 17 exhibe, esquematicamente, o teste nas microplacas.

Figura 17- Esquema da placa preparada para o ensaio da CIM dos hidrogéis de Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP frente a *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* e *P. aeruginosa*



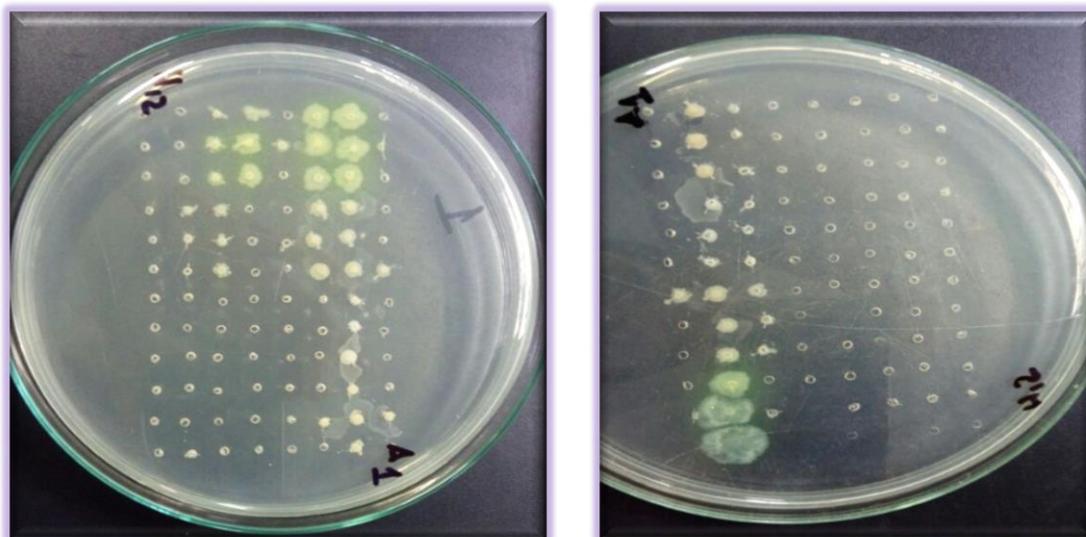
Fonte: Própria.

Legenda: ● colunas com *S. aureus*; ● colunas com *S. epidermidis*;
 ● colunas com *E. coli*; ● colunas com *P. aeruginosa*;
 Linha A corresponde controle negativo, só caldo Mueller-Hinton
 Linha B corresponde controle positivo, bactérias;
 Linha C corresponde concentração 7,35 µg mL⁻¹
 Linha D corresponde concentração 3,67 µg mL⁻¹ ;
 Linha E corresponde concentração 1,84 µg mL⁻¹ ;
 Linha F corresponde concentração 0,92 µg mL⁻¹ ;
 Linha G corresponde concentração 0,46 µg mL⁻¹ ;
 Linha H corresponde concentração 0,23 µg mL⁻¹

4.2.2.3 Determinação da concentração bactericida mínima(CBM)

A menor concentração dos hidrogéis adequada para ocasionar a destruição total do inóculo bacteriano ou seja, a concentração bactericida mínima (CBM), foi apontada a partir dos poços onde, após 24h de incubação não existia crescimento bacteriano visível. Destes removeu-se uma quantidade de 10µl para a superfície do ágar Muller-Hinton. Depois de 24h de incubação a 35°C, foi averiguada a menor concentração dos hidrogéis, onde não se confirmou crescimento bacteriano, conforme ilustração na Figura 18. Esses testes foram efetivados em triplicatas.

Figura 18-Concentração bactericida mínima dos hidrogéis de Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP.



Fonte: Própria

4.2.3 Citotoxicidade dos hidrogéis Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP

Nesta pesquisa foram usadas leveduras *S. cerevisiae* do tipo Fleischman comercial.

Inicialmente, a levedura foi ativada. Para isso, foi amornada uma solução de dextrose. Em seguida, acrescentada 0,5 g de fermento e incubada a 30°C durante 18 horas.

Em seguida, foi realizado o cultivo da *S. cerevisiae* utilizando o seguinte meio de cultura: 4 g de glicose, 2 g de peptona e 2 g de leveduras. O meio de cultura supracitado foi diluído em 500 mL de água destilada.

Com o propósito de identificar o nível de inibição das cepas da levedura *S. cerevisiae*, separou-se 15 tubos de ensaio. Foi acrescentado em cada tubo de ensaio 1 mL do meio de cultura e 1 mL do extrato de células preparado no dia anterior.

Após o preparo destes 15 tubos de ensaio contendo a substância a ser analisada, *S. cerevisiae* em meio de cultivo com diferentes concentrações (1 µg/mL, 0,1 µg/mL, 0,01 µg/mL, 0,001 µg/mL, 0,0001 µg/mL) do hidrogel Qui/ZnO/OEP e mais 3 tubos de ensaio apenas com o meio de cultura e células para servir como controle. Culturas de 1mL de meio específico peptona 2%, extrato de levedura 2%, glicose 4% com um total de 32.103 células/mL foram monitoradas por 7 horas de cultivo à temperatura ambiente (25°C e umidade relativa > 70%). Os ensaios foram realizados em triplicada.

Foram efetuadas leituras a 620 nm em espectrofotômetro Biochrom Libra S22, a cada 2 horas, nos horários de 7:00 h, 9:00 h, 11:00 h, 13:00 h, 15:00 h, 17:00 h.

4.2.3.1 Viabilidade celular

O teste de exclusão por azul de Trypan foi utilizado para determinar a viabilidade celular.

Em síntese, alíquotas de 1 µL das células de *S. cerevisiae* foram diluídas em solução de azul de Trypan 0,1% e colocadas em câmara de Neubauer. A viabilidade celular foi avaliada com auxílio de microscópio óptico e a porcentagem de viabilidade celular calculada conforme equação (3) abaixo:

$$\% \text{ viabilidade} = \frac{\text{número de células não coradas}}{\text{número total de células}} \times 100 \quad \text{Eq. 3}$$

4.2.3.2 Análise estatística

A análise estatística foi efetivada empregando o método de análise de variância (ANOVA) de fator único, acompanhado pelo teste de *student* para avaliar a diferença significativa entre pares. Valores de 0,05 foram avaliados estatisticamente significativos.

5 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

5.1 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA COM ESPECTRÔMETRO DE MASSA (GC-MS) DO ÓLEO ESSENCIAL DE PIMENTA ROSA (OEP)

A análise cromatográfica foi realizada na Central Analítica vinculada ao Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco. A análise em GC/MS foi realizada em cromatógrafo gasoso modelo Trace 1300 e o espectrômetro de massa do modelo ISQ Single Quadrupole, os dois da marca *ThermoScientific*. A coluna cromatográfica utilizada foi TG SQC com fase estacionária 5% fenil metilpolisiloxano, de 15 m de comprimento e 0.25 μ m de diâmetro interno, utilizando hélio como gás de arraste. A temperatura inicial da coluna foi de 60 °C por 3 minutos, sendo programada para ter acréscimo de 10 °C a cada minuto, até atingir a temperatura máxima de 300 °C por 8 minutos.

5.2 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER–(FTIR)

A análise de infravermelho (IV) foi realizada no laboratório de combustíveis (LAC) do Departamento de Engenharia Química da UFPE, utilizando o equipamento modelo Spectrum 400 da marca Perkin-Elmer, empregando o modo de reflexão total atenuada (ATR). Os espectros foram obtidos na faixa de número de onda de 4000 a 650 cm^{-1} no modo de transmitância, durante 16 varreduras, com resolução de 4 cm^{-1} em temperatura de 22 °C e acessório HATR.

5.3 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS – (PCA)

Para análise da PCA foi empregado o software Unscrambler, versão 9.7. A matriz de informações avaliada foram espectros de FTIR do hidrogel de Qui, hidrogel de Qui/ZnO e hidrogel Qui/ZnO/OEP na faixa de 4000 a 650 cm^{-1} , com tratamento de normalização pela média.

5.4 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA- (TGA)

A perda e/ou ganho de massa dos géis em estudo considerando o tempo ou temperatura foi analisada por termogravimetria (TGA). As medidas foram efetuadas em calorímetro Shimadzu DTG 60H sob atmosfera de nitrogênio, taxa de aquecimento de 10 °C/min e varredura de 35 °C a 550 °C. A análise foi realizada na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental – DQF da Universidade Federal de Pernambuco/UFPE.

5.5 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL –(DSC)

Todos os experimentos de DSC foram realizados no Laboratório de Materiais Poliméricos e Caracterização (LMPC) do Departamento de Engenharia Química da UFPE. As curvas DSC foram obtidas em um módulo termogravimétrico Mettler Toledo modelo 1STARe System. A massa de 4 mg da amostra foi acondicionada em cadinho de alumínio e submetida a um intervalo de temperatura entre 25 e 450°C, com a utilização das seguintes taxas de aquecimento: 1ª curva em 30 °C/min., 2ª curva em 10°C/min. e a 3ª curva também em 10°C/min.

5.6 REOLOGIA

A caracterização reológica ocorreu no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE). As características reológicas do gel de Qui, Qui/ZnO, Qui/ZnO/OEP, foram definidas utilizando um Reômetro oscilatório da marca Anton Paar, modelo MCR 101 em um sistema placa-cone.

5.7 IDENTIFICAÇÃO DO GRAU DE INTUMESCIMENTO DOS HIDROGÉIS DE QUI, QUI/ZnO e QUI/ZnO/OEP

As características hidrofílicas dos hidrogéis foram examinadas por avaliações de grau de intumescimento em função do tempo. Foi utilizada a metodologia seguida por Oliveira (2013) com algumas adaptações.

Logo após a síntese dos hidrogéis, foi inserida, em placa de petri, 4 g de cada hidrogel e posteriormente depositada na estufa a 50 °C em torno de 5 minutos até obter uma massa constante.

Posteriormente, foram adicionados 4 mL de água destilada em cada massa dos hidrogéis e deixada intumescer por 30 minutos, 50 minutos, 70 minutos, 90 minutos e 110 minutos. Após cada tempo, acima referido, de intumescimento, as placa de petri com os hidrogéis intumescidos foram pesadas e prontamente, colocadas na estufa a 50 °C, durante o mesmo tempo que foi intumescido. Após os respectivos tempos de secagem, estes hidrogéis foram outra vez pesados. Os testes foram feitos em triplicata.

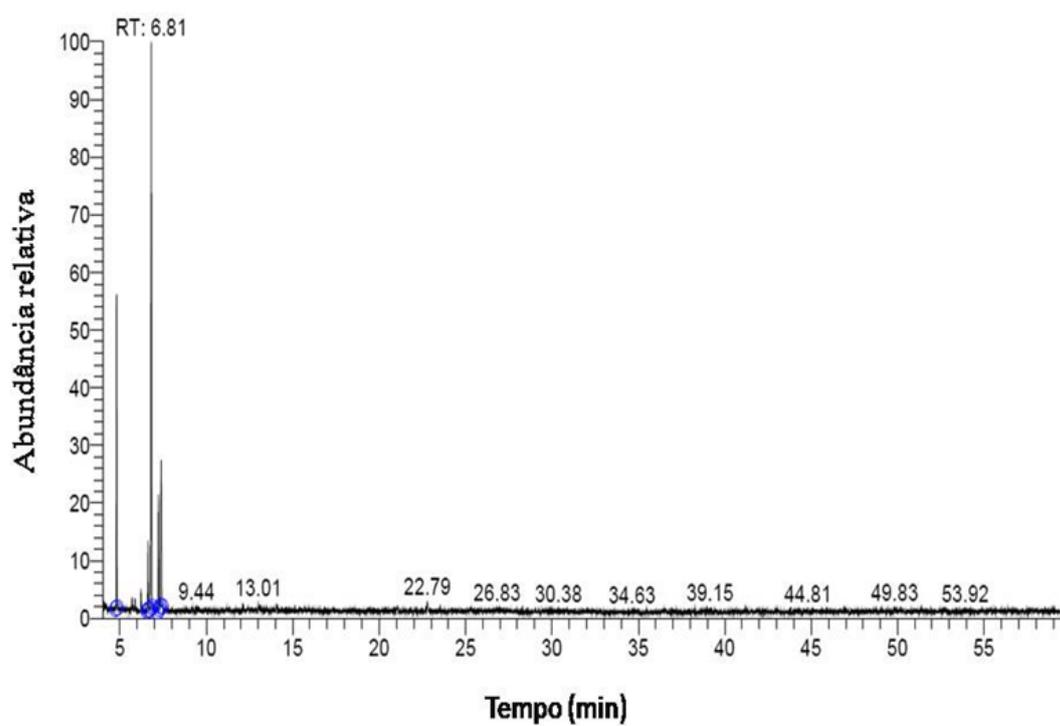
A definição exata do grau de intumescimento foi alcançada utilizando-se a equação 2 descrita no item 3.7.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA COM ESPECTROMETRIA DE MASSAS-GC/MS

A Figura 19 mostra o cromatograma do óleo essencial de Pimenta rosa presente na amostra, onde se observa registro de cinco picos correspondendo a 100% do óleo.

Figura 19- Cromatograma do Óleo essencial de Pimenta rosa.



Fonte: Própria

Na Tabela 2 estão expostas as proporções dos componentes identificados no óleo essencial de Pimenta rosa presente nas amostras.

Tabela 2- Proporções (%) dos componentes identificados no óleo essencial de Pimenta rosa.

Componentes	(%)
α -Pineno	48,00
α -Ocimeno	21,89
Trans-Ciclobutano	13,67
o-Cimeno	10,54
α -felandreno	5,90

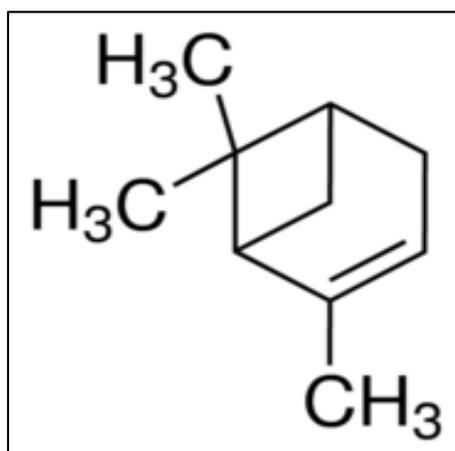
Fonte: Própria

Ao analisar a Figura 20 e Tabela 2, é possível identificar que o componente majoritário do óleo essencial de Pimenta rosa desse estudo foi α -pineno com 48,00 %.

O α -Pineno é um composto orgânico da classe dos terpenóides. Os terpenóides constituem uma família vasta e distinta de produtos naturais provenientes de unidades de isopreno (C_5). Segundo Simões et al., (1999), o α -pineno exibe elevada toxicidade para formigas e besouros, apresentando, ainda ação antibacteriana, antifúngica e antisséptica (ROSENGAUS et al., 2000; STOW; BEATTIE, 2008).

A Figura 20 ilustra a molécula do α -pineno.

Figura 20 – Molécula de α -pineno



Fonte: SILVA, et al. (2015)

O resultado referente a composição do óleo desse estudo corrobora com os dados da pesquisa de Dourado (2012), onde em sua análise cromatográfica do óleo essencial dos frutos de Pimenta rosa foram identificados 19 compostos, sendo o componente majoritário o α -Pineno (41,17%).

Melo e colaboradores (2014) também identificaram α -Pineno (10,36%) na caracterização da amostra de óleo essencial de Pimenta rosa estudada. Em outra pesquisa, com frutos maduros de Pimenta rosa, foi identificado α -pineno entre seus componentes (BENDAOU et al.,2010).

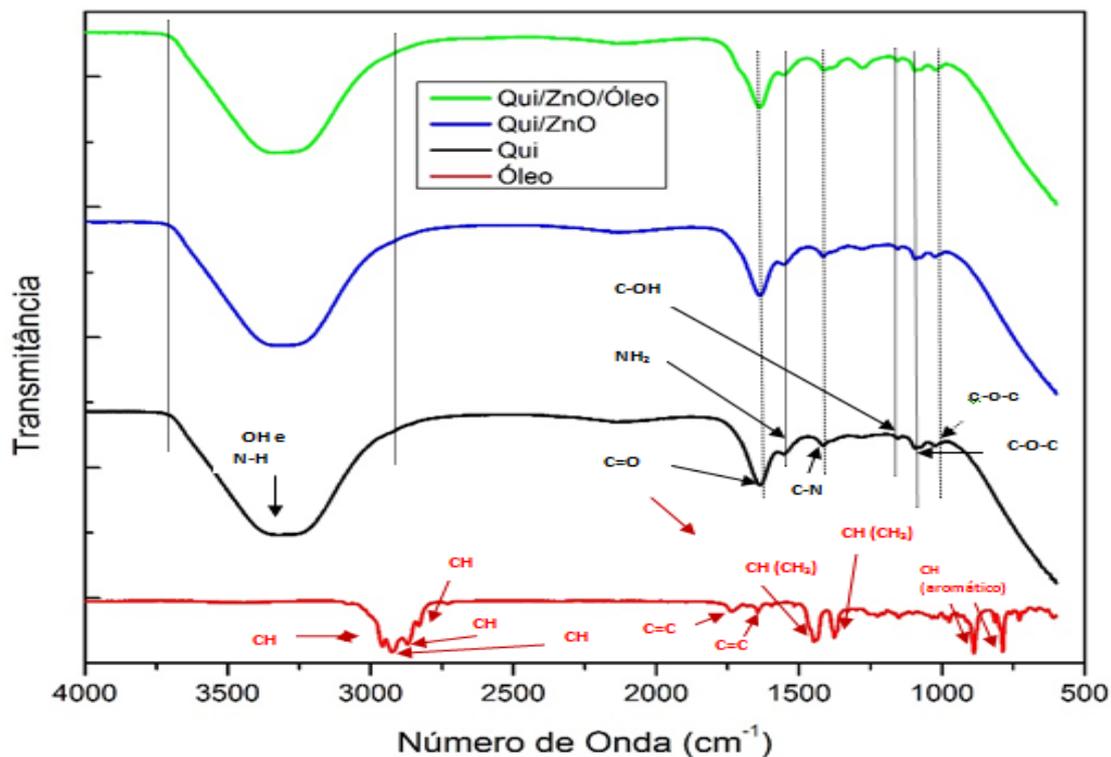
Ainda que haja semelhança entre os componentes existentes no óleo da Pimenta rosa nas pesquisas acima referidas, existe ampla diferença nas suas proporções. Conforme Gobbo-Neto e Lopes (2007), as diversas proporções entre os componentes detectadas podem ser, provavelmente, em consequência da sazonalidade, ao ritmo circadiano, a condição de maturação e desenvolvimento do vegetal, além disso, da acessibilidade de água, temperatura, nutrientes que estão à disposição, altitude, poluentes atmosféricos e incentivo por estímulos mecânicos ou agressão de patógenos.

