

HIDROGÉIS CARREGADOS COM ÓLEO ESSENCIAL DE MELALEUCA: CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL E IN VITRO

Isabella Cipriano Cortez¹, Rommel Sauerbronn Cunha², Edlene Ribeiro Prudencio³, Rosa Helena Luchese⁴, Lindoval Domiciano Fernandes⁵, Renata Nunes Oliveira⁶

¹ Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil. Correo electrónico: cortez.isabellac@gmail.com

² Bioleux. E-mail: rommelsauerbronn@hotmail.com

^{3 y 4} Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil. Correo electrónico: edleneribeiro@gmail.com y rhluce@gmail.com

^{5 y 6} Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil. Correo electrónico: lindovaldomiciano@gmail.com y renatanunes.ufrj@gmail.com.

Recibido: Mayo de 2021; Aceptado: Julio de 2021

RESUMO

Os hidrogéis de PVA são biomateriais que apresentam biocompatibilidade são capazes de absorver grandes quantidades de água ou fluidos biológicos, além de possuírem porosidade, podendo ser utilizados como sistemas de liberação controlada. O objetivo desse estudo foi confeccionar hidrogéis de PVA carregados com óleo essencial de *Melaleuca Alternifolia* reticulados fisicamente, com intuito de aplicabilidade como curativo para queimaduras devido às propriedades curativas do óleo. Os hidrogéis foram confeccionados tendo como base 10g de PVA em 100 mL de água destilada e realizou-se a incorporação de 1,5 mL de óleo essencial de *Melaleuca Alternifolia* para cada 30 mL de solução. As amostras foram caracterizadas por espectroscopia de infravermelho (FTIR), Análise Termogravimétrica (TGA), Tração, ensaios de intumescimento e microbiológico. Os espectros de FTIR indicam a presença de interações físicas entre os componentes, os filmes apresentaram eficácia como barreira contra microrganismos. A presença de poros na amostra contendo óleo foi verificada por meio do estudo do intumescimento, onde a presença do óleo afetou a ordenação das cadeias poliméricas. A fração gel indicou-se o comprometimento físico do empacotamento das cadeias dado pelo óleo sugerindo que a presença do óleo afetou o processo de gelificação, além de se apresentarem menos rígidos e com alta capacidade de absorção de água. Os filmes apresentando óleo de *Melaleuca* foram efetivas barreiras físicas para microrganismos.

Palavras-chave: PVA, *Melaleuca*, Hidrogel, Biomaterial.

ABSTRACT

PVA hydrogels are capable of absorbing large amounts of water or biological fluids. These gels are biocompatible; they present high porosity; and they can be used as a controlled released system. The goal of this work was to prepare PVA hydrogels loaded with *Melaleuca Alternifolia* essential oil. The gels were physically cross-linked. It was intended as dressings for burns due to the healing properties of the oil. The samples were characterized by infrared spectroscopy (FTIR), Thermogravimetric Analysis (TGA), tensile tests, swelling and microbiological analysis. The FTIR spectra indicate the presence of physical interactions between the components; the films showed efficacy as barrier against microorganisms; through the swelling study it was found that the presence of the oil affected the polymeric chains organization. It was observed that the oil affected the polymer chains' ability to package, but the samples containing oil were effective barrier to microorganisms' permeation.

Keywords: PVA, *Melaleuca*, Hydrogel, Biomaterial.

INTRODUÇÃO

Os hidrogéis são biomateriais que apresentam biocompatibilidade no uso para cicatrização de feridas e para liberação controlada de fármacos [1]. Apresentam redes tridimensionais capazes de absorver grandes quantidades de água ou fluidos biológicos além de possuir grande porosidade, que de acordo com a densidade pode ser ajustada e, por isso, pode ser utilizado como sistema de liberação controlada [2]. Como processo de cicatrização e tratamento de feridas, a hidratação tem

