



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Escola de Engenharia
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais

Dione Pereira de Castro

**DESENVOLVIMENTO DE HIDROGÉIS FUNCIONALIZADOS COM ÓLEOS
ESSENCIAIS APLICADOS A SISTEMAS AGRÍCOLAS**

Tese para Obtenção do Título de Doutor em Engenharia

Porto Alegre

2024

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Escola de Engenharia
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais

Dione Pereira de Castro

**DESENVOLVIMENTO DE HIDROGÉIS FUNCIONALIZADOS COM ÓLEOS
ESSENCIAIS APLICADOS A SISTEMAS AGRÍCOLAS**

Trabalho realizado no Departamento de Materiais da Escola de Engenharia da UFRGS, no âmbito do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais (PPGE3M), como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Engenharia.

Área de Concentração: Engenharia de Materiais

Orientadora: Profa. Dra. Ruth Marlene Campomanes Santana

Porto Alegre

2024

O presente trabalho foi realizado com financiamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq [projeto 141265/2020-5].

CIP - Catalogação na Publicação

Castro, Dione Pereira de

Desenvolvimento de hidrogéis funcionalizados com óleos essenciais aplicados a sistemas agrícolas / Dione Pereira de Castro. -- 2024.

141 f.

Orientadora: Ruth Marlene Campomanes Santana.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Escola de Engenharia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, Porto Alegre, BR-RS, 2024.

1. Hidrogéis. 2. Poli(álcool vinílico).
3. Funcionalização química. 4. Óleos essenciais.
5. Sistemas agrícolas. I. Santana, Ruth Marlene Campomanes, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Dione Pereira de Castro

**DESENVOLVIMENTO DE HIDROGÉIS FUNCIONALIZADOS COM ÓLEOS
ESSENCIAIS APLICADOS A SISTEMAS AGRÍCOLAS**

Essa tese foi julgada adequada para a obtenção do título de Doutor em Engenharia e aprovada em sua forma final pela Orientadora e pela Banca Examinadora do Curso de Pós-Graduação do PPGE3M/UFRGS.

Área de Concentração: Engenharia de Materiais

Orientadora: Profa. Dra. Ruth Marlene Campomanes Santana
Escola de Engenharia – UFRGS

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Henri Stephan Schrekker
Instituto de Química – UFRGS

Prof. Dr. Bruno Felipe Bergel
Instituto SENAI de Inovação em Engenharia de Polímeros – SENAI-RS

Profa. Dra. Carmen Iara Walter Calcagno
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense – IF Sul

Prof. Dr. Rodrigo de Lemos Peroni
Coordenador do PPGE3M

“Ask, and it shall be given you; seek, and ye shall find.”

Matthew 7:7 (KJV)



AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Profa. Dra. Ruth Campomanes pela orientação, acolhimento e por acreditar em mim durante os tempos difíceis pós-pandemia.

Ao Prof. Dr. Sandro Campos Amico pela oportunidade inicial, recepção e conversas descontraídas no “Reino Unido”. *God Save the King*.

Ao Prof. Dr. Henri Stephan Schrekker pela amizade, ensinamentos, ajuda e confiança depositada.

Ao Prof. Dr. Leonardo Gondim de Andrade e Silva do IPEN-CNEN/SP, pela amizade, suporte e confiança. O início foi difícil e seu apoio foi fundamental. Um abraço!

Ao Antônio Márcio, pela amizade na época de USP e por ter contribuído essencialmente para a oportunidade inicial de meu doutorado. Um abraço!

À UFPel pela infraestrutura disponibilizada e contribuição no projeto. Também agradeço grandemente aos professores Dr. Andrey Acosta e Dr. Darci Gatto, pelo suporte e a Silvia Fuentes pelos experimentos antifúngicos. Também agradeço a FAGRO/UFRGS e ao Prof. Dr. Josué Sant’ana e Eng. Carlos pela ajuda fundamental na parte agrônômica, quimiotaxia e convívio no LEEQI. Sem a ajuda de vocês o projeto não se concretizaria. Um abraço a todos!

À turminha do GCOMP, LAPOL e IQ/UFRGS, pela recepção, amizade, suporte e cooperação no projeto.

À minha família que mesmo longe apoiou, e ao Sr. Jóbis pelo apoio e suporte.

À UFRGS e ao PPGE3M pela oportunidade de realização deste projeto.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Pai do Céu que permitiu pelos caminhos de luz, que a trajetória não fosse tortuosa, mas vitoriosa. O verdadeiro instrumento de revolução é pó de giz e vidraria, o eterno caminho do ensino e da ciência.

