

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA  
ENGENHARIA QUÍMICA**

**LARAH GONDIM SANTOS PAULINO**

**MEMBRANAS BICAMADAS À BASE DE QUITOSANA E ALGINATO DE SÓDIO  
COMO POTENCIAL TRATAMENTO EM FERIDAS CUTÂNEAS**

**Bagé  
2022**

**LARAH GONDIM SANTOS PAULINO**

**MEMBRANAS BICAMADAS À BASE DE QUITOSANA E ALGINATO DE SÓDIO  
COMO POTENCIAL TRATAMENTO EM FERIDAS CUTÂNEAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia Química da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia Química.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gabriela Silveira da Rosa

Coorientadora: MSc. Luisa Bataglin Avila

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos  
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do  
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

P328m Paulino, Larah Gondim Santos

Membranas bicamadas à base de quitosana e alginato de sódio  
como potencial tratamento em feridas cutâneas / Larah Gondim  
Santos Paulino.

85 p.

Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)-- Universidade  
Federal do Pampa, ENGENHARIA QUÍMICA, 2022.

"Orientação: Gabriela Silveira da Rosa".

1. Biodegradável. 2. Biopolímero. 3. Extrato natural. 4.  
Folhas de oliveira. 5. Curativo cutâneo. I. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
Universidade Federal do Pampa

**LARAH GONDIM SANTOS PAULINO**

**MEMBRANAS BICAMADAS À BASE DE QUITOSANA E ALGINATO DE SÓDIO COMO  
POTENCIAL TRATAMENTO EM FERIDAS CUTÂNEAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia Química da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia Química.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em 11 de agosto de 2022.

Banca examinadora:

---

Profa. Dra. Gabriela Silveira da Rosa  
Orientadora  
(UNIPAMPA)

---

MSc. Luisa Bataglin Ávila  
Coorientadora

(UFSM)

---

Profa. Dra. Caroline Costa Moraes  
(UNIPAMPA)

---

Dra.Thamiris Renata Martiny  
(UFSM)



Assinado eletronicamente por **CAROLINE COSTA MORAES, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 15/08/2022, às 09:22, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



Assinado eletronicamente por **GABRIELA SILVEIRA DA ROSA, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 15/08/2022, às 09:56, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



Assinado eletronicamente por **Thamiris Renata Martiny, Usuário Externo**, em 16/08/2022, às 11:33, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



Assinado eletronicamente por **Luisa Bataglin Avila, Usuário Externo**, em 16/08/2022, às 11:46, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.unipampa.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.unipampa.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0892338** e o código CRC **A405334A**.

Referência: Processo nº 23100.016182/2022-21 SEI nº 0892338

Dedico este trabalho aos meus pais, Edinalva e Gilberto, e a minha irmã, Sarah, por me ensinarem a lutar diante dos obstáculos da vida e a nunca desistir dos meus sonhos.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado forças para suportar todas as dificuldades. Aos meus guias de luz por estarem sempre ao meu lado me protegendo. Aos meus pais que me ensinaram desde nova o valor do estudo, por me mostrarem que a distância é apenas um detalhe, por sonharem junto comigo, além de todo amor e suporte ao longo da minha trajetória de graduação. Agradeço a minha irmã Sarah, por ter sido a minha luz e o meu apoio nos momentos difíceis, e por vibrar a cada pequena conquista. Agradeço a mim mesma, por ter sido tão forte em meio ao caos, e por ter se tornado uma pessoa mais resiliente. À Universidade Federal do Pampa por possibilitar a realização desse sonho. Aos professores do curso de Engenharia Química, por todo ensinamento repassado com muito profissionalismo. À minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gabriela Silveira da Rosa e coorientadora MSc. Luisa Bataglin Avila, por todo apoio no decorrer deste trabalho, por acreditarem e impulsionarem as minhas ideias. Agradeço aos amigos que conquistei no decorrer da minha formação, em especial, aos membros do grupo FAICaO (Andrielly, Luana, Victor e Gabriel) e os Corajosos (Gabriela, Leticia, Estefanie e Rafael) por terem tornado esta jornada um pouco menos difícil. À minha veterana e irmã de alma Thays Mendes, por todo amor, carinho e suporte no decorrer desses anos. À minha namorada Priscila, por todo ensinamento, companheirismo e suporte no decorrer desta etapa. E a todos os amigos que conquistei nesses 5 anos morando em Bagé, que fizeram isso tudo valer a pena, meu muito obrigada.

## RESUMO

O desenvolvimento de materiais à base de quitosana e alginato de sódio em conjunto com diferentes tipos de agentes antimicrobianos têm se mostrado um potencial material para aplicação como curativo cutâneo. Posto isto, o presente trabalho tem por objetivo a produção de membranas bicamadas de quitosana e alginato de sódio (MBC) e membranas bicamadas incorporando com extratos de folhas de oliveira (MBE), visando a sua aplicação como curativos cutâneos. Os extratos de folhas de oliveira (EFO) foram obtidos por maceração utilizando banho metabólico *Dubnoff* nas condições de 2 h e temperatura de 88 °C, onde apresentaram  $94,25 \pm 0,54\%$  de atividade antioxidante e compostos fenólicos totais  $114,49 \pm 3,91 \text{ mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$ . As membranas bicamadas sem e com adição de EFO foram desenvolvidos pela técnica de *casting*, e caracterizados quanto a sua espessura, obtendo valores de 0,14 mm para a MBC e 0,22 mm para a MBE. Foi observado que, a adição do extrato diminuiu a tensão de ruptura das membranas MBE ( $2,99 \pm 0,24 \text{ MPa}$ ) em relação a MBC ( $4,21 \pm 0,90 \text{ MPa}$ ), enquanto o percentual de alongamento aumentou de  $9,99 \pm 3,01\%$  da MBC para  $14,69 \pm 1,70\%$  da MBE. No entanto, a incorporação do EFO influenciou positivamente no índice de intumescimento, na permeação de fluidos e na medida da taxa de transmissão de vapor de umidade (MVTR) das membranas bicamadas, onde os valores obtidos foram de  $213,42 \pm 7,88 \%$ ,  $2083,47 \pm 13,56 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1}$  e  $2094,33 \pm 17,08 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1}$ , respectivamente. A adição do EFO na matriz polimérica não causou um impacto significativo nos resultados de permeabilidade ao vapor de água, obtendo valores de  $1,46 \cdot 10^{-11} \pm 1,93 \cdot 10^{-12} \text{ g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  para MBC e  $2,81 \cdot 10^{-11} \pm 1,99 \cdot 10^{-11} \text{ g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  para MBE. Os espectros de FTIR mostraram a presença os grupos funcionais de compostos fenólicos presentes nas membranas, comprovando assim a presença do EFO na mesma. Em relação, a análise termogravimétrica constatou-se que a maior perda de massa ocorreu na faixa de 210 a 300 °C. As membranas contendo EFO formaram materiais inibitórios apresentando halos de inibição em 12,19 mm contra a cepa *Escherichia coli*. Diante dos resultados tratados, as membranas produzidas no presente estudo são promissoras para aplicação como curativo cutâneo.

Palavras-chave: Biodegradável. Biopolímero. Extrato natural. Folhas de oliveira. Curativo cutâneo.

## ABSTRACT

The development of materials based on chitosan and sodium alginate together with different types of antimicrobial agents has shown to be a potential material for application as a wound dressing. That said, the present work aims at the production of bilayer membranes of chitosan and sodium alginate (MBC) and bilayer membranes incorporating olive leaf extracts (BEM), aiming their application as skin dressings. Olive leaf extracts (EFO) were obtained by maceration using a Dubnoff metabolic bath at 88°C for 2 h, the values obtained for antioxidant activity and total phenolic compounds were 94,25 % and 114,49 mgGAE.g<sup>-1</sup>. MBC presented the thickness of 0,14 mm, whilst the value obtained for MBE was 0,22 mm. It was also observed that the addition of the extract decreased the rupture strength of MBE membranes (2.99 MPa) in compared to MBC (4,21 MPa), while the percentage of elongation increased from 9,99 % for MBC to 14,69 % for MBE. However, the incorporation of EFO positively influenced the swelling index, fluid permeation and Moist Vapour Transmission Rate (MVTR) of the bilayer membranes as the values obtained for these parameters were 213,42 %, 2083,47 g.m<sup>-2</sup>.day<sup>-1</sup> and 2094,33 g.m<sup>-2</sup>.day<sup>-1</sup>, respectively. The addition of EFO in the polymer matrix did not cause a significant impact on the water vapor permeability results, as the values obtained were 1,46.10<sup>-11</sup> g.m<sup>-1</sup>. Pa<sup>-1</sup>. s<sup>-1</sup> for MBC and 2,81.10<sup>-11</sup> g.m<sup>-1</sup>. Pa<sup>-1</sup>. s<sup>-1</sup> for MBE. The FTIR spectra showed the presence of functional groups of phenolic compounds in the membranes, thus proving the presence of EFO in it. The thermogravimetric analysis showed that the greatest mass loss occurred in the range from 210 to 300 °C. The membranes developed in the present work showed inhibitory behaviors, confirmed by the inhibition halos at 12,19 mm against *Escherichia coli*. Regarding the obtained results, the membranes produced in the present study are promising for application as a wound dressing.

Keywords: Biodegradable. Biopolymer. Natural extract. Olive leaves. Skin dressing

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Camadas da pele.....	19
Figura 2 -	Esquematização da membrana de hidrogel no processo de cicatrização.....	23
Figura 3 -	Mecanismo de ação do filme multicamada.....	24
Figura 4 -	Processo de cicatrização mediante a aplicação de biomaterial em tecido lesionado.....	28
Figura 5 -	Representação química do alginato de sódio.....	29
Figura 6 -	Representação química da quitosana.....	36
Figura 7 -	Folhas de oliveira.....	38
Figura 8 -	Membranas bicamadas com extrato de folhas de oliveira.....	39
Figura 9 -	Processo de extração.....	39
Figura 10 -	Representação da membrana bicamada.....	42
Figura 11 -	Representação da membrana bicamada com extrato de folhas de oliveira.....	43
Figura 12 -	Análise das propriedades mecânicas através do texturômetro.....	44
Figura 13 -	Dispositivo empregado para a avaliação da capacidade de drenagem de fluido das membranas.....	46
Figura 14 -	Análise de permeabilidade ao vapor de água.....	47
Figura 15 -	Membrana bicamada (A) controle e (B) com adição de 75% de extrato de folhas de oliveira.....	51
Figura 16 -	Ensaio de permeação de fluidos das MBC e BEM.....	56
Figura 17 -	Espectros FTIR-ATR das membranas bicamadas de quitosana e alginato de sódio controle (MBC) e com extrato de folha de oliveira (MBE).....	58
Figura 18 -	Curvas termogravimétricas das membranas bicamada sem e com adição de extrato de folhas de oliveira.....	59
Figura 19 -	Imagens de MEV da seção transversal da membrana bicamada controle (A) e com adição de extrato (B).....	61
Figura 20 -	Análise microbiana contra às cepas: (A) e (B) <i>E. coli</i> ; (C) e (D) <i>S. aureus</i> .....	62

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Espessuras das membranas.....	51
Tabela 2 -	Propriedades mecânicas das membranas bicamadas.....	52
Tabela 3 -	Índice de intumescimento, permeação de fluido e permeabilidade ao vapor d'água das membranas.....	54
Tabela 4 -	Halos de inibição medidos.....	62

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Diferentes tipos de curativos e suas especificações.....	21
Quadro 2 -	Membranas ativas pela técnica LBL.....	25
Quadro 3 -	Membranas bicamadas aditivada com extratos naturais.....	33
Quadro 4 -	Características do extrato das folhas de oliveira.....	36

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOAC –	Association of Official Analytical Chemists
AS –	Alginato de sódio
CDF –	Capacidade de drenagem de fluidos
DPPH –	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
E –	Espessura
EFO	Extrato de folhas de oliveira
FCS	Fluido corpóreo simulado
FT –	Fenólicos totais
FTIR -	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
GAE –	Ácido gálico
LBL –	Layer-by-Layer
MBC -	Membrana bicamada de quitosana e alginato de sódio controle
MBE –	Membrana bicamada de quitosana e alginato de sódio com extrato de folhas de oliveira
MEV –	Microscopia eletrônica de varredura
MVTR -	Moist Vapour Transmission Rate
PVA –	Permeabilidade ao vapor de d'água
QI –	Quitosana
TGA	Análises termogravimétricas
TSA –	Agar triptona de soja
UFC –	Unidade formadora de colônia
UV –	Luz ultravioleta

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	OBJETIVOS.....	18
2.1	Objetivo Geral.....	18
2.2	Objetivos Específicos.....	19
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
3.1	Pele, feridas e o processo de cicatrização.....	20
3.2	Curativos.....	21
3.2.1	Curativos de dupla camada.....	24
3.3	Polímeros naturais e membranas.....	27
3.3.1	Alginato de sódio.....	28
3.3.2	Quitosana.....	30
3.4	Membranas ativas.....	32
3.4.1	Extrato da folha de oliveira.....	35
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
4.1	Preparo e obtenção dos extratos de folhas de oliveira.....	38
4.2	Caracterização dos extratos de folhas de oliveira.....	35
4.2.1	Compostos fenólicos totais.....	40
4.2.2	Atividades antioxidantes.....	40
4.3	Elaboração das membranas bicamadas.....	41
4.4	Caracterização das membranas.....	43
4.4.1	Espessura.....	43
4.4.2	Propriedades mecânicas.....	43
4.4.3	Índice de intumescimento.....	44
4.4.4	Permeação de fluidos.....	45
4.4.5	Permeabilidade ao vapor d'água.....	46
4.4.6	Estabilidade térmica.....	47
4.4.7	Interações químicas.....	48
4.4.8	Microscopia eletrônica de varredura.....	48
4.4.9	Atividade antimicrobiana.....	48
4.4.10	Análises estatísticas.....	49
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50

<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>64</b>
<b>7</b>	<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>66</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>67</b>

## INTRODUÇÃO

A pele é a primeira linha de defesa do organismo contra agentes externos e quando lesionada ocasiona uma limitação na barreira de proteção, deixando o organismo vulnerável à entrada de micro-organismos patogênicos. O curativo é o tratamento tópico mais comum utilizado na reconstrução fisiológica da pele, prevenindo infecções e a desidratação através de um microambiente úmido (SOOD, 2014; ISERI *et al.*, 2008; NAGOBA *et al.*, 2010; MARUGUCHI *et al.*, 1994).

Os materiais comumente utilizados para confecção dos curativos são provenientes de polímeros sintéticos ou naturais. Os curativos à base sintética são provenientes, em sua maioria, de fontes não renováveis, como carvão mineral, gás natural e petróleo. No entanto, quando descartados na natureza ocasionam uma grande quantidade de resíduos em decorrência a lenta degradação (GROSS; KALRA, 2002; DiGREGORIO, 2009).

Neste contexto, buscando diminuir o tempo de vida desses materiais na natureza, diversas pesquisas utilizando biomateriais ampliaram as possibilidades de formular curativos que favoreçam resposta biológica e eficaz no processo de cicatrização (ZAHID *et al.*, 2021). Dessa forma, as membranas à base de biopolímeros têm sido uma alternativa eficiente no tratamento de lesões cutâneas, devido à capacidade de estimular o sistema imune, formar tecido granuloso, proteção antimicrobiana e a migração de fibroblastos, além de serem biomoléculas naturais, apresentarem uma boa seletividade, permeabilidade, biocompatibilidade (DIALLO *et al.*, 2001; SCHIRATO *et al.*, 2006; LLOYD *et al.*, 1998).

Buscando potencializar a efetividade dos curativos, o uso de membranas bicamadas à base de polissacarídeos têm atraído considerável atenção nas áreas de biomateriais e na medicina regenerativa devido à capacidade de desenvolverem superfícies biocompatíveis e bioativas sem alterarem a funcionalidade de cada polímero (BOULMEDAIS *et al.*, 2003; FU *et al.*, 2005; YUANHAO *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2016; GENTILE *et al.*, 2015; DECHER *et al.*, 2002). Além disso, estas membranas têm apresentado uma fácil incorporação de compostos funcionais, melhora em seu grau de intumescimento, permeabilidade ao vapor de água, propriedades mecânicas e de barreiras (YE MA, LIAN XIN *et al.*, 2017). Já na área biomédica as membranas bicamadas apresentaram um favorecimento para a

migração de fibroblastos, maior eficiência na absorção de exsudatos e na proteção antimicrobiana (MOURO *et al.*, 2020; CHABALA *et al.*, 2017).

O alginato de sódio e a quitosana tornaram-se os biopolímeros mais empregados no desenvolvimento de curativos (SPIN-NETO *et al.*, 2008; MOURA, 2012). Dessa forma, a combinação desses dois biopolímeros têm se destacado no desenvolvimento de membranas bicamadas devido às características presentes em suas estruturas que potencializam o processo de cicatrização, como hidrofilicidade, não imunogenicidade, biodegradabilidade, atividade antibacteriana, antifúngica, antiviral, além da capacidade de ativar macrófagos, promovendo o ambiente úmido no leito perilesional e favorecendo a atividade imunomoduladora (PAWAR *et al.*, 2012; PANAWES *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2013)

Tendo em vista a possibilidade de melhoria na atuação das membranas bicamadas de quitosana e alginato, a incorporação de diferentes compostos bioativos com potencial terapêutico na matriz sólida da membrana podem ocasionar uma melhora nas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias e anestésicas deste material.

O Grupo de Pesquisa Engenharia de Processos em Sistemas Particulados (GPEPSP) da Universidade Federal do Pampa tem promovido diversos avanços científicos e tecnológicos voltados para as áreas de extração de bioativos de resíduos vegetais, como folha, bagaço e frutos, e a elaboração de matrizes biodegradáveis contendo aditivos naturais para os diversos setores industriais (ALVES, 2015, MOREIRA, 2019; PEREIRA, 2020; BARRETOS, 2021; AVILA *et al.*, 2021; ROSA *et al.*, 2019; ROSA *et al.*, 2021; MARTINY *et al.*, 2020). Martiny *et al.* (2021), desenvolveram diferentes técnicas e condições de extração na obtenção dos compostos bioativos presentes nas folhas de oliveira (*Olea europaea L.*). Os resultados indicaram elevado conteúdo de compostos antioxidantes e antimicrobianos, o que motivou a aplicação desse extrato como aditivo natural para obtenção de filmes biopoliméricos com caráter ativo para serem aplicados em embalagens de alimentos.

Neste contexto, a produção de membranas bicamadas empregando mais de uma matriz polimérica biodegradável – a quitosana e o alginato de sódio –, e aditivada por um composto bioativo natural - o extrato de folhas de oliveira – representa uma potencial alternativa como curativos capaz de aumentar a eficiência no processo de cicatrização de lesões cutâneas.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Elaborar e caracterizar membranas bicamadas de quitosana e alginato de sódio incorporadas com extrato de folhas de oliveira (*Olea europaea L.*) como um potencial curativo cutâneo para aplicação no tratamento de feridas.

### 2.2 Objetivos Específicos

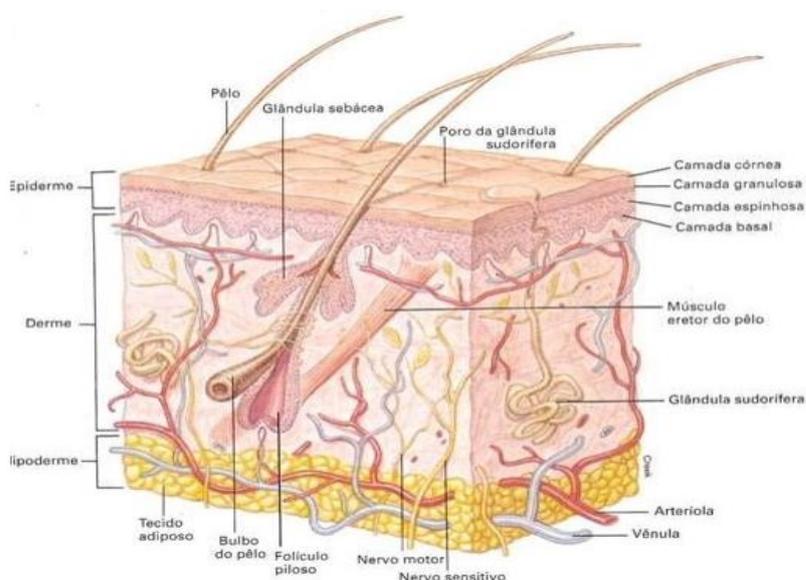
- Extrair os compostos bioativos presentes nas folhas de oliveira (*Olea europaea L.*) e caracterizá-las quanto ao teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante;
- Desenvolver membranas bicamadas de quitosana e alginato de sódio, aditivando a camada superior com extrato de folhas de oliveira (*Olea europaea L.*);
- Caracterizar as membranas obtidas quanto à espessura, propriedades mecânicas, índice de intumescimento, permeação de fluidos, taxa de transmissão de vapor de umidade, permeabilidade ao vapor d'água, interações químicas, estabilidade térmica, microscopia eletrônica de varredura e a sua atividade antimicrobiana.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Pele, feridas e o processo de cicatrização

A pele é o maior e o mais complexo órgão do sistema humano composto por diversas camadas de tecidos, células e estruturas especializadas, constituindo-se como interface do organismo com o ambiente externo. Suas funções incluem a termorregulação, a proteção do indivíduo contra agressões externas, sendo elas de origem química, física ou biológica, além de monitorar a perda de proteínas e água para exterior e atuar no metabolismo da vitamina D. (SOOD, 2014). Assim, a pele é constituída por três camadas de tecidos interdependentes: a epiderme – camada superior; a derme – camada intermediária; e a hipoderme ou panículo adiposo – camada profunda, como ilustrada na Figura 1.