Dourado (2012) e Uliana et al., (2016) enfatizam que a constituição dos óleos essenciais é definida por fatores genéticos, contudo, os métodos de extração e os fatores ambientais podem ocasionar alterações expressivas em seus componentes. O período da safra, posição geográfica, horário, a maneira de secagem do produto vegetal, assim como solo, umidade e água podem interferir na composição e no teor do óleo produzido.

6.2 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

Na Figura 21, pode-se analisar os espectros do óleo essencial de Pimenta rosa, hidrogel de Qui, Hidrogel de Qui/ZnO e Hidrogel de Qui/ZnO/Óleo.

Figura 21- Espectros de FTIR do óleo essencial de Pimenta rosa, Hidrogel de Qui, Hidrogel de Qui/ZnO e Hidrogel de Qui/ZnO/OEP



Fonte: Própria

Na Tabela 3 pode-se observar as principais bandas vibracionais característica do óleo de Pimenta rosa.

Tabela 3 - Principais bandas vibracionais do óleo essencial de Pimenta rosa.

Amostra	Grupo químico	Nº de onda (cm ⁻¹)
Óleo essencial de Pimenta Rosa	Dobramento fora de plano do grupo CH (Aromático)	891- 970
	Estiramento de C-O	1025
	Dobramento fora de plano do grupo CH (CH ₃)	1376 – 1437
	Estiramento de C=C	1644 – 1733
	Estiramento de CH	2825 – 2865 2931 – 2960

Fonte: Própria

Na Tabela 4 estão presentes as principais bandas vibracionais dos hidrogéis de Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP.

Tabela 4 - Principais bandas vibracionais dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP)

Amostra	Grupo químico	Nº de ondas (cm ⁻¹)
Hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP)	Estiramento de C-O-C	1014 – 1080
	Estiramento de C-OH	1270
	Estiramento de C-N	1395
	Estiramento de NH ₂	1540
	Estiramento de C=O	1635
	Estiramento axial de OH sobreposta ao estiramento do grupo N-H	Faixa larga 3000-3600 Máx. 3300

Fonte: Própria

Ao analisar, na Figura 21 e Tabelas 3 e 4, o espectro de infravermelho dos hidrogéis, observa-se que as bandas são semelhantes por se tratar de hidrogéis com os mesmos grupos químicos. São identificadas bandas na região de 3600- 3000 cm⁻¹ com pico máximo em 3315, correspondente aos estiramentos axial – OH. Ela está sobreposta ao estiramento do grupo N-H (3600 cm⁻¹). A banda em 1635 cm⁻¹ corresponde ao estiramento da ligação C=O. A banda em 1540 cm⁻¹ refere-se às vibrações do grupo NH₂ e a banda em 1395 cm⁻¹ corresponde ao grupo C-N. Na região de 1270 cm⁻¹ identifica-se a ligação C-OH. Também, foram identificadas bandas em 1080 cm⁻¹ e em 1014 cm⁻¹ referente às ligações éteres, C-O-C (SILVA, 2015; SOUZA, 2010).

Quanto ao espectro do óleo essencial de Pimenta rosa, por esse se tratar de uma mistura de várias substâncias, é impossível distinguir todos os componentes. Mas, pode-se identificar os grupos funcionais existentes neste composto, principalmente dos componentes majoritários. As bandas de absorção da ligação C-H foram observadas em 2960, 2931, 2865 e 2825 cm⁻¹. A absorção do grupo químico C=C está apresentada em 1644 e 1733 cm⁻¹. A banda de absorção em 1376 e 1437 cm⁻¹ é atribuída à ligação CH (CH₃). A banda em 1025 cm⁻¹ corresponde a absorção do grupo químico C-O, e das ligações CH

(Aromático) em 891 e 970 cm^{-1} . As posições referentes das bandas corroboram com as identificadas na literatura (SILVA, 2015).

Segundo Zhang et al. (2006), a banda de ZnO é situada em 480 cm^{-1} . Entretanto, não foi possível identificá-la no espectro da Figura 21, provavelmente em consequência da pequena quantidade de óxido de zinco utilizada na formulação do hidrogel.

6.3 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS – (PCA)

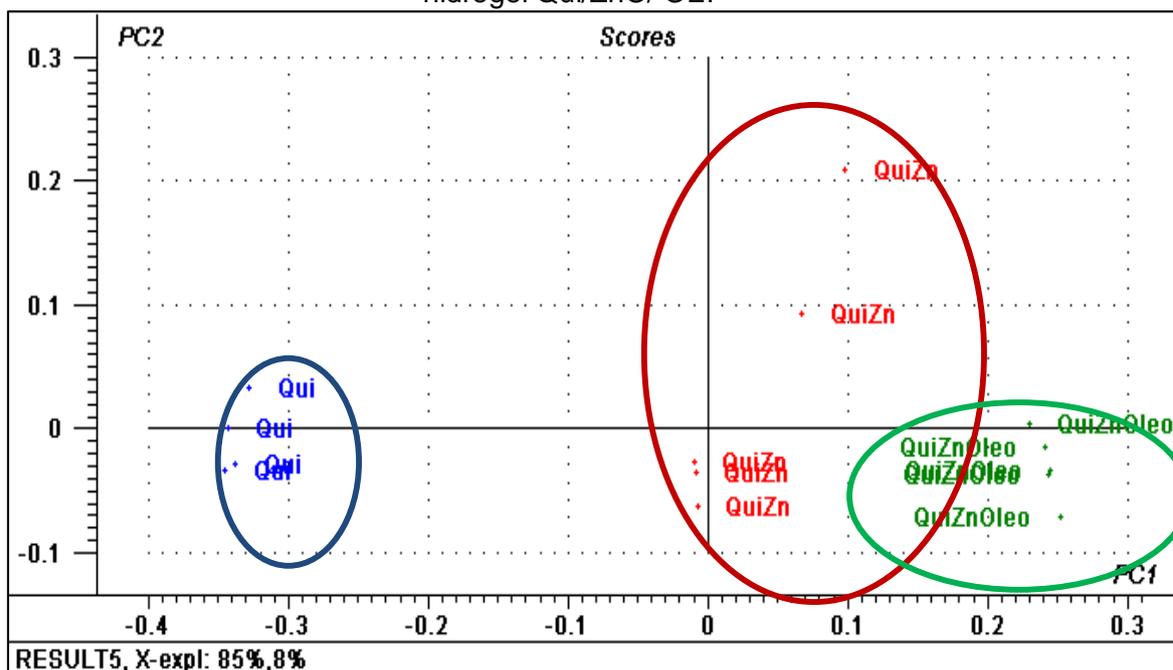
Os componentes dos hidrogéis têm estruturas similares e vários grupos funcionais idênticos. Esta similaridade ocasiona a semelhança entre o espectro FTIR dos hidrogéis, como apresentado no item anterior. Estas particularidades impedem a distinção dos hidrogéis exclusivamente pela investigação visual dos espectros (Figura 21).

Frequentemente, a PCA é empregada com a finalidade de agrupar as estruturas por semelhanças estruturais das amostras, identificar amostras atípicas e restringir as particularidades do conjunto de informações. O processo de agrupamento associa as amostras por suas combinações, gerando um gráfico de *scores* onde as amostras idênticas (mesmas vibrações de estrutura química), são agrupadas no mesmo grupo. A conjectura principal de sua interpretação é que quanto menor a distância dentre os pontos, maior a afinidade dentre as amostras. Os gráficos são, sobretudo, vantajosos na visualização de similaridades entre amostras. O emprego da análise de componentes principais é frequentemente utilizado em redução de dimensionalidade, tem amplas aplicações em reconhecimento de padrões (HAN et al., 2017; SOUZA; POPPI, 2012).

Nesse estudo a Análise por Componentes Principais (PCA) constituiu o recurso analítico aplicado com a finalidade de distinguir os hidrogéis conforme a sua composição, ou melhor, assegurar e caracterizar a participação do ZnO e OEP.

A Figura 22 expõe a PCA dos hidrogéis de Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP.

Figura 22- Gráficos de scores PC1 X PC2 dos hidrogéis de Qui, hidrogel de Qui/ZnO e hidrogel Qui/ZnO/ OEP



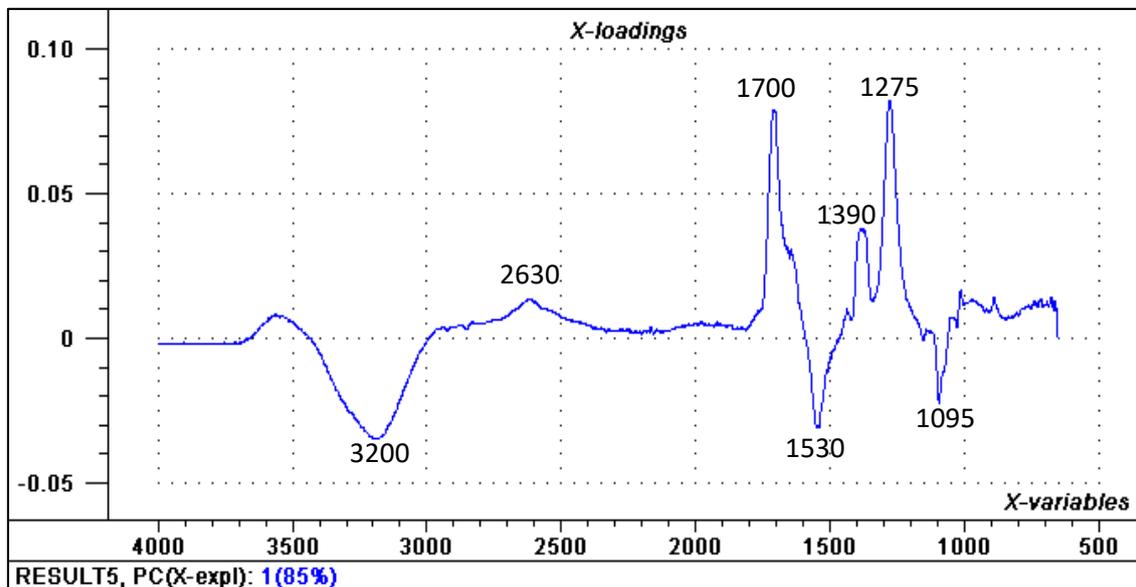
Legenda: ○ hidrogel Qui; ○ hidrogel Qui/ZnO; ○ hidrogel Qui/ZnO/OEP.

Fonte: Própria

O gráfico das PCAs exposto na Figura 22 ofereceu subsídios para explicar 85% das informações contidas no espectro de infravermelho. Percebeu-se no gráfico a formação de três agrupamentos. Que foram, o grupo em azul são as amostras de hidrogel de Qui pura, o grupo em vermelho expõe as amostras com a estrutura química de hidrogel de Qui/ZnO e o grupo em verde representa hidrogel Qui/ZnO/ OEP. Com isto, infere-se que houve a incorporação desses componentes (ZnO e OEP) nas formulações dos respectivos hidrogéis. E, esses constituintes adicionados interferiram no modo vibracional da quitosana.

O gráfico dos *loadings* da PC1 pode ser visto na Figura 23.

Figura 23- Gráfico dos *loadings* da PCA dos hidrogéis de Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/ OEP.



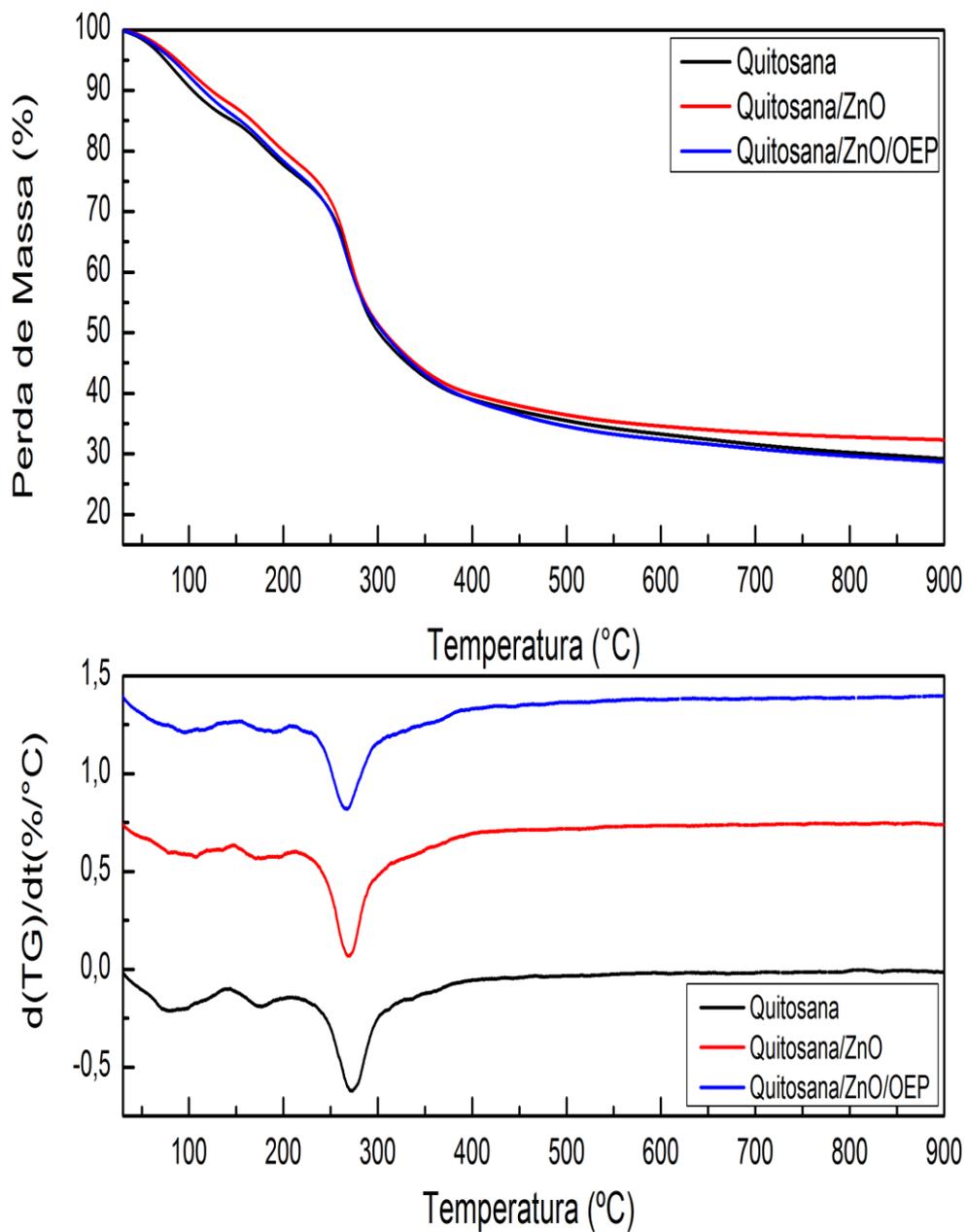
Fonte: Própria.

Por meio dos *loadings*, constata-se que dentre as bandas com valores positivos requer relevância os picos equivalentes aos números de onda 1700 e 1275 cm^{-1} . Estes picos máximos que são evidenciados nessa região podem ser relacionados às bandas de 1733 cm^{-1} e 1370 cm^{-1} (C=C e CH do pineno), existentes no espectro do óleo essencial de Pimenta rosa (Figura 21). E dentre os negativos, foram destacados os picos equivalente ao número de onda de 3200, 1530 e 1095 cm^{-1} (NH, C=O, C-N), os quais são identificados na quitosana. Estes picos em evidência nos *loadings* foram os responsáveis pela distinção identificada nas amostras de hidrogéis.