RESUMO

O desenvolvimento de novos hidrogéis funcionalizados permite a obtenção de uma gama de propriedades específicas de materiais sintetizados em que a adoção de compostos químicos naturais, como óleos essenciais (OE), traz propriedades químicas as quais podem ser aplicadas a sistemas agrícolas. Além disso, o poli(álcool vinílico) – PVOH, exibe muitas propriedades importantes, por ser, biodegradável, biocompatível, atóxico, e possuir boa resistência química; entretanto, sua solubilidade, limita sua aplicabilidade final, em que a reticulação química traz estabilidade físico-química, garantindo as propriedades finais de inchamento. O objetivo desta tese é investigar a influência dos ácidos orgânicos: cítrico (AC), málico (AM) e tartárico (AT); e tempos de síntese química (20 min, 1, 2 e 3h) na reticulação e propriedades físico-químicas finais de hidrogéis de PVOH, incorporados com OE de baunilha (OEB), cravo (OEC) e laranja (OEL), visando aplicações em sistemas agrícolas. Os resultados obtidos mostram que a incorporação do AM e AT se mostraram mais eficientes e semelhantes na reticulação química com a estrutura do PVOH, quando avaliados pelas técnicas de intumescimento, fração sol-gel, FTIR, e liberação controlada de corante; enquanto o AC não teve a mesma performance de estabilidade físico-química, caracterizados por seu impedimento estérico. Posteriormente, o AM e AT e seus tempos de reação (20 min e 2h) foram escolhidos com base nos resultados anteriores, para experimentos de incorporação de OE por meio de incorporação utilizando o surfactante dodecil sulfato de sódio (SDS) e método de sonificação. Os resultados mostraram efetividade na incorporação dos OE nos hidrogéis, especialmente observadas nas técnicas de FTIR, Microscopia óptica e liberação controlada. Nos experimentos ambientais simulados os OE apresentaram atividade fitotóxica, estimulando a repelência química em *Myzus persicae*, e reduzindo parcialmente o crescimento de plantas e *Aspergillus fumigatus*, especialmente observados na sequência de OEC (2h), OEL e OEB ambos em 20 min e 2h, respectivamente. Conclui-se que os hidrogéis de AM e AT podem ser utilizados na incorporação e liberação controlada de óleos essenciais para aplicação em sistemas agrícolas.

Palavras-chave: Hidrogéis, Poli(álcool vinílico), Funcionalização química, Óleos essenciais, Sistemas agrícolas.

ABSTRACT

The development of new functionalized hydrogels makes it possible to obtain a range of specific properties from synthesized materials in which the adoption of natural chemical compounds, such as essential oils (EO), brings chemical properties that can be applied to agricultural systems. In addition, polyvinyl alcohol (PVOH) has many important properties, as it is biodegradable, biocompatible, non-toxic, and has good chemical resistance; however, its solubility limits its final applicability, where chemical crosslinking brings physicochemical stability, guaranteeing the final swelling properties. This thesis aims to investigate the influence of organic acids: citric (AC), malic (AM), and tartaric (AT); and chemical synthesis times (20 min, 1, 2, and 3h) on the crosslinking and final physicochemical properties of PVOH hydrogels, incorporated with vanilla (OEB), clove (OEC) and orange (OEL) essential oils, with a view to applications in agricultural systems. The results obtained show that the incorporation of AM and AT proved to be more efficient and similar in chemical crosslinking with the PVOH structure, when evaluated by the techniques of swelling, sol-gel fraction, FTIR, and controlled dye release; while AC did not perform as well in terms of physicochemical stability, characterized by its steric hindrance. Subsequently, AM and AT and their reaction times (20 min and 2h) were chosen based on the previous results, for EO incorporation experiments using the surfactant sodium dodecyl sulfate (SDS) and the sonification method. The results showed that the incorporation of the EOs into the hydrogels was effective, especially as observed in the FTIR, optical microscopy, and controlled release techniques. In the simulated environmental experiments, the EO showed phytotoxic activity, stimulating chemical repellency in *Myzus persicae*, and partially reducing the growth of plants and *Aspergillus fumigatus*, especially observed in the sequence of OEC (2h), OEL, and OEB both at 20 min and 2h, respectively. It is concluded that AM and AT hydrogels can be used for the incorporation and controlled release of essential oils for application in agricultural systems.