Figura 1 - Camadas da pele



Fonte: VAN DE GRAAFF (2003)

A epiderme é a camada superior da pele, apresentando uma estrutura impermeável e compacta a qual é perfurada por folículos pilossebáceos e por glândulas de origem na derme. Sendo constituída por cinco camadas, as quais são divididas em camada basal ou germinativa, espinhosa, granulosa, lúcida e camada córnea, apresentando uma espessura entre 0,004 a 1,5 mm (SPENCE, 1991; SOUZA e VARGAS, 2004). Além disso, a epiderme apresenta em sua composição a melanina, responsável pela proteção dos tecidos subjacentes dos efeitos nocivos da luz

ultravioleta. Já a derme é a camada mais vascularizada da pele, sendo dividida em duas camadas, a papilar – camada superior da derme - e a reticular – camada inferior da derme. Essas camadas são formadas pelo tecido conjuntivo frouxo e denso não modelado, respectivamente. Além de ser constituída por fibrócitos, glândulas sudoríparas, glândulas sebáceas, músculo eretor do pêlo, bem como os vasos sanguíneos, vasos linfáticos e estruturas nervosas. (PALASTANGA *et al.*, 2000; IGNÁCIO, 2009). Enquanto a hipoderme é a camada mais profunda do tecido epitelial, no qual é formado por lóbulos de gordura, tecido adiposo, e divididos por septos fibrosos de colágeno, além de possuir nervos, vasos sanguíneos e linfáticos, tendo como função regular a temperatura, agindo como termoisolante, atuando no suprimento de energia (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006; GURTNER *et al.*, 2008).

O tecido epitelial é o órgão mais propício a sofrer ações traumáticas de origem física, química, mecânica ou por afecções clínicas, podendo ocorrer em maior ou menor extensão, ocasionando limitações estruturais e na barreira de proteção organismos patogênicos (ISERI *et al.*, 2008). Essas lesões podem ser classificadas como agudas, quando a lesão ocorre por meio de cortes, queimaduras, possuindo um tempo hábil de cicatrização, ou crônicas, quando a lesão ocorre por um longo período agudo tendo perda tecidual, por exemplo, decúbito – lesão por pressão - ou úlceras em diabéticos (LEITE *et al.*, 2012; MALAGUTTI *et al.*, 2014; BERNARDES *et al.*, 2020).

A diferenciação entre os tipos de lesões teciduais existentes e o pouco esclarecimento total de suas fisiopatologias tornou-se um campo amplo de estudos para o processo de cicatrização devido à complexidade de eventos responsáveis por reconstituir a estrutura e a funcionalidade do tecido. O processo de cicatrização é dividido em três fases importantes: inflamatória, proliferativa e de maturação ou remodelação (MANDELBAUM *et al.*, 2003; BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005; CAMPOS *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2007).

A inflamatória é a fase em que ocorre a elevação da permeabilidade vascular migrando os neutrófilos e macrófagos para a remoção de micro-organismos, materiais inorgânicos, tecidos desvitalizados, além de propiciar a coagulação sanguínea. Já a proliferativa é a fase responsável pelo desenvolvimento da cicatriz através da formação dos tecidos de granulação e epitelial. E por fim, a fase de remodelação onde

irá ocorrer a reorganização das fibras de colágeno e a restauração da integridade estrutural do tecido (BAUM *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2007; TAZIMA *et al.*, 2008).

Diversos fatores são capazes de interferir no processo de cicatrização, como os sistêmicos – idade, condição nutricional, tabagismo, má vascularização – e os locais – tecido necrótico, infecção local, *stress* mecânico (SILVA *et al.*, 2007; ALVES *et al.*, 2011). Assim, segundo Malagutti *et al.* (2014), manter a umidade na região lesionada é um processo importante para cicatrização, tornando o recobrimento de feridas uma alternativa viável de tratamento (CAMPOS *et al.*, 2007).

### 3.2 Curativos

Os curativos são agentes terapêuticos locais utilizados no tratamento de feridas cutâneas através de materiais específicos de acordo com a fisiopatologia da lesão, tendo como função proteger e promover a drenagem de exsudatos, além de auxiliar nos mecanismos de cicatrização e reparação tecidual (HARDING *et al.*, 2002), podendo ser encontrados em diversas formulações, como sprays, géis, pomadas, filmes poliméricos, gaze, bandagens, naturais ou sintéticas, e algodões. Além desses, existem os curativos modernos que aumentam as taxas de epitelização, contribuindo na cicatrização devido às baixas pressões iniciais de oxigênio, que auxiliam na fase primária de cicatrização, e a diminuição da carga bacteriana (BOATENG *et al.*, 2008).

Os curativos modernos, Quadro 1, são desenvolvidos a partir de propriedades biológicas capazes de serem aditivados por compostos bioativos (YUDANOVA; RESHETOV, 2006), sendo classificados como curativos passivos, ativos, inteligentes e biológicos (FAN *et al.*, 2011).

Quadro 1 - Diferentes tipos de curativos e suas especificações (Continua)

Curativos	Curativos comerciais	Composição química	Recomendações
<b>Alginato de cálcio</b>	Algiderm-Bard; Kaltostal-Systagenix; Restore–Hillister; SeaSorb–Colapast Swen	Constituído por fibras de algas marinhas incorporado com cálcio, compostas pelos Ácidos Gulurônico e Manurônico, apresentando íons cálcio e sódio incorporados	Feridas abertas exsudativas, cavitárias e com ou sem sangramento, sendo contraindicado para feridas simples e secas

Quadro 1 - Diferentes tipos de curativos e suas especificações

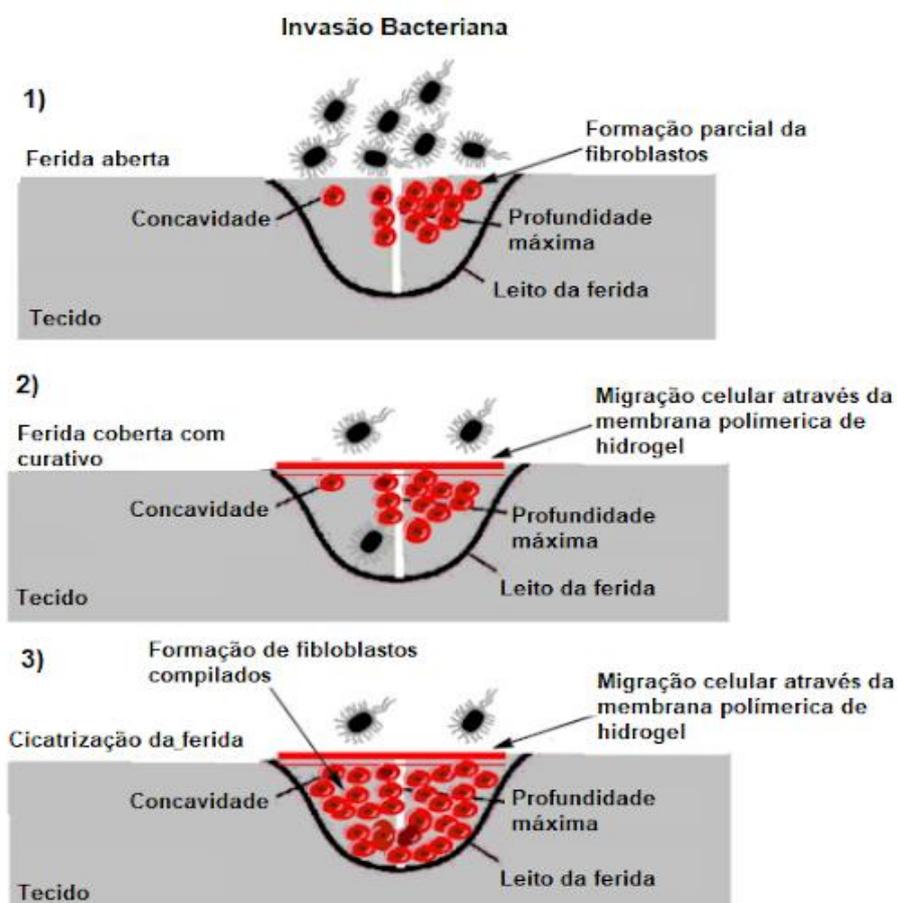
(Conclusão)

<b>Curativos</b>	<b>Curativos comerciais</b>	<b>Composição química</b>	<b>Recomendações</b>
<b>Filmes transparentes</b>	Bioclusive; Blisterfilm; Cutifilm; Flexigrid; OpSite; Tegaderm	Polímero de poliuretano com adesivo de acrílico	Feridas superficiais sem exsudatos, sendo contraindicado para feridas infeccionadas
<b>Espuma polimérica com ou sem prata</b>	Flexzan; Biopatch; Crafoams; Biatain; Cutinova; Reston;	Matriz de poliuretano ou silicone/ com ou sem prata	Feridas exsudativas, profundas, úlceras residuais, sendo contraindicado para feridas simples e secas
<b>Hidrocolóide</b>	Aquacel, Comfeel, DuoDERM, Granuflex, Tegasorb	Possui duas camadas: Uma externa de poliuretano semipermeável e uma interna de pectina ou gelatina	Feridas com lesão parcial, proeminência óssea, sendo contraindicado para feridas infeccionadas e com grande quantidade de exsudato
<b>Carvão ativado com prata</b>	Actisob Plus 25; Vliwakiv; Carboflex	Fibras de carvão ativado incorporado com prata 0,15%	Feridas fétidas com exsudatos e infectadas, sendo contraindicado para feridas simples e secas
<b>Carvão ativado com prata</b>	Actisob Plus 25; Vliwakiv; Carboflex	Fibras de carvão ativado incorporado com prata 0,15%	Feridas fétidas com exsudatos e infectadas, sendo contraindicado para feridas simples e secas
<b>Hidrogel</b>	Carrasyn, Curagel, Nu-Gel, Purilon, Restore, SAF-gel, XCell	Gel constituído por água purificada, propileno-glicol, carbômero 940, trietanolamina, alginato de cálcio e sódio, conservantes e carboximetilcelulose	Feridas com tecidos desvitalizados, queimaduras de terceiro grau, sendo contraindicado para feridas infeccionadas e com exsudato

Fonte: Adaptado de Candido (2001); Mandelbaum; DiSantis; Mandelbaum (2003); Smaniotta; Galli *et al.* (2012); Bueno (2015); Han; Ceilley (2017)

Os curativos considerados ideais para o tratamento de lesões cutâneas devem ser atóxicos, não alérgicos, além de apresentar propriedades de barreira, flexibilidade e mecanismos que favoreçam no tratamento e na recuperação tecidual de modo mais rápido e eficiente (KORTING *et al.*, 2011; KAMEL *et al.*, 2016; CAMPOS *et al.*, 2015). Dessa forma, segundo Malagutti *et al.* (2014), a escolha de um curativo irá depender de algumas características, como proteção contra contaminação, capacidade de absorção e do alívio da dor, além de serem isolantes térmicos, apresentarem maleabilidade e transparência. Essas características podem ser observadas na Figura 2, onde apresenta a esquematização dos curativos poliméricos atuando como barreira física a invasões microbianas, infecções, além de contribuir para a migração de fibroblastos acelerando o processo de cicatrização.

Figura 2 - Esquematização da membrana de hidrogel no processo de cicatrização



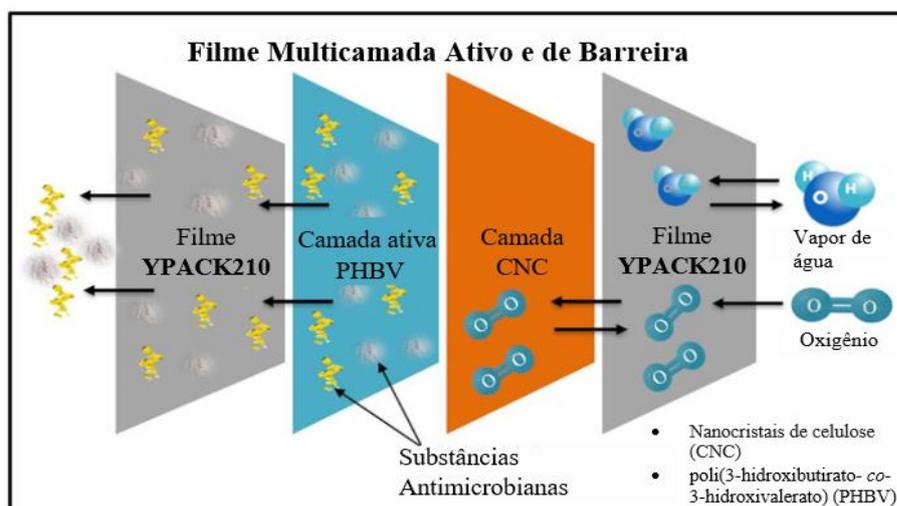
Fonte: Adaptado de Kamoun *et al.* (2016)

Dentre os métodos de tratamento de lesões cutâneas, atualmente são estudados os curativos de dupla camada, onde a camada externa é projetada para a prevenção da invasão bacteriana e, possivelmente, no controle das taxas de permeação do vapor de água. Enquanto, a camada interna é projetada para aderência ao tecido da ferida e na drenagem de exsudatos (BORGES *et al.*, 2007; DANTAS *et al.*, 2011).

### 3.2.1 Curativos de dupla camada

O curativo de dupla camada é a combinação de diferentes desempenhos de polímeros, a fim de se alcançar melhores propriedades no produto final (TARTAKOWSKI, 2010). A confecção desses curativos pode ocorrer em duas ou mais camadas e são utilizados, principalmente, para liberação controlada de fármacos devido às barreiras físicas ocasionadas pelas cadeias poliméricas de cada camada, no qual retarda a difusão dos fármacos através do curativo, promovendo uma arquitetura capaz de controlar as suas propriedades mecânicas e biológicas (VOWDEN, 2014; TRINCA *et al.*, 2017). Geralmente, esses curativos são desenvolvidos através de uma camada superior densa que propicia o controle de umidade, proteção física e evita a contaminação, e uma camada inferior fina que realiza a absorção de exsudatos, adesividade e uma participação ativa na cicatrização (MARTINEAU; SHEK, 2006; WANG *et al.*, 2017), podendo ser observado na Figura 3 o comportamento do filme multicamadas.

Figura 3- Mecanismo de ação do filme multicamada



Fonte: Adaptado de Lopes *et.al* (2020)

Os curativos bicamadas podem ser produzidos a partir da versatilidade da técnica *Layer-by-Layer* (LBL) que é o método utilizado no desenvolvimento de filmes finos com multicamadas a partir da deposição alternada de monocamadas. Esta técnica permite a construção de filmes com vários materiais e aplicações, entre eles estão os materiais inteligentes, que diante de estímulos apresentam uma resposta ajustável podendo ser aplicados a sistemas biológicos e ambientais, além de apresentar vantagens consideráveis relacionadas a custos operacionais, tempo e eficiência. Dessa forma, existem diversos mecanismos de adsorção responsáveis pelo crescimento dos filmes LBL, por exemplo, força iônica, pontes de hidrogênio, força de *Van der Waals*, interações hidrofóbicas, entre outras, sendo a mais utilizada a força iônica originada por interações eletrostáticas (DECHER *et al.*, 1992; RAPOSO *et al.*, 1998).

O Quadro 2, a seguir, lista alguns trabalhos cujo objetivo é utilizar a técnica LBL para o desenvolvimento de membranas ativas.

Quadro 2 - Membranas ativas pela técnica LBL

(Continua)

<b>Polímeros</b>	<b>Aditivos</b>	<b>Características da membrana</b>	<b>Referência</b>
Polihexametileno guanidina	Óxido de grafeno	A incorporação do aditivo na membrana porosa apresentou boa biocompatibilidade, excelentes propriedades de transmissão de vapor de água e propriedades antibacterianas de longa duração	Zhiwen <i>et al.</i> (2020)
Acetato de quitosana	Nanopartículas de prata	Os curativos de prata-quitosana controlaram efetivamente o desenvolvimento de sepse sistêmica, sugerindo que um curativo combinando acetato de quitosana com prata melhora a eficácia antimicrobiana contra infecções fatais por queimaduras.	Huang <i>et al.</i> (2011)

Quadro 2 – Membranas ativas pela técnica LBL (Conclusão)

Polímeros	Aditivos	Características da membrana	Referência
Acetato de celulose	Quitosana e polissacarídeos	As membranas multicamadas incorporadas com os aditivos exibiram forte inibição do crescimento de <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> . Além disso, apresentaram hemo-compatibilidade integrada e atividades antibacterianas e antioxidantes, o que pode ter grande potencial de aplicação no campo biomédico	Peng <i>et al.</i> (2016)
Zwitteriônicos	Nanopartículas de prata	A membrana proposta apresentou uma flexibilidade, além de ser versátil, podendo ser preparada em larga escala; tendo um grande potencial para ser amplamente utilizada para evitar a contaminação bacteriana indesejada de implantes biomédicos ou dispositivos biológicos	Yi Xie <i>et al.</i> (2017)
Polietileno linear de baixa densidade e amido de mandioca	Nanopartículas de óxido de zinco (NPs-ZnO)	A inibição microbiológica foi comprovada para os filmes de Polietileno linear de baixa densidade-Amido com 3 e 8% NPs-ZnO nas primeiras 9 horas	Zanghelini (2017)

Fonte: Autora (2022)

Neste contexto, o desenvolvimento de curativos bicamadas a partir de polímeros naturais têm sido cada vez mais estudado para o tratamento de feridas devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, ausência de toxicidade e baixa antigenicidade (BAYER *et al.*, 2012; CEN *et al.*, 2008; CHENG; SOLORIO; ALSBERG, 2014; LYNN; YANNAS; BONFIELD, 2004; PATI *et al.*, 2012).

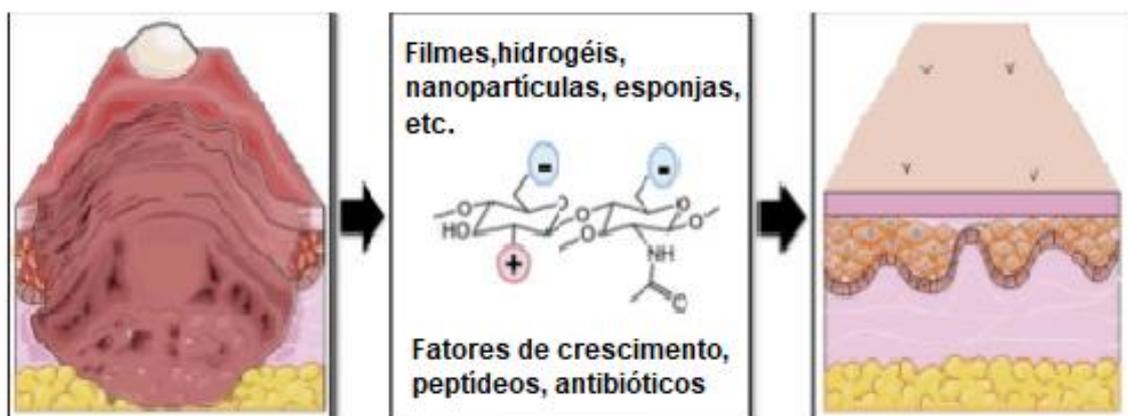
### 3.3 Polímeros naturais e membranas

Os polímeros são constituídos a partir da junção de macromoléculas de origem natural ou sintética (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015). Os polímeros naturais são formados durante o ciclo de crescimento de organismos vivos, sendo sintetizados por meio da catálise enzimática e das reações de crescimento de cadeia de monômeros ativos (GHANBARZADEH; ALMASI, 2013). Enquanto, os polímeros sintéticos são desenvolvidos por meio de reações de sintetização em condições controladas para a obtenção das propriedades química, física e mecânica do material desejado, como resistência à agentes químicos, tração, módulo de elasticidade e taxa de degradação (BOSWORTH, 2011; DHANDAYUTHAPANI *et al.*, 2011; VAZ, 2016).

Os polímeros sintéticos, como poli(etileno glicol), poli(ácido láctico-co-glicólico) e PVA, são altamente relevantes para a indústria biomédica devido à capacidade de reajustes de suas propriedades de acordo a aplicação, sendo frequentemente utilizados para produção de membranas. Contudo, o uso destes materiais tem causado grandes danos ambientais após o seu descarte na natureza por serem derivados, principalmente, de fontes não renováveis, como o carvão mineral, gás natural e petróleo, no qual apresenta uma lenta degradação (GROSS; KALRA, 2002; DiGREGORIO, 2009).

Neste contexto, os polímeros de fontes naturais têm ganhado espaço como biomateriais para aplicações clínicas devido às interações celulares ocasionadas pelas propriedades bioativas presentes nos materiais. Os polímeros naturais podem ser derivados de proteínas - colágeno, fibrina, seda -, de polissacarídeos - agarose, alginato, ácido hialurônico, quitosana – ou de polinucleotídeos - DNA e RNA (WILLERTH; SAKIYAMA-ELBERT, 2008). Diante disso, atualmente, os polissacarídeos têm se tornado alvo de estudos entre os pesquisadores por desempenharem atividades cruciais em muitos sistemas biológicos, como na comunicação celular, desenvolvimento embrionário, inibição de infecções por bactérias ou vírus e na imunidade celular (LIU *et al.*, 2015).

Figura 4 – Processo de cicatrização mediante a aplicação de biomaterial em tecido lesionado



Fonte: Adaptado de Patrulea *et al.* (2015)

As membranas provenientes, principalmente, de células vegetais – alginato - ou de origem animal - quitosana (GUARINO *et al.*, 2015) têm se destacado na engenharia de tecidos por serem capazes de favorecer a regeneração dos tecidos danificados ou doentes, como ilustrado na Figura 4, devido à sua similaridade e compatibilidade com a matriz extracelular da pele, além de permitirem a modelagem em filmes, hidrogéis e blendas com outros polímeros e pela sua biodegradabilidade (SELL *et al.*, 2010; SOUSA, 2011).