um papel relevante pois o meio hidratado previne ou reduz surgimento de cicatrizes durante o processo de regeneração devido a formação de uma barreira protetora da epiderme evitando o ressecamento da pele [3]. Os curativos de hidrogel são formados por 92% de água e 8% de polímeros. A vantagem, se comparado aos curativos tradicionais (gaze), é que ele reduz a dor provocada pela queimadura (devido à exposição das terminações nervosas dos ferimentos ao calor excessivo). Ao manter a área queimada úmida, a dor diminui, simbolizando alívio para os queimados [4]. A *Melaleuca* (*Melaleuca alternifolia* Cheel), por suas propriedades farmacológicas, é utilizada em shampoos, sabonetes, repelente de insetos, produtos veterinários, dentre outros [5]. Entre as propriedades do óleo estão: curativas, antissépticas, analgésicas, anti-inflamatórias, antiespasmódica, bactericida, cicatrizante, expectorante, fungicida, balsâmico, antiviral, febrífugo, inseticida, imunoestimulante, diaforético e parasiticida [6]. A ação dos produtos naturais e sua eficácia foram comprovados, contudo, deve-se analisar o grau de enfermidade e a área do corpo tratada [7]. Óleos e produtos naturais podem ser incorporados em hidrogéis. Há estudos que relatam o uso de própolis [8], copaíba, *melaleuca alternifolia* e *melaleuca armilaris* [9], *orégano* e *cravo* [10], *cymbopogon citratus* [11], *orégano encapsulado* [12] e *mentha pulegium*, *corymbia citriodora* e *cymbopogon citratus* [13] por diversos meios de incorporação e concentrações. O presente trabalho teve por intento a incorporação do óleo essencial de *Melaleuca Alternifolia* em géis de PVA como material potencial para tratamento de queimaduras.

MATERIAIS E MÉTODOS

Com base no poli(álcool vinílico) – PVA (*Sigma–Aldrich*, USA, MM ~ 25.000 g·mol⁻¹) e óleo essencial de *Melaleuca Alternifolia* (*Bioleux*®) foram desenvolvidos hidrogéis de PVA/*Melaleuca*.

Para o desenvolvimento dos hidrogéis de PVA dissolveu-se 10 g de PVA em 100 mL de água destilada a 90°C sob agitação mecânica por 4 horas. A solução final obtida foi mantida sob agitação até que atingisse a temperatura ambiente. Realizou-se a incorporação do óleo em seguida, adicionando 1,5 mL de óleo de *Melaleuca Alternifolia* para cada 30 mL de solução sob agitação magnética. Em seguida, verteu-se cada alíquota de 10 mL em placas de *Petri* de $\phi = 90$ mm, submetidas a 4 ciclos de criogelificação (primeiro ciclo de 20 horas à temperatura de aproximadamente -16°C e posteriormente, à temperatura ambiente, por 40 minutos. Os demais ciclos foram realizados por período de 1 hora à -16°C seguidos de 40 minutos em temperatura ambiente para o descongelamento [8]. As amostras foram então secas em estufa à 50°C por 24 h.

A caracterização por análise por infravermelho com transformada de *Fourier–FTIR* utilizou o equipamento *Perkin Elmer FTIR Spectrum 100*, faixa de análise entre 4.000 e 400 cm⁻¹, 32 scans por amostra. As amostras foram analisadas por TGA, em atmosfera de Nitrogênio e ar sintético com

50 mL/min de fluxo, taxa de aquecimento de 10°C/min, entre temperatura ambiente e 600°C, porta amostra de Alumina.

O ensaio de absorção de água foi realizado a partir da avaliação do grau de intumescimento (GI) das amostras [14]. A análise de intumescimento foi realizada em triplicata [15]. As amostras (massa normalizada) foram inicialmente pesadas (M_i) e depois imersas em 25 mL de soro fisiológico a temperatura ambiente, dispostas em soro fisiológico por 96 horas e pesadas (M) em intervalos regulares pré-estabelecidos. Para a realização da pesagem, as amostras foram retiradas do soro, colocadas em papel de filtro para remover o excesso de líquido e, então, pesadas para determinar a massa em balança analítica. Após a pesagem, as amostras foram colocadas novamente no meio. Através da Equação (1) determinou-se o grau de intumescimento (GI) [16]. Posteriormente à pesagem, as amostras foram deixadas a temperatura ambiente por 3 dias para então serem colocadas na estufa e pesadas (M_s). A fração gel (FG) foi calculada segundo a Equação 2 e a perda de massa através da Equação 3.

$$GI (\%) = 100 \times \frac{(M_i - M)}{M} \quad (1)$$

$$FG (\%) = 100 \times \frac{(M_s)}{M_i} \quad (2)$$

$$PM (\%) = 100 \times \frac{(M - M_s)}{M} \quad (3)$$

Para o ensaio microbiológico, amostras, em triplicata, padronizadas em 3 centímetros de diâmetro foram obtidas. Preparou-se a solução com 5 mL de meio de crescimento de microrganismos (*Nutrient Broth No 1 – Sigma–Aldrich*) e esterilizou-se amostras em autoclave por 15 minutos a 121°C e tubos de ensaio. As amostras dos filmes foram esterilizadas em uma capela de fluxo lamelar por 15 minutos de cada lado por radiação UV [17].