Keywords: Hydrogels, Poly(vinyl alcohol), Chemical functionalization, Essential oils, Agricultural systems.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas do PVOH	18
Tabela 2 – Princípios ativos e propriedades bioativas presentes nos óleos essenciais.....	27
Tabela 3 – Valores médios característicos de extrativos de baunilha de regiões específicas no mundo	29
Tabela 4 – Propriedades e compostos primários encontrados em cravos-da-índia	32
Tabela 5 – Propriedades e compostos primários encontrados em OEL (<i>Citrus sinensis</i> L.) de várias regiões geográficas	34
Tabela 6 – Nomenclatura utilizada para os hidrogéis de PVOH/OE.....	40
Tabela 7 – Nomenclatura utilizada no bioensaio de germinação	50
Tabela 8 – Nomenclatura utilizada para atividade de inibição micelial de <i>A. Fumigatus</i>	51
Tabela 9 – Estatística descritiva utilizada para comparar os índices de carbonila médios de PVOH e seus hidrogéis	58
Tabela 10 – Estatística descritiva utilizada para comparar os índices de hidroxila médios de PVOH e seus hidrogéis	59
Tabela 11 – Temperaturas e eventos de TGA/DTG do PVOH e hidrogéis analisados	63
Tabela 12 – Temperaturas e eventos de DSC das amostras avaliadas	67
Tabela 13 – Estatística de intumescimento dos hidrogéis com AC	69
Tabela 14 – Estatística de intumescimento dos hidrogéis com AM.....	70
Tabela 15 – Estatística de intumescimento dos hidrogéis com AT.....	72
Tabela 16 – Valores de n e k para os hidrogéis durante o intumescimento.....	75
Tabela 17 – Estatística de absorção de umidade dos hidrogéis com AC.....	77
Tabela 18 – Estatística de absorção de umidade dos hidrogéis com AM	78
Tabela 19 – Estatística de absorção de umidade dos hidrogéis com AT	79
Tabela 20 – Constantes de Peleg k_1 e k_2 dos hidrogéis analisados	81
Tabela 21 – Composição química do OEC (<i>Syzygium aromaticum</i> L.), OEL (<i>Citrus sinensis</i> L.) e OEB (<i>Vanilla planifolia</i> L.) determinadas por GC-MS	89
Tabela 22 – Características médias das microcápsulas de OEC, OEL e OEB com síntese de 2h	95
Tabela 23 – Identificação amostral das alfices para o bioensaio de germinação	131

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ilustração da reação de um hidrogel.....	15
Figura 2 – Ilustração de síntese química do PVOH.....	17
Figura 3 – Ilustração de reação de reticulação entre PVOH e ácido carboxílico.....	19
Figura 4 – Estrutura química do ácido cítrico	20
Figura 5 – Mecanismo de formação intramolecular de anidrido de AC e esterificação entre AC e PVOH.....	21
Figura 6 – Ilustração de reticulação química entre o PVOH e AC	21
Figura 7 – Estrutura química do ácido málico	22
Figura 8 – Ilustração de reticulação química entre o PVOH e AM.....	22
Figura 9 – Estrutura química do ácido tartárico.....	23
Figura 10 – Ilustração de reticulação química entre o PVOH e AT.....	24
Figura 11 – Reação química entre ácido carboxílico e álcool (a) e suas reações de esterificação (b)	25
Figura 12 – Ilustração da baunilha com destaque para as folhas (a) e frutos (b).....	28
Figura 13 – Estruturas químicas dos principais constituintes aromatizantes da baunilha.....	29
Figura 14 – Ilustração de folhas de <i>Syzygium aromaticum</i> L. (a) e seus botões secos e in natura (b)	31
Figura 15 – Principais compostos químicos presentes no cravo-da-índia.....	31
Figura 16 – Estruturas químicas do <i>L</i> -limoneno (R) e do <i>D</i> -limoneno (S)	34
Figura 17 – Ilustração de olfatômetro de quatro-braços	36
Figura 18 – Ilustração esquemática de síntese de hidrogéis.....	39
Figura 19 – Bioensaio de quimiotaxia: Couve (a), detalhada com <i>M. persicae</i> sob a folha (b). 47	
Figura 20 – Sistema desenvolvido para estudo com hidrogéis PVOH/OE sob liberação controlada.....	48
Figura 21 – Ensaio de germinação: Estufa (a) e amostras em copos arranjados (b).....	49
Figura 22 – HATR-FTIR das amostras de hidrogéis à base de AC, na faixa de 4000-2500 cm^{-1} (a) e 2000-600 cm^{-1} (b).....	52
Figura 23 – Possibilidades de esterificação para hidrogéis à base de AC	54
Figura 24 – HATR-FTIR das amostras de hidrogéis à base de AM, na faixa de 4000-2500 cm^{-1} (a) e 2000-600 cm^{-1} (b).....	54
Figura 25 – HATR-FTIR das amostras de hidrogéis à base de AT, na faixa de 4000-2500 cm^{-1} (a) e 2000-600 cm^{-1} (b).....	56
Figura 26 – Índices de carbonila de PVOH e hidrogéis	57
Figura 27 – Índices de hidroxila de PVOH e hidrogéis.....	59
Figura 28 – Curvas de TGA e DTG de hidrogéis com AC.....	60
Figura 29 – Curvas de TGA e DTG de hidrogéis com AM	61
Figura 30 – Curvas de TGA e DTG de hidrogéis com AT	62
Figura 31 – Curvas de DSC do filme PVOH e hidrogéis com AC	64
Figura 32 – Curvas de DSC do filme PVOH e hidrogéis com AM.....	65
Figura 33 – Curvas de DSC do filme PVOH e hidrogéis com AT.....	66
Figura 34 – Grau de intumescimento dos hidrogéis com AC, em detalhamento até 10h	68
Figura 35 – Hidrogéis de PVOH-AC após teste de intumescimento em 30 min (a) e 2h (b).....	69
Figura 36 – Grau de intumescimento dos hidrogéis com AM, em detalhamento até 10h.....	70
Figura 37 – Hidrogéis de PVOH-AM após teste de intumescimento em 24h; -AM (a); -AM1 (b); -AM2 (c) e -AM3	71
Figura 38 – Grau de intumescimento dos hidrogéis com AT, em detalhamento até 10h.....	71