6.4 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA – (TGA)

Neste estudo foi analisado o comportamento térmico do hidrogel de Qui, hidrogel de Qui/ZnO e hidrogel de Qui/ZnO/OEP, conforme indicado nos termogramas da Figura 24 e Tabela 5.

Figura 24- Termogramas de TGA do hidrogel de Qui, hidrogel de Qui/ZnO e hidrogel de Qui/ZnO/OEP



Fonte: Própria

A Tabela 5 resume as informações referente as temperaturas (°C) dos estágios de perdas de massa (%) e massa residual dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP).

Tabela 5- Valores de temperatura dos estágios de perda de massa (%) e massa residual para os hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP)

Estágios de perda de massa e temperatura	Hidrogel		
	Qui	Qui/ZnO	Qui/ZnO/OEP
Iº estágio	32-136 °C	32-140 °C	32-136 °C
IIº estágio	136-208 °C	140-207 °C	136-213 °C
IIIº estágio	208-380 °C	207-385 °C	213-397 °C
Resíduo (900°C)	29,04 %	32,2 %	28,6%

Fonte: Própria

Analisando a Tabela 5 e Figura 24 foi possível identificar que os três hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP) mostraram comportamentos semelhantes quanto à perda de massa, que ocorreu em três estágios. O hidrogel de Qui apresentou um estágio inicial de perda de massa no intervalo de 32 – 136 °C. Um segundo estágio, no intervalo de 136-208 °C e um terceiro estágio, entre as temperaturas de 208-380 °C. O hidrogel de Qui/ ZnO teve o primeiro estágio de perda de massa entre 32-140 °C, o segundo entre 140-207 °C e o terceiro no intervalo de temperatura de 207-385 °C. O hidrogel Qui/ZnO/OEP mostrou o primeiro estágio de perda de massa em torno de 32-136 °C, o segundo estágio ocorreu no intervalo de 136-213 °C e o terceiro estágio de perda de massa aconteceu entre 213-397 °C.

Segundo Corazarri et al., (2015), o primeiro estágio é correspondente à dessorção de água adsorvida na superfície do polímero. O segundo estágio é atribuído à vaporização, eliminação dos produtos voláteis e degradação térmica da quitosana. Este estágio de degradação resulta da despolimerização da cadeia da quitosana, da decomposição do anel de piranose por meio da desidratação, da desaminação e, por fim, das reações de rompimento do anel (NETTO et al.,

2005). O terceiro estágio é, também, atribuído à degradação das unidades acetiladas e desacetiladas da quitosana (NETTO et al., 2005, ZENG et al., 2011).

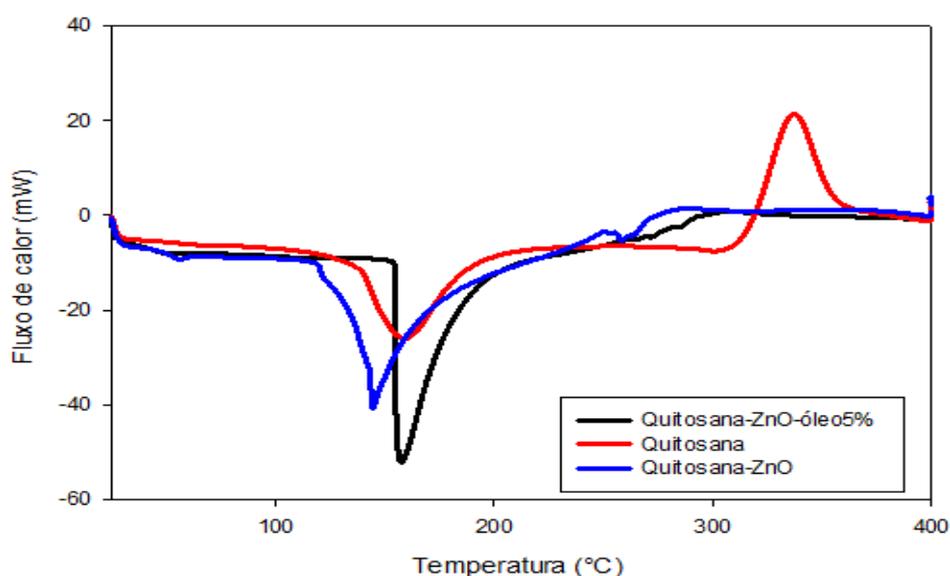
Ainda, segundo Corazarri et al., (2015), na faixa entre 250 e 450 °C ocorre o processo básico de degradação incluindo a liberação de H₂O, NH₃, CO, CO₂ e CH₃COOH, ocasionando uma perda de massa de 54%. No final, no intervalo de temperatura de 450 – 750 °C acontece à liberação de CH₄, provocando uma perda de massa equivalente a 9%. A 800 °C todos os grupos funcionais originalmente existentes (grupos amino e hidroxila) e ainda sua estrutura polissacarídica é totalmente desnaturada, resultando somente estruturas de grafite.

Na presente pesquisa observou-se que o percentual residual de massa dos hidrogéis não exibiu alterações entre eles. Para o hidrogel de quitosana o resíduo foi equivalente a 29,04 %, enquanto o hidrogel Qui/ZnO restou 32,2 %. Por sua vez, o hidrogel Qui/ZnO/OEP remanesceu 28,6%.

6.5 ANÁLISE DE CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL– (DSC)

A Figura 25 exibe as transições identificadas nos termogramas de DSC dos hidrogéis de Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP.

Figura 25- Termogramas de DSC do hidrogel de Qui, do hidrogel de Qui /ZnO e do hidrogel de Qui/ZnO/OEP



Fonte: Própria

Analisando o DSC do hidrogel de quitosana é possível perceber a existência de dois eventos básicos, sendo o primeiro endotérmico e o segundo exotérmico. A curva endotérmica mostra-se entre 131^oC e 194^oC com um pico em 159^oC que corresponde à perda de água deste hidrogel.

O evento exotérmico variou entre 307^oC e 378^oC com pico em 337^oC referente à decomposição das unidades monoméricas do polímero, corroborando com Sarmiento et al., (2006). O pico exotérmico refere-se a degradação de polieletrólitos em consequência das reações de desidratação e despolimerização, mais possivelmente da descarboxilação incompleta dos grupos carboxílicos protonados e reações de oxidação dos polieletrólitos (SARMENTO et al., 2006).

Enquanto que o hidrogel de Qui/ZnO e, também, o hidrogel de Qui/ZnO/OEP exibiram, dentre a faixa de temperatura estudada, apenas uma curva endotérmica com picos respectivamente em 145^oC e 158^oC.

Acredita-se que o óxido de zinco e o óleo de Pimenta rosa alteraram o evento exotérmico, aumentando a temperatura de degradação destes hidrogéis e, por isso, não sendo possível verificar este evento térmico através das curvas nos valores da temperatura estudada.

Segundo Raju et al. (2010), a adição de ZnO é significativa sobre a estabilidade térmica dos materiais (quitosana), apresentando um efeito positivo sobre a temperatura de degradação dos hidrogéis. Assim, induziu a um aumento da estabilidade térmica desses hidrogéis. Esse aumento da estabilidade térmica pode ser devido à formação de uma estrutura em rede por parte dos grupos hidroxila presente na superfície das partículas de ZnO por meio de ligações de hidrogênio.

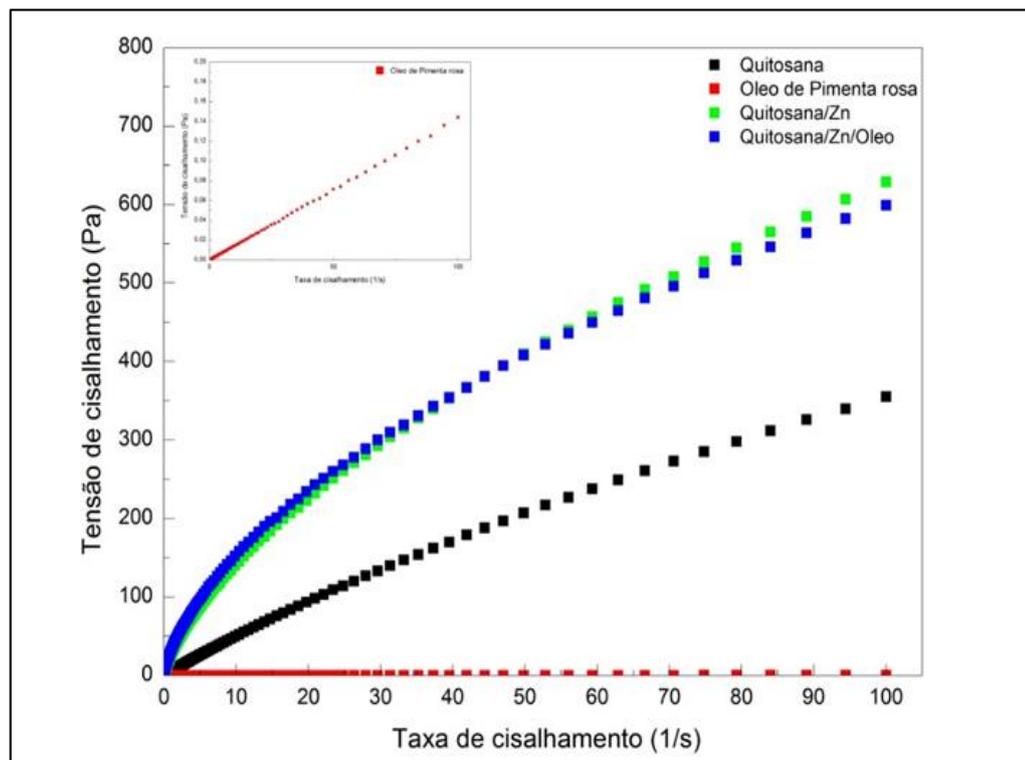
Vale destacar que a quitosana, embora seja um polímero semicristalino, não se funde em consequência da estrutura bem rígida da cadeia resultante de muitas ligações de hidrogênio inter e intramoleculares. Deste modo, decompõe-se antes de alcançar a fusão (RISBUD; BHAT, 2001).

6.6 REOLOGIA

Nas Figuras 26, 27, 28 e 29 serão apresentados os resultados dos ensaios reológicos.

A Figura 26 apresenta as curvas de Tensão de cisalhamento (Pa) em função da taxa de cisalhamento (1/s), para todas as amostras.

Figura 26- Curvas de Tensão de Cisalhamento (Pa) em função da Taxa de Cisalhamento (1/s) do OEP e dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP)

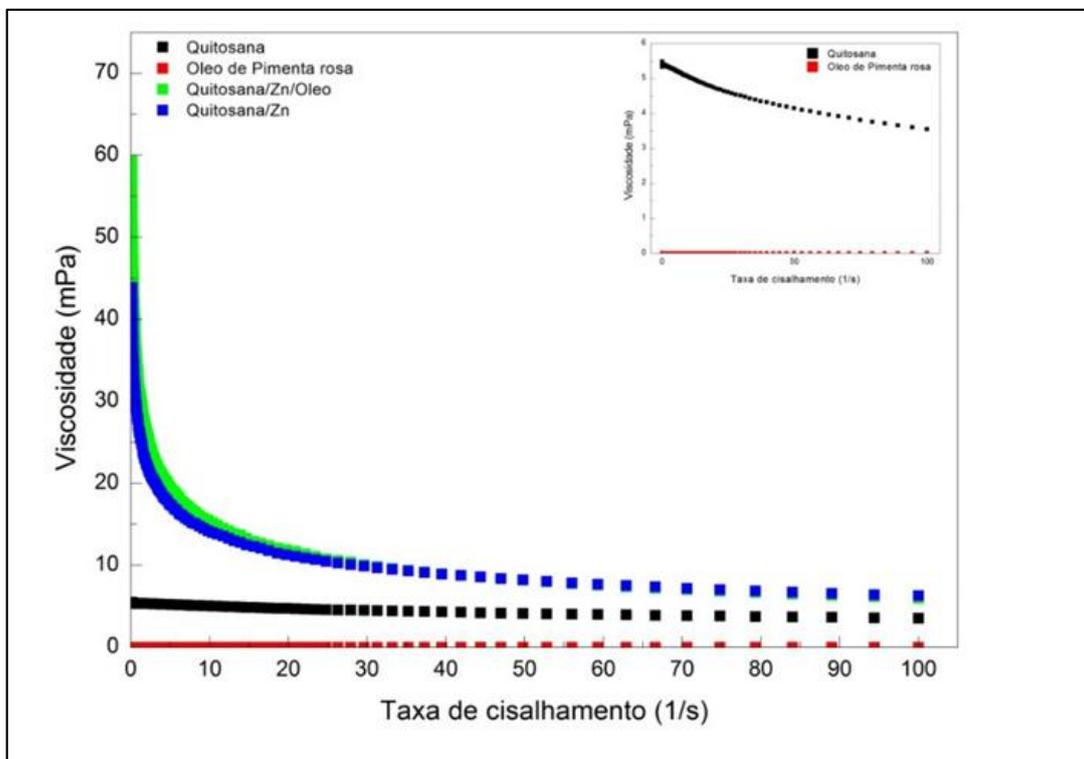


Fonte: Própria

A Figura 26 mostra que o óleo de Pimenta rosa apresentou um comportamento de fluido Newtoniano, visto que a relação entre a tensão e taxa de deformação é constante, independentemente da deformação e do tempo (BRETAS et al., 2010; MACHADO, 2002). Entretanto, os hidrogéis de Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP expõem comportamento de fluidos não-newtonianos, onde a relação entre a tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento não é constante, e a viscosidade diminui com o aumento da taxa de cisalhamento.

A Figura 27 apresenta o gráfico das curvas de Viscosidade (mPa) em função da Taxa de Cisalhamento (1/s) do óleo essencial de Pimenta rosa e dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP).

Figura 27- Curvas de Viscosidade (mPa) em função da Taxa de Cisalhamento (1/s) do óleo essencial de Pimenta rosa e dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP)



Fonte: Própria

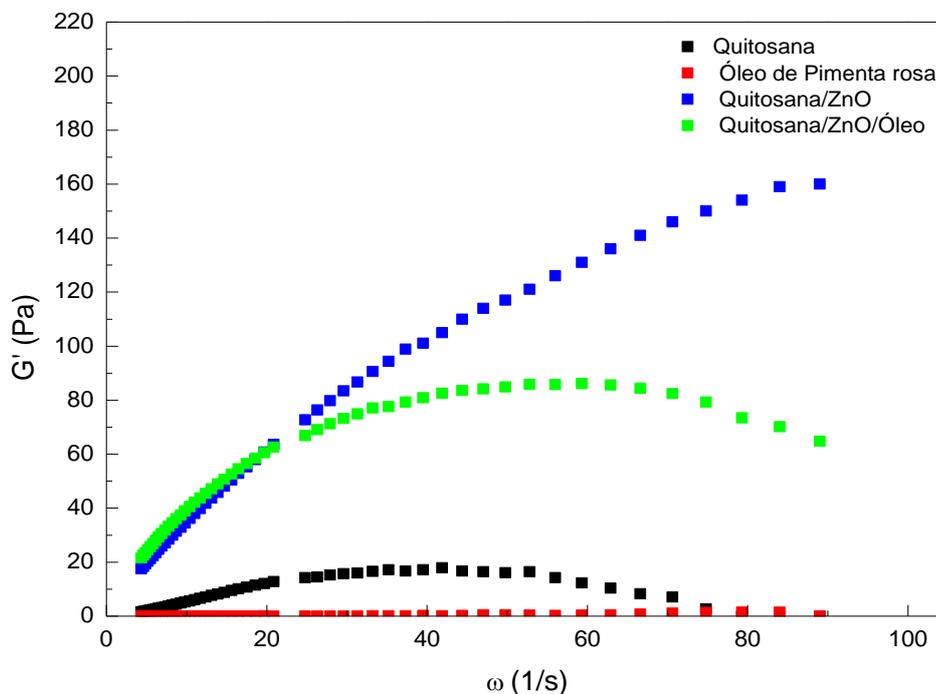
Analisando a Figura 27, confirma-se que o óleo essencial de Pimenta rosa exibiu uma representação gráfica típica de fluido newtoniano, uma vez que, a sua viscosidade foi constante independentemente do valor atribuído a taxa de cisalhamento (BRETAS et al., 2010; MACHADO, 2002).

Entretanto, os hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP) apresentaram curvas de viscosidade equivalentes a fluidos não-newtoniano do tipo pseudoplástico, pois a viscosidade decresceu com o aumento da taxa de cisalhamento (MACHADO, 2002). Segundo Navarro (1997), a pseudoplasticidade é vinculada à destruição estrutural onde ligações entre partículas ou os contatos entre as cadeias são desfeitas como consequência do cisalhamento. A pseudoplasticidade é justificada pela presença de micelas

esféricas com influências inerentes da taxa de cisalhamento, ou à existência de aglomerados não esféricos que são dirigidos no sentido do cisalhamento.

O Módulo de Armazenamento em função da Frequência Angular do óleo essencial de Pimenta rosa e dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP) é mostrado na Figura 28.