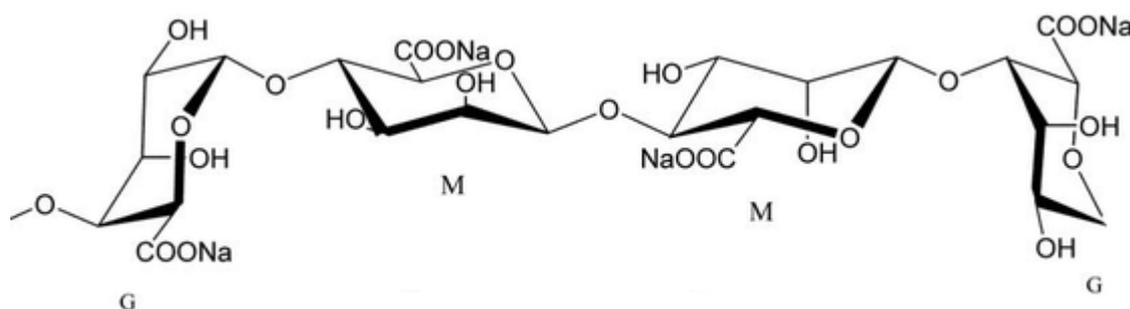
### 3.3.1 Alginato de sódio

O alginato é um polissacarídeo produzido a partir da síntese de bactérias ou pela extração de algas marinhas marrons, sendo um material de grande relevância nas áreas de biomateriais e na produção de curativos por ser um componente em potencial para a aplicação em filmes e coberturas devido às suas propriedades coloidais (WIKLER *et al.*, 2012). Diante disso, o alginato, em suas diversas formas, tem sido utilizado em setores industriais por ser, um polímero natural, biocompatível, não tóxico, biodegradável, e por possuir uma versatilidade na formação de estruturas como membranas, partículas, filmes e hidrogéis (LEE; MOONEY, 2012; LEONARD *et al.*, 2004). Assim, a forma comercial mais utilizada do alginato é obtida a partir da

extração das biomassas de algas em virtude de sua abundância nos corpos hídricos, podendo ser encontradas em espécies como, *Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum* e *Macrocystis pyrifera* (GOH; HENG; CHAN, 2012; PAWAR; EDGAR, 2012).

O alginato de sódio, em termos moleculares, pode ser caracterizado como copolímero binário, não-ramificados, composto por ligações (1→4) de β-D-manurônico (M) e α-L-gulurônico (G), no qual é obtido a partir da reação de uma base forte – hidróxido de sódio – com o ácido algínico - extraído das algas (YANG; XIE; HE, 2011; WIKLER *et al.*, 2012). A sua fórmula molecular genérica pode ser representada como  $(C_6H_7O_6Na)_n$  e ilustrada conforme a Figura 5.

Figura 5- Representação química do alginato de sódio



Fonte: Adaptado de Yang, Xie e He (2011)

Estudos recentes relatam o potencial uso do alginato de sódio como curativo cutâneo para o tratamento de lesões moderadas a graves devido à capacidade de modificar a sua estrutura à medida que reage com o exsudato da ferida, proporcionando um ambiente úmido no leito lesionado, contribuindo para o processo de cicatrização e manutenção da integridade da pele perilesional. Dessa forma, o ambiente úmido gerado pelo curativo de alginato favorece a hemostasia primária ao formar uma película protetora sobre a ferida, mantendo a temperatura e umidade adequadas para o processo de recuperação tecidual (FRANCO; GONÇALVES, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2011). Além disso, segundo Momoh *et al.* (2015), os curativos de alginato têm ocasionado uma melhor cicatrização tecidual devido à potencialização na entrega de proteína terapêutica em feridas e a diminuição das possíveis infecções causadas por bactérias, podendo promover a cicatrização por meio da produção de citocinas que resultam em fatores positivos pró-inflamatórios, e também desenvolvendo uma maior capacidade hemostática e de absorção de exsudatos, além de apresentar moderadas capacidades de retenção de fluidos, transporte do vapor

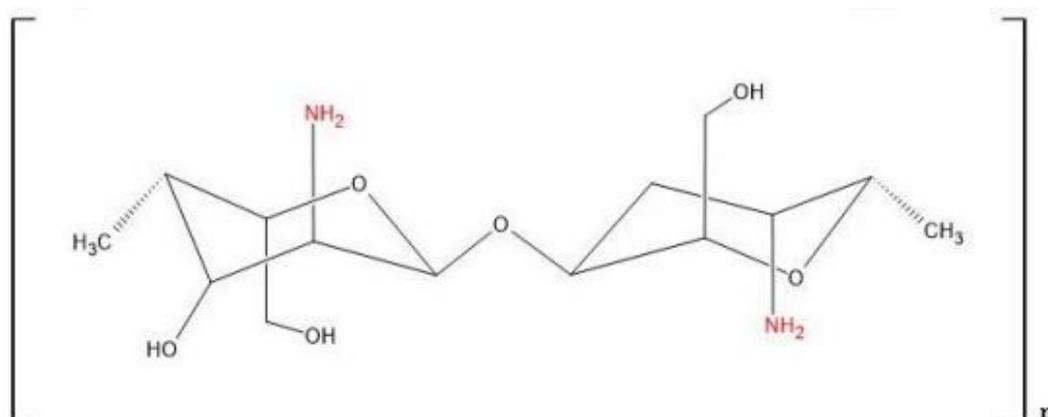
d'água, atoxicidade, biodegradabilidade e moderadas propriedades antissépticas (SUN; TAN, 2013). Podendo ser confeccionado na forma de esponjas, membranas, hidrogéis e filmes d'água (SUN; TAN, 2013).

Neste cenário, a associação do alginato com outros polímeros pode resultar na variação da porosidade e na formatação de sua rede polimérica, o que induz uma melhora no material que constitui o curativo. Essa associação pode ocorrer através da pectina, etilcelulose e a quitosana, que correspondem a polímeros largamente utilizados na produção de membranas para o tratamento de lesões cutâneas (RODRIGUES, 2008).

### 3.3.2 Quitosana

A quitosana é um polímero natural produzido a partir do processo de desacetilação alcalina da quitina, que consiste na reação de hidrólise do grupo acetamido em uma solução básica de hidróxido de sódio. Este polissacarídeo é encontrado nos exoesqueletos de animais, como moluscos – mariscos -, crustáceos – caranguejos e camarões - e na parede celular de alguns fungos - *Mycelia*, *Aspergillus* e *Mucor* (DALLAN, 2005; MALAFAYA; SILVA; REIS, 2007). Em termos moleculares, a quitosana pode ser descrita como um copolímero catiônico, semicristalino, de cadeia linear, composto por ligações de glicosamina ( $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) 2-amino-2- deoxi- $\beta$ -D-glucose) e N-acetil-glicosamina ( $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) 2- acetamido-2-deoxi- $\beta$ -D-glucose) (AZEVEDO *et al.*, 2007), sendo representada genericamente como  $(C_6H_{11}O_4N)_n$  e ilustrada conforme a Figura 6.

Figura 6 - Representação química da quitosana



Fonte: Barreto (2021)

As características e propriedades intrínsecas na estrutura da quitosana têm ocasionado uma ampla aplicação no setor biomédico, sendo utilizado como uma alternativa para o desenvolvimento de novos materiais estruturados e com variadas aplicações, por exemplo, agente hemostático, cicatrizante, analgésico e como matriz para liberação controlada de fármacos (KUMAR; DOMB *et al.*, 2004; AZEVEDO *et al.*, 2007). Dessa forma, dentre as diversas áreas de aplicação, a quitosana tem representado um potencial veículo no tratamento de lesões cutâneas devido à capacidade de estimular o sistema imune na formação de fibras de colágeno e tecido de granulação, que contribui no processo de cicatrização (FRÁGUAS *et al.*, 2015; RINAUDO, 2006; SILVA *et al.*, 2006).

Estudos revelaram que curativos à base de quitosana têm apresentado uma maior adesão na pele perilesional, contribuindo para a manutenção e regeneração celular de diversos tipos de tecidos lesionados, como ossos, cartilagens e a pele (SUH; MATTHEW, 2000; MUZZARELLI *et al.*, 2012). Estes curativos quando aplicados na pele não apresentam reações alérgicas ou inflamatórias (MUZZARELLI *et al.*, 2012), e por sua vez ocasionam uma maior durabilidade, biocompatibilidade, não-toxicidade e uma maior capacidade de absorção de água, além do efeito hemostático, atividade anticoagulante, antifúngica, antiviral e antibacteriana. Assim, os curativos cutâneos de quitosana são considerados materiais biológicos semipermeáveis, que mantêm um ambiente lesionado estéril, diminuindo as possíveis contaminações por bactérias, favorecendo a migração de fibroblastos e promovendo um ambiente úmido para a cicatrização (STONE *et al.*, 2000). Além disso, os curativos à base de quitosana podem ser confeccionados nas formas de esponjas, membranas e hidrogéis.

As membranas de quitosana associada com um ou mais polímeros podem resultar em novos materiais capazes de serem aplicados na engenharia de tecidos e em dispositivos de liberação controlada de fármacos (DASH *et al.*, 2011; STAMATIALIS *et al.*, 2008). Além disso, a combinação dessas membranas com extratos naturais de plantas, flores e frutos podem resultar em um material promissor para aplicação como curativos cutâneos.

### 3.4 Membranas ativas

Em decorrência dos avanços no tratamento de lesões cutâneas, a engenharia de tecidos, nos últimos anos, vem estudando estratégias para a substituição dos curativos tradicionais com o intuito de acelerar o processo de cicatrização (GINDL *et al.*, 2006; NEEL *et al.*, 2012; SARGEANT *et al.*, 2012). Os produtos de origem natural têm sido amplamente utilizados como uma fonte ativa nas membranas auxiliando na aceleração da recuperação do tecido lesionado, além de evitar a contaminação local. Dessa forma, a incorporação de compostos ativos em membranas poliméricas vem suprimindo a crescente demanda de curativos ideais devido à sua natureza biodegradável (GIRARDI, 2005; GINDL *et al.*, 2006).

As membranas ativas são derivadas do processo de aditivação por compostos de fontes naturais, como compostos fenólicos, usualmente extraídos de partes de plantas como folhas, flores e frutos (AZMIR *et al.*, 2013), podendo também ser obtido de resíduos agroindustriais. Estes compostos são incorporados como aditivos na matriz sólida polimérica ou semissólida das membranas para a produção de curativos ativos, os quais possuem uma alta aplicação nos segmentos farmacêuticos e biomédicos (REVERCHON *et al.*, 2009) devido à similaridade do biopolímero com a matriz celular, além de ser biocompatível, antioxidante, antimicrobiano, anti-inflamatório e anestésico.

Estudos têm demonstrado ações positivas das membranas ativadas com compostos naturais em tecido lesionados devido à capacidade de prevenir a desidratação do tecido, acelerar o crescimento de angiogênese, induzir a epitelização e a formação do tecido de granulação, além de facilitar a remoção de tecido necrótico, servindo como uma barreira protetora contra micro-organismo e a perda excessiva de líquidos (FRANCO e GONÇALVES, 2008; NEEL *et al.*, 2012). Assim, a introdução de substâncias ativas em membranas pode agregar maior funcionalidade ao material de acordo com a atividade apresentada por cada composto.

Em uma revisão ampla Tomaz e Moraes (2015) analisaram o comportamento das membranas de quitosana-alginato ao incorporar o extrato de alecrim, no qual observou-se a aplicabilidade deste dispositivo e suas propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias.

Um novo curativo membranoso para cicatrização de feridas a partir da mistura da quitosana com extratos de *Bletilla striata* foi estudado por Liu e Huang (2010), onde

verificaram uma baixa toxicidade nos filmes obtidos, além do crescimento de fibroblastos, apresentando assim testes histológicos favoráveis. Siripatrawan; Harte (2010) obteve uma película ativa com boas propriedades mecânicas e conteúdo polifenólico favorável para a atividade antioxidante, através do filme de quitosana incorporada com extrato aquoso de chá verde. Amal *et al.* (2015) analisaram o papel da membrana de quitosana-colágeno-amido incorporada com extrato aquoso do pericarpo de *Punica granatum* na cicatrização cutânea e observaram que estas membranas poderiam atuar na melhora do processo regeneração das células epiteliais durante a cicatrização de feridas.

O Quadro 3 reporta relatos de alguns autores sobre o comportamento das membranas bicamadas incorporadas com extratos naturais e o seu potencial uso como curativo cutâneo.

Quadro 3 - Membranas bicamadas aditivada com extratos naturais

(Continua)

<b>Polímeros</b>	<b>Extrato natural</b>	<b>Técnica e meio extrator</b>	<b>Proporção de extrato</b>	<b>Característica</b>	<b>Autores</b>
Quitosana e álcool polivinílico	<i>Raízes de C. procera</i>	Agitador magnético (25°C por 48h); metanol	25 - 75 (mg/mL)	As membranas incorporadas com extrato de <i>C. procera</i> apresentaram atividades antimicrobiana e antioxidante promissora para a aplicação como curativo.	Abbas <i>et al.</i> , 2022
Quitosana, alginato e polietileno	<i>Satureja hortensis</i> L.	Agitador magnético (80°C por 1 h); água	50 - 100 (v/v)	O extrato proporcionou atividade antioxidante nos filmes formados	Rahmani <i>et al.</i> , 2017

Quadro 3 – Membranas bicamadas aditivada com extratos naturais (Conclusão)

Polímeros	Extrato natural	Técnica e meio extrator	Proporção de extrato	Característica	Autores
Zeína de milho e nanoargila	Óleo de <i>H. perforatum</i>	-	0,5 - 1,5% (v/v)	A presença do extrato na membrana induziu a migração de fibroblastos que promove a cicatrização de feridas	Gunes <i>et al.</i> , 2020
Quitosana e alginato	Óleo essencial de orégano e as folhas de orégano ( <i>Origanum vulgare</i> )	-	0,25 - 0,5% e 10 - 20% (v/v)	As membranas incorporadas com óleo essencial de <i>Origanum vulgare</i> apresentaram atividade antimicrobiana contra as bactérias <i>Escherichia coli.</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> , além do potencial uso como curativo	Sobczyk <i>et al.</i> , 2021
Quitosana e álcool polivinílico	<i>Centella Asiatica</i>	Maceração (25°C por 24h); etanol	3 (mg/mL)	As membranas com extrato apresentaram uma maior atividade antibacteriana contra <i>Staphylococcus aureus</i> ( <i>S. aureus</i> ) e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e um potencial uso como curativo	Mouro <i>et al.</i> 2020

Fonte: Autora (2022)

Visto isso, as membranas bicamadas apresentaram diversas ações favoráveis para o potencial uso como curativos cutâneos, como atividades antioxidantes, antimicrobiana, migração de fibroblastos, quando incorporadas a extratos naturais. Estudos mostraram, também, que a adição de extratos naturais na camada inferior da membrana aumentou a eficiência na absorção de exsudatos e proporcionou um

ambiente úmido na região perilesional. Além disso, as propriedades morfológicas, térmicas e químicas foram preservadas quando associadas a mais de um polímero, apresentando também a melhora nas taxas de transmissão de vapor d'água (YE MA, LIAN XIN *et al.*, 2017; MOURO *et al.*, 2020; BOULMEDAIS *et al.*, 2003; FU *et al.*, 2005; YUANHAO *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2016; GENTILE *et al.*, 2015; DECHER *et al.*, 2002).

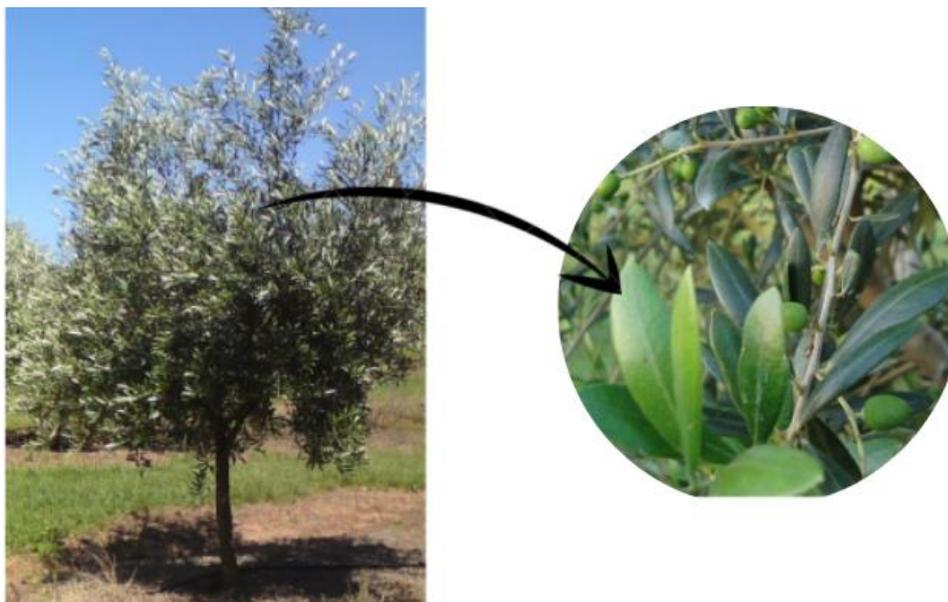
### 3.4.1 Extrato da folha de oliveira

A oliveira (*Olea europaea* L.) é uma planta arbórea nativa da região extensa do Mediterrâneo, sendo a única espécie da família botânica *Oleaceae* que produz frutos comestíveis, a azeitona. O cultivo desta espécie foi difundido para diversos países que possuíam condições climáticas análogas ao de origem (COUTINHO *et al.*, 2015). Dessa forma, no Brasil, a olivicultura foi introduzida no século XIX tendo maior expressividade de produção nas regiões Sudeste e Sul do país em decorrência das características climáticas favoráveis para o cultivo (VIEIRA NETO *et al.*, 2008), apresentando atualmente cerca de 10.000 hectares de área cultivada.

Em um cenário nacional, o Rio Grande do Sul, precisamente a região da Campanha Gaúcha, é considerado o maior produtor de oliveira do país, no qual apresenta mais de 70% de área cultivada. Dessa forma, a olivicultura, nos últimos anos, tem ganhado destaque no agronegócio devido às atividades econômicas significativas geradas pela produção de azeites de oliva e azeitonas de mesa (WREGE *et al.*, 2009; GUINDA *et al.*, 2004).

Neste contexto, além da azeitona e do azeite, a oliveira também fornece as suas folhas, Figura 7, que são fontes ricas de compostos fenólicos, como a oleuropeína e o hidroxitirosol. A oleuropeína é o principal composto obtido da extração das folhas de oliveira, o qual é capaz de atuar em várias atividades farmacológicas devido ao seu efeito hipotensor, antioxidante, hipoglicemiante, hipocolesterolêmico, antitumoral, radioprotetor, anti-inflamatório, antimicrobiano, antiviral (VISIOLI *et al.*, 1998; TRIPOLI *et al.*, 2005; MICOL *et al.*, 2005; ARANTES-RODRIGUES *et al.*, 2011).

Figura 7- Folhas de oliveira



Fonte: Adaptado de Silva (2013)

Além disso, uma das formas de obtenção dessa matéria-prima é por meio da recuperação de resíduos gerados no beneficiamento do azeite (BOUAZIZ *et al.*, 2008). Diante disso, estudos demonstraram que a extração dos compostos presentes nas folhas de oliveira possui propriedades significativas para aplicações na área biomédica, como tratamento de feridas, devido às propriedades antioxidantes e antimicrobianas.

O Quadro 4 irá apresentar as principais informações relatadas por alguns autores sobre as características obtidas do processo de extração das folhas de oliveira.

Quadro 4 – Características do extrato das folhas de oliveira

(Continua)

<b>Autores</b>	<b>Solvente</b>	<b>Característica da extração</b>
<b>Mello; Pinheiro (2012)</b>	Água deionizada	Os extratos processados apresentaram os teores mais altos de fenóis totais e as melhores respostas da avaliação percentual da atividade antioxidante (> 80%). Além disso, apresentaram baixos valores percentuais de atividade quelante (< 30%) e poder redutor (entre 20 – 50%)

Quadro 4 – Características do extrato das folhas de oliveira

(Conclusão)

<b>Autores</b>	<b>Solvente</b>	<b>Característica da extração</b>
<b>Qabaha et al. (2017)</b>	Etanol	Os extratos apresentaram atividades anti-inflamatórias e antibacterianas, quando observadas <i>in vitro</i> , principalmente, devido à presença de oleuropeína no mesmo. Nos testes com micro-organismos apresentou diferentes inibições, como <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>
<b>Samancioglu et al. (2016)</b>	Etanol	O extrato obtido se mostrou efetivo contra 6 dentre 8 cepas de bactérias clinicamente isoladas, nomeadamente: <i>P. aeruginosa</i> , <i>B. cereus</i> , <i>K pneumoniae</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>E. faecalis</i> e <i>S. epidermidis</i> , concluindo que os curativos contendo extratos de folhas de oliveira são uma opção viável no tratamento de feridas de diabéticos
<b>Martiny et al. (2021)</b>	Água	Os extratos obtidos apresentaram excelentes atividades antioxidantes. Além disso, a adição dos extratos nos filmes resultou um incremento na espessura e na permeabilidade ao vapor de água dos mesmos, e a diminuição da tensão na ruptura e na elasticidade
<b>Rosa et al. (2019)</b>	Água e etanol	Os extratos obtidos apresentaram grandes capacidades antioxidantes para a aplicação proposta. Além disso, quando incorporados em filmes apresentaram incremento na capacidade de alongamento, redução na tensão de ruptura e alta permeabilidade a vapor de água, além de boas propriedades de barreira e mecânicas

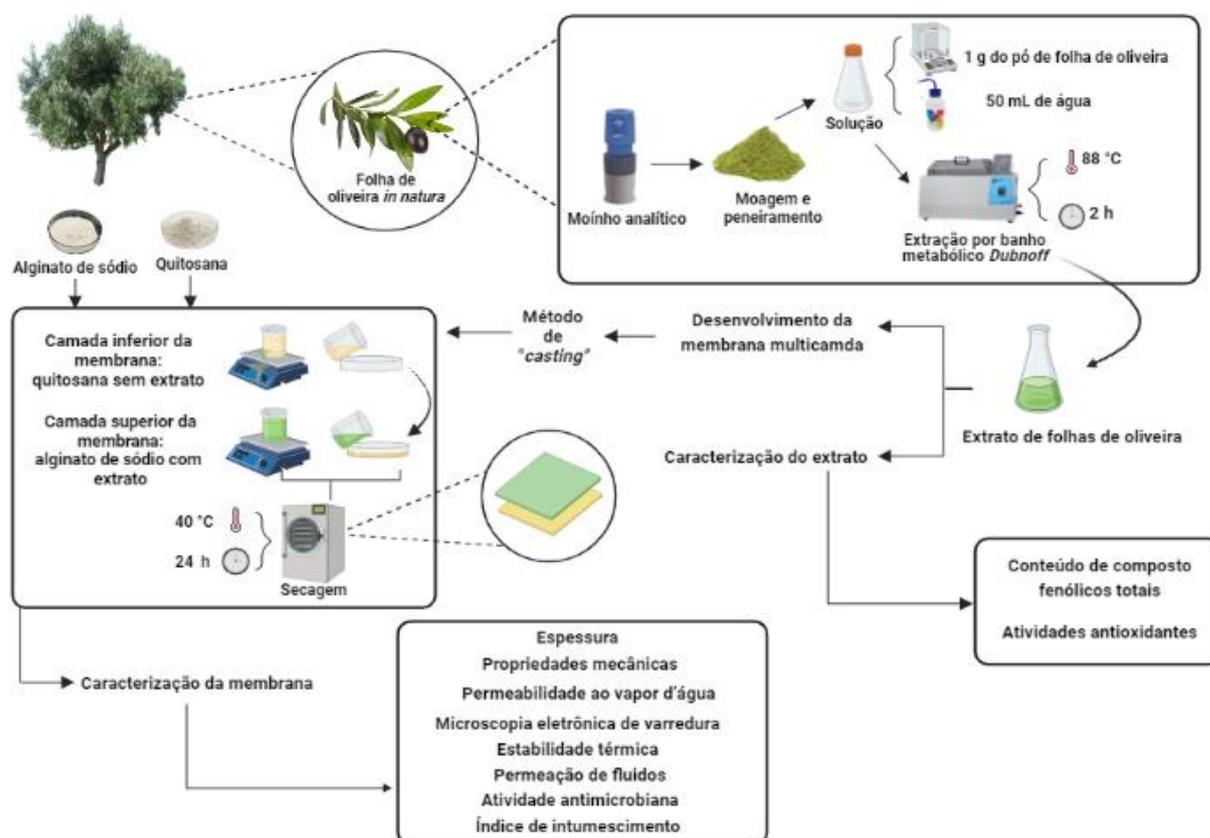
Fonte: Autora (2022)

As folhas são comumente extraídas por meio de uma infusão devido à sua baixa estabilidade química e microbiológica. A infusão pode causar a destruição de vários polifenóis, porém consegue aumentar a concentração de outros compostos fenólicos (Paiva-Martins *et al.*, 2014). Assim, a extração sólido-líquido das folhas de oliveira contendo oleuropeína pode ocorrer através de diversas técnicas como, a extração assistida por ultrassom, a extração assistida por micro-ondas, a extração utilizando fluido supercrítico, sendo possível empregar diversos tipos de solventes (COPPA, 2016).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

Diante dos objetivos propostos, o desenvolvimento das membranas bicamadas com extrato de folhas de oliveira foi dividido em etapas, conforme esquematizado pela Figura 8.