Figura 39 – Hidrogéis de PVOH-AT após teste de intumescimento em 24h; -AT (a); -AT1 (b); -AT2 (c) e -AT3 (d)	72
Figura 40 – Cinética de intumescimento para hidrogéis com AC.....	73
Figura 41 – Cinética de intumescimento para hidrogéis com AM	74
Figura 42 – Cinética de intumescimento para hidrogéis com AT	75
Figura 43 – Absorção de umidade de hidrogéis com AC, em detalhamento até 10h	76
Figura 44 – Absorção de umidade de hidrogéis com AM, em detalhamento até 10h.....	78
Figura 45 – Absorção de umidade de hidrogéis com AT, em detalhamento até 10h	79
Figura 46 – Fração sol-gel das amostras.....	81
Figura 47 – Relação de densidade de reticulação dos hidrogéis de AM e AT	83
Figura 48 – Liberação controlada de corante para hidrogéis de AM	84
Figura 49 – Liberação controlada de corante para hidrogéis de AT	84
Figura 50 – Estágios de migração de corante em hidrogéis com AM e AT	85
Figura 51 – Espectros das amostras à base de PVOH-AM2 incorporados com OE na faixa de 2000-450 cm^{-1} : OEB (a); OEC (b) e OEL (c)	91
Figura 52 – Filme de PVOH (a) e Hidrogéis: OEB (b); OEC (c) e OEL (d).....	92
Figura 53 – Imagens de microscopia óptica de filmes e hidrogéis de PVOH incorporados com OEC, OEL e OEB por 20 min e 2h de reação na ampliação de 10x	93
Figura 54 – Liberação controlada de OE dos hidrogéis com OEC (a), OEL (b) e OEB (c) por espectroscopia UV-vis.....	97
Figura 55 – Tempo de permanência e a porcentagem de fêmeas de <i>M. persicae</i> em um olfátometro de quatro braços, submetido a voláteis de OEC (a - d) e OEL (e - h) (N = 40)	100
Figura 56 – Testes de germinação realizados: <i>Lactuca sativa</i> L. (a), amostra detalhada com escala branca (5 cm) (b)	104
Figura 57 – Amostras de <i>Allium cepa</i> L. submetido a teste de ecotoxicidade	104
Figura 58 – Germinação (%) de <i>Lactuca sativa</i> L.....	106
Figura 59 – Germinação de raízes (%) para <i>Allium cepa</i> L.....	106
Figura 60 – Amostras de hidrogéis (2h) em micélios de <i>A. fumigatus</i> após 7 dias de teste....	108
Figura 61 – Curva de calibração de corante vermelho de metila	122
Figura 62 – Curva de calibração de OEB: equipamento (a) e teoricamente (b)	122
Figura 63 – Curva de calibração de OEC: equipamento (a) e teoricamente (b).....	123
Figura 64 – Curva de calibração de OEL: equipamento (a) e teoricamente (b).....	123
Figura 65 – Cromatogramas representativos e principal composto identificado em OEC (a), OEL (b) e OEB (c) por GC-MS.....	124
Figura 66 – Microscopias ópticas das amostras de PVOH e hidrogéis em diferentes ampliações de 10 e 20x	125
Figura 67 – Alfaces classificadas de acordo com o OE utilizado e tempo de síntese	131
Figura 68 – Cebolas em solução sem hidrogel após o bioensaio em estufa	136
Figura 69 – Cebolas em solução com hidrogel após o bioensaio em estufa	137
Figura 70 – Dados estatísticos de massa seca e comprimento radicular (alface); germinação de raízes (cebola) realizados em <i>Lactuca sativa</i> L. e <i>Allium cepa</i> L.	139
Figura 71 – Imagens de Placas de Petri dos hidrogéis até 2h de reação com OEC, OEL e OEB submetidos a <i>A. fumigatus</i>	140