Com a solução de crescimento dentro do tubo, as amostras foram posicionadas de forma a cobrir a boca do tubo, e fixadas. Tubos abertos e fechados (em triplicata) foram os controles positivo e negativo respectivamente, contendo meio de cultura líquido. Tubos cobertos por amostras de PVA puro e PVA–*Melaleuca Alternifolia*, também estavam em triplicata. Os tubos foram incubados em um ambiente com circulação de ar. Foram realizadas comparações da turbidez dos tubos testes e controle, após a incubação. Posteriormente, coletou-se os dados após 24, 48, 72, 76 e 96 h e mediu-se a turbidez por meio de um espectrofotômetro (*Spectrophotometer SP1105 BEL Photonics*), utilizando o comprimento de onda de 600 nm [17].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os espectros de FTIR das amostras, Figura 1, mostram espectros similares entre PVA e PVA–óleo de *Melaleuca*, que correspondem às frequências de vibrações entre as ligações atômicas

do PVA e/ou do óleo, conforme a composição da amostra, tabela 1 [18].

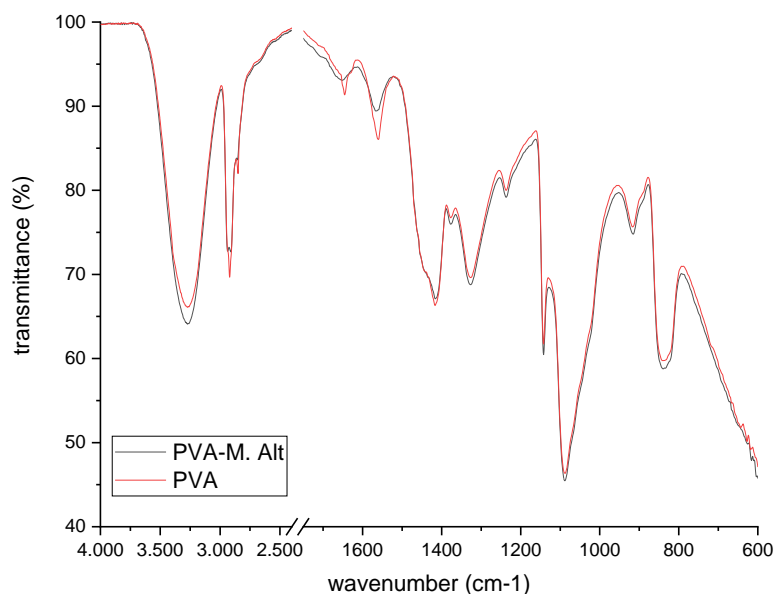


Figura 1. Espectro de FTIR do hidrogel PVA–*Melaleuca* comparado com o do hidrogel de PVA.

Tabela 1. Relação das bandas do PVA e *Melaleuca Alternifolia* obtidas através da espectrofotometria no infravermelho [19] [20] [21].

<i>Componente</i>	<i>Grupo funcional característico</i>	<i>Nº de onda (cm⁻¹)</i>
PVA	O – H	3.272
PVA	C = C (cristalitos)	1.447
PVA	C – O – C	1.143
PVA	C – H	2.917
PVA	C = O/C – O	1.326
PVA e <i>Melaleuca</i>	C – H	2.924
<i>Melaleuca</i>	C = O	1.653
<i>Melaleuca</i>	– CH ₂	1.446 e 1.357
<i>Melaleuca</i>	O – H	3.272
<i>Melaleuca</i>	C = O	1.089

No espectro de PVA–*Melaleuca*, o grupo C–H (2.924 cm⁻¹) está presente nos alcanos, encontrados tanto no PVA e como também no óleo de *Melaleuca*, encontram-se também as bandas características do PVA, embora algumas com intensidade variada. A variação de intensidade e definição de algumas bandas pode ser contribuição do óleo. Há vibrações relativas à carbonilas, grupos funcionais dos principais componentes do óleo, C = O (1.653 cm⁻¹); vibração de dobramento da ligação – CH₂ (1.446 e 1.357 cm⁻¹); O – H (3.272 cm⁻¹); e alongamento de CO (1.089 cm⁻¹), que podem ser associados ao óleo presente no hidrogel PVA/*Melaleuca Alternifolia* [19–21]. Comparando as curvas de FTIR dos filmes de hidrogel de PVA antes e depois da incorporação do óleo de essencial de *Melaleuca Alternifolia*, é possível notar as principais bandas de absorção foram mantidas após a incorporação dele. As bandas em 1.645 e 1.560 cm⁻¹ apresentaram diminuição de

intensidade. A presença do óleo na amostra preservou a estrutura química original do filme do PVA puro. Houve incorporação, mesmo que apenas física, do óleo [8].