Figura 8- Membranas bicamadas com extrato de folhas de oliveira



Fonte: Autora (2022)

### 4.1 Preparo e obtenção dos extratos de folhas de oliveira

As folhas de oliveira (*Olea europaea* L.) foram coletadas da Estância Guarda Velha, localizada no município de Pinheiro Machado, Rio Grande do Sul. Assim, após a coleta, as folhas Arbequina *in natura* passaram por um processo de higienização com água corrente, solução comercial de hipoclorito de sódio 2% a 2,5% e água destilada esterilizada. Em seguida, as folhas foram secas em estufas à temperatura de 40 °C por um período de 24 h, seguindo a metodologia proposta por Martiny *et al.* (2021). Passado o tempo de secagem as folhas foram moídas em moinho analítico

(IKA® – A11BS32, China), e em seguida realizou-se a padronização granulométrica das folhas de oliveira por meio do peneiramento em peneira de 60 *mesh* fabricadas nos padrões ABNT/ASTM/TYLER (BERTEL INDÚSTRIA METALÚRGICA LTDA., Brasil).

Para obtenção dos extratos das folhas de oliveira (EFO) foi utilizado o processo de maceração dinâmica. Assim, foi pesado 1 g do pó de folhas de oliveiras secas, moídas e peneiradas para cada amostra e adicionados 50 mL de água destilada em *Erlenmeyers*. Os *Erlenmeyers* foram cobertos com papel alumínio para evitar o contato da luz com o sistema extrator (MARTINY *et al.*, 2021).

A extração foi realizada em banho metabólico *Dubnoff* com controle de temperatura e agitação (QUIMIS, Brasil) por um período de 2 h em uma temperatura de 88 °C (MARTINY *et al.*, 2021). Após o tempo de extração, os extratos obtidos passaram-se por uma filtração a vácuo utilizando o filtro de papel como meio filtrante e, em seguida, caracterizados. A Figura 9 ilustra o processo de extração das folhas de oliveira a partir do banho metabólico *Dubnoff*.

Figura 9 – Processo de extração



Fonte: Autora (2022)

## 4.2 Caracterização dos extratos de folhas de oliveira

### 4.2.1 Compostos fenólicos totais

Para determinação dos compostos fenólicos totais (FT) presente nos extratos foi utilizado o método espectrofotométrico descrito por Singleton e Rossi (1965). Dessa forma, utilizou-se 0,5 mL de extrato de folhas de oliveira, 10 mL de água destilada e 1 mL de Folin-Ciocalteu em um tubo de ensaio de 50 mL. Após 5 min, foram adicionados nas amostras 8 mL de solução aquosa de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) a 7,5% (m/v). As amostras foram armazenadas no escuro por um período de 2 h. Posteriormente, foi realizada a leitura de absorvância das amostras em um espectrofotômetro (UV 755B, EQUILAM, Brasil), sendo quantificada no comprimento de onda de 765 nm. As concentrações dos compostos fenólicos totais foram realizadas em triplicatas e expressas em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de matéria seca ( $\text{mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{g}^{-1}$  b.s), realizando também a estimativa dos compostos fenólicos totais através da curva de calibração do ácido gálico (GAE).

### 4.2.2 Atividade antioxidante

Para análise de atividade antioxidante foi determinada a partir da metodologia desenvolvida por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995). Assim, utiliza-se 0,2 mL de extrato de folhas de oliveira, misturando com 7,8 mL de solução de 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) de  $6 \times 10^{-5}$  M, a qual é mantida por 30 min no escuro à temperatura ambiente. O mesmo procedimento foi realizado com uma alíquota de água, a fim de se obter o branco. A absorvância do branco e das amostras dos extratos foram medidas usando um espectrofotômetro (UV 755B, EQUILAM, Brasil) a 517 nm. A atividade antioxidante dos extratos foi calculada usando a Equação 3.

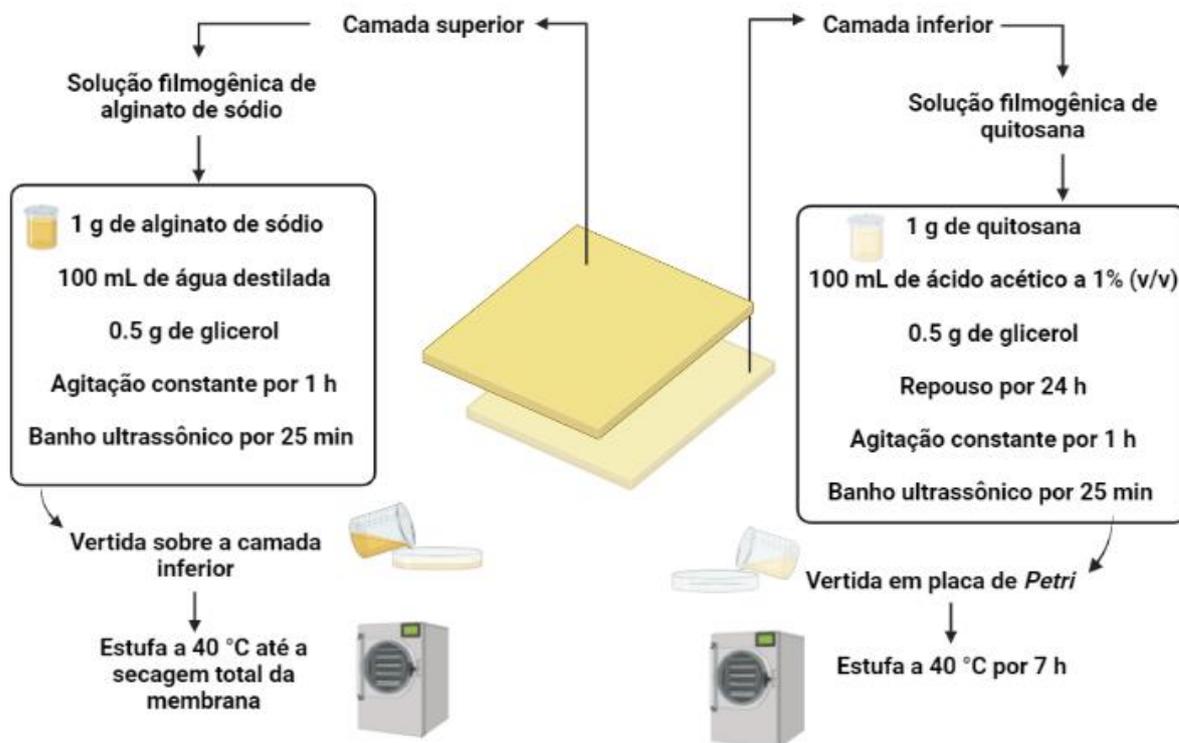
$$AA (\%) = \frac{A_{\text{branco}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{branco}}} \quad (3)$$

onde o AA é a atividade antioxidante  $A_{\text{branco}}$  é a absorvância do branco e  $A_{\text{amostra}}$  é a absorvância das amostras de extrato de folhas de oliveira.

### 4.3 Elaboração das membranas bicamadas

As membranas de alginato de sódio e quitosana foram obtidas pela adaptação do método de deposição de camadas utilizando a técnica *casting* descrita pela metodologia de Paiva (2019) e Wang *et al.* (2019). As soluções filmogênicas foram produzidas a partir da adição de 1 g de quitosana (QI) em 100 mL de ácido acético a 1% (v/v) e 0.5 g de glicerol à temperatura ambiente,  $\pm 25$  °C. Estas soluções permaneceram em repouso por 24 h e posteriormente submetidas a agitação constante (193 rpm) por 15 min até a formação de uma mistura homogênea. Após este período, as soluções obtidas foram postas em banho ultrassônico por 25 min para a eliminação de bolhas. Então, foram vertidas uniformemente em placas de *Petri* de acrílico de 15 cm de diâmetro para a secagem da camada inferior da membrana, a qual foi seca em estufa a 40 °C pelo período de 7 h até a formação de uma superfície consistente. A camada superior foi obtida a partir da dissolução de 1 g alginato de sódio (AS) em 100 mL de água destilada e 0.5 g de glicerol à temperatura ambiente,  $\pm 25$  °C, e submetidas a um sistema sob constante agitação (193 rpm) por 1 h até a formação de uma mistura homogênea. Posteriormente, as soluções foram postas em banho ultrassônico por 25 min para a eliminação de bolhas presentes. Foram então vertidas sobre a primeira camada e levadas à estufa para a secagem total das membranas. Após o processo de secagem, as membranas obtidas foram armazenadas em dessecador com umidade relativa controlada de 50% por no mínimo 48 h, antes de serem caracterizadas. O processo descrito foi ilustrado na Figura 10.

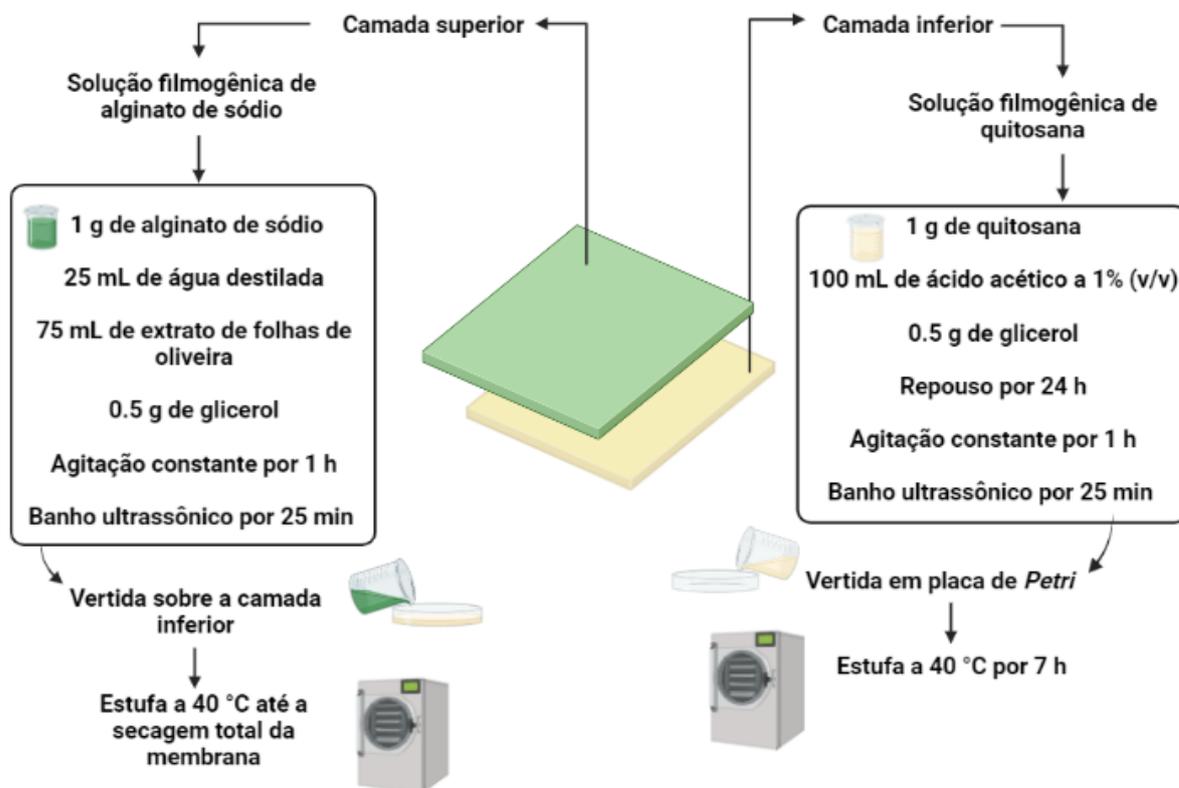
Figura 10 – Representação da membrana bicamada



Fonte: Autora (2022)

Às membranas bicamadas com extrato de folhas de oliveira (MBE) foram obtidas seguindo a metodologia anteriormente descrita, porém, substituindo parte da água usada para solubilizar o alginato de sódio pelo extrato líquido. Assim, a solução filmogênica de alginato de sódio (camada superior da membrana) foi preparada a partir da adição de 75 mL de extrato aquoso de folhas de oliveira e 25 mL de água destilada para a solubilização de 1g de alginato de sódio. Este processo encontra-se ilustrado na Figura 11.

Figura 11 – Representação da membrana bicamada com extrato de folhas de oliveira



Fonte: Autora (2022)

## 4.4 Caracterização das membranas

### 4.4.1 Espessura

A espessura (E) das membranas foi determinada por meio da média aritmética da espessura de dez posições aleatórias sobre a área das membranas, com o auxílio de um micrômetro digital (INISZE-IP65, China).

### 4.4.2 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas das membranas foram determinadas por meio do texturômetro (STABLE MICRO SYSTEM – TA.XT plus, Reino Unido), ilustrado na Figura 12, e célula de carga de 50 N, de acordo com a norma D882- 12, ASTM (2012). As membranas foram cortadas no formato de retângulo, apresentando 100 mm de comprimento e 25 mm de largura. Assim, a distância inicial de separação das garras foi de 50 mm e velocidade de realização do teste foi de 50 mm.min<sup>-1</sup>. Estas análises foram realizadas em triplicatas, na temperatura de  $\pm 25$  °C.

Figura 12 – Análise das propriedades mecânicas através do texturômetro



Fonte: Autora (2022)

A tensão máxima ( $T$ ) e a porcentagem de alongamento na ruptura ( $E\%$ ) serão determinadas pelas Equações 4 e 5.

$$T = \frac{F_m}{A_{min}} \quad (4)$$

$$E\% = \frac{d_r}{d_i} \cdot 100 \quad (5)$$

onde o  $T$  representa a tensão obtida em resposta à tração (MPa), o  $F_m$  é a força máxima medida na ruptura da membrana (N),  $A_{min}$  é a área transversal mínima da membrana ( $m^2$ ), calculada com os valores de largura e espessura,  $E\%$  o alongamento do material,  $d_r$  é a distância na ruptura percorrida pela garra móvel (cm) e  $d_i$  é o afastamento inicial entre as garras (cm).

#### 4.4.3 Índice de intumescimento

O índice de intumescimento ou capacidade de absorção de água das membranas foi realizado através da adaptação das metodologias de Bunhak *et al.* (2007) e Contessa (2020), onde as membranas foram cortadas em 2,5 x 2,5 cm e postas em estufa à temperatura de 60 °C por 24 h. Após o tempo de secagem, as membranas foram pesadas e imersas em meio contendo água destilada por 2 min. As amostras úmidas foram drenadas, para a retirada do excesso de umidade, e pesadas novamente. O índice de intumescimento das membranas foi quantificado seguindo a Equação 8.

$$I = \frac{m_f - m_i}{m_i} \cdot 100 \quad (6)$$

onde I é o intumescimento em %,  $m_i$  é a massa da membrana antes da imersão em água e  $m_f$  é a massa da membrana após a drenagem do excesso de água.

#### 4.4.4 Permeação de fluidos

A permeação de fluidos ou capacidade de drenagem de fluidos (CDF) das membranas foi analisada seguindo a metodologia descrita por Genevro (2017) no qual as membranas foram acondicionadas por 48 h em umidade relativa de 50% e, posteriormente, cortadas em discos de 2,7 cm de diâmetro, pesadas e acopladas nas bordas de copos *Paddington*, conforme a Figura 13, modificados contendo com 20 mL fluido corpóreo simulado (FCS). Foram pesados os tubos e invertidos de modo que as amostras entre em contato com FCS. Essas amostras foram incubadas em estufa dentro de dessecadores contendo sílica gel, por 24 h a 37 °C. No fim do processo foram pesados os tubos avaliando-se a quantidade de fluido drenado pelos biocurativos.

Figura 13 - Dispositivo empregado para a avaliação da capacidade de drenagem de fluido das membranas



Fonte: Autora (2022)

O FCS foi preparado por meio da solução aquosa de cloreto de sódio e cálcio, contendo em solução 142 mmol. L<sup>-1</sup> de íons sódio e 2,5 mmol. L<sup>-1</sup> de íons cálcio.

A capacidade de drenagem de fluidos (CDF) foi determinada pela Equação 7 e 8.

$$MVTR = \frac{m_{im} - m_{fm}}{t \cdot A} \quad (7)$$

$$CDF = \frac{m_{is} - m_{fs}}{t \cdot A} + MVTR \quad (8)$$

onde MVTR é a medida da taxa de transmissão de vapor de umidade (“*Moist Vapour Transmission Rate*”),  $m_{is}$  é a massa inicial do sistema,  $m_{fs}$  é a massa final do sistema após o período de drenagem,  $m_{im}$  é a massa inicial da membrana,  $m_{fm}$  é a massa final da membrana após período de drenagem,  $A$  é a área de contato entre a membrana e o fluido e  $t$  é o tempo decorrido.

#### 4.4.5 Permeabilidade ao vapor d'água

A permeabilidade ao vapor d'água (PVA) das membranas, disposta na Figura 14, foi determinada através do método de gravimetria ASTM E96/E96M-16. Assim, as membranas foram seladas em células de permeação contendo cloreto de cálcio anidro ( $\text{CaCl}_2$ ) e, posteriormente, acondicionadas em dessecadores com umidade relativa de 50% durante 10 dias e monitoradas através da pesagem no primeiro e no último dia de análise. A

A análise de PVA foi calculada a partir da Equação 6.

$$PVA = \frac{m_{ab}}{t} \cdot \frac{e}{A\Delta P} \quad (9)$$

onde PVA é a permeabilidade ao vapor d'água, ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ),  $m_{ab}$  é a massa de umidade absorvida (g),  $t$  é o tempo total da análise (s),  $e$  é a espessura do filme (m),  $A$  é a área da superfície exposta ( $\text{m}^2$ ) e  $\Delta P$  é a diferença de pressão parcial através do filme (Pa).

Figura 14 - Análise de permeabilidade ao vapor de água



Fonte: Autora (2022)

#### 4.4.6 Estabilidade térmica

A estabilidade térmica das membranas foi avaliada por análises termogravimétricas (TGA) utilizando um analisador termogravimétrico (SHIMADZU TGA 50, Japão). Esse ensaio foi realizado utilizando amostras de 5 mg das membranas que foram aquecidas em cápsulas de platina numa faixa entre 30 °C a 900 °C a uma taxa de aquecimento de 10°C.min.<sup>-1</sup> com um fluxo de nitrogênio de 50 ml.min<sup>-1</sup>.

#### 4.4.7 Interações químicas

As interações químicas entre os biopolímeros e o extrato nas membranas foram investigadas empregando-se a técnica de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR – ATR) (SHIMADZU, Japão), na faixa de 400 cm<sup>-1</sup> a 4000 cm<sup>-1</sup> e resolução de 4 cm<sup>-1</sup>.

#### 4.4.8 Microscopia eletrônica de varredura

As membranas foram avaliadas quanto a sua morfologia através da aplicação de películas de ouro nas amostras previamente preparadas, sendo analisadas pela microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Carl Zeiss, EVO MA10).