LISTA DE ABREVIATURAS

AC	Ácido cítrico
AM	Ácido málico
AT	Ácido tartárico
OE	Óleo essencial
OEB	Óleo essencial de baunilha
OEC	Óleo essencial de cravo
OEL	Óleo essencial de laranja
PVOH	Poli(álcool vinílico)
PVOH-AC	Hidrogel de PVOH sintetizado com ácido cítrico
PVOH-AM	Hidrogel de PVOH sintetizado com ácido málico
PVOH-AT	Hidrogel de PVOH sintetizado com ácido tartárico
PVOH/OE	Hidrogel de PVOH incorporado com óleos essenciais

PUBLICAÇÕES RELACIONADAS

ARTIGO I:

Castro, Dione P.; Kieffer, Vanessa Z.; Santana, Ruth Marlene C. *Incorporation of organic acids in the crosslinking of polyvinyl alcohol hydrogels*. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 33(3), e20230035, 2023.

ARTIGO II:

Castro, Dione P.; Santana, Ruth Marlene. C. *Influence of chemical nature of citric and tartaric acids on reaction time of the crosslinking of polyvinyl alcohol hydrogels*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 96(1), e20230092, 2024.

ARTIGO III:

Castro, Dione P.; Santos, Carlos Diego R.; Sant'Ana, Josué; Jacques, Rosângela A.; Polidoro, Allan S.; Fuentes, Silvia Helena; Gatto, Darci A.; Członka-Makowska, Sylwia; Kairytė, Agnė; Santana, Ruth Marlene C. *Exploring the antifungal, insecticidal and phytotoxic activity of polyvinyl alcohol hydrogels incorporated with essential oils*. **(under review)**, 2024.

Trabalhos publicados em congressos:

Castro, Dione P.; Kieffer, Vanessa Z.; Santana, Ruth M. C. *PVOH hydrogels crosslinked by organic acids. Part I: Swelling-kinetics study*. In: **17° Congresso Brasileiro de Polímeros (CBPol)**, Joinville – Santa Catarina. Anais do 17° Congresso Brasileiro de Polímeros, 2023.

Castro, Dione P.; Santana, Ruth M. C. *PVOH hydrogels crosslinked by organic acids. Part II: Kinetics of controlled dye release*. In: **17° Congresso Brasileiro de Polímeros (CBPol)**, Joinville – Santa Catarina. Anais do 17° Congresso Brasileiro de Polímeros, 2023.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral	14
2.2 Objetivos específicos	14
3 REVISÃO DA LITERATURA	15
3.1 Hidrogéis	15
3.2 Materiais utilizados na produção de hidrogéis	16
3.2.1 Poli(álcool vinílico).....	17
3.2.2 Agentes reticulantes.....	19
3.2.2.1 Ácido cítrico	20
3.2.2.2 Ácido málico	22
3.2.2.3 Ácido tartárico	23
3.2.3 Catalisadores	24
3.3 Óleos essenciais	26
3.3.1 Histórico, propriedades e suas aplicações.....	26
3.3.1.1 Baunilha (<i>Vanilla planifora</i> L.).....	28
3.3.1.2 Cravo (<i>Syzygium aromaticum</i> L.).....	30
3.3.1.3 Laranja (<i>Citrus sinensis</i> L.)	33
3.4 Óleos essenciais em hidrogéis	34
3.4.1 Atividade fungicida e bioensaios em ambientes simulados.....	35
4 MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 Reagentes utilizados	38
4.2 Metodologia experimental	38
4.2.1 Desenvolvimento de hidrogéis à base de PVOH	38
4.2.2 Desenvolvimento de hidrogéis com óleos essenciais	39
4.3 Caracterização físico-química dos hidrogéis e óleos essenciais	40
4.3.1 Espectroscopia de absorção no Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	40
4.3.2 Análise termogravimétrica (TGA).....	41
4.3.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	41
4.3.4 Grau de Intumescimento	42
4.3.5 Absorção de umidade	42
4.3.6 Fração sol-gel	43
4.3.7 Liberação controlada de corante e óleos essenciais por espectroscopia UV-vis	44
4.3.8 Microscopia óptica.....	45