FIGURA 28- Módulo de Armazenamento em função da Frequência Angular do OEP e dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP)



Fonte: Própria

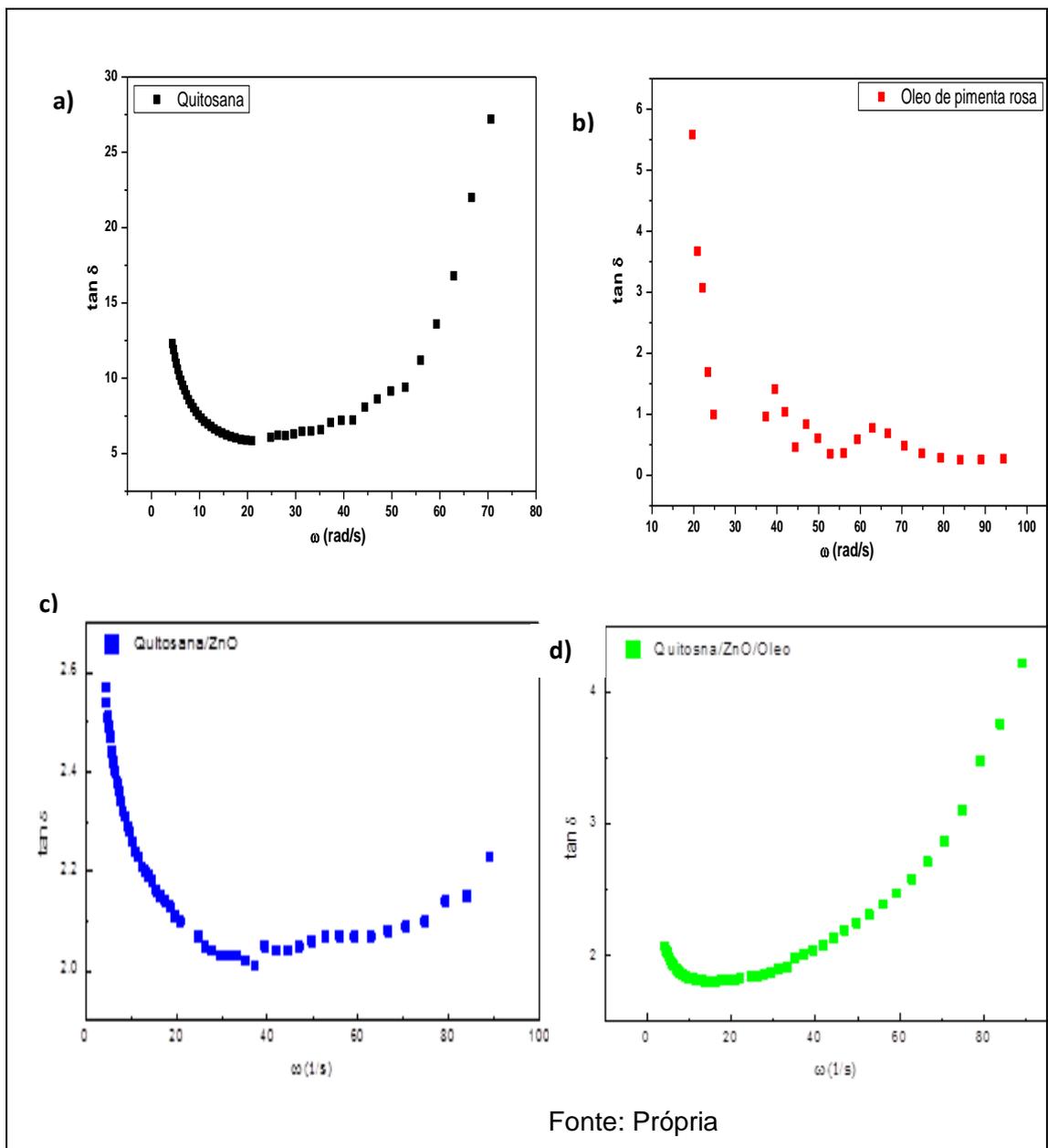
Segundo Cassu e Felisberti (2005), o módulo de armazenamento consiste em uma avaliação da energia mecânica que o material é apto de armazenar, em certas circunstâncias experimentais, no formato de energia potencial ou elástica. Pode-se observar, na Figura 28, que os comportamentos do módulo de armazenamento (G') das amostras foram diferentes. O óleo de Pimenta rosa mostrou módulo de armazenamento constante, enquanto, os hidrogéis, principalmente, o hidrogel Qui/ZnO/OEP expõe um aumento, seguido de uma estabilidade ou diminuição do módulo de armazenamento à medida que ocorre aumento da frequência angular.

Segundo Navarro (1997), um aditivo que propicie uma flexibilidade superior ao material, tais como os plastificantes para os polímeros, atua distanciando as macromoléculas e permitindo o movimento das cadeias do

polímero. Esta situação pode ter ocorrido com o hidrogel Qui/ZnO/OEP onde o óleo de Pimenta rosa atuou como plastificante.

A Figura 29 apresenta as curvas do Fator de amortecimento ($\tan \delta$) em função da Frequência angular do OEP e dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP).

Figura 29- Fator de amortecimento ($\tan \delta$) em função da Frequência Angular do óleo de pimenta rosa e dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP)



O $\tan \delta$ é uma medida que exprime a competência de amortecimento do material (CASSU; FELISBERTI, 2005).

Analisando a Figura 29, observa-se que o óleo de Pimenta rosa (Figura 29 b) apresentou uma curva constante, o $\tan \delta$ se torna independente da frequência angular (ω) sugerindo que o mesmo expõe característica de um sólido elástico (LIMA et al., 2016).

Entretanto, os hidrogéis [Qui (Figura 29a), Qui/ZnO (Figura 29c) e Qui/ZnO/OEP (Figura 29d)] exibem um comportamento mais de um fluido viscoso do que de um sólido elástico.

Por sua vez, o hidrogel Qui/ZnO mostrou um decréscimo do fator de amortecimento maior, em relação ao hidrogel de Quitosana e Qui/ZnO/OEP. Mas, também, mostrou um intervalo constante, entre 20 – 40 rad/s da frequência angular, seguido de um acréscimo do fator de perda.

Ao analisar o comportamento do hidrogel Qui/ZnO/OEP (Figura 29d) em relação ao fator de amortecimento, destaca-se o acréscimo do fator de amortecimento a partir de 35 rad 1/s. Portanto, infere-se que o ZnO e o OEP modificaram o comportamento do hidrogel de Qui, aumentando o coeficiente de amortecimento deste hidrogel que segundo Cassu e Felisberti (2005), os polímeros apresentam módulo de amortecimento baixo.

6.7 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS HIDROGÉIS (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP)

A interação entre dois ou mais materiais pode ser considerada sinérgica, indiferente ou antagônica. Quando a soma dos efeitos na combinação é maior que o efeito isolado dos materiais, considera-se que essa interação é sinérgica; indiferente quando a soma dos efeitos na associação de materiais continua igual aos efeitos individuais e antagonista, quando a soma dos efeitos na associação de materiais é menor que os efeitos isolados. Entretanto, esses efeitos são diretamente correlacionados a concentração de cada material em grupo ou individualmente e ao seu método de desempenho (YEH et al, 2010).

Para averiguar a característica da interação entre o óleo de Pimenta rosa e o hidrogel de Qui/ZnO foi analisada a atuação conjunta destes materiais antimicrobianos no formato de hidrogel frente as linhagens *S. aureus*, *S.*

epidermidis, *E. coli* e *P. aeruginosa*. Inicialmente, distinguiu-se o efeito dos materiais isoladamente.

6.7.1 Determinação da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em poço.

O método da difusão em ágar, técnica do poço, foi empregado para evidenciar a atividade antibacteriana dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP) sobre os micro-organismos utilizados, conforme Tabela 6.

Tabela 6- Diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano, em mm, frente aos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP) pelo teste de difusão em poço

Bactérias	Diâmetro dos halos (mm) Controle		Diâmetro dos halos (mm) Hidrogéis		
	Gentamicina (E)	Ácido acético (A)	Qui (B)	Qui/ZnO (C)	Qui/ZnO/OEP (D)
<i>S. aureus</i>	28	-	22	22	24
<i>S. epidermidis</i>	27	-	19	18	17
<i>E. coli</i>	21	-	12	14	14
<i>P. aeruginosa</i>	25	-	23	22	24

Fonte: Própria

Segundo Melo et al., (2014), a dimensão do halo subsidia classificar os micro-organismos em *não sensíveis ou resistentes* para diâmetros menores que 8 mm, *sensíveis* para diâmetros entre 9 e 14 mm, *muito sensíveis* para diâmetros entre 15 e 19 mm e *extremamente sensíveis* para diâmetros acima de 20 mm.

Analisando-se a Tabela 6 foi possível identificar que o *S. aureus* e *P. aeruginosa* mostraram-se *extremamente sensíveis* aos três hidrogéis estudados. O micro-organismo *S. epidermidis* mostrou-se *muito sensível*, também, aos três

hidrogéis estudados, já a *E. coli* somente *sensível*. Desta forma, é possível verificar que os três tipos de hidrogéis testados, Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP, frente as bactérias utilizadas neste experimento, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* e *P. aeruginosa*, exibiram atividade antimicrobiana.

A ação antimicrobiana da quitosana é determinada pelos grupos amínicos que em contato com meios fluidos são protonados e se fixam a grupos aniônicos dos micro-organismos, ocasionando aglomeração das células bacterianas e bloqueio no seu desenvolvimento (SOUZA, 2016; PAIVA; SOUZA NETO; BATISTA, 2014).

Estes resultados corroboram os dados da pesquisa de Souza (2016) que estudou a atividade antimicrobiana da quitosana frente aos patógenos *P. aeruginosa* e *S. aureus* e identificou ação antimicrobiana, já que halos de inibição de crescimento bacteriano foram observados nas placas durante o período de avaliação.

Os resultados da atividade antimicrobiana desta pesquisa, também, estão ilustrados através das Figuras 31 e 32, que expõem os diâmetros dos Halos de inibição do crescimento microbiano, em mm, das bactérias *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* e *P. aeruginosa* frente aos Hidrogéis de Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP.

Figura 30- Teste de difusão em ágar, em poço, frente as Bactérias Gram-positivas. *S. áureus* *S. Epidermidis*

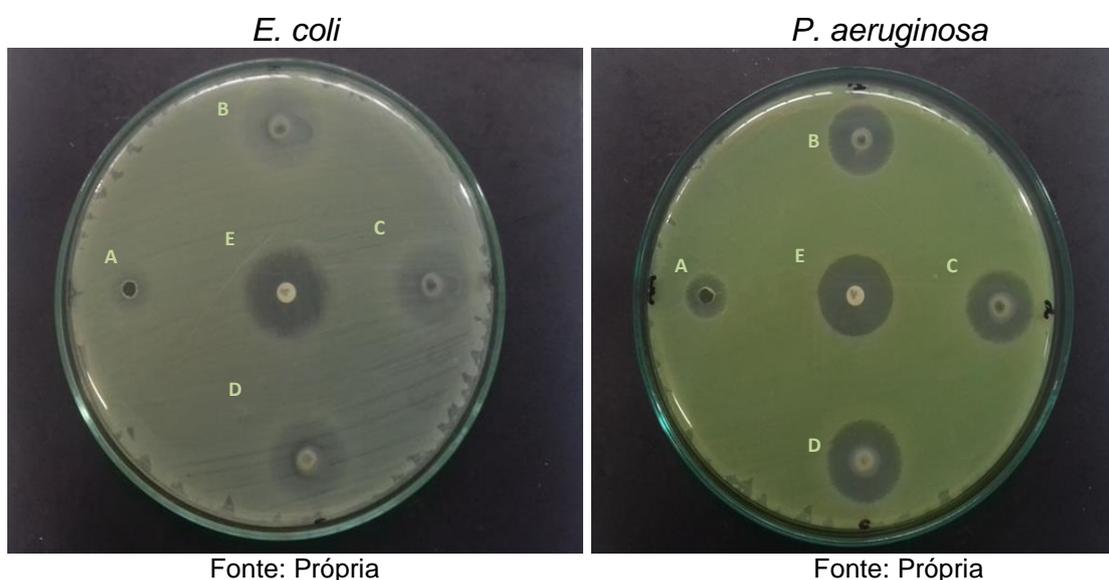


Fonte: Própria

Legenda:

Bactérias	Controles e halos (mm)		Hidrogéis e halos (mm)		
	Gentamicina (E)	Ácido acético (A)	Qui (B)	Qui/ZnO (C)	Qui/ZnO/OEP (D)
<i>S. aureus</i>	28	-	22	22	24
<i>S. epidermidis</i>	27	-	19	18	17

Figura 31- Teste de difusão em ágar, em poço, frente as Bactérias Gram-negativas.



Fonte: Própria

Fonte: Própria

Legenda:

Bactérias	Controles e halos (mm)		Hidrogéis e halos (mm)		
	Gentamicina (E)	Ácido acético (A)	Qui (B)	Qui/ZnO (C)	Qui/ZnO/OEP (D)
<i>E. coli</i>	21	-	12	14	14
<i>P. aeruginosa</i>	25	-	23	22	24

6.7.2 Método de diluição em microplacas para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Foi avaliada a atividade bactericida (CBM) e bacteriostática (CIM) dos hidrogéis de Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP em diversas concentrações, diante de *S. aureus*, *S. Epidermidis*, *E. coli* e *P. Aeruginosa*.

Vale enfatizar que, uma substância é considerada como bactericida no momento em que promove a morte de bactérias, em quantidade aproximada de 99,99%, por meio da ação como bloqueio da reprodução do DNA. Já, substância qualificada como bacteriostática é aquela que impede o crescimento das

bactérias, sendo imprescindível ação externa para a completa eliminação das mesmas (GUIMARAES; MOMESSO; PUPO, 2010).

Os valores de CIM e CBM, em $\mu\text{g mL}^{-1}$, referente a atividade dos hidrogéis de Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP frente a *S. aureus*, *S. Epidermidis*, *E. coli* e *P. aeruginosa* são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7- Concentração Mínima Inibitória (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos hidrogéis de Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP frente a *S.aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* e *P. aeruginosa*

Hidrogéis ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Bactérias							
	<i>S. aureus</i>		<i>S. epidermidis</i>		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
Qui	0,23	0,23	0,23	0,23	0,46	-	0,46	-
Qui/ZnO	0,23	0,23	0,23	0,23	0,46	-	0,23	-
Qui/ZnO/OEP	0,23	0,23	0,23	0,23	0,46	-	0,23	-

Fonte: Própria

Os resultados expostos na Tabela 7 mostraram que o hidrogel de Qui atuou, decisivamente, na redução da proliferação de bactérias Gram-positivas, *S. aureus* e *S. epidermidis*, apresentando o mesmo valor de $0,23 \mu\text{g/mL}^{-1}$ para o CIM e CBM. Diante destes resultados, pode-se afirmar que a ação foi bacteriostática e bactericida. Contudo, observou-se um comportamento diferente quando este hidrogel foi testado contra bactérias Gram-negativas, *E. coli* e *P. aeruginosa*. Para estes micro-organismos, o hidrogel efetivou uma redução no crescimento das cepas bacteriana com um CIM de $0,46 \mu\text{g/mL}^{-1}$. Mas, exibiu somente CIM ou seja, atividade bacteriostática.

Vale destacar que, em consequência da característica da composição química da parede celular, as bactérias Gram negativas são mais resistentes à atuação de antimicrobianos, desde que não sejam apropriados para atravessar de modo efetivo a camada externa lipoprotéica. Para ingressar na célula bacteriana, os antimicrobianos devem atravessar a parede celular por meio de

canais proteicos de porina, existentes na estrutura lipídica, que exibem o interior com propriedades hidrofílicas. Portanto, antimicrobianos com máxima ação diante das bactérias Gram negativas são aqueles que possuem grupos ionizáveis em suas estruturas químicas, tal como a quitosana (GUIMARAES; MOMESSO; PUPO, 2010)

Quando comparadas as CIMs dos hidrogéis do presente estudo, de $0,23 \mu\text{g/mL}^{-1}$, frente a *S. aureus* com a CIM do estudo de Assainar e Nair (2014), que também foi contra *S. aureus*, com resultado de $100 \mu\text{g/mL}^{-1}$. Pode-se afirmar que os hidrogéis de Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP, desta pesquisa, demonstraram ação antibacteriana mais promissora. Isto porque, a inibição na formação de colônias de *S. aureus* foi possível em uma menor concentração dos hidrogéis.

Por sua vez, a concentração de $0,23 \mu\text{g/mL}^{-1}$ do hidrogel de Qui/ZnO frente às bactérias *S. aureus* e *S. epidermidis* foi a mesma tanto para impedir o crescimento do microrganismo, quanto para restringir a contagem bacteriana em 99,9%. Ou seja, agiu simultaneamente, como bacteriostático e bactericida.

Continuando a análise da Tabela 7, é possível averiguar, também, que todos os hidrogéis testados frente a *E. coli* mostraram um CIM de $0,46 \mu\text{g/mL}^{-1}$, e não apresentou CBM. Isso revelou que a ação antibacteriana dos hidrogéis, Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP, frente a este micro-organismo foi, unicamente, bacteriostática.