#### 4.4.9 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana das membranas foi realizada através de testes contra os micro-organismos *Escherichia coli* (gram-negativa) e *Staphylococcus aureus* (gram-positiva), utilizando a Norma M7-A6 (*Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard - Sixth Edition*, 2003). Dessa forma, as membranas foram cortadas no formato circular, 0,9 cm de diâmetro, e esterilizadas por luz ultravioleta (UV). Foram vertidas em placas de Petri 15 mL de meio Ágar Trípico de Soja (TSA) inoculados na superfície com 10<sup>5</sup> UFC/cm<sup>2</sup> de um ou outro micro-organismo testado. As membranas foram dispostas sobre o meio de cultura inoculado e incubadas por 24 h a 35 °C. Após o tempo de

incubação, foram efetuadas as determinações dos halos de inibição formados pelas amostras para cada micro-organismo testado.

#### **4.4.10 Análises estatísticas**

Todos os dados coletados neste trabalho foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão e analisados estatisticamente pelo teste de t com um nível de confiança de 95%. O *software* STATISTICA *Ultimate Academic* (Starsoft Inc, EUA) foi utilizado para análise dos dados.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

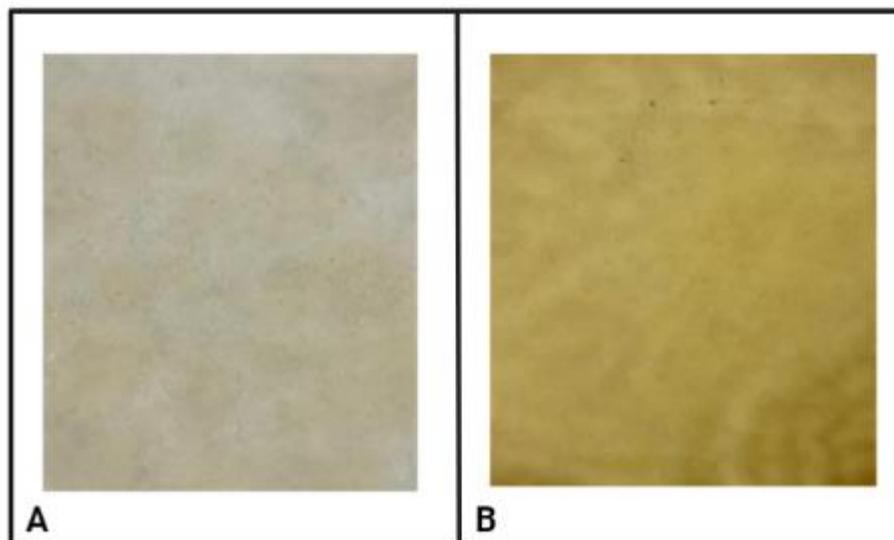
### 5.1 Extração e caracterização dos compostos bioativos das folhas de oliveira

Os resultados obtidos referentes às análises de compostos fenólicos totais (FT) e atividade antioxidante (AA) foram de  $114,49 \pm 3,91 \text{ mg}_{\text{GAE}}.\text{g}^{-1}$  (b.s) e  $94,25 \pm 0,54 \%$ , respectivamente. Abaza *et al.* (2011) e Martiny *et al.* (2019) obtiveram, por meio da técnica de maceração dinâmica utilizando água como solvente, teor de FT correspondente a  $16,52 \text{ mg}_{\text{GAE}}.\text{g}^{-1}$  e  $105,4 \text{ mg}_{\text{GAE}}.\text{g}^{-1}$ , respectivamente. Em comparação com a literatura, o resultado de FT encontrado no presente trabalho foi maior ao obtido pelos autores citados. Esta diferença na concentração de compostos fenólicos totais pode estar relacionada aos parâmetros de extração, os quais podem influenciar o rendimento do processo (GALANAKIS *et al.*, 2010; MUSTAFA & TURNER, 2011). Por sua vez, quanto a atividade antioxidante, o resultado encontrado presente estudo ( $94,25 \pm 0,54 \%$ ) se aproxima ao reportado na literatura por Moudache *et al.* (2016) que obtiveram  $95,4 \pm 0,3 \%$  de atividade antioxidante para o extrato de folhas de oliveira no tempo de 2 h de extração. Com isso, pôde-se concluir que o método de extração utilizado no presente estudo para a recuperação dos compostos fenólicos totais e atividade antioxidante foi eficiente.

### 5.2 Caracterização das membranas bicamadas

Figura 15 ilustra o aspecto visual das bicamadas de quitosana e alginato de sódio com e sem a adição do extrato de folhas de oliveira.

Figura 15- Membrana bicamada (A) controle e (B) com adição de 75% de extrato de folhas de oliveira



Fonte: Autora (2022)

De maneira geral, de todas as membranas bicamadas de quitosana e alginato de sódio sem e com a adição de 75% (v/v) de extrato de folhas de oliveira apresentaram características homogêneas e fáceis de manusear. As membranas bicamadas com adição de extrato apresentaram coloração marrom esverdeada e sem presença de particulados. Enquanto, as membranas bicamadas sem adição de extrato ficaram claras e transparentes. Além disso, as membranas apresentaram aderência entre elas, uma vez que não foi possível identificar a presença das duas camadas visualmente.

A Tabela 1 apresenta os resultados de espessura média das membranas de quitosana e alginato de sódio sem e com extrato de folhas de oliveira.

Tabela 1 – Espessuras das membranas

Membrana	Espessura média (mm)
MBC	0,14 ± 0,02 <sup>a</sup>
BEM	0,22 ± 0,01 <sup>b</sup>

Nota: Os dados relatados são valores médios ± desvio padrão (n = 10). (a – b) Letras diferentes representam diferenças significativas nas colunas (p<0,05) pelo teste t-Student.

Fonte: Autores (2022)

Os materiais com potencial aplicação como curativo cutâneo devem apresentar espessuras compatíveis à da pele, que varia entre 0,07 e 2 mm (DALLAN, 2005;

BIERHALZ; WESTIN; MORAES, 2016). Dessa forma, a partir dos resultados apresentados na Tabela 3, observou-se que a adição do extrato de folhas de oliveira (EFO) na membrana ocasionou um incremento significativo em sua espessura. Este efeito, já esperado, ocorre devido ao aumento linear de massa na solução filmogênica com a adição do extrato (SOBRAL, 2000). O incremento na espessura também foi relatado por Santos (2018) em seu trabalho, onde obteve uma espessura de  $0,134 \pm 0,014$  mm e  $0,252 \pm 0,041$  mm para as membranas monocamadas de quitosana sem e com o pó de noni (*Morinda citrifolia* L.), respectivamente. Trevisol (2018) obteve em suas membranas bicamadas de alginato de sódio e carboximetilcelulose aditivadas com diclofenaco de sódio uma espessura de  $0,115 \pm 0,010$  mm. Os valores de espessura reportados neste trabalho se aproximam dos descritos na literatura. Constatando-se assim, que todas as membranas apresentadas possuem espessuras na faixa de aplicabilidade de um curativo para o tratamento de tecidos lesionados.

Analisando as propriedades mecânicas das membranas de quitosana e alginato de sódio, sem e com extrato de folhas de oliveira, obteve-se, com auxílio do texturômetro, valores de tensão máxima (MPa) e alongamento na ruptura (E%), como ilustrado na Tabela 2.

Tabela 2 – Propriedades mecânicas das membranas bicamadas

<b>Membrana</b>	<b>Tensão máxima (MPa)</b>	<b>Alongamento na ruptura (E%)</b>
MBC	$4,21 \pm 0,90^a$	$9,99 \pm 3,01^a$
MBE	$2,99 \pm 0,24^b$	$14,69 \pm 1,70^a$

Nota: Os dados relatados são valores médios  $\pm$  desvio padrão (n = 3). (a – b) Letras diferentes representam diferenças significativas nas colunas ( $p < 0,05$ ) pelo teste t-Student.

Fonte: Autora (2022)

Verificou-se, a partir da Tabela 2, uma redução significativa na tensão máxima após a adição do extrato. Esta influência também foi observada por Barreto (2021) em seus filmes bicamadas de quitosana aditivados com extrato de casca de jaboticaba (*Plinia cauliflora*), onde relatou a redução da tensão máxima de  $11,02 \pm 3,95$  MPa para  $4,41 \pm 0,57$  MPa nos filmes controle e aditivado, respectivamente. Outros estudos também reportaram a diminuição na tensão máxima de ruptura com incorporação de extrato de henna (YOUSEFI *et al.*, 2017), nitrofurazona (KOUCHAK *et al.*, 2014) e diferentes concentrações de óleos (SOBCZYK *et al.*, 2021) em filmes de quitosana. Esta diminuição também foi notada em filmes à base de alginato de sódio quando incorporados por substâncias como, extrato de ginseng (NORAJIT; KIM; RYU, 2010),

ibuprofeno (THU; NG, 2013; NG; TAN, 2015) e óleo essencial de canela (HAN; YU; WANG, 2017). Em relação ao alongamento na ruptura os resultados indicaram que a presença do extrato aumentou essa propriedade, embora não tenha influenciado significativamente na mesma. Avila *et al.* (2020) também observaram essa semelhança em seus filmes de carragenana incorporados com extrato de casca de jabuticaba, onde o alongamento na ruptura dos filmes controle e com adição de extrato não apresentaram diferença significativo, porém houve-se um aumento com a adição do extrato. Bierhalz; Da Silva; Kieckbusch (2012) e Diniz *et al.* (2011) reportaram em seus estudos de filmes monocamada de alginato de sódio e quitosana alongamento de  $6,59 \pm 0,72$  % e  $5,9 \pm 0,6$  %, respectivamente. Neste contexto, comparando os resultados do presente trabalho com o elaborado pelos autores, constata-se que o desenvolvimento de uma membrana bicamada de quitosana e alginato de sódio proporciona a obtenção de uma membrana com maior alongamento.

Em estudos semelhantes, Santos (2018) produziu membranas monocamadas de quitosana aditivada com diferentes concentrações do pó de noni e obteve para tensão máxima valores na faixa de 2,88 – 2,48 MPa e um alongamento de 79,59 – 65,52%. Momoh *et al.*, (2015) desenvolveram filmes de alginato 1% (m/v) com 2% de glicerol e obtiveram uma resistência a tração de  $6,12 \pm 0,11$  MPa e um alongamento de  $38,84 \pm 0,86$ %. Em sua pesquisa Trevisol (2018) obteve para membranas bicamadas de alginato de sódio 50% (m/v) e 50% de carboximetilcelulose (m/v) um alongamento na ruptura de  $28,85 \pm 6,16$ % e uma tensão máxima de  $15,54 \pm 3,40$  MPa.

Os valores reportados na literatura para resistência à tração são em geral superiores aos obtidos no presente trabalho. Esta ocorrência pode ser associada às diferenças de espessura das membranas e interação entre as propriedades poliméricas. Porém, cabe ressaltar que, a faixa de aplicabilidade dos curativos para pele lesada é entre 2,5 e 16 MPa (WANG *et al.*, 2002), mostrando assim que as formulações apresentadas são aptas para aplicação como curativo de acordo com a sua resistência à tração. Os valores de alongamento encontrados no estudo, por sua vez, são considerados baixos para a finalidade proposta, uma vez que o valor de alongamento da pele humana é de aproximadamente 70% (HANSEN; JEMEC, 2002). Isso pode ser explicado devido às propriedades de alongamento estarem sendo avaliadas em membranas secas, condição potencialmente diferente daquela usada na aplicação final, uma vez que as membranas produzidas podem absorver entre 11

e 19 vezes o seu peso em água, atuando como plastificante na matriz polimérica, melhorando tal propriedade (RODRIGUES *et al.*, 2008).

Os resultados para o índice de intumescimento, permeação de fluido e permeabilidade ao vapor d'água das membranas bicamadas de quitosana e alginato de sódio sem e com adição de extrato são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Índice de intumescimento, permeação de fluido e permeabilidade ao vapor d'água das membranas

Membrana	Índice de Intumescimento (%)	Permeação de fluidos (g.m <sup>-2</sup> .h <sup>-1</sup> )	PVA (g.m <sup>-1</sup> . Pa <sup>-1</sup> . s <sup>-1</sup> )
MBC	189,19 ± 1,13 <sup>a</sup>	1959,93 ± 17,52 <sup>a</sup>	1,46.10 <sup>-11</sup> ± 1,93.10 <sup>-12a</sup>
BEM	213,42 ± 7,88 <sup>b</sup>	2083,47 ± 13,56 <sup>b</sup>	2,81.10 <sup>-11</sup> ± 1,99.10 <sup>-11a</sup>

Nota: Os dados relatados são valores médios ± desvio padrão (n = 3). (a – b) Letras diferentes representam diferenças significativas nas colunas (p<0,05) pelo teste t-Student.

Fonte: Autora (2022)

Analisando os valores encontrados para o ensaio de intumescimento, apresentado na Tabela 3, constatou-se que a adição de extrato interferiu de forma significativa no intumescimento da membrana em relação a controle. Este comportamento hídrico na membrana MBE pode estar relacionado ao caráter hidrofílico da oleuropeína presente no extrato de folhas de oliveira (BONACCI *et al.*, 2018, 2005; BEZERRA, 2018). Santos (2018) também evidenciou que a incorporação de bioativos naturais (óleos: cravo e melaleuca; sucos e pós: caju e noni) aumentou o percentual de intumescimento de suas membranas monocamada quando comparado a controle. Bueno (2019) em seus filmes monocamada de alginato de sódio incorporado com *Acmella oleracea*, reportou um índice de intumescimento final de 262 ± 1,69 % ao realizar a análise por 40 min. Gomes Neto *et al.* (2015) obtiveram um índice de intumescimento de 267,9 ± 29,1 % em membranas microestruturadas de quitosana e glucomanana.

O intumescimento de um curativo é considerado como fator determinante para a hemostasia e difusão de nutrientes e células durante o processo de cicatrização (THEIN-HAN; KITIYANANT, 2007). Dessa forma, desenvolver materiais com capacidade de se manterem úmidos, bem como absorverem fluidos, são fatores essenciais na composição de um curativo cutâneo. A fim de se obter estas

características, o índice esperado de intumescimento de um curativo, segundo Morgado *et al.* (2017), deve se encontrar em uma faixa entre 100 % a 900 %. Neste contexto, as membranas bicamadas estudadas encontram-se dentro da faixa de aplicabilidade para um curativo cutâneo conforme o seu índice de intumescimento.

A partir dos resultados apresentados de permeação de fluido, Tabela 3, observa-se que a MBC apresentou menor permeação em relação à MBE, diferindo-se estatisticamente. Esta melhora na permeação, como observado também no índice de intumescimento, das membranas aditivadas com extrato de folhas de oliveira pode estar associada, possivelmente, a incorporação de compostos bioativos na matriz polimérica, ocasionando uma maior permeação de água. Genevro (2017) obteve permeação máxima de  $3530,8 \pm 1663,3 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$  em membranas monocamadas de *glucomanana konjac*.

Para se atingir taxas ideais de cicatrização de feridas a umidade na região perilesional deve ser controlada. Neste contexto, a taxa de permeação de fluidos é um fator importante para o desenvolvimento de curativos, uma vez que estes são parâmetros capazes de impedir o acúmulo de exsudatos e a desidratação excessiva da lesão. Dessa forma, segundo Kimura *et al.* (2016), feridas com tecido de granulação e queimaduras de terceiro grau geram entre 3400 e 5100 g de exsudato em um período de 24 h. Assim, os resultados de permeação apresentados neste estudo demonstram que as membranas MBC e MBE não comportariam o alto volume de exsudatos gerados no processo de cicatrização de lesões como, queimadura de terceiro grau. No entanto, para lesões de menor severidade, como queimaduras de primeiro grau, os valores de permeação de fluidos obtidos nas membranas bicamadas encontram-se dentro da aplicabilidade,  $278,4 + 26,4 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$  (LAMKE *et al.*, 1977 *apud* RAINHA *et al.*, 1987). Analisando o MVTR das membranas do presente estudo foi possível observar que a taxa de transmissão de vapor de umidade foi de  $2207,28 \pm 4,54$  e  $2094,33 \pm 17,08 \text{ g.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$  para a MBC e MBE, respectivamente. Thomas; Young (2008) avaliaram as propriedades de dois curativos comerciais o ActivHeal (*Advanced Medical Solutions*) e o Allevyn Adhesive (*Smith & Nephew*), e verificaram um MVTR de 1670 e 12350  $\text{g.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$  para o ActivHeal e o Adesivo Allevyn, respectivamente. Neste contexto, comparando os valores dos autores constatou-se que os resultados do presente estudo se encontram próximos ao obtido para o curativo comercial ActivHeal. Dessa forma, o desenvolvimento de membranas bicamadas

aumentou a capacidade do material permear/drenar o excesso de umidade, tornando assim uma alternativa promissora para a aplicação como curativo cutâneo, uma vez que a permeação adequada de umidade sem riscos de desidratação excessiva e acúmulo de exsudatos nas feridas encontra-se na taxa de 2000-2500 g.m<sup>-2</sup>.h<sup>-1</sup> (RAINHA *et al.*,1987).

Figura 16 – Ensaio de permeação de fluidos das MBC e MBE



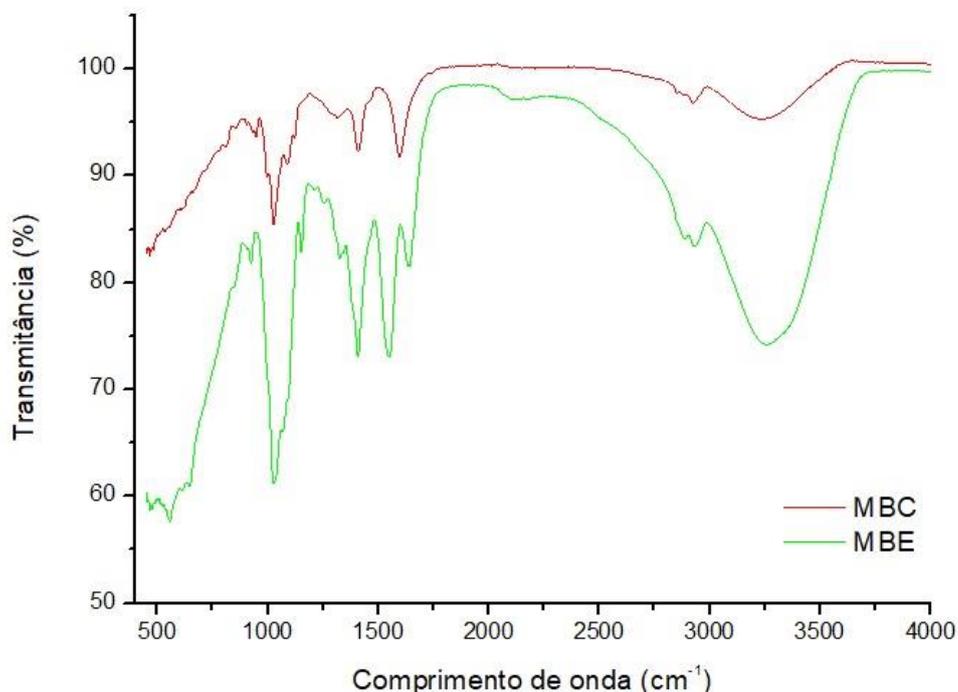
Fonte: Autora (2022)

A Figura 16 representa o aspecto visual das membranas após o ensaio de permeação de fluidos, indicando que houve a conservação da estrutura física destas após os testes. Em relação à permeabilidade ao vapor d'água, verificou-se um aumento na taxa de PVA das membranas MBE, apresentando valor de  $2,81 \cdot 10^{-11}$  g.m<sup>-1</sup>. Pa<sup>-1</sup>. s<sup>-1</sup>, enquanto a MBC apresentou valor de  $1,46 \cdot 10^{-11}$  g.m<sup>-1</sup>. Pa<sup>-1</sup>. s<sup>-1</sup>, embora a presença do extrato não tenha interferido de forma significativa, segundo análise estatística dos dados. Pode-se inferir que a adição do extrato de folhas de oliveira ocasionou um aumento na capacidade de permeabilidade ao vapor de água em decorrência das interações moleculares entre o extrato e o polímero. Além disso, a concentração do extrato pode ter aumentado a porosidade da cadeia polimérica, resultando em uma taxa de PVA maior, uma vez que a difusão do vapor de água ocorreu com mais facilidade (ANIRUDHAN, 2018; MOURA; MATTOSO;

ZUCOLOTTI, 2012; RHIM *et al.*, 2014). Os resultados obtidos no presente estudo foram inferiores aos reportados por Benvegnú (2022) que desenvolveu filmes à base de carragenana e incorporados com extrato etanólico e aquoso de própolis marrom, onde obteve uma faixa de permeabilidade entre  $5,00 \cdot 10^{-11}$  a  $3,75 \cdot 10^{-11}$   $\text{g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ . Esta diferença pode estar associada à propriedade de barreira que o extrato propiciou às membranas, reduzindo assim a difusividade do vapor. Barreto (2021) elaborou filmes bicamadas à base de quitosana contendo extrato da casca de jabuticaba, onde observou uma permeabilidade de  $1,85 \cdot 10^{-10}$   $\text{g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  e  $1,84 \cdot 10^{-10}$   $\text{g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  para a membrana pura e com a adição do bioativo, respectivamente. Dessa forma, analisando os valores de PVA obtido pela autora, verificou-se que o desenvolvimento de blendas bicamadas promoveu a maior capacidade de permeação ao vapor de água. No entanto, quando comparados ao presente trabalho encontram-se abaixo do reportado. Esta diferença pode estar relacionada às características físico-químicas das soluções filmogênicas e as condições de processamento, podendo afetar significativamente as propriedades do material (LUO; WANG, 2014).

A interação química entre as camadas da membrana e o extrato de folhas de oliveira foi investigada por análise FTIR-ATR, conforme apresentado na Figura 17.