4.3.9 Análise química dos óleos essenciais por meio de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS).....	45
4.4 Bioensaios de quimiotaxia	46
4.4.1 Cultivo de Couve (<i>Brassica oleraceae</i> L.)	46
4.5.2 Criação de <i>Myzus persicae</i> (Sulzer, 1776)	46
4.4.3 Bioensaio de quimiotaxia com olfatômetro.....	47
4.4.3.1 Respostas quimiotáxicas de <i>M. persicae</i> em olfatômetro de múltipla escolha ...	47
4.5 Teste ambiental simulado em plantas e <i>Aspergillus fumigatus</i>	49
4.5.1 Teste de germinação	49
4.5.2 Teste de ecotoxicidade.....	50
4.5.3 Atividade antimicrobiana e antifúngica para <i>A. fumigatus</i>	50
4.6 Tratamento estatístico	51
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1 ETAPA I – Estudo da reticulação de hidrogéis com ácidos orgânicos.....	52
5.1.1 Espectroscopia de absorção no Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) 52	
5.1.1.1 Índices de carbonila (I_{CO}) e hidroxila (I_{OH}).....	57
5.1.2 Análise termogravimétrica (TGA).....	60
5.1.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	64
5.1.4 Grau de intumescimento	67
5.1.4.1 Cinética de intumescimento e difusão	73
5.1.5 Absorção de umidade.....	76
5.1.6 Fração Sol-Gel.....	81
5.1.6.1 Densidade de reticulação química.....	82
5.1.7 Liberação controlada	83
5.1.8 Conclusões parciais.....	86
5.2 ETAPA II – Estudo da incorporação de óleos essenciais em hidrogéis	88
5.2.1 Análise química dos óleos essenciais.....	88
5.2.2 Espectroscopia de absorção no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)90	
5.2.3 Microscopia óptica.....	92
5.2.4 Liberação controlada	96
5.2.5 Conclusões parciais.....	99
5.3 ETAPA III – Estudo e avaliação da ecotoxicidade dos hidrogéis PVOH/OE em ambientes simulados.....	100
5.3.1 Bioensaio de quimiotaxia com olfatômetro.....	100
5.3.2 Ensaios de germinação e ecotoxicidade	102
5.3.3 Atividade antifúngica para <i>A. fumigatus</i>	107
5.3.4 Conclusões parciais.....	108

6 CONCLUSÕES	110
7 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS	112
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113
APÊNDICE A – Dados utilizados para obtenção das curvas de calibração do corante vermelho de metila e dos OE por meio de espectroscopia UV-Vis.....	122
APÊNDICE B – Cromatogramas de OEC, OEL e OEB identificados por GC-MS.....	124
APÊNDICE C – Microscopias ópticas em diferentes ampliações de PVOH e hidrogéis, classificadas de acordo com o OE e tempo de síntese química.....	125
APÊNDICE D – Imagens de <i>Lactuca sativa</i> L. cultivadas e classificadas de acordo com o OE e tempo de síntese química.....	131
APÊNDICE E – Imagens de <i>Allium cepa</i> L. cultivadas e classificadas de acordo com o OE e tempo de síntese química.....	136
APÊNDICE F – Gráficos e dados estatísticos de massa seca para <i>Lactuca sativa</i> L., e de comprimento radicular e raízes para <i>Allium cepa</i> L.	139
APÊNDICE G – Imagens de hidrogéis submetidos a atividade antimicrobiana e antifúngica com <i>A. fumigatus</i>.....	140

1 INTRODUÇÃO

O poli(álcool vinílico) (PVOH) é um polímero sintético, linear, semicristalino e composto de uma cadeia carbônica com grupos funcionais hidroxila; sendo obtido pela hidrólise parcial do poli(vinil acetato), e suas propriedades físicas finais são definidas pelo seu grau de hidrólise completa ou parcial que altera sua massa molecular final e difere em suas versões comerciais finais. O PVOH exibe muitas características importantes, por ser, biodegradável, biocompatível, atóxico, solúvel em água, termoestável e ter boa resistência química, e adesiva ^{1,2}.

Entretanto, a presença de grupos hidroxila no PVOH, aumenta a capacidade de absorção e adsorção de água tornando o solúvel, levando-o à redução de sua capacidade mecânica e propriedades térmicas, limitando assim a sua aplicabilidade final. Esse controle físico-químico do PVOH é realizado por reticulação química das cadeias poliméricas por vários métodos, os quais podem ser com o uso de agentes de reticulação convencionais, como o glutaraldeído, ácido bórico, metacrilato de glicidila, genipina, celulose microcristalina, reticulação térmica ou foto-induzida, em que normalmente são utilizados solventes tóxicos (ex. glutaraldeído), os quais são preocupantes para aplicações de hidrogéis específicas ^{1,3,4}. Os ácidos carboxílicos são uma das opções de agentes de reticulação para materiais baseados em PVOH, por serem facilmente disponíveis, inodoros, não tóxicos, biodegradáveis, e também serem bons agentes de reticulação química ^{1,3,5}.

A reticulação química define-se como a formação de ligações químicas entre as diferentes cadeias poliméricas do PVOH. Vários ácidos carboxílicos como dicarboxílicos, policarboxílicos e seus derivados são usados como bons agentes reticulantes, pois possuem dois ou mais sítios reativos que ajudam na formação de uma rede reticulada forte, estável e de alta densidade, que ao reagir com os grupos hidroxilas do PVOH, originam reações de esterificação e diferentes formas de ligações intermolecular/intramolecular no polímero, melhorando a resistência mecânica e as propriedades de estabilidade térmica do PVOH ^{1,2,6}. Este modelo de modificação química de grupos hidroxila de PVOH através de agentes de reticulação é o mais simples, com custo-benefício acessível, e que pode ser facilmente controlado; assim abrindo novos campos de suas aplicações em novos materiais ^{1,7}.