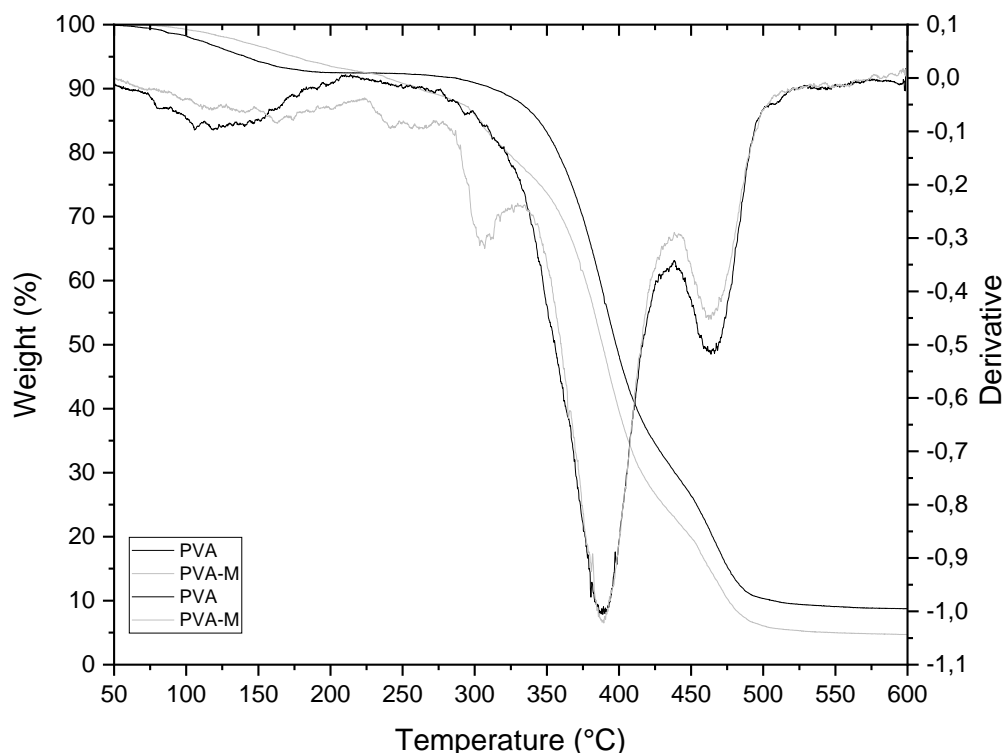


Figura 2. Curva da análise termogravimétrica do hidrogel de PVA e PLA–*Melaleuca* e suas derivadas.

Ao observar as curvas do teste de TGA e DTGA dos filmes de PVA e PVA–*Melaleuca Alternifolia*, Figura 2, mostraram que o PVA se decompõe em duas etapas bem definidas, sendo que a 1ª degradação térmica do PVA em aproximadamente em 100°C e a 2ª degradação do PVA puro ocorre em aproximadamente em 390°C, com perda total de massa de 91,60%. A primeira etapa de decomposição pode ser atribuída à desidratação de grupos hidroxilas vicinais com eliminação de H₂O, ou seja, à evaporação da água ligada ao hidrogel. O último processo nas curvas TGA está relacionado à quebra das ligações entre cadeias do PVA e intramoleculares / degradação térmica da amostra [22,23]. A amostra contendo óleo apresenta degradação em série de reações secundárias localizadas próximas as reações principais (em aproximadamente 170, 252 e 308°C) onde é possível identificar a perda de massa em aproximadamente 245°C que, onde há perda de voláteis e constituintes da mistura dos óleos e posteriormente em 380 e em 464°C [24]. Os filmes contendo óleo essencial de *Melaleuca Alternifolia* apresentam estabilidade térmica menor que o PVA puro indicando incorporação física do óleo [25], os filmes contendo óleo essencial de *Melaleuca Alternifolia* apresentaram influência na estabilidade térmica do hidrogel de PVA, aumentando os eventos de decomposição, com perda total de massa de 94,65%. A perda de massa pode se dar através da perda de voláteis e constituintes da mistura do óleo [24]. Há indicativo de ação

plastificante do óleo na mistura que reduz a resistência térmica do filme. Essas ocorrências podem ser atribuídas à adição do óleo que se associa às cadeias do polímero por interação intermolecular ou de forma física, afastando as cadeias umas das outras e assim, modificando a forma como ocorre o rearranjo durante sua formação, resultando na diminuição da estabilidade térmica [26].