Os dados dessa investigação revelaram uma CIM de $0,23 \mu\text{g/mL}^{-1}$ para os hidrogéis Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP diante da bactéria *P. aeruginosa*, enquanto que, San Tin et al (2009) identificaram em seus estudos que, a quitosana, também, também inibiu a crescimento da *P. aeruginosa*, mas, apresentou CIM de $32 \mu\text{g/mL}^{-1}$. Portanto, pode-se afirmar que, nesse estudo, os hidrogéis apresentaram atividade antibacteriana mais significativa quando confrontados ao estudo acima referido.

Os dados dessa pesquisa são corroborados por Marangon (2015) onde o gel quitosana/gelatina frente a *P. aeruginosa* não apresentou atividade bactericida (CBM) para as concentrações testadas, possuindo, unicamente, efeito bacteriostático (CIM).

Os resultados do presente estudo, referente ao hidrogel de Qui e Qui/ZnO, corroboram os resultados expostos por Neves (2013), os quais exibiram ação inibitória contra as bactérias *S. aureus* e *E. coli*. Salvi Junior (2013) refere que

os resultados de produtos naturais com um CIM abaixo de 1000 g/mL^{-1} são avaliados como significativos e os que são originários de vegetais com um CIM inferior a 100 g/mL^{-1} são considerados promissores antimicrobianos.

Diversas hipóteses foram propostas para explicar o mecanismo de ação antimicrobiana da quitosana. Uma das hipóteses com maior aceitação consiste no mecanismo da interação iônica, onde forças eletrostáticas entre a molécula de quitosana carregada positivamente (NH^{+3}) e resíduos negativos na superfície celular, possivelmente concorrendo por Ca^{2+} por pontos eletronegativos na superfície da membrana celular. Esse fato gera distúrbio no balanço osmótico e/ou hidrolisa peptidoglicanos na membrana do microrganismo, decorrendo no detrimento de íons de potássio e constituintes protéicos de baixa massa molecular (KULIKOV et al., 2014; ISLAM, MASUM, MAHBUB, 2011; TAYEL et al., 2010; GOY, 2009).

O modo de atuação da quitosana diante das bactérias diferencia-se entre as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Na existência de quitosana a membrana das Gram-positivas é fracionada, ao mesmo tempo que nas Gram-negativas o citoplasma se aglutina e o espaço intracelular é expandido resultando na morte bacteriana (RIBEIRO, 2015; PAIVA; NETO; BATISTA, 2014; OSTROSKY et al., 2008).

Esta diferença na sensibilidade entre as bactérias Gram-negativas e Gram-positivas resulta da desigualdade na composição morfológica destas bactérias. Os micro-organismos Gram-negativos apresentam parede celular constituída por peptidoglicano, lipoproteínas, membrana externa e lipopolissacarídeos. A existência de uma membrana externa torna difícil a passagem de antimicrobianos para o citoplasma da célula, deixando-os menos eficazes. Enquanto que, as bactérias Gram-positivas possuem parede celular quimicamente menos complexa, menor quantidade de lipídeos e inexistência de membrana celular externa, tende a facilitar a passagens de substâncias com função biocidas ou biostáticas (GUIMARAES; MOMESSO; PUPO, 2010).

Como possibilidade para intensificar a intervenção de antimicrobianos naturais, a aplicação combinada de quitosana com outros compostos ou substâncias, aparecem como proposta promissora.

Nesta pesquisa, o óleo essencial de Pimenta rosa foi incorporado ao hidrogel de Qui/ZnO. Os óleos essenciais adicionados aos polímeros deslocam-

se de modo prolongado e contínuo, por difusão ou separação, para a superfície do produto, de maneira que a ação antimicrobiana de seus agentes bactericidas ou bacteriostáticos acontecem com efeito superior no local em que se faz imprescindível (DAMASCENO, 2016). Entretanto, nesta investigação a adição do OEP no hidrogel Qui/ZnO não resultou em incremento da ação antimicrobiana dos hidrogéis, Qui e Qui/ZnO, haja vista que a CIM e CBM mantiveram-se sem alteração. Acredita-se que isso tenha sido consequência da pequena quantidade de OEP utilizada.

6.8 ENSAIO DE CITOXICIDADE

Experimentos *in vitro* são empregados como triagem preliminar e para a investigação da biocompatibilidade do material. A avaliação de citotoxicidade analisa o resultado tóxico do material ao nível da célula, tendo como exemplo modificações na permeabilidade da membrana, prejuízo na produção de enzimas e até mesmo destruição celular. A citotoxicidade constitui a propriedade prejudicial de uma substância sobre as células, ou seja, a incompatibilidade do material analisado, resultando ou não em morte celular (FERREIRA, 2014).

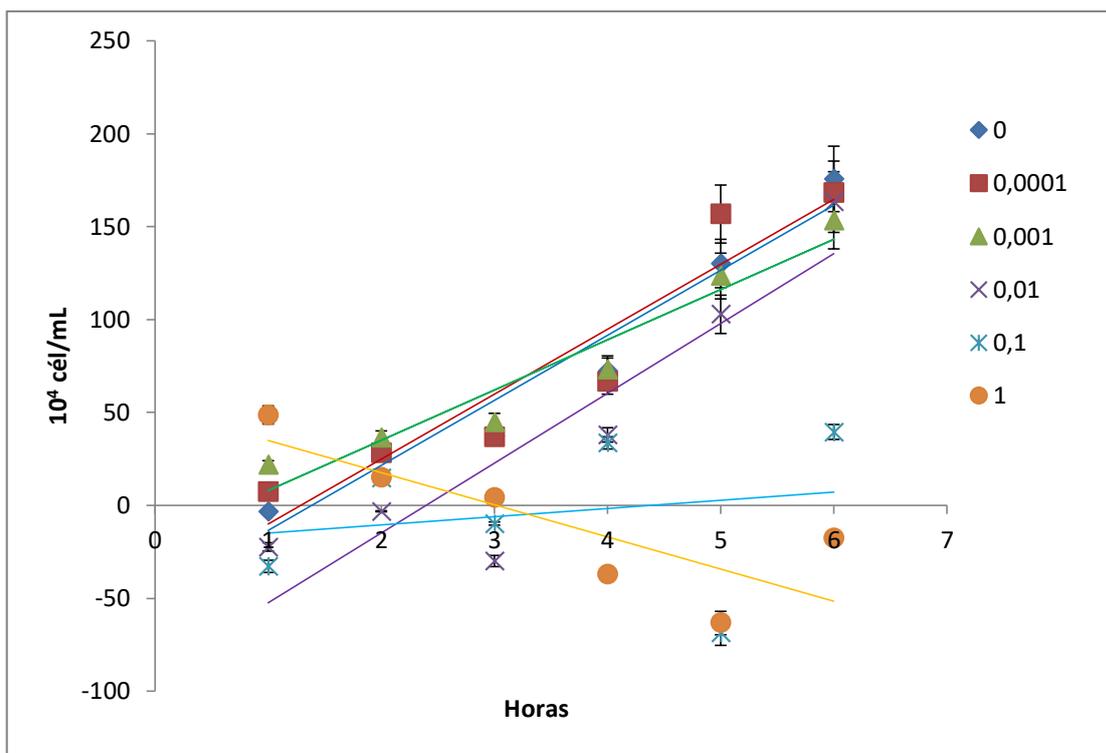
Nesse estudo, o experimento de citotoxicidade *in vitro* foi empregado como uma análise preliminar do percentual de sobrevivência das leveduras de *S. cerevisiae* depois do tratamento com o hidrogel Qui/ZnO/OEP em diversas concentrações com o propósito de identificar ação citotóxica deste hidrogel. A viabilidade celular foi verificada usando o método de exclusão por Azul Trypan.

O hidrogel dessa pesquisa foi constituído por quitosana, óxido de zinco e óleo essencial de Pimenta rosa.

O presente ensaio de Citotoxicidade do hidrogel de Qui/ZnO/OEP foi avaliado a partir de experimento de viabilidade celular. Foram analisados dados sobre o crescimento da levedura de *Sacharomices* em meio contendo diferentes concentrações do hidrogel Qui/ZnO/OEP.

Na Figura 32 está representado o Gráfico do Crescimento da levedura *S. cerevisiae* sob diferentes concentrações do Hidrogel Qui/ZnO/OEP.

Figura 32- Gráfico do Crescimento da levedura *S. cerevisiae* sob diferentes concentrações do Hidrogel Qui/ZnO/OEP



Fonte: Própria

Fundamentado nas informações da Figura 32 constatou-se que o efeito deste hidrogel, Qui/ZnO/OEP, sobre o crescimento de *S. cerevisiae* em concentrações menores foi compatível com o crescimento observado para o grupo controle, mas, apresentou efeito inibitório no crescimento de *S. cerevisiae* em concentrações acima de 0,01 até 1 mg/mL, para um valor de $p < 0,05$. Sugerindo um efeito nocivo sobre os mecanismos metabólicos associados aos processos de reprodução de *S. cerevisiae*.

Também é mostrado na Tabela 8 os parâmetros de regressão para uma função do tipo $y = a.x + b$.

Tabela 8- Parâmetros de regressão para uma função do tipo $y = a.x+b$

Concentração (mg/mL)	a	b	r ²
C	34,965	-48,295	0,948
0,0001	34,887	-44,77	0,8992
0,001	27,05	-19,17	0,9346
0,01	37,566	-90,047	0,8284
0,1	4,4278	-19,383	0,0395
1	-17,332	52,307	0,6677

Obs.: C – controle

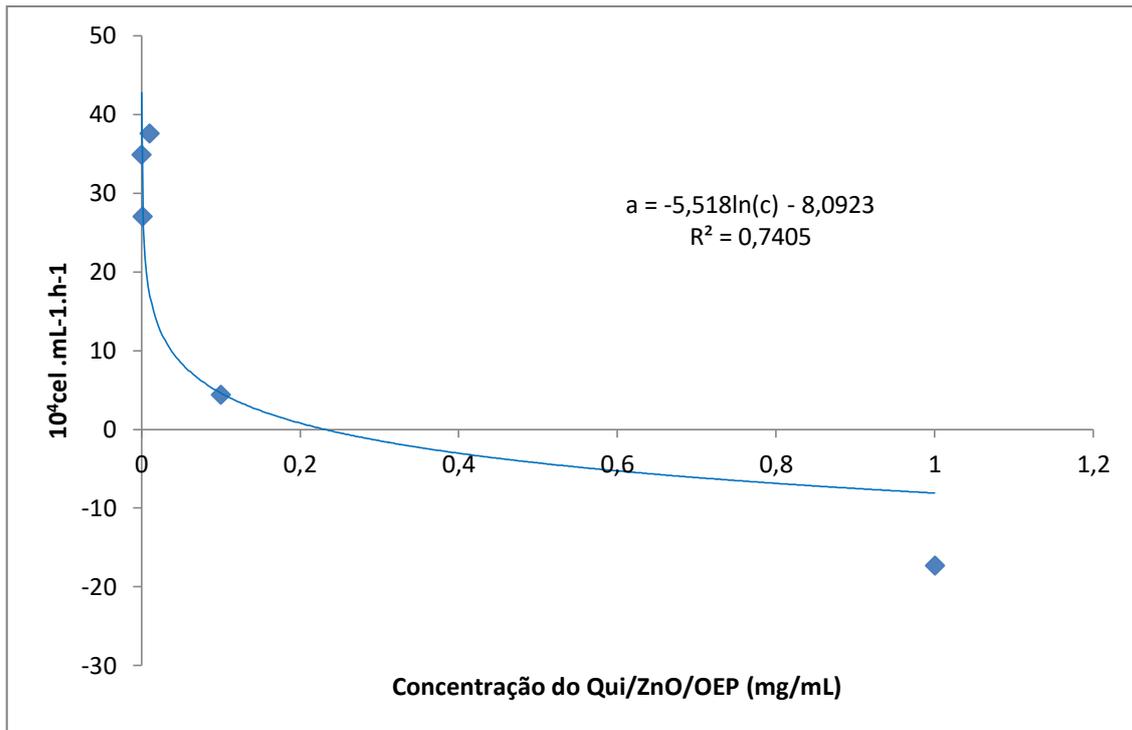
Fonte: Própria

Conforme pode-se analisar, através da Tabela 8, a taxa de crescimento celular de *S. cerevisiae* foi significativamente afetada em concentrações acima de 0,01 até 1 mg/mL. A partir destes resultados, pode-se concluir que, houve efeito citotóxico.

No estudo realizado por Freddo et al. (2014), foi avaliado o efeito tóxico (fungistático) de diferentes concentrações de quitosana (0; 0,25; 0,5; 1 e 2%) no crescimento do fungo *R. solani in vitro*. Os resultados alcançados evidenciaram diminuição do crescimento de *R. solani* de acordo com o aumento da concentração. Esse estudo, apesar de não ter utilizado levedura *S. cerevisiae*, mas com fungo *R. solani*, corrobora com a presente pesquisa quanto ao efeito tóxico da quitosana conforme o aumento da concentração.

A Figura 33 expõe o Gráfico de viabilidade celular (%) de *S. cerevisiae* em distintas concentrações do Hidrogel Qui/ZnO/OEP.

Figura 33- Gráfico de viabilidade celular (%) da levedura *S. cerevisiae* em distintas concentrações do Hidrogel Qui/ZnO/OEP.

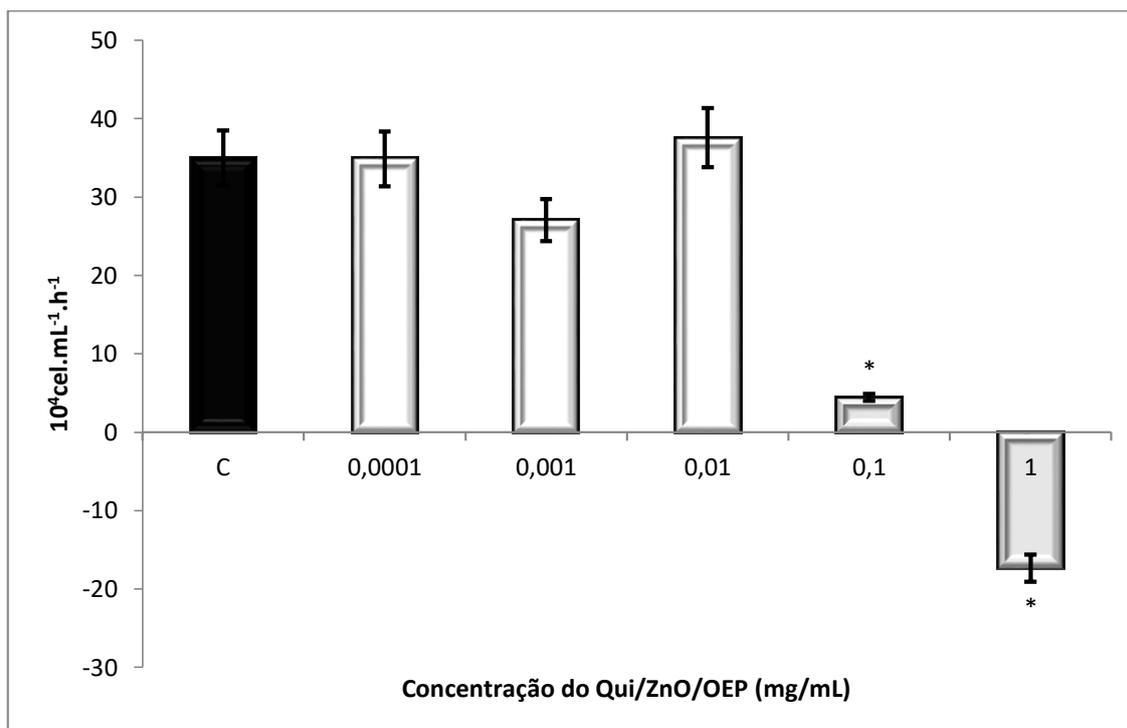


Fonte: Própria.

Através da Figura 33 é possível verificar que o coeficiente de variação angular “a” da função (taxa de morte celular das células de levedura) variou em função da concentração do hidrogel Qui/ZnO/OEP segundo uma função do tipo logarítmica, indicando que quanto maior a concentração, menor é a taxa de crescimento celular e com isso, sinalizando uma possível relação do tipo concentração dependente.

A Figura 34 expõe outra forma para a relação entre concentrações do hidrogel Qui/ZnO/OEP e taxa de morte celular da levedura, como também o índice referente à determinação das UFC/mL para a condição de controle (levedura cultivada na ausência de hidrogel).