Os hidrogéis são uma classe desses polímeros reticulados que, devido à sua natureza hidrofílica, podem absorver grandes quantidades de água^{7,8}. Esses materiais oferecem de forma definida, estabilidade química e mecânica em seu estado intumescido evitando sua desintegração quando em contato com a água ou diminuindo sua resistência físico-química em contato com ambiente relativamente úmido¹. A estrutura de um determinado tipo de hidrogel pode ser desenvolvida visando uma aplicação específica desde biomedicina, produtos farmacêuticos, remoção de impurezas, meio ambiente e até de biocompatibilidade, selecionando-se as matérias-primas de interesse e técnica de síntese do produto^{7,8}. Normalmente os hidrogéis são geralmente preparados com base em polímeros hidrofílicos ou hidrofóbicos a depender das propriedades finais ou de aplicações específicas. Em geral, as três partes integrantes da síntese de hidrogéis são monômeros, iniciador e agente reticulante. Normalmente, a reticulação de PVOH com agente reticulante é realizada aquecendo o PVOH em solução sob agitação e temperatura⁵. Após a síntese o hidrogel precisa passar por um processo de lavagem para remoção de impurezas do processo de síntese química⁸.

Atualmente, diversos pesquisadores estudam uma nova geração de materiais à base de hidrogéis com bioatividade adequada e controlada para diversas aplicações. Neste contexto os óleos essenciais são cada vez mais utilizados, devido à sua excelente atividade antibacteriana e antimicrobiana^{9,10}. Essa bioatividade é conferida pela incorporação na matriz de PVOH, compostos bioativos com funções específicas, que podem ser realizadas de duas maneiras: pós-carregamento ou *in situ*⁹; que permite a incorporação, microencapsulação e aplicação como inseticidas botânicos no setor agrícola¹¹. Entre os setores de produtos modernos, o desenvolvimento com a inclusão de aditivos especiais (por exemplo, óleos essenciais ou extratos naturais de baunilha, cravo e laranja) permitem preservar a qualidade dos alimentos, evitando reações de oxidação, crescimento microbiano, propriedades antifúngicas, inseticidas e de repelência^{9,11,12}.

Perante a revisão da literatura e a escassez de pesquisas acadêmicas sobre hidrogéis funcionalizados com óleos essenciais, este trabalho visa apresentar um contexto sobre os hidrogéis reticulados por ácidos orgânicos e funcionalizados por óleos essenciais. Neste contexto, este trabalho mostra-se inovador por possibilitar o estudo, desenvolvimento e produção destes hidrogéis funcionalizados aplicados a sistemas de liberação controlada no setor agrícola.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolvimento de hidrogéis à base de PVOH, utilizando diferentes agentes reticulantes naturais e atóxicos (ácidos orgânicos), e incorporação de óleos essenciais com propriedades de repelência, antifúngicas e fitotóxicas aplicadas ao setor agrícola.

2.2 Objetivos específicos

- Desenvolver metodologias para formulação e síntese de hidrogéis à base de PVOH e ácidos orgânicos;
- Determinar o teor ótimo de ácidos orgânicos na síntese dos hidrogéis;
- Determinar a melhor relação de reticulação química *versus* estabilidade dimensional para os hidrogéis;
- Avaliar a reticulação química e estabilização dos hidrogéis com os ácidos orgânicos;
- Analisar a incorporação e o teor ótimo dos óleos essenciais de baunilha (OEB), cravo (OEC) e laranja (OEL) nos hidrogéis;
- Estudar as propriedades de repelência de hidrogéis com OEC e OEL em insetos, por meio de ensaio de olfatométrica;
- Avaliar as propriedades antibacterianas, fungicidas e ecotoxicológicas dos hidrogéis, por meio de bioensaios em ambientes simulados.

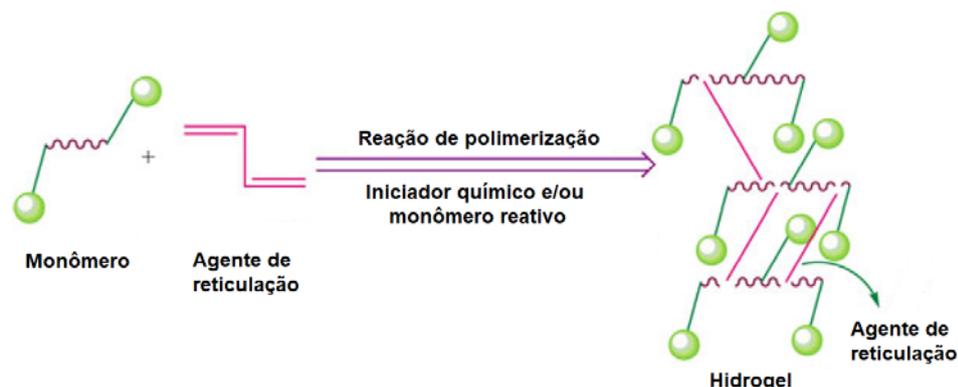
3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Hidrogéis