Figura 17 - Espectros FTIR-ATR das membranas bicamadas de quitosana e alginato de sódio controle (MBC) e com extrato de folha de oliveira (MBE)



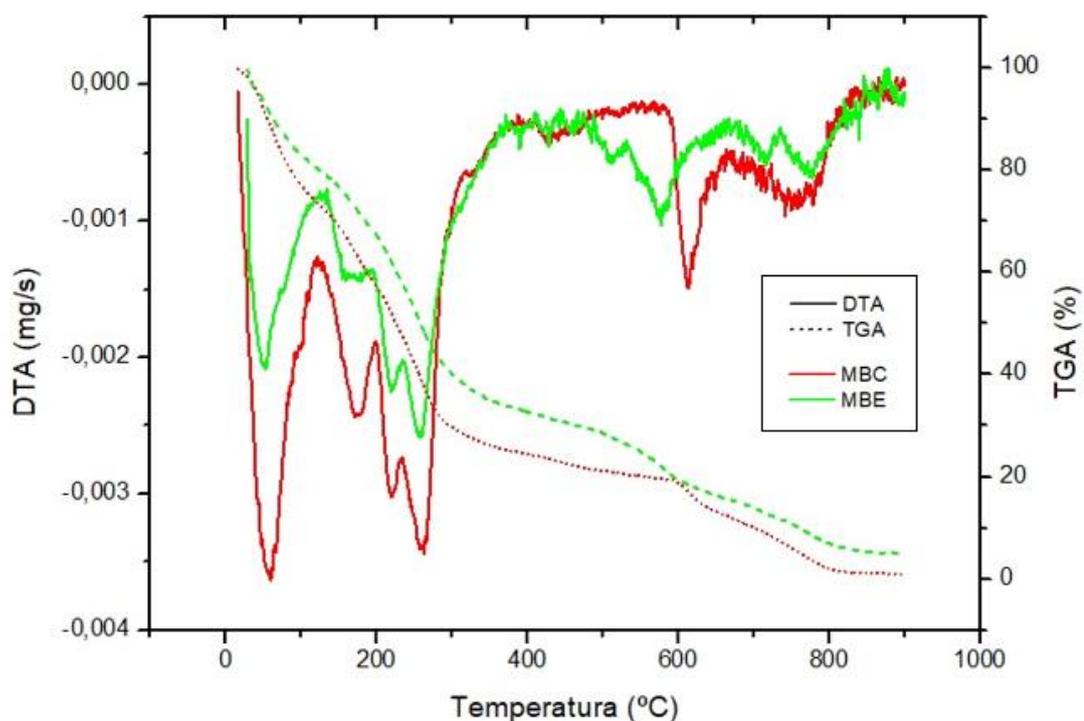
Fonte: Autora (2022)

Ao analisar os espectros de FTIR para as membranas MBC e MBE, pode-se observar que ambos os espectros mostraram bandas largas entre 3000 e 3500  $\text{cm}^{-1}$ , que são relacionadas às vibrações de estiramento O-H de grupos hidroxilas presentes nos polissacarídeos, como quitosana e alginato de sódio, e na água (KITI; SUWANTONG, 2020; WANG *et al.*, 2007; CHANG *et al.*, 2010; LI *et al.*, 2012). Além disso, são observados maiores picos no trecho O-H para as membranas MBE, em relação à MBC, podendo estes estarem relacionados aos compostos presentes no extrato, como por exemplo, a oleuropeína (MARTINY *et al.*, 2020). A banda larga em torno de 2.800 e 3.000  $\text{cm}^{-1}$  foi atribuída ao estiramento C-H (REN *et al.*, 2016), sendo mais pronunciada no espectro da membrana MBE devido aos grupos adicionais do extrato. Em particular, o espectro MBE apresentou pico característico ao grupo amida estiramento do grupo C-N e deformação angular da ligação N-H em 1540  $\text{cm}^{-1}$ . Outras bandas de vibração características foram observadas nos espectros MBC e MBE, como o grupo carboxilato, onde observa-se um estiramento assimétrico em 1600  $\text{cm}^{-1}$  e simétrico em torno de 1420  $\text{cm}^{-1}$ , e a vibrações de estiramento C-O que representa o alongamento em 1030  $\text{cm}^{-1}$  (ZHU; WU; SUN, 2019).

Os picos observados no presente estudo são similares aos resultados encontrados por outros autores em materiais à base de quitosana e alginato de sódio (SOBCZYK *et al.*, 2021; ZHU; WU; SUN, 2019; YAN *et al.*, 2022; KITI; SUWANTONG, 2020). Além disso, os picos obtidos a partir da MBC apresentaram pouco deslocamento das bandas, quando comparados ao espectro da membrana com adição de extrato. Esta mudança pouco significativa entre os picos nas amostras, pode ser explicada através das interações eletrostáticas entre os vários grupos funcionais presentes nas membranas de quitosana e alginato de sódio, sobretudo por ligações de hidrogênio, que ocasionam a sobreposição dos espectros (KUILA; RAY, 2014).

A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada para avaliar a decomposição térmica das membranas. As curvas de TGA e análise térmica diferencial (DTA) das membranas bicamadas sem e com adição de extrato de folhas de oliveira são mostradas na Figura 18.

Figura 18 - Curvas termogravimétricas das membranas bicamada sem e com adição de extrato de folhas de oliveira



Fonte: Autora (2022)

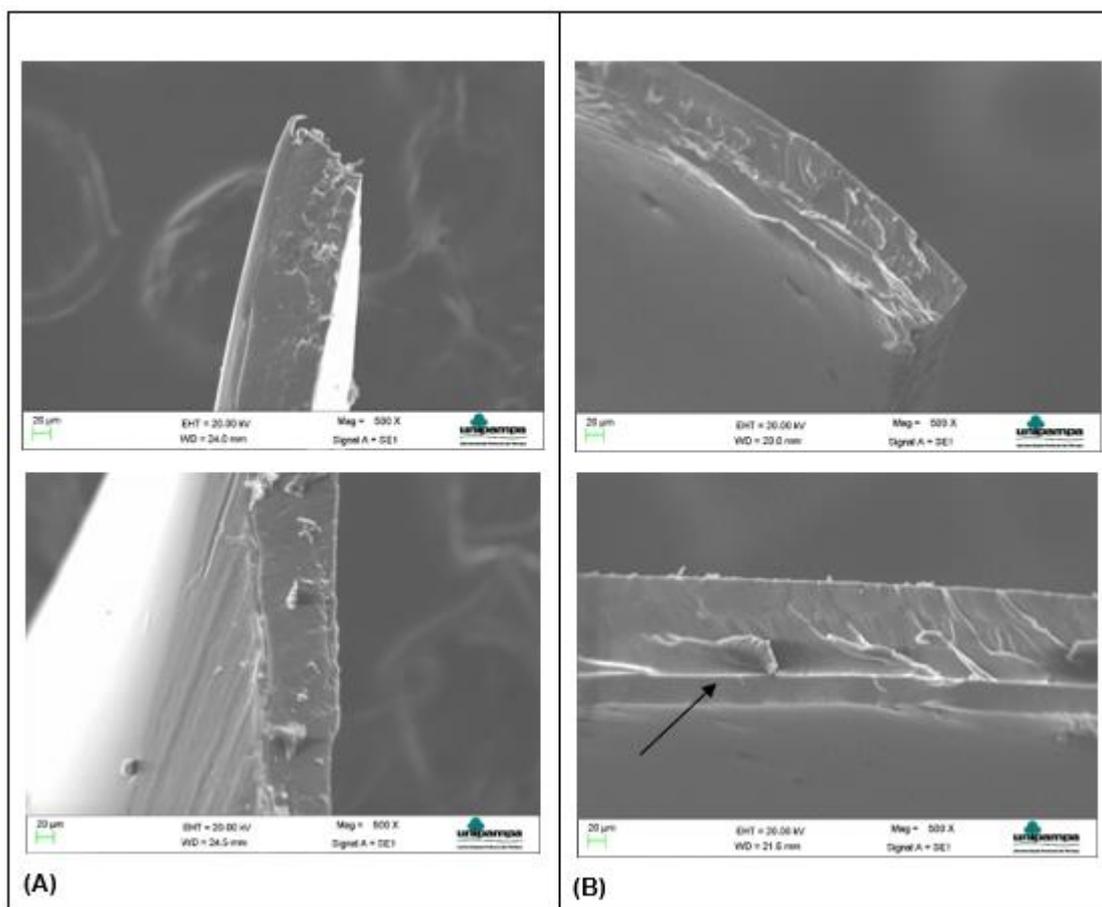
Analisando as curvas TGA, estas revelam que a membrana MBC se decompõe de forma semelhante à MBE. O primeiro estágio, abaixo de 100 °C, para ambas as

amostras são atribuídas à desidratação residual, como evaporação de água e componentes voláteis (KONG; SONG, 2019). O segundo estágio é atribuído à decomposição do glicerol, segundo Dou *et al.*, 2009. O terceiro estágio encontrou-se na faixa entre 190 – 230 °C com o pico em 210 °C, podendo estar relacionado à degradação das cadeias poliméricas do alginato de sódio (SARMENTO *et al.*, 2006). Siddaramaiah *et al.* (2008) e Bierhalz; Moraes (2016) reportaram valores de degradação para alginato de sódio em 235 °C e 246 °C, respectivamente. O quarto estágio de perda de massa foi observado na faixa entre 250 – 300 °C com o pico em 280 °C, o qual foi relacionado à desidratação dos anéis sacarídicos, despolimerização e decomposição das unidades acetiladas (ZHANG; ZHAO, 2015). Já o quinto estágio das membranas (MBC e MBE), encontrados próximos a 580 °C e 600 °C, representam os valores de massa residual da degradação incompleta dos compostos inorgânicos presentes em cada polímero. A MBE apresentou um pico em 500 °C, o qual foi atribuído a taxa de degradação do extrato de folhas de oliveira. Erdogan; Demir; Bayraktar (2015), observaram massa não degradada a 600 °C, estimando que a degradação seria completa em temperaturas superiores a 800 °C. Ao fim da análise de estabilidade térmica, constatou-se que a membrana sem adição do extrato (MBC) foi totalmente degradada após 800 °C, enquanto a membrana incorporada com extrato (MBE) apresentou 5% de sua massa não degradada. Este comportamento pode estar correlacionado, possivelmente, ao aumento da resistência à degradação térmica da membrana após a incorporação do extrato de folhas de oliveira.

As membranas também foram avaliadas quanto ao seu potencial antimicrobiano, uma vez que as infecções por micro-organismos são a maior causa do retardo no crescimento dos tecidos de reparação (GANESH *et al.*, 2014). Dessa forma, as análises microbiológicas do presente trabalho foram realizadas a fim de determinar a capacidade de inibição das membranas bicamadas de quitosana e alginato de sódio com e sem a presença do extrato de folhas de oliveira frente às bactérias gram-positiva e gram-negativa, comumente encontrados em feridas (PAIVA, 2010).

A Figura 19 mostra as micrografias eletrônicas de varredura (MEV) das membranas MCB e BEM.

Figura 19: Imagens de MEV da seção transversal da membrana bicamada controle (A) e com adição de extrato (B)

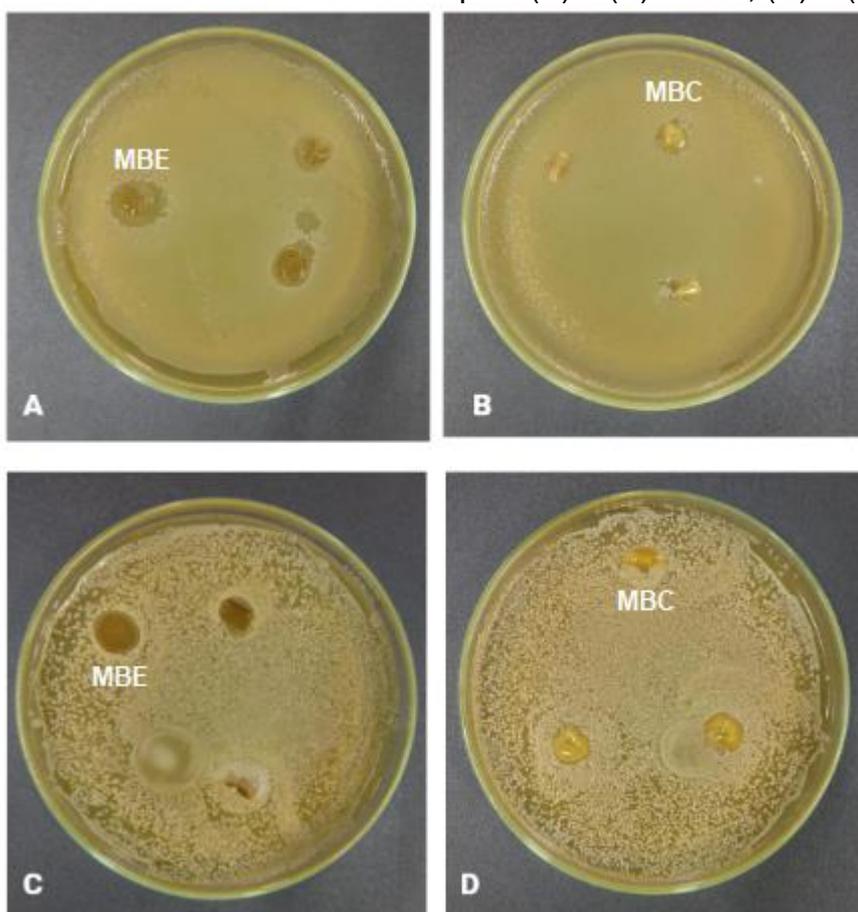


Fonte: Autora (2022)

Através das imagens de microscopia da superfície das membranas é possível observar semelhança entre a morfologia de ambas as amostras, apresentaram superfícies homogêneas. Através do resultado obtido em MBE é possível visualizar a presença de uma interface correspondente às duas fases presentes no material, sugerindo que a morfologia de cada polímero foi conservada. Ainda, não foi observada a separação das camadas, o que pode ser considerado um ponto positivo. Trevisol (2018) desenvolveu membranas bicamadas de alginato de sódio e carboximetilcelulose e observou através da micrografia de seção transversal uma interface bem definida entre as camadas superior e inferior.

A Figura 20 ilustra a análise microbiana das membranas bicamadas com e sem extrato de folhas de oliveira. Já os valores dos halos inibição frente aos micro-organismos estudados são apresentados na Tabela 4.

Figura 20 – Análise microbiana contra às cepas: (A) e (B) *E. coli*; (C) e (D) *S. aureus*



Fonte: Autora (2022)

Tabela 4 – Halos de inibição medidos

Membrana	Diâmetro do halo de inibição (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
MBC	0,0	0,0
MBE	0,0	12,19 ± 0,98

Fonte: Autora (2022)

Comparando as atividades antimicrobianas das membranas com e sem adição do extrato, verificou-se que a MBE apresentou halos de inibição frente ao microorganismo *Escherichia coli*, indicando que houve atividade inibitória nas membranas. Dessa forma, a incorporação do extrato na matriz polimérica conferiu propriedades antimicrobianas ao material. Esta capacidade de inibição do extrato de folhas de oliveira está atribuída à alta concentração de oleuropeína e de compostos fenólicos totais presentes em sua estrutura. Em resultados similares, Bonilla e Sobral (2016) verificaram halo de inibição entre 21 a 26 mm para *S. aureus* e *E. coli* em seus filmes de gelatina e quitosana incorporados de extrato de alecrim, canela, boldo e guaraná.

Benvegnú (2022) reportou atividade antimicrobiana de seus filmes de carragenana incorporados com extrato etanólico de própolis frente à cepa *E.coli* com halos de inibição de 6,22 mm. Enquanto, as membranas de quitosana e alginato de sódio sem adição de extrato não exibiram atividades antimicrobianas para nenhuma das duas cepas estudadas. Esta ausência de halos de inibição também foi reportada por Luciano (2020) em seus filmes mono e bicamada de gelatina pura. Bonilla e Sobral não verificaram halo de inibição para *S. aureuse E. coli* em filmes de gelatina. Enquanto, Galindo *et al.* (2019) constataram a presença de halos de inibição apenas nos filmes de quitosana e gelatina contendo óleos essenciais de alecrim e orégano, onde os halos variaram entre 18 e 30 mm frente à *E. coli* e entre 20 e 47 frente à *S. aureus*.

## 6 CONCLUSÃO

Conclui-se que, a extração dos compostos bioativos presentes nas folhas de oliveira (EFO) apresentou-se satisfatória, uma vez que os valores de atividade antioxidante ( $94,252. \pm 0,538 \%$ ) e compostos fenólicos totais ( $114,489 \pm 3,909 \text{ mg}_{\text{GAE}}.\text{g}^{-1}$ ) foram próximos a valores apresentados pela literatura.

O desenvolvimento das membranas bicamadas de quitosana e alginato de sódio, realizado a partir da técnica de casting, resultou em membranas homogêneas, uniformes, aderência entre as camadas e de fácil remoção das placas. Em relação, ao processo de caracterização das membranas, verificou-se que a adição do EFO na matriz polimérica da membrana promoveu um aumento da espessura da MBE (0,218 mm) em relação à MBC (0,145 mm). Foi possível observar também que, a adição do extrato diminuiu a tensão de ruptura das membranas de 4,214 MPa e 2,994 MPa para as MBC e MBE, respectivamente, enquanto o percentual de alongamento aumentou de 9,990% para 14,686% da membrana controle em relação a membrana com EFO.

No entanto, a incorporação do EFO influenciou positivamente no índice de intumescimento da membrana, na permeação de fluidos e na taxa de transmissão de vapor de umidade (MVTR), onde os valores obtidos para estes testes foram de 189,197% para a MBC e 213,421% para a MBE, respectivo ao intumescimento,  $1959,929 \text{ g}.\text{m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$  e  $2083,470 \text{ g}.\text{m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$  para o ensaio de permeação de fluido para as MBC e MBE, respectivamente. Já os valores de MVTR para as membranas MBC e MBE foram de 2207,285 e 2094,329  $\text{g}.\text{m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$ , respectivamente. Notou-se também, que a adição do EFO na matriz polimérica não causou impacto significativo nos resultados de permeabilidade ao vapor de água, obtendo-se valores de  $1,456.10^{-11} \text{ g}.\text{m}^{-1}.\text{Pa}^{-1}.\text{s}^{-1}$  para MBC e  $2,810.10^{-11} \text{ g}.\text{m}^{-1}.\text{Pa}^{-1}.\text{s}^{-1}$  para MBE.

Diante das análises de FTIR observou-se os grupos funcionais presentes nos polímeros e os compostos fenólicos presentes na MBE, comprovando assim presença do EFO na mesma. Enquanto, as análises termogravimétricas mostraram que a incorporação do extrato não influenciou na temperatura de degradação, onde a maior perda de massa ocorreu na faixa de 210 a 300 °C. De acordo com a microscopia eletrônica de varredura, as membranas apresentaram superfícies homogêneas. Além disso, foi possível visualizar a presença das duas camadas no material, sugerindo a

conservação morfológica de cada polímero. Ainda, as membranas contendo EFO foram capazes de formar halos de inibição (12,189 mm) frente à cepa Gram-negativas (*Escherichia coli*), evidenciando o caráter antimicrobiano do extrato de folhas de oliveira, bem como propriedades antimicrobianas ao material.

De acordo com os resultados obtidos, constatou-se que as membranas estudadas se mostraram como um material promissor para aplicação como curativos cutâneos. Em destaque a membrana MBE devido à sua capacidade de promover inibição antimicrobiana, além das ótimas propriedades de intumescimento, drenagem de fluidos e taxas de transmissão de vapor, impedindo o acúmulo de exsudatos e a desidratação excessiva da lesão. Constatando-se como um material potencialmente favorável para a aplicação como curativo para feridas.

## 6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Produzir membranas em diferentes métodos além de casting.
- Realizar análises de barreira ultravioleta visível nas membranas.
- Realizar outros testes *in vitro*, como atividade anti-inflamatória e testes *in vivo* para comprovação da eficácia do poder cicatrizante das membranas elaboradas.
- Estudar a incorporação de outros compostos simultaneamente ao extrato de folhas de oliveira, como fármacos.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, M. et al. Chitosan-polyvinyl alcohol membranes with improved antibacterial properties contained *Calotropis procera* extract as a robust wound healing agent. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 15, n. 5, p. 103766, maio 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S187853522200082X>. Acesso em: 24 fev. 2022.

ABOU NEEL, E. A. et al. Collagen — Emerging collagen based therapies hit the patient. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 65, n. 4, p. 429–456, abr. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169409X12002542>. Acesso em: 24 fev. 2022.

AMAL, B.; ET AL. Preparation and characterisation of *Punica granatum* pericarp aqueous extract loaded chitosan-collagen-starch membrane: role in wound healing process. **Journal of Materials Science: Materiais em Medicina**, v. 26, n. 5, p. 181, 2015. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10856-015-5515-2>. Acesso em: 24 fev. 2022.

ANTOSIAK-IWAŃSKA, M. et al. Polyelectrolyte Membrane with Hydroxyapatite and Silver Nanoparticles as a Material for Modern Wound Dressings. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 16, n. 5, p. 702–714, 1 maio 2020. Disponível em: <https://www.ingentaconnect.com/contentone/asp/jbrn/2020/00000016/00000005/art00012>. Acesso em: 2 mar. 2022.

ARANTES-RODRIGUES, R. et al. High doses of olive leaf extract induce liver changes in mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 9, p. 1989–1997, set. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278691511001980>. Acesso em: 22 fev. 2022.

AVILA, L. B. et al. Carrageenan-Based Films Incorporated with Jaboticaba Peel Extract: An Innovative Material for Active Food Packaging. **Molecules**, v. 25, n. 23, p. 5563, 27 nov. 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/23/5563>. Acesso em: 8 mar. 2022.

AZEVEDO, V. V. C. et al. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2, n. 3, p. 27–34, 2007. Disponível em: [www.dema.ufcg.edu.br/revista](http://www.dema.ufcg.edu.br/revista). Acesso em: 22 fev. 2022.

AZMIR, J. et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426–436, ago. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0260877413000277>. Acesso em: 22 fev. 2022

BARRÈRE, F. et al. Advanced biomaterials for skeletal tissue regeneration: Instructive and smart functions. **Materials Science and Engineering: R: Reports**, v. 59, n. 1–6,

p. 38–71, fev. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0927796X07001234>. Acesso em: 11 fev. 2022.