A Figura 3 apresenta o grau de intumescimento (GI) dos filmes de PVA com e sem óleo de *Melaleuca Alternifolia*. Pode-se observar que com o aumento do tempo de imersão, aumenta-se a absorção de soro. Observa-se também que os filmes que contêm óleo apresentaram maior capacidade de intumescimento. As amostras atingiram o equilíbrio de estiramento / relaxação em aproximadamente 24 horas. Ou seja, quando o soro entra no gel, a rede da matriz é estirada e ocorre um alto intumescimento. Conforme o hidrogel é completamente preenchido, as forças relacionadas à entrada de soro são balanceadas pela relaxação da rede polimérica [27]. O óleo de *Melaleuca Alternifolia* contido nas amostras de PVA-*Melaleuca* pode estar localizado entre as cadeias do polímero. Pode também estar ocupando os poros de maneira parcial e conseqüentemente menos espaço está disponível para a ocupação de água quando as amostras são imersas no soro, podendo indicar a troca do soro com o óleo [27].

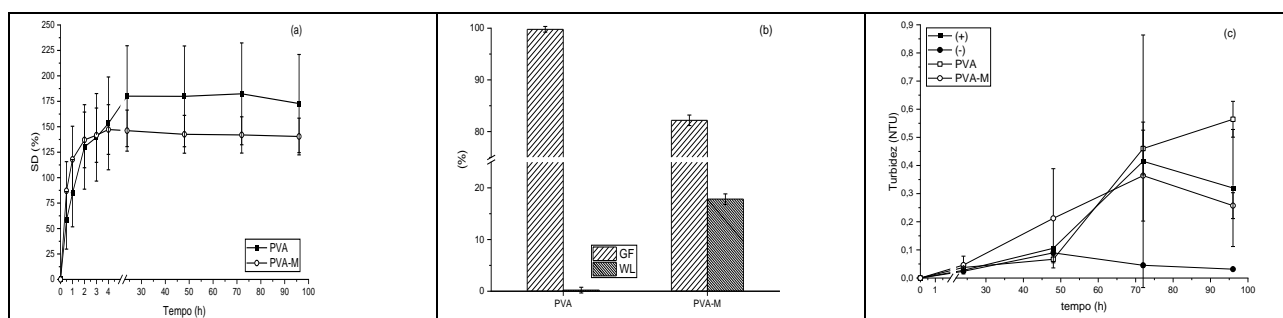


Figura 3. (a) Grau de intumescimento (SD) das amostras; fração gel (GF) e perda de massa (WL) das amostras; (c) crescimento microbiano em tubos contendo meio de crescimento e selados com amostras.

A fração gel (Figura 3) indica de forma indireta o grau de reticulação de um polímero [17]. O PVA apresenta maior fração gel e perda de massa quase nula. A amostra PVA-óleo apresenta diminuição da fração gel (82%) devido ao comprometimento físico do empacotamento das cadeias causado pelo óleo [8] e com perda de massa de 18%. Valores menores de fração gel indicam que os géis são menos rígidos e com alta capacidade de absorção de água. A diminuição da fração gel apresentada com a incorporação do óleo de *Melaleuca Alternifolia* foi semelhante ao que foi observado na adição de própolis ao PVA, onde a própolis afetou o processo de gelificação das amostras através da redução de pontos de ancoragem por emaranhamento e reticulação [27]. As cadeias que não são incorporadas à rede por meio de cristais podem ser lixiviadas à medida que os géis se hidratam, podendo ocorrer perda de massa devido a esse efeito. Além disso a entrada de soro fisiológico pode lixiviar o óleo não ligado à matriz de hidrogel [8]. Em relação à fração gel, a