Figura 34- Gráfico da relação entre concentrações do hidrogel Qui/ZnO/OEP e taxa de morte celular da levedura *S. cerevisiae*



Fonte: Própria

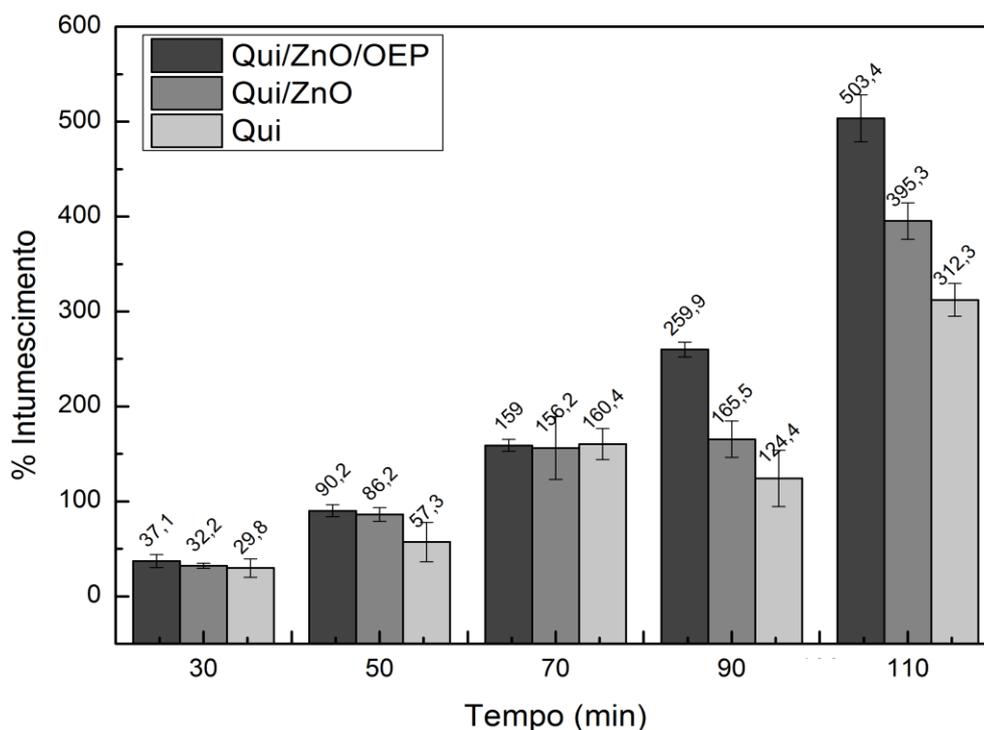
A partir dos resultados obtidos e exibidos na Figura 34 pode-se concluir que é possível estabelecer uma relação estatística, apontando que com concentrações maiores do que 0,01 mg/mL a taxa de crescimento celular é reduzida em relação ao grupo controle de forma significativa para um valor de $p < 0,05$.

Esse estudo de citotoxicidade do hidrogel Qui/ZnO/OEP foi uma relevante e adequada avaliação desse material, quanto aos aspectos biológicos relacionados à biocompatibilidade e conseqüentemente, a segurança do usuário de saúde que futuramente virá a utilizá-lo.

5.9 INTUMESCIMENTO DOS HIDROGÉIS DE QUI, QUI/ZnO e QUI/ZNO/OEP.

A Figura 35 expõe o perfil geral do intumescimento dos hidrogéis de Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP analisados, em função do tempo.

Figura 35- Grau de Intumescimento dos hidrogéis de Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP



Fonte: Própria

Considerando a Figura 35 percebe-se que o percentual de intumescimento dos hidrogéis Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP aumentou com o acréscimo do tempo de exposição à água, exceto o hidrogel de Qui no intervalo de 90 minutos. O incremento no índice de intumescimento pode ser justificado pelo aumento da hidrofiliicidade do conjunto de elementos interligados da quitosana, uma vez que a difusão de água é definida pela microestrutura do material e a compatibilidade dos constituintes poliméricos pela água. Este acréscimo da hidrofiliicidade pode ser justificado por uma maior exposição do hidrogel à água, um número superior de grupos funcionais ficou mais expostos, e/ou uma maior quantidade de grupos funcionais puderam ser incorporados nos hidrogéis (OLIVEIRA et al., 2012).

O tempo de exposição à água demonstrou ser um parâmetro extremamente pertinente para o intumescimento de hidrogéis. Hidrogéis hidrofílicos possuem grupos polares que ionizam em água e contém uma extensão um tanto elevada de regiões amorfas, que acrescenta o acesso à água. Esta particularidade é de relevância efetiva, pois a aptidão de intumescer deriva

da presença de grupos polares ou, além disso, da inexistência de entrada de grupos polares em consequência da alta cristalinidade e/ou orientação (ALMEIDA et al., 2013).

Segundo Assis (2010), os processos de intumescimento em polímeros são condicionados à difusão do penetrante e da estabilidade polimérica, que ocorrem em três fases: a princípio, a adsorção do penetrante sobre a superfície; seguida da saturação e dispersão das moléculas para a rede polimérica e associação com os grupos polares intermoleculares. Essa agregação induz à solvatação dos grupos iônicos diminuindo as ligações de hidrogênio, o que origina um alargamento intercadeias; o distanciamento das cadeias gera espaços na rede polimérica que beneficiam a imediata infiltração de água e outras moléculas movimentadas por forças polares agregadas ao processo de capilaridade.

A análise do desempenho dos hidrogéis de quitosana aditivados com óxido de zinco e óleo essencial de pimenta rosa demonstrou que a característica inata do aditivo intensificou o processo de intumescimento. Dentre os três hidrogéis estudados (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP), o hidrogel de Qui/ZnO/OEP foi o que apresentou um maior índice de intumescimento, em todos os intervalos de tempo analisados. Isso, provavelmente, resultou do efeito sinérgico da funcionalidade da quitosana devido aos grupos $-OH$ e NH^2 que podem levar a maior adsorção e/ou interação com a partícula de ZnO e, portanto, mais hidrofiliabilidade (MUNNAWAR et al, 2017). Como também, ação do OEP que atuou como uma provável plastificante, diminuindo a rigidez da estrutura polimérica do hidrogel enfraquecendo e/ou impedindo ligações do tipo Van der Waals, pontes de hidrogênio, ligações covalentes, e assim distanciando as cadeias poliméricas que acrescentou o caráter hidrofílico do hidrogel Qui/ZnO/OEP (OLIVEIRA, 2013).

Os dados de intumescimento dos hidrogéis (Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP) contidos neste estudo são de grande valia para a área biomédica, no que tange à futura aplicabilidade destes hidrogéis como curativo em infecções cutâneas.

7 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Tendo em vista os resultados evidenciados, pode-se obter como principais conclusões: o óleo essencial de Pimenta rosa apresentou 5 compostos, sendo o α -pineno o componente majoritário com 48,00%; através da PCA dos espectros de FTIR dos hidrogéis percebeu-se a formação de três agrupamentos Logo, a introdução dos aditivos, ZnO e OEP, na matriz polimérica de quitosana interferiram no modo vibracional da quitosana.

Pela análise de TGA, foi identificado que os hidrogéis apresentaram características semelhantes referente à perda de massa e número de estágio de degradação; através do DSC foi possível perceber que o hidrogel de Qui apresentou um evento endotérmico e o outro exotérmico. Entretanto, os hidrogéis Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP exibiram, dentro da faixa de temperatura estudada, apenas uma curva endotérmica. Infere-se que isso seja consequência da estabilidade térmica resultante da adição de ZnO nestes hidrogéis.

O óleo essencial de Pimenta rosa modificou as características reológicas do hidrogel de quitosana, facilitando o deslocamento das macromoléculas de quitosana no sistema.

Os hidrogéis, Qui, Qui/ZnO e Qui/ZnO/OEP, frente às bactérias Gram-positivas, *S. aureus* e *S. epidermidis*, apresentou atividade bacteriostática e bactericida. Entretanto, frente às bactérias Gram-negativas, *E. coli* e *P. aeruginosa*, exibiram somente atividade bacteriostática. Os resultados *in vitro* aqui divulgados recomendam o emprego potencial destes hidrogéis como uma opção alternativa aos antimicrobianos frente a *S. aureus* e *S. epidermidis*.

Os resultados do teste de citotoxicidade do hidrogel Qui/ZnO/OEP evidenciaram efeito inibitório no crescimento de *S. cerevisiae* em concentrações acima de 0,01 até 1 mg/mL, portanto, ação citotóxica do tipo dose dependente.

O hidrogel de Qui/ZnO/OEP exibiu intumescimento superior, em torno de 1,6 vezes ao hidrogel de quitosana. Acredita-se que este comportamento de intumescimento resultou do efeito sinérgico dos elementos Qui, ZnO e OEP, ocasionando maior capacidade hidrofílica a esse hidrogel.

A valorização da aplicabilidade desse novo material, que apresentou elevada hidrofiliabilidade dos hidrogéis sintetizados e propriedades atrativas torna esse produto, excepcionalmente promissores para serem utilizados em diversas

áreas, tais como a área biomédica, agricultura e tratamento de água. Especialmente, na área biomédica, por desempenhar papéis duplos como absorvente e antibacteriano sugestionando seu emprego viável como curativo.

É conhecimento coletivo que avanços científicos e inovações técnicas são indispensáveis para acrescentar os padrões de eficiência e melhoria no planeta terra, permitindo um crescimento sustentável. Esta é uma conquista coerente, pois entre os diversos benefícios pode-se ferir o acréscimo da probabilidade de utilização de materiais naturais, tais como quitosana e óleo essencial de Pimenta rosa, em dispositivos como curativos, podendo levar à diminuição de despesa de custeamento de alguns itens dos usuários de sistemas de saúde.

Diante da natureza do trabalho efetuado no contexto desta tese, as perspectivas de incremento que se exibem são diversas, incluindo-se como destaque: avaliar a atividade antimicrobiana *in vivo* do hidrogel Qui/ZnO/OEP frente as linhagens de *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* e *P. aeruginosa*; investigar a ação do hidrogel Qui/ZnO/OEP sobre o processo cicatricial visando a sua futura aplicação como curativo em infecções cutâneas.

REFERÊNCIAS

- AFFONSO, C.R.G. **Avaliação toxicológica do óleo essencial dos frutos da aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius Raddi*) e do impacto sobre a performance reprodutiva e desenvolvimento da prole em ratos.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2009.
- ALEXAKIS, T. et al. Microencapsulation of DNA within alginate microspheres and crosslinked chitosan membranes for in vivo application. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.50, p. 93 - 106, 1995.
- ALIGIANNIS, N. et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two origanum species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 9, p. 4168- 4170, 2001.
- ALMEIDA, D. M. et al. Propriedades físicas, químicas e de barreira em filme formado por blenda de celulose bacteriana e fécula de batata. **Polímeros**, São Carlos, v. 23, n. 4, p. 538-546, 2013.
- ALMEIDA, J. F. da S. L. **Preparação e Caracterização de Hidrogéis para aplicações Biométricas.** 2010. Tese (Doutorado), Universidade de Coimbra. Coimbra.
- ALEMDAROGLU, C. et al. An investigation on burn wound healing in rats with chitosan gel formulation containing epidermal growth factor. **Burns**, Oxford, v.32, n.3, p.319-327, 2006.
- ALSARRA, I. A. Chitosan topical gel formulation in the management of burn wounds. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v.5, n.1, p. 16-21, Jul. 2009.
- AOUADA, F. A. et al. Correlação entre parâmetros da cinética de intumescimento com características estruturais e hidrofílicas de hidrogéis de poliacrilamida e metilcelulose. **Quim. Nova**, v. 32, n. 6, p:1482-1490, 2009.
- AQUINO, L.R.C. de. **Preparação e caracterização de cimentos à base de hidroxiapatita e galactomanana.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, Maranhão, 2015.
- ARAÚJO, I. S. **Atividade antimicrobiana de plantas aromáticas que ocorrem no Estado do Pará.** Dissertação. (Mestrado) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, 2011.
- ASSAINAR, S. K.; NAIR, S. P. Action of Chitosan and its derivatives on clinical pathogens. **Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.**, v. 3, n.10, p. 748-759, 2014.
- ASSIS, O. B. G. Alteração do caráter hidrofílico de filmes de quitosana por tratamento de plasma de HMDS. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 33, n.3, p. 603-606, 2010.

AVELAR-FREITAS, BA et al. Ensaio de exclusão de azul tripano por citometria de fluxo. **Braz J Med Biol Res**, Ribeirão Preto, v. 47, n. 4, p. 307-315, abril de 2014.

AZEVEDO, V. V. C., et al., Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.23, p.27 – 34, 2007.

BAJPAI, A.K; LIKHITKAR, S. Investigation of magnetically enhanced swelling behaviour of superparamagnetic starch nanoparticles. **Bull Mater Sci**, v.36, n.1, p.15-24, 2013.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.

BARBOZA, S. S. **Bioatividade do gel de quitosana associado com óleo essencial de *Cymbopogon martini*: antimicrobiano e citotoxicidade**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

BATISTA, A.C.L., et al., Antimicrobial Effects of Native Chitosan against Opportunistic Gram-negative Bacteria. **Microbiology Journal**, v.1, p.105-112, 2011.

BENDAOU, H. et al. Chemical Composition and Anticancer and Antioxidant Activities of *Schinus Molle L.* and *Shinus Terebinthifolius Raddi* Berries Essential Oils. **Journal of Food Science**, v.75, n.6, p.C466-72, 2010.

BERGER, J. et al. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, p.19-34, 2004.

BERNARDES, N. A. ***Schinus terebinthifolius Raddi*: Atividade Antioxidante e Potencial Biológico**. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2014.

BERTOLDI, M. C. **Atividade antioxidante in vitro da fração fenólica, das oleorresinas e do óleo essencial de pimenta rosa**. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2006.

BISPO, V. M. **“Estudo do Efeito da Reticulação por Genipin em suportes biocompatíveis de Quitosana-PVA”**. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

BITTENCOURT-JUNIOR, F. F. et al. Estudo da atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico da *Ilex Paraguariensis*. **Interbio**, v.6, n.2, 2012.

BORTOLIN, A. **Desenvolvimento de nanocompósitos baseados em hidrogéis aplicados á liberação de nutrientes agrícolas**. 2014. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de São Carlos. São Carlos.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Boas Práticas Agrícolas (BPA) de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Ed. preliminar Marianne Christina Scheffer, Cirino Corrêa Júnior; Coordenação, Maria Consolacion Udry, Nivaldo Estrela Marques e Rosa Maria Peres Kornijezuk. Brasília: MAPA/SDC, 2006. 48 p.

BRETAS, R.E. S; D'ÁVILA, M.A. **Reologia de Polímeros Fundidos**. 2ed. São Carlos: EDUFSCar, 2010. 257p.

BRITO, C. W. de Q. et al. Síntese e caracterização de hidrogéis compósitos a partir de copolímeros acrilamida Acrilato e caulim: efeito da constituição de diferentes caulins do nordeste brasileiro. **Quim. Nova**, v. 36, n. 1, p:40-45, 2013.

BRODKEY, R. S. **The phenomena of fluid motions**. Dover publications, Inc. New York, 1967.

BULLA, M.K et al. Evaluation of Photoprotective Potential and Percutaneous Penetration by Photoacoustic Spectroscopy of the *Schinus terebinthifolius* Raddi Extract. **Photochemistry and Photobiology**, v.91, n.3, p. 558-566, 2015.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 223–253, 2004.

BUSATO, N. V. et al. Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.9, p.1574-1582, set, 2014.

CARMO, E. S.; LIMA, E.O.; SOUZA, E. L. The potential of *origanum vulgare* L. (lamiaceae) essential oil in inhibiting the growth of some food-related *aspergillus* species. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 362-367, 2008.

CASSU, S.N; FELISBERTI, M.I. Comportamento dinâmico-mecânico e relaxações em polímeros e blendas poliméricas. **Química nova**, v.28, n.2, p. 255-263, 2005.

CLEMENTE, A.D. **Composição química e atividade biológica do óleo essencial da pimenta-rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi)**. 2006. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals**. Norma aprovada 3ª ed. Wayne, PA, CLSI document M31-A3, 2008.

_____. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test**; Approved Standard-Tenth Edition. Wayne, CLSI document M02-A10, 2009a.

_____. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard- Eighth Edition. Wayne, CLSI document M07-A8, 2009b.

_____. **Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing.** Twentieth informational supplement: M100-S20 e M100-S20-U. Wayne (PA): CLSI, 2010.

CORAZZARI, I. et al., Advanced physic-chemical characterization of chitosan by means of TGA coupled on-line with FTIR and GCMS: Thermal degradation and water adsorption capacity. **Polymer Degradation and Stability**, v.112, p.1-9, 2015.

COSTA, E. M. et al., Chitosan mouthwash: Toxicity and in vivo validation. **Carbohydrate Polymers**, v.111, p.385–392, 2014.

COSTA, R.A.S da. **Síntese e Teste de Hidrogéis Inteligentes para a Liberação Controlada de Fármacos.** Dissertação (Mestrado), Instituto Politécnico de Bragança. Bragança. 2013.

CUSHNIE, T. P.; LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 26, p. 343–356, 2005.

COSTA JUNIOR, E. DE S. “Desenvolvimento de matriz de Quitosana/PVA, quimicamente reticulada para aplicação potencial em engenharia de tecido epitelial”. **Tese** (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

CREMONEZ, C. P.; BENTLEY, M. V. L. B.; LARA, M. G. Caracterização do intumescimento de sistemas líquido-cristalinos de fase lamelar de monoleína e água contendo polihexametilenobiguanida. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v.34, n.4, p:545-553, 2013.

DAMASCENO, G. A. **Efeito de revestimentos bioativos à base de quitosana sobre a vida útil e segurança da cavala (*Scomberomorus cavalla*) refrigerada.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

DE BONA, E. A. M. et al. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.81, n.3, p. 218-225, 2014.

DENKBAS E. B. et al. Magnetic chitosan microspheres: preparation and characterizations. **Reactive e Functional Polymers**, v.50, n.3, p. 225, 2002.

DOURADO, M. T. **Óleos essenciais e oleoresina da pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi):** propriedades químicas e biológicas. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.