BARRETO, Elis Regina Correa. Filme biopolimérico multicamada à base de quitosana incorporado com compostos bioativos da casca de jabuticaba (*Plinia cauliflora*) Orientador: Gabriela Silveira da Rosa. 2021. 73 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia Química) - Universidade Federal do Pampa, Curso de Engenharia Química, Bagé, 2021. Disponível em: <https://repositorio.unipampa.edu.br/jspui/handle/riu/5982>. Acesso em: 25 jul.2022.

BAYER, M. L. et al. No donor age effect of human serum on collagen synthesis signaling and cell proliferation of human tendon fibroblasts. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 133, n. 5, p. 246–254, maio 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0047637412000243>. Acesso em: 11 fev. 2022.

BENVEGNÚ, Isadora Antonov. **Filme biopolimérico utilizando extrato de própolis marrom como agente ativo**. Orientador: Gabriela Silveira da Rosa. Coorientador: Caroline Costa Moraes. 2021. 73 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia Química) - Universidade Federal do Pampa, Curso de Engenharia Química, Bagé, 2021. Disponível em: <https://repositorio.unipampa.edu.br/jspui/handle/riu/7025>. Acesso em: 30 jul. 2022.

BERNADES, R. M.; CALIRI, M. H. L. Recurso educacional online sobre prevenção e manejo da lesão por pressão. **Feridas Crônicas**, 2020. Disponível em: [http://eerp.usp.br/feridascrônicas/recurso\\_educacional\\_lp\\_1\\_1.html](http://eerp.usp.br/feridascrônicas/recurso_educacional_lp_1_1.html). Acesso em: 9 out. 2021.

BEZERRA, A.M. **Síntese e avaliação físico-químicas e biológicas de derivados de quitosana de alta e baixa massa molecular**. Tese (mestrado), Universidade São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2011. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9135/tde-22042013-105019/en.php>. Acesso em: 20 jul. 2022.

BIERHALZ, A. C. K.; DA SILVA, M. A.; KIECKBUSCH, T. G. Natamycin release from alginate/pectin films for food packaging applications. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 1, p. 18–25, maio 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0260877411006728>. Acesso em: 27 jul. 2022.

BIERHALZ, A. C. K.; WESTIN, C. B.; MORAES, Â. M. Comparison of the properties of membranes produced with alginate and chitosan from mushroom and from shrimp. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 496–504, out. 2016. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813016305098c>. Acesso em: 27 jul. 2022.

BOATENG, J.; CATANZANO, O. Advanced Therapeutic Dressings for Effective Wound Healing—A Review. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 104, n. 11, p. 3653–3680, nov. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022354916301538>. Acesso em: 11 fev. 2022.

BOATENG, J. S. et al. Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, n. 8, p. 2892–2923, ago. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022354916326521>. Acesso em: 11 fev. 2022.

BONACCI, S. et al. Peracetylation as a strategy to improve oleuropein stability and its affinity to fatty foods. **Food & Function**, v. 9, n. 11, p. 5759–5767, 2018. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2018/fo/c8fo01874j/unauth>. Acesso em: 01 ago.2022.

BOULMEDAIS, F. et al. Polyelectrolyte multilayer films with pegylated polypeptides as a new type of anti-microbial protection for biomaterials. **Biomaterials**, v. 25, n. 11, p. 2003–2011, maio 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0142961203007051>. Acesso em: 14 dez. 2021.

BROUGHTON, G.; JANIS, J. E.; ATTINGER, C. E. The basic science of wound healing. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 117, p. 12–34, 2006. Disponível em: [https://journals.lww.com/plasreconsurg/Abstract/2006/06001/The\\_Basic\\_Science\\_of\\_Wound\\_Healing.5.aspx](https://journals.lww.com/plasreconsurg/Abstract/2006/06001/The_Basic_Science_of_Wound_Healing.5.aspx). Acesso em: 19 fev. 2022.

BOUAZIZ, M. et al. Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves. **Food Chemistry**, v. 108, n. 1, p. 253–262, maio 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814607011156>. Acesso em: 15 fev.2022.

BUENO, C. Z. Desenvolvimento e análise das propriedades de membranas de quitosana e alginado contendo polihexametileno biguanida para o tratamento de lesões de pele. 2015. Disponível em: <https://bv.fapesp.br/en/publicacao/135136/development-and-analysis-of-the-properties-of-chitosan-and-a/>. Acesso em: 21 fev. 2022

CAMPOS, M. G. N.; MEI, L. H. I.; SANTOS, A. R. J. Sorbitol-plasticized and neutralized chitosan membranes as skin substitutes. **Materials Research**, v. 18, p. 781–790, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mr/a/MtcFygZ4LfHcfb69gSxj6Fh/abstract/?lang=en>. Acesso em: 21 fev. 2022.

CHANG, C.; DUAN, B.; CAI, J.; ZHANG, L. Superabsorbent hydrogels based on cellulose for smart swelling and controllable delivery. **European Polymer Journal**, v. 46, n. 1, p. 92–100, 2010. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014305709001864?casa\\_token=bdkw4MVnLHoAAAAA:7vw9mm2-FuFySk3BLhmTQUSdZDU2kRwzeuT0KJbrWygZRIQLi1QpimdBXDhDnKeYIBKNZ7FDO](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014305709001864?casa_token=bdkw4MVnLHoAAAAA:7vw9mm2-FuFySk3BLhmTQUSdZDU2kRwzeuT0KJbrWygZRIQLi1QpimdBXDhDnKeYIBKNZ7FDO). Acesso em: 25 jul.2022.

COUTINHO, E. F.; ET AL. Mercados e comercialização. In: COUTINHO, E. F.; RIBEIRO, F. C.; CAPPELLARO, T. H. (Eds.). **Cultivo de oliveira (Olea europaea L.)**. In: Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009.p. 102–115. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/783494/1/sistema16.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2022.

DA ROSA, G. S. et al. Comparison of microwave, ultrasonic and conventional techniques for extraction of bioactive compounds from olive leaves (*Olea europaea L.*). **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 58, p. 102234, dez. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1466856418305332>. Acesso em: 01 fev. 2022.

DALLAN, P. R. M. **Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração da pele**. Tese (doutorado), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, 2005. Disponível em: <https://bv.fapesp.br/en/publicacao/75668/synthesis-and-characterization-of-chitosan-membranes-for-app/>. Acesso em: 17 fev. 2022.

DASH, M. et al. Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 36, n. 8, p. 981–1014, ago. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S007967001100027X>. Acesso em: 17 fev. 2022.

DE MOURA, M. R.; MATTOSO, L. H. C.; ZUCOLOTTO, V. Development of cellulose-based bactericidal nanocomposites containing silver nanoparticles and their use as active food packaging. **Journal of Food Engineering**, v. 109, n. 3, p. 520–524, abr. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877411005802>. Acesso em: 1 ago. 2022.

DECHER, G. et al. Layer-by-layer assembled multicomposite films. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 3, n. 1, p. 32–39, fev. 1998. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1359029498800393>. Acesso em: 11 dez. 2021.

DHANDAYUTHAPANI, B. et al. Polymeric Scaffolds in Tissue Engineering Application: A Review. **International Journal of Polymer Science**, v. 2011, p. 1–19, 2011. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ijps/2011/290602/>. Acesso em: 14 fev. 2022.

DIALLO, D. ET AL. Polysaccharides from the roots of *Entada africana* Guill. et Perr., Mimosaceae, with complement fixing activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, p. 159–171, 2001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874100003615>. Acesso em: 8 dez. 2021.

DOU, B. et al. Thermogravimetric kinetics of crude glycerol. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 9, p. 2613–2620, maio 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19167215/>. Acesso em: 14 fev. 2022.

ERDOGAN, I.; DEMIR, M.; BAYRAKTAR, O. Olive leaf extract as a crosslinking agent for the preparation of electrospun zein fibers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 4, p. n/a-n/a, 20 jan. 2015. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/app.41338>. Acesso em: 14 jul. 2022.

FRÁGUAS, R. M. et al. Preparo e caracterização de filmes comestíveis de quitosana. **Polímeros**, v. 25, p. 48–53, dez. 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/po/a/zR7kvhTSRMry48jTT9395sH/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 17 fev. 2022.

FRANCIS SUH, J.-K.; MATTHEW, H. W. T. Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review. **Biomaterials**, v. 21, n. 24, p. 2589–2598, dez. 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0142961200001265>. Acesso em: 17 fev. 2022.

FRANCO, D.; GONÇALVES, L. F. Feridas cutâneas: a escolha do curativo adequado. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 35, n. 3, p. 203–206, jun. 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rcbc/a/LFCNqqNQH9zZqjJgNLCYkws/?format=html&lang=pt>. Acesso em: 14 jan. 2022.

FU, J. et al. Construction of anti-adhesive and antibacterial multilayer films via layer-by-layer assembly of heparin and chitosan. **Biomaterials**, v. 26, n. 33, p. 6684–6692, nov. 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0142961205003315>. Acesso em: 14 dez. 2021.

GALANAKIS, C. M.; TORNBORG, E.; GEKAS, V. Dietary fiber suspensions from olive mill wastewater as potential fat replacements in meatballs. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 7, p. 1018–1025, set. 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643809002709>. Acesso em: 14 jul. 2022.

GALINDO, M. V. et al. Atividade antimicrobiana e antioxidante de filmes comestíveis de gelatina e quitosana adicionados de óleos essenciais. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 26, p. e019008, 20 mar. 2019. Disponível em: <https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/san/article/view/8653865>. Acesso em: 01 ago.2022.

GENEVRO, G. M. **Desenvolvimento de materiais microestruturados a partir de biopolímeros para obtenção de curativos de alto desempenho**. Tese (doutorado), Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas, 2017.110 p. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/Busca/Download?codigoArquivo=476212>. Acesso em: 20 maio. 2022.

GERO DECHER; JOSEPH B. SCHLENOFF. Filmes Finos Multicamadas: Montagem Sequencial de Materiais Nanocompósitos. 2002. Disponível em: <https://www.wiley.com/enus/Multilayer+Thin+Films%3A+Sequential+Assembly+of+Nanocomposite+Materials-p-9783527605415>. Acesso em: 15 dez. 2021.

GHANBARZADEH, B.; ALMASI, H. Physical properties of edible emulsified films based on carboxymethyl cellulose and oleic acid. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, n. 1, p. 44–49, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813010002941>. Acesso em: 14 fev. 2022.

GINDL, W. et al. Changes in the Molecular Orientation and Tensile Properties of Uniaxially Drawn Cellulose Films. **Biomacromolecules**, v. 7, n. 11, p. 3146–3150, 1 nov. 2006. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/25cc/4b275e9b4cb00d459704fb0ee2801d3c0650.pdf>. Acesso em: 24 fev. 2022.

GIRARDI, R. C. G. **Comportamento de matrizes de colágeno utilizadas no tratamento de feridas planas induzidas em pele de ratos**. Tese (mestrado), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/25cc/4b275e9b4cb00d459704fb0ee2801d3c0650.pdf>. Acesso em: 24 fev. 2022.

GHOSAL, K. et al. Synthesis and characterization of interpenetrating polymeric networks based bio-composite alginate film: A well-designed drug delivery platform. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 130, p. 645–654, jun. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813018366972>. Acesso em: 28 nov. 2021.

GOH, C. H.; HENG, P. W. S.; CHAN, L. W. Alginates as a useful natural polymer for microencapsulation and therapeutic applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 1, p. 1–12, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861711010046>. Acesso em: 28 jan. 2022.

GOMES NETO, R. J. et al. **Obtenção e caracterização de membranas microestruturadas de quitosana e glocomanana para produção de curativos**. Trabalho apresentado ao 11º Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, 11., 2015, Campinas (São Paulo). Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/GGeneviro/publication/300146482\\_OBTENCAO\\_E\\_CHARACTERIZACAO\\_DE\\_MEMBRANAS\\_MICROESTRUTURADAS\\_DE\\_QUITO](https://www.researchgate.net/profile/GGeneviro/publication/300146482_OBTENCAO_E_CHARACTERIZACAO_DE_MEMBRANAS_MICROESTRUTURADAS_DE_QUITO)

SANA\_E\_GLOCOMANANA\_PARA\_PRODUCAO\_DE\_CURATIVOS/links/58d971a292851ce5e92ba56d/OBTENCAO-E-CARACTERIZACAO-DE-MEMBRANAS-MICROESTRUTURADAS-DE-QUITOSANA-E-GLOCOMANANA-PARA-PRODUCAO-DE-CURATIVOS.pdf. Acesso em: 26 jul.2022.

GÓMEZ CHABALA, L.; CUARTAS, C.; LÓPEZ, M. Release Behavior and Antibacterial Activity of Chitosan/Alginate Blends with Aloe vera and Silver Nanoparticles. **Marine Drugs**, v. 15, n. 10, p. 328, 24 out. 2017. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-3397/15/10/328>. Acesso em: 28 fev. 2022.

GROSS, R. A.; KALRA, B. Biodegradable Polymers for the Environment. **Science**, v. 297, n. 5582, p. 803–807, 2 ago. 2002. Disponível em: <<https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.297.5582.803>>. Acesso em: 16 jan. 2022. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/25cc/4b275e9b4cb00d459704fb0ee2801d3c0650.pdf>. Acesso em: 24 fev. 2022.

GUINDA, Á.; PÉREZ-CAMINO, M. C.; LANZÓN, A. Supplementation of oils with oleoic acid from the olive leaf (*olea europaea*). **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 106, n. 1, p. 22–26, 8 jan. 2004. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ejlt.200300769>. Acesso em: 24 fev. 2022

GUNES, S.; TAMBURACI, S.; TIHMINLIOGLU, F. A novel bilayer zein/MMT nanocomposite incorporated with *H. perforatum* oil for wound healing. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 31, n. 1, p. 7, 14 jan. 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10856-019-6332-9#citeas>. Acesso em: 24 fev. 2022.

GURTNER, G. C. et al. Wound repair and regeneration. **Nature**, v. 453, p. 314–321, 14 abr. 2008. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature07039>. Acesso em: 28 nov. 2021

HAN, G.; CEILLEY, R. Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. **Advances in Therapy**, v. 34, n. 3, p. 599–610, 1 mar. 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12325-017-0478-y>. Acesso em: 28 nov. 2021.

HANSEN, B.; JEMEC, G. B. E. The Mechanical Properties of Skin in Osteogenesis Imperfecta. **Archives of Dermatology**, v. 138, n. 7, 1 jul. 2002. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jamadermatology/fullarticle/478895>. Acesso em: 31 jul 2022.

HARDING, K. G. Science, medicine, and the future: Healing chronic wounds. **BMJ**, v. 324, n. 7330, p. 160–163, 19 jan. 2002. Disponível em: <https://www.bmj.com/content/324/7330/160.short>. Acesso em: 24 nov. 2021.

HUANG, L. et al. Synergistic Combination of Chitosan Acetate with Nanoparticle Silver as a Topical Antimicrobial: Efficacy against Bacterial Burn Infections. **Antimicrobial**

**Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 7, p. 3432–3438, jul. 2011. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/AAC.01803-10>. Acesso em: 2 mar. 2022.

IGNÁCIO, C. **Desenvolvimento de curativos para cicatrização de feridas por segunda intenção baseados em biomateriais capazes de promoverem resposta celular controlada via estímulo externo**. Belo Horizonte: [s.n.]. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/BUOS-8DWFSJ>. Acesso em: 24 nov. 2021.

İŞERI, S. Ö. et al. Oxytocin ameliorates skin damage and oxidant gastric injury in rats with thermal trauma. **Burns**, v. 34, n. 3, p. 361–369, maio 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0305417907001039>. Acesso em: 24 nov. 2021.

JAYAKUMAR, R. et al. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 3, p. 322–337, maio 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0734975011000061>. Acesso em: 14 dez. 2021.

JIAN, Z. et al. Polyurethane-modified graphene oxide composite bilayer wound dressing with long-lasting antibacterial effect. **Materials Science and Engineering: C**, v. 111, p. 110833, jun. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493119345679>. Acesso em: 1 mar. 2022.

KAMEL, N. A.; ABD EL-MESSIEH, S. L.; SALEH, N. M. Chitosan/banana peel powder nanocomposites for wound dressing application: Preparation and characterization. **Materials Science and Engineering: C**, v. 72, p. 543–550, mar. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493116309961>. Acesso em: 7 jan. 2022.

KAMOUN, E. A.; KENAWY, E.-R. S.; CHEN, X. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings. **Journal of Advanced Research**, v. 8, n. 3, p. 217–233, maio 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090123217300243>. Acesso em: 16 dez. 2021.

KANG, J.-H.; SONG, K. BIN. Characterization of Job's tears (*Coix lachryma-jobi* L.) starch films incorporated with clove bud essential oil and their antioxidant effects on pork belly during storage. **LWT**, v. 111, p. 711–718, ago. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S002364381930533X>. Acesso em: 5 jul. 2022.

KENNEY, J. F. et al. Medical-grade acrylic adhesives for skin contact. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 45, n. 2, p. 355–361, 15 maio 1992. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/app.1992.070450218>. Acesso em: 7 jan. 2022.

KIM, B.-S.; BAEZ, C. E.; ATALA, A. Biomaterials for tissue engineering. **World Journal of Urology**, v. 18, p. 2–9, 2000. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s003450050002>. Acesso em: 13 jan. 2022.

KIM, I.-Y. et al. Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 1, p. 1–21, jan. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0734975007000948>. Acesso em: 14 jan. 2022.

KIMURA, V. T. et al. The effect of andiroba oil and chitosan concentration on the physical properties of chitosan emulsion film. **Polímeros**, v. 26, n. 2, p. 168–175, 14 jun. 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/po/a/h3v6FSc5T5h8qpHyjwNWqmM/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 23 jun. 2022.

KITI, K.; SUWANTONG, O. Bilayer wound dressing based on sodium alginate incorporated with curcumin- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex/chitosan hydrogel. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 4113–4124, dez. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S014181302034366X>. Acesso em: 23 jun. 2022.

KORTING, H.; SCHÖLLMANN, C.; WHITE, R. Management of minor acute cutaneous wounds: importance of wound healing in a moist environment. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 25, n. 2, p. 130–137, fev. 2011. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1468-3083.2010.03775.x>. Acesso em: 19 fev. 2022.

KOUCHAK, MARYAM et al. Chitosan and polyvinyl alcohol composite films containing nitrofurazone: preparation and evaluation. **Iran J Basic Med Sci**, v. 17(1), p. 14–20, jan. 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3938881/>. Acesso em: 28 maio. 2022.

KUILA, S. B.; RAY, S. K. Separation of benzene–cyclohexane mixtures by filled blend membranes of carboxymethyl cellulose and sodium alginate. **Separation and Purification Technology**, v. 123, p. 45–52, fev. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S138358661300717X>. Acesso em: 31 maio. 2022.

KUMAR, M. N. V. R. et al. Chitosan Chemistry and Pharmaceutical Perspectives. **Chemical Reviews**, v. 104, n. 12, p. 6017–6084, 1 dez. 2004. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/cr030441b>. Acesso em: 24 fev. 2022

KUMAR, S. S. D. et al. Recent advances on silver nanoparticle and biopolymer-based biomaterials for wound healing applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 115, p. 165–175, ago. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S014181301830518X>. Acesso em: 19 fev. 2022.

L BOSWORTH; S DOWNES. **Electrospinning for Tissue Regeneration**. Woodhead Publishing Limited.2011.

LAMKE, L.-O.; NILSSON, G. E.; REITHNER, H. L. The evaporative water loss from burns and the water-vapour permeability of grafts and artificial membranes used in the treatment of burns. **Burns**, v. 3, n. 3, p. 159–165, mar. 1977. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0305417977900043>. Acesso em: 28 maio. 2022.

LAUREANO, A.; RODRIGUES, A. M. CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS. **Journal of the Portuguese Society of Dermatology and Venereology**, v. 69, n. 3, p. 355, 28 set. 2011. Disponível em: <https://revista.spdv.com.pt/index.php/spdv/article/view/71>. Acesso em: 10 nov. 2021.

LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 37, n. 1, p. 106–126, jan. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079670011000918>. Acesso em: 16 jan. 2022.

LEITE, A. P. et al. USO E EFETIVIDADE DA PAPAÍNA NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, v. 33, n. 3, p. 198–207, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rgenf/a/yjsmMcZV5pc9cMcjxSzVwfF/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 25 jan. 2022.

LEONARD, M. et al. Hydrophobically modified alginate hydrogels as protein carriers with specific controlled release properties. **Journal of Controlled Release**, v. 98, n. 3, p. 395–405, ago. 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168365904002408>. Acesso em: 28 jan. 2022.

LI, Y.; JIA, H.; PAN, F.; JIANG, Z.; CHENG, Q. Enhanced anti-swelling property and dehumidification performance by sodium alginate-poly(vinyl alcohol)/polysulfone composite hollow fiber membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 407–408, p. 211–220, 2012. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0376738812002402?casa\\_token=JldM6isNoc4AAAAA:35dL05YBLGQK2H5Te026ZMXRIWGOJGA9BUBqrMKXQSnNxthDkhHPDANEhxLLEYcdjXVo6pRThqW](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0376738812002402?casa_token=JldM6isNoc4AAAAA:35dL05YBLGQK2H5Te026ZMXRIWGOJGA9BUBqrMKXQSnNxthDkhHPDANEhxLLEYcdjXVo6pRThqW). Acesso em: 25 jul.2022.

LIU, B.-S.; HUANG, T.-B. A novel wound dressing composed of nonwoven fabric coated with chitosan and herbal extract membrane for wound healing. **Polymer Composites**, p. NA-NA, 2009. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pc.20890>. Acesso em: 24 fev. 2022.

LIU, J.; WILLFÖR, S.; XU, C. A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 5, n. 1, p. 31–61, jan. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2212619814000564>. Acesso em: 25 jan. 2022.

LLOYD, L. L. et al. Carbohydrate polymers as wound management aids. **Carbohydrate Polymers**, v. 37, n. 3, p. 315–322, nov. 1998. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861798000770>. Acesso em: 14 dez. 2021.

LUCIANO, Carla Giovana. **Desenvolvimento de filmes com atividades antioxidante e antimicrobiana empregando extrato hidroetanólico de folha de pitangueira e nisina ou natamicina**. Tese (doutorado), Faculdade de Engenharia Química; Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Pirassununga, 2020. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74132/tde-11052021-115531/en.php>. Acesso em: 30 jul. 2022.