Melaleuca Alternifolia pode estar dificultando a organização do PVA, assim como a própolis, intercalando-se entre as cadeias amorfas, fato igualmente observado na análise termogravimétrica, onde é possível observar que a adição do óleo modifica a forma como ocorre o rearranjo, devido ao afastamento das cadeias, ocasionando a diminuição do emaranhado das cadeias, permitindo maior movimentação das mesmas e assim inibindo seu empacotamento. Amostras de PVA-própolis, apresentaram a mesma tendência de perda de massa das amostras PVA-melaleuca, indicando que tal efeito pode estar relacionado à liberação de óleo para o meio [27]. O óleo poderia estar atuando como plastificante, diminuindo a porcentagem de fração gel da amostra de PVA-óleo e consequentemente aumentando a perda de massa devido à facilidade de extrair as cadeias do gel [16]. Salientando-se que foi possível através de uma inspeção visual relatar que, ao final do ensaio, todas permaneceram com a superfície e integridade preservadas.

A turbidez é um parâmetro indicador da possível presença de substâncias orgânica ou inorgânicas e materiais em suspensão, expressa como unidade nefelométrica de turbidez (NTU ou UTN) [28,29].

Após 24 h de análise de crescimento microbiano, todos os tubos selados com as amostras permaneceram sem crescimento de microrganismos ou mudanças na turbidez do meio. Após 48h, observou-se uma mudança na turbidez aparente dos tubos fechados com as amostras de PVA puro e PVA-*Melaleuca Alternifolia* e no controle positivo. O controle negativo permaneceu sem mudanças.

Em 72 h, o controle positivo apresentava crescimento de microrganismos e presença de pequenos insetos. Os tubos referentes as amostras de PVA puro apresentaram leve turbidez e os tubos com as amostras de PVA-*Melaleuca Alternifolia* juntamente com o controle negativo permaneceram sem alteração desde o início do ensaio. Todas as amostras preparadas agiram como uma barreira para a entrada de microrganismos nos tubos, embora houvesse maior eficiência nas amostras de PVA-*Melaleuca Alternifolia* devido a menor turbidez e ausência de microrganismos, provável ação do óleo. É provável que a estrutura tridimensional do hidrogel seja responsável por impedir a entrada de microrganismos nos tubos, funcionando como barreira à contaminação externa [17].

Foi realizada análise de variância (ANOVA-2way e teste *Tukey*, sendo o nível de confiança de cada, 95%) com 2 parâmetros, cada um com 4 níveis: tipo de amostra (níveis: controle positivo, controle negativo, PVA e PVA-M) e tempo (níveis: 24, 48, 72 e 96 h), Tabela 2. Observou-se que os parâmetros tipo de amostra e tempo são significativamente diferentes. Houve diferença significativa entre o crescimento microbiano entre 24 e 72, 24 e 96 h, observando-se crescimento progressivo de microrganismos com o aumento de tempo em alguns tubos. Embora haja diferença significativa, houve diminuição de turbidez entre 48 e 72 h, prováveis alterações no meio, como por

exemplo de pH [30]. Em adição, há diferença de turbidez entre o tubo selado com metal e o tubo coberto com a amostra PVA. Na amostra PVA houve maior crescimento microbiano que na amostra coberta com PVA, indicando que não seria a rede do hidrogel a responsável pelo impedimento de contaminação [17], de infecção por permeação microbiana [31]. Conforme o presente estudo, as amostras PVA–M seriam as mais efetivas para proteção de infecção oriunda de fonte externa.

Tabela 2. Análise de variância ANOVA–2way e teste Tukey para a turbidez do meio de crescimento em tubos expostos e selados.

ANOVA					
Parâmetros	DF	Soma dos quadrados	Média dos quadrados	Valor-F	Valor-P
Amostra	3	0,36468	0,12156	3,61706	0,0209
Tempo	3	0,68799	0,22933	6,82378	7,77445E-4
Modelo	6	1,05267	0,17545	5,22042	4,53269E-4
Erro	41	1,37791	0,03361	—	—
Total corrigido	47	2,43058	—	—	—
Teste Tukey					
Interações	Prob	Sig	Interações	Prob	Sig
Fechado/aberto	0,12351	0	24h/48h	0,67259	0
PVA/aberto	0,81987	0	24h/72h	0,00229	1
PVA/fechado	0,01614	1	48h/72h	0,04669	1
PVA–M/aberto	0,99998	0	24h/96h	0,00661	1
PVA–M/fechado	0,11406	0	48h/96h	0,10668	0
PVA–M/PVA	0,83907	0	72h/96h	0,9822	0

*No nível de $p \leq 0,05$, a média populacional do parâmetro é significativamente diferente.