ELSAKA, S. E.; ELNAGHY, A. M. Antibacterial activity of calcium hydroxide combined with chitosan solutions and the outcomes on the bond strength of

RealSealer sealer to radicular dentin. **Journal of Biomedical Research**, v.26, p.193-9, 2012.

FERREIRA et al. Chitosan hydrogelin combination with nerolidol for healing wounds. **Carbohydrate polymer**, v.152, n.5, p.409-418, 2016.

FERREIRA, I. R. S. **Avaliação da citotoxicidade de fitoquímicos em células V79 e inibição do crescimento celular em células leucêmicas humanas**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Limeira, 2014.

FLORY, P. J. **Em Principles of Polymer Chemistry**; Ithaca; Cornell University Press: New York, 1953.

FRAGA, C. A. et al. Matrizes hidrofílicas de quitosana/captopril: desenvolvimento e Caracterização físico-química. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v.31, n.3, p.175-181, 2010.

FRÁGUAS, R. M. et al. Caracterização química e efeito cicatrizante de quitosana, com baixos valores de massa molar e grau de acetilação, em lesões cutâneas. **Polímeros**, São Carlos, v. 25, n. 2, p. 205-211, Mar/Apr. 2015.

FREDDO, Álvaro Rodrigo et al., A quitosana fungicidal não crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* Kuhn. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 1, p. 1-4, Jan./2014.

FREIRE et al., Atividade antifúngica de fitoterápicos sobre espécies de *Candida*: uma revisão de literatura. **Arch Health Invest**, v. 5, n. 6, p. 307-310, 2016.

FRESHNEY, R.I. **Culture of Animal Cells: a manual of Basic Technique and Specialized Applications**. 6 ed. United States of America: John Wiley e Sons, Inc; 2010.

GALUCIO, N. C. da R. **Estudo de citotoxicidade e genotoxicidade de *Eleutherine plicata* herb.** Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2014.

GANJI, S. S. et al., Application of AFF and HPM to the systems of Strongly Nonlinear Oscillation. **Current Applied Physics**, v.10, n.5, p.1317-1325, 2010.

GEHRKE, S. H. Synthesis and Properties of Hydrogels used for Drug Delivery. **Fundamental Aspects of Polymers in Pharmaceutics**. Marcel Dekker, New York, 2000.

GIL, M.H; FERREIRA, P. Polissacarídeos como Biomateriais. **Química**, v.100, p.72-73, 2006.

GOBBO-NETO, L.; LOPES N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v.30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOY, R.C; BRITTO, D; ASSIS O.B.G. A review of the antimicrobial activity of chitosan. **Polímeros**, São Carlos, v.3, p.1-7, 2009.

GUPTA, V.N.; SHIVAKUMAR, H.G. Investigação do comportamento de intumescimento e propriedades mecânicas de um compósito de hidrogel superporoso sensível ao pH. **J Pharma Res.**, v. 11, n. 2, p: 481-493, 2012.

GUERRA, M. J. M. et al., Actividad Antimicrobiana de um Extracto Fluido al 80% de *Shinus Terebinthifolius* Raddi (COPAL). **Rev Cub Plant Med.**, v.5, p. 23-5, 2000.

GUIMARAES, D. O.; MOMESSO, L. da S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

GUTIERREZ, L. et al., Effect of Mixed Antimicrobial Agents and Flavors in Active Packaging Films. **J. Agric. Food Chem**, v. 57, p. 8564–8571, 2009.

HAN, N. et al., Bayesian robust principal component analysis with structured sparse component. **Computational Statistics and Data Analysis**, v.109, p.144-158, 2017.

HOFFMAN, A. S. Hydrogels for biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.64, p.18-23, 2012.

HOLAPPA, J. et al., Antimicrobial activity of chitosan N-betainates. **Carbohydrate Polymers**, v.65, p.114–118, 2006.

HOWLING, G. I et al. The effect of chitin and chitosan on the proliferation of human skin fibroblasts and Keratinocytes in vitro. **Biomaterials**, Surry, v.22, n.22, p.2959-2966, 2001.

HUANG, Chi-Wei; LI, Shang-Wei; LIAO, V. Hsiu-Chuan. Chronic ZnO-NPs exposure at environmentally relevant concentrations results in metabolic and locomotive toxicities in *Caenorhabditis elegans*. **Environmental Pollution**, v.220, p.1456-1464, 2017.

IMMICH, A. P. S. **Reticulação de compostos poliméricos para recobrimento de superfícies**. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

ISLAM, M.D. M.; MASUM, S. M.D; MAHBUB, K. R. In vitro antibacterial activity of shrimp chitosan against salmonella paratyphi and staphylococcus aureus. **Journal of Bangladesh Chemical Society**, v. 24, n.2, p.185-190, 2011.

ISO 10993-5. **Biological evaluation of medical devices**. Part 5: Tests for cytotoxicity: in vitro methods, 1999.

IZÁK, P. et al. Swelling of polymeric membranes in room temperature ionic liquids. **Journal of Membrane Science**, v.296, p:131-138, 2007.

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. **Current Medicinal Chemistry**, v.10, n.10, p. 813-829, 2003.

KANATT, S. R.; CHANDER, R.; SHARMA, A. Chitosan glucose complex e a novel food preservative. **Food Chemistry**, v.106, p. 521-528, 2008.

KEAN, T.; THANOU, M. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n.1, p. 3-11, 2010.

KIM, K.W. et al. Antimicrobial activity against foodborne pathogens of chitosan biopolymer films of different molecular weights. **LWT - Food Science and Technology**, v.44, p.565-569, 2011.

KIRSCHNER, C.M.; ANSETH, K.S. **Acta Materialia**, v. 61, n.3, p: 931–944, 2013.

KULIKOV, S. N. et al. Antifungal activity of oligochitosans (short chain chitosans) against *Candida* species and clinical isolates of *Candida albicans*: Molecular weight-activity relationship. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v.74, p. 169 – 178, 2014.

KUMAR, M. N. V. R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 46, p.1-27, 2000.

KURITA, K. Chitin and Chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. **Marine Biotechnology**, v.8, p. 203 – 226, 2006.

KUSKOSKI, E.M. et al. Aplicacion de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidant em pulpa de frutos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, v.25, n. 4, p.726-732, 2005.

LIECHTY, W. B. et al. Polymers for drug delivery systems. **Annual review of chemical and biomolecular engineering**, v. 1, p. 149, 2010.

LIMA, J. C. C. et al. Efeito do teor do copolímero SEBS no comportamento reológico da blenda PLA/SEBS. **Rev. Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 11, n. 1, p: 10-17, 2016.

LIMA, R. S. C. **Desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos: quitosana/insulina**. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos). Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciência e Tecnologia, Campina Grande, 2010.

LÍVIA, M.A. **Obtenção e separação de compostos bioativos de *Shinus Terebinthifolius* Raddi em meio supercrítico e avaliação da atividade citotóxica em células leucêmicas**. Tese (Programa de Pós-graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

LEITE, R.C. “**Influência da densidade de reticulação, na liberação da Rodamina B, em água, a partir de hidrogéis de PVAI:** aplicação em liberação controlada de drogas”. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 1996.

LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo, v. 41, n. 2, p. 143-154, June 2005.

MACHADO, J. C. V. **Reologia e Escoamento de Fluidos: ênfase na indústria do petróleo.** Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2002.

MARANGON, C. A. **Atividade antimicrobiana e citotoxicidade de emulsões de quitosana/gelatina/óleo de copaíba.** 95p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

MARTINS, M. R. et al. J. Antioxidant, antimicrobial and toxicological properties of *Schinus molle* L. essential oils. **Journal of Ethnopharmacology**, v.151, p. 485–492, 2014.

MATSUO, et al. α -Pinene isolated from *Schinus Terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) induces apoptosis and confers antimetastatic protection in a melanoma model. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.411, n.2, p.449–454, 2011.

MELO, A. D. B. et al. Composição e atividade antimicrobiana do óleo essencial da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) com vistas ao uso como antimicrobiano para leitões desmamados. **Rev. Acad. Ciênc. Agrár. Ambient.** v.12, n.3, p. 227- 232, jul./set. 2014.

MENDES, A. A. et al. Aplicação de quitosana como suporte para a imobilização de enzimas de interesse industrial. **Química Nova**, v. 34, n.5, p.831-840, 2011.

MENDES, S.S.et al. Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Lippia gracilis* leaves. **J Ethnopharmacol**, v.129, n.3, p.391-397, 2010.

MOGHADAM, H. R. T. Super absorbent polymer mitigates deleterious effects of arsenic in wheat. **Rhizosphere**, v.3, p.40-43, 2017.

MOHR, L.C. et al. Efeito antimicrobiano de Nanopartículas de ZnO e TiO₂ frente as bactérias *S. aureus* e *E. coli*. **Rev. CSBEA**, v.3, n.1, 2017.

MONTEIRO, A. A. de S. et al. Efeito da modificação química na solubilidade e intumescimento de microesferas à base de goma do cajueiro carboximetilada e quitosana. **Polímeros** [online], v.25, n.spe, pp.31-39, 2015.

MUNNAWAR, I. et al. Synergistic effect of Chitosan-Zinc Oxide Hybrid Nanoparticles on antibiofouling and water disinfection of mixed matrix

polyethersulfone nanocomposite membranes. **Carbohydrate Polymers**, v.175, p. 661–670, 2017.

NASCIMENTO, E. G. do et al. Evaluation of chitosan gel with 1% silver sulfadiazine as an alternative for burn wound treatment in rats. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v. 24, n. 6, p. 460-465, Dec. 2009.

NAVARRO, R.F. **Fundamentos de Reologia de Polímeros**. Caxias do Sul: EDUCS, 1997. 265p.

NETTO, C. G. T. et al. Thermal analysis of chitosan based networks. **Carbohydrate Polymers**, v.62, p.97-103, 2005.

NEVES, A. L. de P. **Preparação e caracterização de nanopartículas de quitosana incorporadas com zinco com potencial atividade cicatrizante e antimicrobiana**. Tese (Programa de Pós-graduação em Engenharia Química), Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2013.

OBARA, et al. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Quím. Nova**, São Paulo, v.29, n.4, p.776-785, 2006.

OLIVEIRA, F. M.; E. S. COSTA JÚNIOR, E. S. Estudo do grau de intumescimento e degradação de filmes de quitosana quimicamente reticulados com ácido adípico. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS**, 21., 2014, Cuiabá, MT: Associação Brasileira de Metalurgia, Materiais e Mineração, 2014. p. 7416-22.

OLIVEIRA, F.R. et al. Surface modification of banana fibers by DBD plasma treatment. **Plasma chemistry and plasma processing**. v. 32. n. 2. p. 259-273. April 2012.

OLIVEIRA, M. J. A. de. **Obtenção de Membranas de Hidrogéis para Tratamento Alternativo da Leishmaniose Tegumentar**. Tese (Programa de Pós-graduação em Ciências) – Autarquia Associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

OLIVEIRA, M.P. de. **Análise in vitro da citotoxicidade e proliferação celular em equivalentes de pele humana**. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Medicina e Ciências da Saúde) – Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE LA SALUD. **Situación regulamentaria de los medicamentos herbários**. Reseña Mundial, 2000, 52p.

OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa, v. 18, n. 2, p. 301-307, June 2008.

PAIVA, W.S.; NETO, F.E.S.; BATISTA, A.C.L. Avaliação da atividade antibacteriana da quitosana fúngica. **Perspectiva online**, Campos dos Goytacazes, v. 13, n. 4, p. 37-43, 2014.

PATEL, A.; MEQUANINT, K. Hydrogel Biomaterials. In: **Biomedical Engineering – Frontiers and Challenges**, Fazel-Rezai, R. (Ed.), InTech, 2011, cap. 14.

PAULA, S. de. **Abraham Lincoln: seus provérbios e pensamentos**. Jacutinga, MG: 101 seleções, 2017.

PEPPAS, N. A. et al. Physicochemical foundations and structural design of hydrogels in medicine and biology. **Annu. Rev. Biomed. Eng.** v. 02, p: 9 - 29, 2000.

PEREIRA, M. C. et al. Inibição de desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciências Agrotecnológica**, Lavras, v.30, n.4, p. 731-738, jul./ago. 2006.

PORTO, R. C. T. et al. Nanopartículas de óxido de zinco sintetizadas pelo método poliol: caracterização e avaliação da atividade antibacteriana. **Matéria** (Rio J.), Rio de Janeiro, v. 22, supl. 1, e11912, 2017.

QI, K. et al. Review on the improvement of the photocatalytic and antibacterial activities of ZnO. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 727, n.15, p.792-820, December 2017.

RAFIQUE, A. et al. Chitosan functionalized poly (vinyl alcohol) for prospects biomedical and industrial applications: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.87, p. 141–154, 2016.

RAJU, K.V.S.N. et al. Effect of nano ZnO on the phase mixing of polyurethane hybrid dispersions. **Progress in Organic Coatings**, v. 67, p. 405-413, 2010.

RANZANI, J.J.T. et al. Biocompatibilidade e biodegradabilidade de micropartículas de poli-lactato-co-glicolato na ceratite infecciosa em coelhos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v.64, n.5, p.1169-1176, Oct. 201

RATNER, B. D. et al. **Biomaterials Science: an introduction to materials in medicine**. Waltham: Elsevier, 2013. 1520p.

RAUHA, J.P. et al. Antimicrobial effects of finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. **Internacional Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.56, n.1, p.3-12, 2000.

RIBEIRO, A. C. **Efeito da adição de óleo essencial de Pimenta Rosa (Shinus terebinthifolius Raddi) Microencapsulado em queijo Minas frescal**. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Espírito Santo. Alegre, 2015.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Prog. Polym. Sci.** v.31, p.603-632, 2006.

ROGERO, S. O. et al. Teste in vitro de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Materials Research**, v. 6, n. 3, p.317–320, 2003.

ROMANI, V.P. **Desenvolvimento de Embalagem Ativa utilizando Matérias-primas Renováveis**. 2015. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio Grande. RS.

ROSENGAUS, R. B.; LEFEBVRE, M. L.; TRANIELLO, J.F.A. Inhibition of fungal antibacteriana spore germination by *Nasutitermes*: evidence for a possible antiseptic role of soldier defensive secretions. **Journal of Chemical Ecology**, v.26, p.21-39, 2000.

ROSIK, J.M.; ULANSKI, P. Synthesis of hydrogels by irradiation of polymers in aqueous solution. **Radiat. Phys. Chem.**, v.55, p.139-151, 1999.

RUBIRA, A. F. et al. Morfologia de hidrogéis-IPN termo-sensíveis e pH-responsivos para aplicação como biomaterial na cultura de células. **Polímeros**, São Carlos, v. 19, n. 2, p. 105-110, June 2009.

SALIANI, M.; JALAL, R.; GOHARSHADI, E.K. Effects of pH and Temperature on Antibacterial Activity of Zinc Oxide Nanofluid Against *Escherichia coli* O157: H7 and *Staphylococcus aureus*. *Jundishapur J Microbiol.*, v.8, n.2, Feb. 2015.

SALVI JUNIOR, Ademir. **Schinus terebinthifolius Raddi: estudo farmacognóstico e investigação da atividade biológica de extratos e frações**. Tese (Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas), Universidade Estadual Paulista. Araraquara, 2013.

SÁMANO-VALENCIA, C. et al. Bactericide efficiency of a combination of chitosan gel with silver nanoparticles. **Materials Letters**, v. 106, n.1, p.413-416, 2013.

SANTOS, T. C. C. **Spray e Gel a 2% de quitosana na cicatrização de feridas cutâneas em ratos diabéticos**. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Goiás, 2016.

SARMENTO, B.; FERREIRA, D.; VEIGA, F.; RIBEIRO, A. Characterization of insulin-loaded alginate nanoparticles produced by ionotropic pre-gelation though DSC and FTIR studies. **Carbohydrate Polymers**, v.66, p.1-7, 2006.

SCHUCK, V.J.A. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus*. **Rev Bras de Ciênc Farma.**, v.37, n.1, p.45-49, 2001.

SHIROMA, P. H. **Estudo do comportamento reológico de suspensões aquosas de bentonita e CMC**: influência da concentração do NaCl. Dissertação (Mestrado), Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2012.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Florianópolis: Editora da UFSC, 1999.

SILVA, G. R. da. **Estudo de formação e estabilidade de nanopartículas de poliácido láctico para liberação controlada do óleo essencial de *Shinus Molle* L.** Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2015.

SILVA, H. S. R. C.; SANTOS, K. S. C. R.; FERREIRA, E.I. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Quím. Nova**, v. 29, n.4, p.776-785, 2006.

SINGH, H.P. et al. Characterization and antioxidant activity of essential oils from fresh and decaying leaves of *Eucalyptus tereticornis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 6962-6, 2009.

SKELLAND, A. H. P. **Non Newtonian flow and heat transfer**. Wiley Edition, 1967.

SOLÓRZANO-SANTOS, F.; MIRANDA-NOVALES, M. G. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 136-141, 2012.

SOUZA, A. M. de; POPPI, R. J. Experimento Didático de Quimiometria para Análise Exploratória de Óleos Vegetais Comestíveis por Espectroscopia no Infravermelho médio e Análise de Componentes Principais: um tutorial, parte I. **Quim. Nova**, v. 35, n. 1, p.223-229, 2012.