LUO, Y.; WANG, Q. Recent development of chitosan-based polyelectrolyte complexes with natural polysaccharides for drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 64, p. 353–367, mar. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813013006673?via%3Di> hub. Acesso em: 03 ago.2022.

LYNN, A. K.; YANNAS, I. V.; BONFIELD, W. Antigenicity and immunogenicity of collagen. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 71B, n. 2, p. 343–354, 15 nov. 2004. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jbm.b.30096>. Acesso em: 21 jan. 2021.

MA, Y. et al. Chitosan membrane dressings toughened by glycerol to load antibacterial drugs for wound healing. **Materials Science and Engineering: C**, v. 81, p. 522–531, dez. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493117316806>. Acesso em: 9 jan. 2022.

MALAFAYA, P. B.; SILVA, G. A.; REIS, R. L. Natural–origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, n. 4–5, p. 207–233, maio 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169409X07000257>. Acesso em: 24 fev. 2022.

MARTINEAU, L.; SHEK, P. N. Evaluation of a bi-layer wound dressing for burn care. **Burns**, v. 32, n. 1, p. 70–76, fev. 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0305417905002408>. Acesso em: 18 fev. 2022.

MARTINY, T. R. et al. A novel biodegradable film based on  $\kappa$ -carrageenan activated with olive leaves extract. **Food Science & Nutrition**, v. 8, n. 7, p. 3147–3156, 7 jul. 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/fsn3.1554>. Acesso em: 10 jun. 2022

MARTINY, T. R. et al. Bio-Based Active Packaging: Carrageenan Film with Olive Leaf Extract for Lamb Meat Preservation. **Foods**, v. 9, n. 12, p. 1759, 27 nov. 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/12/1759>. Acesso em: 1 fev. 2022.

MARTINY, T. R. et al. Optimization of green extraction for the recovery of bioactive compounds from Brazilian olive crops and evaluation of its potential as a natural preservative. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 2, p. 105130, abr. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2213343721001081>. Acesso em: 1 fev. 2022.

MELLO, L. D.; PINHEIRO, M. F. Aspectos de azeites de oliva e de folhas de oliveira. **Alimentos e Nutrição, Araraquara**, v. 23, n. 4, p. 537–548, 2012. Disponível em: [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/39600226/caeacteristica\\_fisico\\_quimica\\_do\\_az\\_eite\\_de\\_oliva\\_e\\_da\\_folha\\_de\\_oliveirawithcoverpagev2.pdf?Expires=1647368373&Signature=T7uall4pE4nHC6Z2mGBe94y6cOTFhE0GDQoV9nDBUt2RN49uCzJ7noNp~bOq3oFCAErtp3LstqRTVLG2TPSwp6MFsxTn5mXxbfq3U01X~hz4NYnMHg3Br5eBxcHQfNs7vUk6KoJSvnErn1xY51q0cmQhjKt~wpjrmq~JEFv2koBbVtHVv5PSZm4w wrnvJ3EUIJunGa7j8ZaSgGfdCxyqe9LaKCVAyhgqliSsjp2u9RzKJigQZeeDHbCbFwL wmsrVVHqKEvxLGNU5JjXKcc1OBfXRuhTRWaiihys4vDy7P0kXXtMc14gft3GHCplfO vGzuc4cvl3L393ofyx0g\\_\\_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/39600226/caeacteristica_fisico_quimica_do_az_eite_de_oliva_e_da_folha_de_oliveirawithcoverpagev2.pdf?Expires=1647368373&Signature=T7uall4pE4nHC6Z2mGBe94y6cOTFhE0GDQoV9nDBUt2RN49uCzJ7noNp~bOq3oFCAErtp3LstqRTVLG2TPSwp6MFsxTn5mXxbfq3U01X~hz4NYnMHg3Br5eBxcHQfNs7vUk6KoJSvnErn1xY51q0cmQhjKt~wpjrmq~JEFv2koBbVtHVv5PSZm4w wrnvJ3EUIJunGa7j8ZaSgGfdCxyqe9LaKCVAyhgqliSsjp2u9RzKJigQZeeDHbCbFwL wmsrVVHqKEvxLGNU5JjXKcc1OBfXRuhTRWaiihys4vDy7P0kXXtMc14gft3GHCplfO vGzuc4cvl3L393ofyx0g__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA). Acesso em: 25 fev. 2022.

MICOL, V. et al. The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV). **Antiviral Research**, v. 66, n. 2–3, p. 129–136, jun. 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0166354205000677>. Acesso em: 25 fev. 2022.

MOMOH, F. U. et al. Development and functional characterization of alginate dressing as potential protein delivery system for wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 81, p. 137–150, nov. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813015005085>. Acesso em: 4 fev. 2022.

MOURA, M. APLICAÇÕES DO QUITOSANO EM LIBERTAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS: ALGUMAS CONSIDERAÇÕES. 2012. Disponível em: <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2012a/saude/aplicacoes.pdf>. Acesso em: 11 jan. 2022.

MOURO, C.; FANGUEIRO, R.; GOUVEIA, I. C. Preparation and Characterization of Electrospun Double-layered Nanocomposites Membranes as a Carrier for Centella asiatica (L.). **Polymers**, v. 12, n. 11, p. 2653, 11 nov. 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/12/11/2653>. Acesso em: 28 fev. 2022.

MUSTAFA, A.; TURNER, C. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 703, n. 1, p. 8–18, out. 2011. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267011009597?casa\\_token=](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267011009597?casa_token=)

vEEjfXKMINAAAAA:4nPrc41nsCTpY\_KYEkRWEjbyoEdstTgNpbywF5hK21xAOJRfx  
mECV8HZbXNULATaTnNCu0ZSSw24. Acesso em: 12 jul. 2022.

MUZZARELLI, R. A. A. et al. Chitosan, hyaluronan and chondroitin sulfate in tissue engineering for cartilage regeneration: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n. 3, p. 723–739, jul. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861712004092>. Acesso em: 25 fev. 2022.

NAGOBA, B. S. et al. Simple, effective and affordable approach for the treatment of burns infections. **Burns**, v. 36, n. 8, p. 1242–1247, dez. 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0305417910001269>. Acesso em: 2 dez. 2021.

NOGUEIRA, D. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis, blendas e bicamadas utilizando diferentes fontes proteicas**. Tese (mestrado), Universidade Universidade Federal do Rio Grande, Programa de PósGraduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Rio Grande, 2017.126 p. Disponível em: <http://repositorio.furg.br/handle/1/8439>. Acesso em: 03 ago. 2022

NORAJIT, K.; KIM, K. M.; RYU, G. H. Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films containing ginseng extract. **Journal of Food Engineering**, v. 98, n. 3, p. 377–384, jun. 2010. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026087741000021X?casa\\_token=NfK4irOocwAAAAA:8mtCddVkCVrn0oaqQ7JXRlhnkZHKdiTtPepPLIDVWO3ld6qPENqhcP0pk5ObUAFZEaUYSXEJOLhV](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026087741000021X?casa_token=NfK4irOocwAAAAA:8mtCddVkCVrn0oaqQ7JXRlhnkZHKdiTtPepPLIDVWO3ld6qPENqhcP0pk5ObUAFZEaUYSXEJOLhV). Acesso em: 30 jun. 2022.

Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard – 6 ed. NCCLS document M7-A6 (ISBN 1-56238-486-4). Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003. Disponível em: [https://www.anvisa.gov.br/servicos/audite/manuais/clsi/clsi\\_opasm2-a8.pdf](https://www.anvisa.gov.br/servicos/audite/manuais/clsi/clsi_opasm2-a8.pdf). Acesso em: 23 jan. 2022.

PANAWES, S. et al. Antimicrobial mangosteen extract infused alginate-coated gauze wound dressing. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 41, p. 182–190, out. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1773224716306037>. Acesso em: 21 jan. 2022.

PATI, F. et al. Collagen scaffolds derived from fresh water fish origin and their biocompatibility. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 100A, n. 4, p. 1068–1079, abr. 2012. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jbm.a.33280>. Acesso em: 11 fev. 2021.

PATRULEA, V. et al. Chitosan as a starting material for wound healing applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 97, p. 417–426, nov. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0939641115003367>. Acesso em: 16 jan. 2022.

PAWAR, S. N.; EDGAR, K. J. Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications. **Biomaterials**, v. 33, n. 11, p. 3279–3305, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0142961212000117>. Acesso em: 28 jan. 2022.

PENG, L.; LI, H.; MENG, Y. Layer-by-layer structured polysaccharides-based multilayers on cellulose acetate membrane: Towards better hemocompatibility, antibacterial and antioxidant activities. **Applied Surface Science**, v. 401, p. 25–39, 15 abr. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433216329804>. Acesso em: 2 mar. 2022.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, Â. M. BIOMATERIALS: TYPES, APPLICATIONS, AND MARKET. **Química Nova**, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/th7gjVpvdpthnctYbhtFznN/abstract/?format=html&lang=en>. Acesso em: 2 mar. 2022.

RAPOSO, M.; OLIVEIRA, O. N. Adsorption Mechanisms in Layer-by-Layer Films. **Brazilian Journal of Physics**, v. 28, n. 4, p. 392–404, 1998. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjp/a/dcDtZgz69YygMHsxxwVGjgt/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 11 jan. 2022.

QABAHA, K. et al. Oleuropein Is Responsible for the Major Anti-Inflammatory Effects of Olive Leaf Extract. **Journal of Medicinal Food**, v. 21, n. 3, p. 302–305, mar. 2018. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/jmf.2017.0070>. Acesso em: 25 fev. 2022.

RAHMANI, B. et al. Development and characterisation of chitosan or alginate-coated low density polyethylene films containing *Satureja hortensis* extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 121–130, dez. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813017303574>. Acesso em: 02 mar. 2022.

REN, H.; GAO, Z.; WU, D.; JIANG, J.; SUN, Y.; LUO, C. Efficient Pb(II) removal using sodium alginate-carboxymethyl cellulose gel beads: Preparation, characterization, and adsorption mechanism. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, p. 402–409, 2016. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861715010917?casa\\_token=GI\\_toRe0UoAAAAA:93veKzPX0VciBX161O8UK1INQbBKDBvpF9sa5CTKbeTroR6hg4eBRsLvH-XCFTCdzc1QhjMw1ZcX](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861715010917?casa_token=GI_toRe0UoAAAAA:93veKzPX0VciBX161O8UK1INQbBKDBvpF9sa5CTKbeTroR6hg4eBRsLvH-XCFTCdzc1QhjMw1ZcX). Acesso em: 25 jul. 2022.

REVERCHON, E. et al. Supercritical fluids processing of polymers for pharmaceutical and medical applications. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 47, n. 3, p. 484–492, jan. 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S089684460800346X>. Acesso em: 02 mar. 2022.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science**, v. 31, n. 7, p. 603–632, jul. 2006. Disponível em:



SILVA, S. S. et al. An investigation of the potential application of chitosan/aloë-based membranes for regenerative medicine. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 6, p. 6790–6797, jun. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1742706113000913>. Acesso em: 21 jan. 2022.

SIRIPATRAWAN, U.; HARTE, B. R. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 24, n. 8, p. 770–775, nov. 2010. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X10000652?casa\\_token=XibMQwugi4wAAAAA:1w1VyCknqA12Jv17WSwHL5Dd5\\_xjtg98896OJUKey6pULKjj67QbJEWrfAF9ZeWijSPyVYmvGVpSG](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X10000652?casa_token=XibMQwugi4wAAAAA:1w1VyCknqA12Jv17WSwHL5Dd5_xjtg98896OJUKey6pULKjj67QbJEWrfAF9ZeWijSPyVYmvGVpSG). Acesso em: 22 fev. 2022.

SMANIOTTO, P. et al. Systematization of dressings for clinical treatment of wounds. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**, v. 27, n. 4, p. 623–626, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbcp/a/mhg3d6bTNrg3ZgS9MYBLsCD/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 23 jan. 2022.

SOBCZYK, A. DE E. et al. Influence of replacing oregano essential oil by ground oregano leaves on chitosan/alginate-based dressings properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 181, p. 51–59, jun. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813021006024>. Acesso em: 02 mar. 2022.

SOOD, A.; GRANICK, M. S.; TOMASELLI, N. L. Wound Dressings and Comparative Effectiveness Data. **Advances in wound care**, v. 3, n. 8, p. 511–529, 1 ago. 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4121107/>. Acesso em: 2 dez. 2021.

SOUSA, J. C. M. C. **Impacto dos novos sistemas terapêuticos na regeneração tecidual**. Tese (mestrado), Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde (Ciências Farmacêuticas), Porto, 2011. Disponível em: <https://www.proquest.com/openview/9980140799e740291f99a79b4a745a9a/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2026366&diss=y>. Acesso em: 14 fev. 2022.

SPIN-NETO, R. et al. Biomateriais à base de quitosana com aplicação médica e odontológica: revisão de literatura. 2008. Disponível em: <https://revodontolunesp.com.br/article/588018447f8c9d0a098b4b49>. Acesso em: 9 jan. 2022.

STAMATIALIS, D. F. et al. Medical applications of membranes: Drug delivery, artificial organs and tissue engineering. **Journal of Membrane Science**, v. 308, n. 1–2, p. 1–34, 1 fev. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0376738807007090>. Acesso em: 02 mar. 2022.

STONE, C. A. et al. Healing at skin graft donor sites dressed with chitosan. **British Journal of Plastic Surgery**, v. 53, n. 7, p. 601–606, out. 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S000712260093412X>. Acesso em: 04 mar. 2022.

SUN, J.; TAN, H. Alginate-Based Biomaterials for Regenerative Medicine Applications. **Materials**, v. 6, n. 4, p. 1285–1309, 26 mar. 2013. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1996-1944/6/4/1285>. Acesso em: 04 mar. 2022.

TARTAKOWSKI, Z. Recycling of packaging multilayer films: New materials for technical products. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 55, n. 2, p. 167–170, dez. 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0921344910002053>. Acesso em: 27 fev. 2022.

THEIN-HAN, W. W.; KITIYANANT, Y. Chitosan scaffolds for in vitro buffalo embryonic stem-like cell culture: An approach to tissue engineering. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 80B, n. 1, p. 92–101, jan. 2007. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jbm.b.30573>. Acesso em: 30 jun. 2022.

THOMAS, S.; YOUNG, S. Exudate-handling mechanisms of two foam-film dressings. **Journal of Wound Care**, v. 17, n. 7, p. 309–315, jul. 2008. Disponível em: <https://www.magonlinelibrary.com/doi/abs/10.12968/jowc.2008.17.7.30524>. Acesso em: 03 ago. 2022.

THU, H.-E.; NG, S.-F. Gelatine enhances drug dispersion in alginate bilayer film via the formation of crystalline microaggregates. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 454, n. 1, p. 99–106, set. 2013. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517313006029?casa\\_token=2F1aqwthCA8AAAAA:8WQ\\_aY5dsvDpFrhfnBfViqVlbnWZ1rNK\\_p8LyPOPcsoq40cuptwRPJFGcT1eOHunA1qjM2FuZNM](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517313006029?casa_token=2F1aqwthCA8AAAAA:8WQ_aY5dsvDpFrhfnBfViqVlbnWZ1rNK_p8LyPOPcsoq40cuptwRPJFGcT1eOHunA1qjM2FuZNM). Acesso em: 12 jul. 2022.

TOMAZ, V. G.; MORAES, A. M. Incorporação de extrato de alecrim em membranas de alginato e quitosana. In: Anais do XI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v. 1, p. 1095–1100, 2015. Disponível em: <http://pdf.blucher.com.br.s3-sa-east-1.amazonaws.com/chemicalengineeringproceedings/cobeqic2015/340-33942-260705.pdf>. Acesso em: 04 mar. 2022.

TREVISOL, Thalles Canton. **Filmes em mono e bicamada de alginato e carboximetilcelulose com liberação controlada de diclofenaco de sódio**. Tese (mestrado), Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/192780>. Acesso em: 20 jul. 2022.

TRINCA, R. B. et al. Electrospun multilayer chitosan scaffolds as potential wound dressings for skin lesions. **European Polymer Journal**, v. 88, p. 161–170, mar. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014305716304888>. Acesso em: 14 fev. 2022.

TRIPOLI, E. et al. The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. **Nutrition Research Reviews**, v. 18, n. 1, p. 98–112, 14 jun. 2005. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/nutrition->

research-reviews/article/phenolic-compounds-of-olive-oil-structure-biological-activity-and-beneficial-effects-on-humanhealth/EE4FA28B6CD751AA15B278589A447A3D. Acesso em: 04 mar. 2022.

VAZ, R. I. L. **Preparação de scaffolds por combinação das técnicas de fotopolimerização e electrospinning para engenharia de tecidos.** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10316/37478>. Acesso em: 20 fev. 2022.

VIEIRA NETO, J.; ET AL. **Aspectos técnicos da cultura da oliveira.** *Revista Cerne*. Belo Horizonte: EPAMIG, 2008. (Boletim Técnico, 88).

VISIOLI, F.; GALLI, C. Olive Oil Phenols and Their Potential Effects on Human Health. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 10, p. 4292–4296, 1 out. 1998. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf980049c>. Acesso em: 14 fev. 2022.

VOWDEN, K.; VOWDEN, P. Wound dressings: principles and practice. **Surgery (Oxford)**, p. 489–494, set. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0263931917301370>. Acesso em: 21 jan. 2022.

WANG, L. et al. Novel bilayer wound dressing composed of SIS membrane with SIS cryogel enhanced wound healing process. **Materials Science and Engineering: C**, v. 85, p. 162–169, abr. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493117322324>. Acesso em: 15 dez. 2021.

WANG, L. et al. Chitosan-alginate PEC membrane as a wound dressing: Assessment of incisional wound healing. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 63, n. 5, p. 610–618, 2002. Disponível em: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jbm.10382?casa\\_token=MqwVKkYJ11YAAAAA:GYMY9wBEEkPNJLkZ-zZ6OIdPswc1jiTrbnzh0YrlzDNPEeA74\\_LWSWpt6-X3o9bZYyS8J0ssqv9Xfq](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jbm.10382?casa_token=MqwVKkYJ11YAAAAA:GYMY9wBEEkPNJLkZ-zZ6OIdPswc1jiTrbnzh0YrlzDNPEeA74_LWSWpt6-X3o9bZYyS8J0ssqv9Xfq). Acesso em: 14 jun. 2022.

WILLERTH, S. M.; SAKIYAMA-ELBERT, S. E. Combining Stem Cells and Biomaterial Scaffolds for Constructing Tissues and Cell Delivery. **StemJournal**, v. 1, n. 1, p. 1–25, 14 mar. 2019. Disponível em: <https://content.iospress.com/articles/stemjournal/stj180001>. Acesso em: 16 fev. 2022.

WREGGE, M. S. et al. DISTRIBUIÇÃO POTENCIAL DE OLIVEIRAS NO BRASIL E NO MUNDO. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 3, p. 656–666, set. 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbf/a/SK4d3XwgmYhPjNSCw5pLRPk/?lang=pt&format=html>. Acesso em: 14 fev. 2022.

WODASH, A. J. Wet-to-Dry Dressings Do Not Provide Moist Wound Healing. **Journal of the American College of Clinical Wound Specialists**, v. 4, n. 3, p. 63–66, set. 2012. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2213510313000705>>. Acesso em: 27 jan. 2022.

XIE, Y. et al. Integrating zwitterionic polymer and Ag nanoparticles on polymeric membrane surface to prepare antifouling and bactericidal surface via Schiff-based layer-by-layer assembly. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 510, p. 308–317, jan. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021979717311025>. Acesso em: 2 mar. 2022.

YANG, J. S.; XIE, Y. J.; HE, W. Research progress on chemical modification of alginate: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 1, p. 33–39, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S014486171000946X>. Acesso em: 4 fev. 2022.

ZHANG, H.; ZHAO, Y. Preparation, characterization and evaluation of tea polyphenol–Zn complex loaded  $\beta$ -chitosan nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, v. 48, p. 260–273, jun. 2015. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X15000764?casa\\_token=Zlr2fB1ZE9IAAAAA:a7Huc2f\\_UWNuSVdkCNNu8KYtkWoyC0g\\_nzQ0FsT6M\\_IXbTMbmXKe95zZ3vd1tYsFuHoB6CJwshJ-](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X15000764?casa_token=Zlr2fB1ZE9IAAAAA:a7Huc2f_UWNuSVdkCNNu8KYtkWoyC0g_nzQ0FsT6M_IXbTMbmXKe95zZ3vd1tYsFuHoB6CJwshJ-). Acesso em: 29 maio. 2022.

ZHU, J.; WU, H.; SUN, Q. Preparation of crosslinked active bilayer film based on chitosan and alginate for regulating ascorbate-glutathione cycle of postharvest cherry tomato (*Lycopersicon esculentum*). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 130, p. 584–594, jun. 2019. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813019309018?casa\\_token=Suo6R9Y5fxcAAAAA:8L7GcA-XvCSa\\_8wMa0vNS01rxGINbtdp64OH\\_4dvo3wYZwhehOVe5ha6814oU\\_KWIY7iqdZ\\_PuB](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813019309018?casa_token=Suo6R9Y5fxcAAAAA:8L7GcA-XvCSa_8wMa0vNS01rxGINbtdp64OH_4dvo3wYZwhehOVe5ha6814oU_KWIY7iqdZ_PuB). Acesso em: 02 jul. 2022.

YUDANOVA, T. N.; RESHETOV, I. V. DRUG SYNTHESIS METHODS AND MANUFACTURING TECHNOLOGY MODERN WOUND DRESSINGS: MANUFACTURING AND PROPERTIES. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 40, n. 2, p. 85–92, 2006. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11094-006-0065-z>. Acesso em: 19 jan. 2022.

ZAHID, M. et al. Sustainable Development of Chitosan/Calotropis procera-Based Hydrogels to Stimulate Formation of Granulation Tissue and Angiogenesis in Wound Healing Applications. **Molecules**, v. 26, n. 11, p. 3284, 29 maio 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/11/3284>. Acesso em: 2 dez. 2021.