**Sig = 1 indica que a diferença das médias é significativa no nível de 95%.

CONCLUSÃO

A incorporação do óleo essencial de *Melaleuca Alternifolia* no hidrogel foi realizada com sucesso de acordo com o FTIR, confirmando a presença de bandas características do óleo. As amostras contendo óleo apresentaram uma menor estabilidade térmica, indicando que o processo ocasionou alterações microestruturais. O ensaio de intumescimento mostrou que a presença do óleo pode estar localizada entre as cadeias do polímero, ocupando os poros de maneira parcial, tornando possível a troca do óleo com o soro. Além disso, através da fração gel observou-se o efeito físico do empacotamento das cadeias devido ao óleo, ou seja, a presença do óleo afetou o processo de gelificação, além de se apresentarem com alta capacidade de absorção de água. Os filmes apresentando óleo de *Melaleuca* apresentaram comportamento satisfatório na proteção como barreira física para microrganismos no teste microbiológico, tendo em vista suas propriedades antimicrobianas.

Agradecimentos: Os autores agradecem ao Prof. Mauricio Mancini.

REFERÊNCIAS

1. Ali K, Ja hangir SM, Shah, El-Gendy AA “Pharmaceutical significance of cellulose: A review,” *Express Polymer Letters*, vol. II (11),(2008)
2. Khutoryanskiy V “Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products.,” *Eur. Polymer J.*, **65**, 252 (2015)
3. Gonzalez ACdO, Andrade ZdA, Costa TF, Medrado ARAP, “Wound healing – A literature review,” *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 91(5), 614 (2016)
4. Catalani LH “Aplicação para patente de curativo formado por poli(N-vinil-2-pirrolidona) reforçado por fibras de polipropileno enxertado com monômero acrílico”. Brasil Patente 01/13293-9, Julho 2003
5. Castro C, Silva ML, Pinheiro AL, Jacovine LAG “Análise econômica do cultivo e extração do óleo essencial de Melaleuca alternifolia Cheel,” *Revista Árvore*, 29(2), 241 (2005)
6. Machado BFMT, Fernandes Júnior A “Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais.,” *Cadernos acadêmicos*, 3, 105 (2011)
7. K. H. C. Baser e G. Buchbauer, Handbook of essential oils: science, technology, and applications., 2 ed., K. Hüsnü Can Başer e G. Buchbauer, Eds., Boca Raton: CRC Press, 2015
8. R. N. Oliveira, . G. B. McGuinness, . R. Rouze, . B. Quilty, . P. Cahill, . G. . D. A. Soares e R. M. S. M. Thiré, “PVA hydrogels loaded with a Brazilian propolis for burn wound healing applications,” *Applied Polymer*, vol. 32, nº 42129, pp. 1–12, 5 July 2015
9. Soares SH, “Hidrogeis de carboximetil celulose sódica carregados com óleos bioativos e ureia para o tratamento de feridas,” *Dissertação de Mestrado – Pós-Graduação em Engenharia Química, Área de Concentração em Tecnologia Química.*, p. 92, 19 Fevereiro 2019
10. Altaf F, Niazi MBK, Jahan Z, Ahmad T, Akram MA, Safdar A, Butt MS, Noor T, Sher F, “Synthesis and Characterization of PVA/Starch Hydrogel Membranes Incorporating Essential Oils Aimed to be Used in Wound Dressing Applications,” *Journal of Polymers and the Environment*, August 2020
11. Almeida KB d, “Desenvolvimento de hidrogel semissólido contendo óleo essencial de Cymbopogon citratus (DC.) Stapf carregado em nanopartículas poliméricas para o tratamento tópico da herpes,” *Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal Fluminense como requisito para obtenção do grau de Mestre.*, 2014
12. d Medeiros JAS, “FILME BIODEGRADÁVEL INCORPORADO DE ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO ENCAPSULADO” *Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento Acadêmico de Engenharia de Materiais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Materiais*, 2017
13. Silva LF “PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Mentha pulegium* (L). L., *Corymbia citriodora* E *Cymbopogon citratus*, INCORPORADOS EM GÉIS ANTISSEPTICOS” *Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras – Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração em Química/Bioquímica para a obtenção do título de Doutor*, 2017
14. De Santana GM, “Desenvolvimento e caracterização de filmes poliméricos baseados em agarose com a incorporação de ciprofloxacina para utilização como novo substituto temporário de pele.,” *Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de pós-graduação em Engenharia Biomédica –UFPE*, 2015
15. Kokabi M, Sirousazar M, Hassan ZM, “PVA–clay nanocomposite hydrogels for wound dressing,” *European Polymer J.*, **43**(3), 773 (2007)
16. Miller–Chou BA, Koenig JL, “A review of polymer dissolution,” *Progress in Polymer Science*, vol. XXVIII, nº 8, pp. 1223 (2003)
17. Candido JDC, Conceição NA, Moreira APD, Calçada LA, Araújo SL, dos Santos RA, Middea A, Luchese R, Prudencio ER, Castro RN, McGuinness GB, Oliveira RN, “Alginate hydrogels incorporating neomycin or propolis as potential dressings for diabetic ulcers: Structure, swelling and antimicrobial barrier properties”, *Polymers for advanced technologies*, **30**(10), 2623 (2019)
18. Kondaveeti S, Chejara DR, Siddhanta AK, “Synthesis of self-assembly of agarose–fatty acid ester nanoparticles,” *Indian J. Chemistry*, **53A**, 679 (2014)
19. de Assis KMA, “Desenvolvimento e caracterização de microemulsões contendo o óleo essencial de Melaleuca Alternifolia.,” *Programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba – PPGCF*, 2017
20. F. L. R. Juvencio, “Preparação e caracterização de filme de PVA/quitosana/colágeno visando a aplicação como curativo cutâneo,” *Programa de pós graduação em Ciência dos Materiais*, 28 Junho 2017
21. G. M. Rasia, “Síntese e funcionalização de hidrogeis de poli(álcool vinílico).,” *Dissertação (Mestre em Ciências dos Materiais) – Programa de pós graduação em ciência dos materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.*, Maio 2014
22. El-Sayed S, Mahmoud KH, Fatah AA, Hassen A, “DSC, TGA and dielectric properties of carboxymethyl cellulose/polyvinyl alcohol blends,” *Physica B: Condensed Matter*, 406(21), 4068 (2011)
23. Gómez I, Otazo EM, Hernández H, Rubio E, Varela J, Ramírez M, Barajas I, Gordillo AJ “Thermal degradation study of PVA derivative with pendant phenylthionecarbamate groups by DSC/TGA and GC/MS,”