SOUZA, R. C. de. **Ação Antimicrobiana de filmes de polietileno de baixa densidade e polietileno de baixa densidade linear modificado com anidrido maleico incorporados com nanopartículas de óxido de zinco**. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Engenharia de alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2015.

SOUZA, S. F. de. **Preparação de óxidos de zinco e avaliação da atividade fotocatalítica na degradação do azul de bromofenol**. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual da Paraíba. Campina Grande, 2010.

SOUZA, T. A. D. de. **Hidrogel de Quitosana em diferentes graus de desacetilação na cicatrização de feridas cutâneas de ratas diabéticas**. Tese (Programa de Pós-graduação em Ciência Animal), Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2016.

STEFFE, J.F. **Rheological methods in food process engineering**. 2. ed. Freeman Press, 1996. 412p.

STOW, A.; BEATTIE, A. Chemical and genetic defenses against disease in insect societies. **Brain, Behavior, and Immunity**, v.22, p. 1009-1013, 2008.

TABILO-MUNIZAGA, G.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Rheology for the food industry. **Journal of Food Engineering**, v.67, p. 147-156, 2005.

TAVARIA, F. K. et al. A quitosana como biomaterial odontológico: estado da arte. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v.29, n.1, p.110 – 120 2013.

TAYEL, A. A. et al. Production of fungal chitosan from date wastes and its application as a biopreservative for minced meat. **Int J Biol Macromo.** v.69, p.471- 475, 2014.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Physico-chemical properties, morphology and antioxidant activity of film from fish skin gelatin incorporated with root essential oils. **Journal of Food Engineering**, v.117, p. 350-360, 2013.

ULIANA, M. P. et al. Composition and biological activity of Brazilian rose pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 83, p. 235-240, May 2016.

VAN DEN BROEK, L. A. M. et al. Chitosan films and blends for packaging material. **Carbohydrate Polymers**, v. 116, p. 237-242, 2015.

VICENTE, Ana M. M. **Efeitos adversos de contaminantes estuarinos em células humanas: avaliação da genotoxicidade de desregulação endócrina.** Dissertação (Programa de Pós-graduação em Biologia Humana e Ambiente) - Universidade de Lisboa, Lisboa, 2012.

VILLANOVA, J. C. O. et al. Aplicações farmacêuticas de polímeros. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 20, n. 1, p. 51-64, 2010.

VLIET, T. V.; LYKLEMA H. Rheology. In: LYKLEMA, J. (Editor), **Fundamentals of interface and colloid science**, v. 4, Elsevier, 2005, p. 6.1-6.88.

VINOGRADOV, G. V.; MALKIN, A. Y. A. **Rheology of Polymers: Viscoelasticity and Flow of Polymers.** Editora: Mir, 1980.

WANNES, W. A. et al. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p.1362-1370, 2010.

YEH, P. J. et al. Drug interactions and the evolution of antibiotic resistance. **Nature Review Microbiology**, v.7, n.6, p.460-466, 2010.

YONEZAWA, U. G. **Síntese, caracterização e aplicação de hidrogéis nanoestruturados contendo nanoargila para melhorar a germinação e qualidade de muda de hortaliça.** Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Ilha Solteira, 2016.

ZENG, L. et al. Volatile compounds formed from the pyrolysis of chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p.1553-1557, 2011.

ZHANG, J. et al. ZnO/PS core-shell hybrid microspheres prepared with miniemulsion polymerization. **Journal of Colloid and Interface Science**. v.301, p. 78-84, 2006.

APÊNDICES

APÊNDICE A - ARTIGO PUBLICADO NO JOURNAL OF NURSING UFPE ON LINE

ISSN: 1981-8963

<https://doi.org/10.5205/1981-8963-v12i4a234869p1122-1132-2018>

Garcia SMS, Andrade MF de, Lima ID de et al.

Chitosan, zinc oxide and pink pepper essential...



CHITOSAN, ZINC OXIDE AND PINK PEPPER ESSENTIAL OIL: POTENTIAL PROPERTIES AND APPLICATIONS

QUITOSANA, ÓXIDO DE ZINCO E ÓLEO ESSENCIAL DE PIMENTA ROSA: PROPRIEDADES E POTENCIALIDADES DE APLICAÇÕES

QUITOSANA, ÓXIDO DE ZINC Y ACEITE ESENCIAL DE PIMIENTA ROSA: PROPIEDADES Y POTENCIALIDADES DE APLICACIONES

Sonia Maria da Silva Garcia¹, Michelle Félix de Andrade², Ivo Diego de Lima Silva³, Iane Bezerra Vasconcelos Alves⁴, Severino Alves Júnior⁵, Ednaldo Cavalcante de Araújo⁶, Yêda Medeiros Bastos de Almeida⁷, Glória Maria Vinhas⁸

ABSTRACT

Objective: to describe properties and potential applications of chitosan, zinc oxide and pink pepper essential oil. **Method:** a descriptive study, of informative type, by surveying the universe of scientific production. **Results:** chitosan is a polymer that has characteristics such as biodegradability, biocompatibility, toxicity, low cost, natural product and exists in great quantity in nature. It is susceptible of being manipulated in the formats of slides, films, fibers and gels. It is an extremely functional molecule exerting mucoadhesive, anticoagulant, immunostimulating, healing, antitumor, hemostatic, hypolipemic, antimicrobial actions, among others. Zinc oxide is an antimicrobial with extraordinary bactericidal and fungicidal efficacy. Studies have investigated the pink pepper essential oil and identified that it possesses diuretic, astringent, antidiarrheal, anti-inflammatory, healing, bactericidal, antiviral, analgesic, sedative, expectorant, antipyretic, vermifuge and antiseptic activity. **Conclusion:** chitosan, zinc oxide and pink pepper essential oil have, individually or in combination, potential for applications in areas such as active packaging, water treatment, dressings and others, as a result of the competence to minimize or eradicate proliferation of pathogenic microorganisms. Anacardiaceae; Hydrogel; Zinc Oxid; Polymers; Biological Products; Chitosan.

APÊNDICE B - ARTIGO PUBLICADO NO MATERIALS RESEARCH

Materials Research. 2017; 20(Suppl. 2): 899-904
 DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1980-5373-MR-2016-0960>



Soil Biodegradation of PLA/CNW Nanocomposites Modified with Ethylene Oxide Derivatives

Gelsonaide da Silva Gois^a, Michelle Félix de Andrade^a, Sônia Maria Silva Garcia^a,

Glória Maria Vinhas^b, Amélia S. F. Santos^c, Eliton S. Medeiros^c, Juliano E. Oliveira^d,

Yêda Medeiros Bastos de Almeida^{b}*

^a *Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE, Brasil*

^b *Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE, Brasil*

^c *Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Federal da Paraíba - UFPB, Cidade Universitária, s/n, Castelo Branco, 58051-900, Paraíba, PB, Brasil*

^d *Departamento de Engenharia, Universidade Federal de Lavras - UFLA, Caixa Postal 3037, 37200-000, Lavras, MG, Brasil*

Received: December 12, 2016; Revised: November 18, 2017; Accepted: January 25, 2018

Due to its ester bonds, poly(lactic acid) (PLA) undergoes biodegradation in humid environments, attracting market attention. The goal of this work was to observe the biodegradation in garden soil of PLA nanocomposites with neat (PLA/CNW) and surfactant modified cellulose nanowhiskers (PLA/CNW/S). Three types of surfactants were tested: poly(ethylene glycol) monooleate (PEGMONO) and poly(ethylene glycol) with molecular weight of 300 and 1000 Da. The films were obtained by solution casting, cut in strips of (2x2) cm and buried in garden soil, monitoring the temperature and humidity. After 90, 120 and 150 days changes were observed in the films by visual inspection, polarized light microscopy, thermogravimetric analysis (TGA) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The results showed that the addition of surfactant favored the biodegradation of nanocomposites and that PLA/CNW/PEG1000 showed the fastest biodegradation rate.

Keywords: *biodegradation, PLA, CNW, surfactant.*

1. Introduction

Poly(lactic acid) (PLA), a type of biodegradable polymer,

APÊNDICE C – ACEITE PARA PUBLICAÇÃO NA CIENTEC

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE PERNAMBUCO
REITORIA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
Avenida Professor Luiz Freire, 530 – CDU – Recife – PE. CEP 52540-740
(81) 2125-1891 pror@proreitoria.ifpe.edu.br

DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que o artigo intitulado "NANOBIOCOMPÓSITO DE QUITOSANA E NANOWHISKERS DE CELULOSE SOB FORMA DE HIDROGEL PARA CURATIVO", de autoria de **Sonia Maria da Silva Garcia, Maria da Silva Garcia, Lhaira Souza Barreto, Gelsonaide da Silva Golás, Michelle Felix da Silva, Ivo Diego de Lima Silva, Jéssica Camila Costa Lima, Glória Maria Vinhas, Severino Alves Júnior, Iana Bezerra Vasconcelos Alves**, foi aprovado para publicação na Revista de Ciência, Tecnologia e Humanidades do Instituto Federal de Pernambuco (Cientec), com previsão para publicação no ano de 2018.

Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, onze dias do mês de dezembro de dois mil e dezessete.

FLAVIO DE SÁ CAVALCANTI DE A. NETO, Prof. Dr.
SIAPE 1803547
Editor Chefe da Revista Cientec

APÊNDICE D – TRABALHOS PUBLICADOS EM ANAIS DE EVENTOS

GÓIS, G.S.; FONTES, A. A.; SILVA, S. K. S.; SOUZA, J. C.; ANDRADES, M. F.; **GARCIA, S. M. S.**; SANTOS, A. S. F.; ALMEIDA, Y. M. B.; ARAUJO, E. A. G. Study of the effect of PEG surfactant on mechanical properties em PCL films. In: XVI BRAZILIAN MRS MEETING, 2017, Gramado 2017. Livros de resumo.... RS: Brazilian materials Research Society, 2017.

ANDRADES, M. F.; GÓIS, G. S.; **GARCIA, S. M. S.**; CARVALHO, D. S.; DUARTE, M. S.; ALMEIDA, Y. M. B.; MELO, T. J. A.; VINHAS, G. M. The effect of the addition of orange oil at different concentrations on the mechanical properties of biodegradable active films of PBAT for food. In: XVI BRAZILIAN MRS MEETING, 2017, Gramado 2017. Livros de resumo.... RS: Brazilian materials Research Society, 2017.

GARCIA, S. M. S.; ANDRADES, M. F.; GÓIS, G. S.; CARVALHO, D. S.; ALVES JUNIOR, S.; ALMEIDA, Y. M. B.; VINHAS, G. M. Incorporation of aroeira essential oil in PBAT films and its influence on mechanical. In: XVI BRAZILIAN MRS MEETING, 2017, Gramado 2017. Livros de resumo.... RS: Brazilian materials Research Society, 2017.

GARCIA, S. M. S.; ANDRADES, M. F.; GÓIS, G. S.; CARVALHO, D. S.; SILVA, I. D. L.; ALMEIDA, Y. M. B.; ALVES JUNIOR, S.; VINHAS, G. M. The influence of zinc oxide on the thermal properties of a chitosan hydrogel. In: XVI BRAZILIAN MRS MEETING, 2017, Gramado 2017. Livros de resumo.... RS: Brazilian materials Research Society, 2017.

GARCIA, S. M. S.; ANDRADES, M. F.; Góis, G. S.; CARVALHO, D. S.; SILVA, I. D. L.; ALMEIDA, Y. M. B.; ALVES JUNIOR, S.; VINHAS, G. M. Chitosan/zinc oxide hydrogel: preparation and characterization: In: XVI BRAZILIAN MRS MEETING, 2017, Gramado 2017. Livros de resumo.... RS: Brazilian materials Research Society, 2017.

ANDRADES, M. F.; GÓIS, G. S.; **GARCIA, S. M. S.**; CARVALHO, D. S.; ALMEIDA, Y. M. B.; MELO, T. J. A.; VINHAS, G. M. Caracterização térmica de filmes ativos Biodegradáveis de PBAT aditivado com óleo de laranja. In: 14° CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS, 2017, Águas de Lindóia 2017. Livros de resumo...SP: Sociedade Brasileira de Polímeros, 2017.

GARCIA, S. M. S.; ANDRADES, M. F.; GÓIS, G. S. GÓIS; SILVA, I. D. L.; CARVALHO, D. S.; ALMEIDA, Y. M. B.; ALVES JUNIOR, S.; VINHAS, G. M. Efeito do óleo essencial de pimenta rosa em filmes de PBAT produzidos por

solvent casting. In: 14º CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS, 2017, Águas de Lindóia 2017. Livros de resumo...SP: Sociedade Brasileira de Polímeros, 2017.

GÓIS, G.S.; SILVA, S.S.K.; ANDRADE, M.F.; **GARCIA, S.M.S.** ; SANTOS, A.S.F. ; BASTOS, Y.M. Estudo da degradação em solo do nanocompósito poli ácido láctico com nanowhiskers de celulose. In: 22º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS, 2016, Natal. Livros de resumo.... RN: Associação Brasileira de Cerâmica (ABC)/Associação Brasileira de Metalurgia, Materiais e Mineração (ABM)/Associação Brasileira de Polímeros (ABPol), 2016.

GÓIS, G.S.; FRANÇA, C.H.A; CANEDO, E.L; ANDRADE, M.F.; **GARCIA, S.M.S.**; HERNÁNDEZ, E.P; SANTOS, A.S.F.; ALMEIDA, Y.M.B. Estudo da cinética de cristalização de PLA com nanowhiskers de celulose utilizando o modelo de pseudo-avram. In: 22º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS, 2016, Natal. Livros de resumo.... RN: Associação Brasileira de Cerâmica (ABC)/Associação Brasileira de Metalurgia, Materiais e Mineração (ABM)/Associação Brasileira de Polímeros (ABPol), 2016.

ANDRADE, M.F.; SIVA, I.D.L.; GÓIS, G.S.; **GARCIA, S.M.S.**; CAETANO, V.F.; BASTOS, Y.M.; MELO, T.J.A.; VINHAS, G.M. Incorporação de óleo de laranja em filmes biodegradáveis de PBAT para utilização como embalagem ativa. In: 22º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS, 2016, Natal. Livros de resumo.... RN: Associação Brasileira de Cerâmica (ABC)/Associação Brasileira de Metalurgia, Materiais e Mineração (ABM)/Associação Brasileira de Polímeros (ABPol), 2016.

GARCIA, S.M.S.; GÓIS, G.S.; ANDRADE, M.F.; JUNIOR, S.A. ; VINHAS, G.M. Nanobiocompósito de quitosana e nanowhiskers de celulose sob forma de hidrogel para curativo. In: 22º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS, 2016, Natal. Livros de resumo.... RN: Associação Brasileira de Cerâmica (ABC)/Associação Brasileira de Metalurgia, Materiais e Mineração (ABM)/Associação Brasileira de Polímeros (ABPol), 2016.

ALVES, A.C.S.B; **GARCIA, S.M.S.**; CAETANO, V.F.; VINHAS, G.M. Avaliação das propriedades mecânicas de filmes de PHB/PEG aditivadas com óleo essencial de alecrim. In: 22º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS, 2016, Natal. Livros de resumo.... RN: Associação Brasileira de Cerâmica (ABC)/Associação Brasileira de Metalurgia, Materiais e Mineração (ABM)/Associação Brasileira de Polímeros (ABPol), 2016.

ANDRADE, M.F.; GÓIS, G.S.; **GARCIA, S.M.S.**; SILVA, I.D.L.; SILVA, C.F; ALMEIDA, Y.M.B; VINHAS, G.M. Estudo da influência do óleo cítrico nas características térmicas de filmes biodegradáveis de PBAT. In: XVI JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DA UFRPE (JEPEX 2016), Recife. Livro de resumo.... PE: UFRPE, 2016.

ANDRADE, M.F.; GÓIS, G.S.; **GARCIA, S.M.S.**; SILVA, I.D.L.; ALMEIDA, Y.M.B; VINHAS, G.M. Avaliação estatística pelo método DUNCAN das propriedades mecânicas do PBAT com adição de óleo cítrico. In: XVI JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DA UFRPE (JEPEX 2016), Recife. Livro de resumo.... PE: UFRPE, 2016.

SILVA, C.F; SILVA, I.D.L.; ALVES, A.C.S.B.; GÓIS, G.S.; ARAÚJO, T.L.; ANDRADE, M.F.; **GARCIA, S.M.S.**; CAETANO, V.F.; VINHAS, G.M. “Avaliação da migração do óleo essencial de alecrim em filmes de poliestireno (PS) em meio simulante ácido” In: VII ENCONTRO REGIONAL SBQ NORDESTE E IV ESCOLA DE QUÍMICA PROFESSOR RICARDO FERREIRA, 2016, Recife. Livros de resumo.... PE: Universidade Federal de Pernambuco – Campus Recife/Secretaria Regional da SBQ/PE, 2016.

GÓIS, G.S; SILVA, S. K. S.; ANDRADES, M. F.; **GARCIA, S. M. S.**; HERNANDEZ, E. P.; ALMEIDA; SANTOS, A. S. F. Estudo da degradação do filme poli ácido-lático degradado em solo de jardim. In: XVI JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DA UFRPE (JEPEX 2016), Recife. Livro de resumo.... PE: UFRPE, 2016.