Polymer Degradation and Stability, **112**, 132 (2015)

24. Pereira SLA, Silva PdCe, Pagnossa JP, Miranda KWE, Medeiros ES, Piccoli RH, de Oliveira JE, “Antimicrobial zein coatings plasticized with garlic and thyme essential oils,” *Brazilian J. Food Technology*, vol. **22**, November 2019
25. Guimarães A d AS, “Hidrogéis à base de quitosana/poli(álcool vinílico) para liberação de fármaco visando uso potencial como curativo,” *Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal da Paraíba.*, pp. 1–180, 28 Março 2018
26. Ferreira MV, “Produção de membranas de acetato de celulose simétricas e assimétricas para aplicação na liberação dos fármacos ibuprofeno e naproxeno.,” *Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia.*, 25 Fevereiro 2019
27. Oliveira RN, da Silva CMP, Moreira APD, Mendonça RH,. Thiré RM d SM, Mc Guinness GB, “Comparative analysis of PVA hydrogels incorporating two natural antimicrobials: *Punica granatum* and *Arnica montana* tinctures,” *J. Applied Polymer Science*, **134**(41) 2017
28. d Couto JLV “Limnologia Aplicada,” 2005. [Online]. Available: <http://www.ufrrj.br/institutos/it/de/acidentes/turb.htm> [Acesso em 21 Outubro 2020]
29. G. J. R. Lopes, “Avaliação da turbidez e do tamanho de partículas como parâmetros indicadores da remoção de oocistos de *cryptosporidium* spp. nas etapas de clarificação no tratamento da água em ciclo completo.,” *Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil*, p. 143, 2008
30. Sánchez–Clemente R, Igeño MI, Población AG, Guijo MI, Merchán F, Blasco R, “Study of pH Changes in Media during Bacterial Growth of Several Environmental Strains,” *Proceedings*, **2**, 1 (2018)
31. Alexandrino–Junior, F, Silva KGdH e, Freire MCLC, Lione V d OF, Cardoso EA, Marcelino HR, Genre J, Oliveira AG de, Egito EST do, “A Functional Wound Dressing as a Potential Treatment for Cutaneous Leishmaniasis,” *Pharmaceutics*, **11**, 1 (2019)