Hidrogéis são estruturas poliméricas capazes de intumescer e formar uma estrutura tridimensional estável e hidrofílica, após absorção de quantidades de água superior a 90% ^{7,13}. Eles são geralmente desenvolvidos com monômeros hidrofílicos classificados como não iônicos, iônicos (aniônicos, catiônicos e anfotéricos); e monômeros hidrofóbicos são utilizados às vezes, para regular propriedades de aplicações finais específicas, sendo que sua estrutura química pode ser reticulada por meio de ligações de hidrogênio, ligações covalentes e interações de van der Waals ^{8,14,15}. O termo hidrogel foi originado em 1894, pois foi empregado para explicar uma solução de gel coloidal. Os primeiros hidrogéis sintéticos foram desenvolvidos em 1954 por Wichterle e Lim, utilizando o copolímero poli-2-hidroxietil metacrilato, para aplicações na área biomédica ^{7,14}.

Normalmente, a síntese dos hidrogéis constituem-se nos monômeros, iniciadores e agentes reticulantes (Figura 1) os quais podem ser sintetizados por duas técnicas diferentes: “polimerização tridimensional” que ocorre na presença de monômero hidrofílico específico ou através de um agente de reticulação ^{8,16}. Para controle do calor de polimerização e propriedades finais dos hidrogéis, diluentes podem ser utilizados, como água ou outras soluções aquosas ⁸. Estes são geralmente desenvolvidos por meio de técnicas que podem ser de massa, solução ou dispersão. Sendo que na polimerização homogênea, a reação em solução é a mais utilizada devido ao melhor controle da reação, propriedades reológicas e finais do hidrogel até sua estabilidade dimensional em sistemas híbridos ^{4,7,8}.

Figura 1 – Ilustração da reação de um hidrogel



As propriedades físico-químicas, mecânicas, estabilidade e biocompatibilidade dos hidrogéis dependem do tipo de polímero utilizado, proporção de constituintes, composição e processo de fabricação ⁷. As principais características dos hidrogéis, apresentados por Thakur e colaboradores ¹⁴, Gautam *et al.* ¹ e Sethi *et al.* ¹⁷ são: a diversificação de síntese molecular e controle de absorção e retenção de água devido aos grupos funcionais selecionados tais como hidroxilas (-OH), carboxílicos (-COOH), grupos amídicos (-CONH-), amídicos primários (-CONH₂), sulfônicos (-SO₃H) e uretânicos (-NH(CO)O-). Essa retenção à água se deve pelo fato de as ligações hidrofílicas polares serem as primeiras a absorver prontamente a água formando uma ligação primária de água, e conseqüentemente fazendo com que a rede do hidrogel se inche e exponha os demais grupos hidrofílicos às moléculas de água, para posterior intumescimento completo por meio da osmose até seu limite dimensional ou químico ¹³.

Várias novas abordagens de design foram relatadas e descritas para desenvolver hidrogéis com propriedades mecânicas aprimoradas, superabsorção de líquidos, superporosidade, estabilidade dimensional, aplicações biomédicas e tecnológicas, *scaffolds* e de floculantes para tecnologia de remoção de partículas e metais pesados ^{7,14,17,18}.

3.2 Materiais utilizados na produção de hidrogéis

Existem diversos materiais empregados na fabricação e desenvolvimento de hidrogéis. Os pesquisadores Karoyo e Wilson ⁷, Mishra *et al.* ¹⁶ e Sethi *et al.* ¹⁷ descrevem que os hidrogéis mono-constituintes, podem ser fabricados com único monômero (polímero) sem o uso de agentes de reticulação como os polissacarídeos (amido, celulose, quitosana, agarose e alginato) e proteínas (colágeno e gelatina); devido alto peso molecular, estrutura tridimensional porosa, hidrofílicidade e biocompatibilidade. Também existem hidrogéis baseados em sistemas multi-constituintes que se baseiam no uso de agentes reticulantes e/ou cargas para estabelecer ligações químicas entre os sistemas (por exemplo, ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, ligações de van der Waals, entre outras) ou reticulação química (ligação covalente) ^{7,8,14}; e os hidrogéis físicos ou reversíveis, constituídos de ligações cruzadas que incluem: emaranhamento de cadeia, ligação de hidrogênio, interações hidrofóbicas, interações iônicas (cátions metálicos) e formação de cristalitos ^{7,15}.

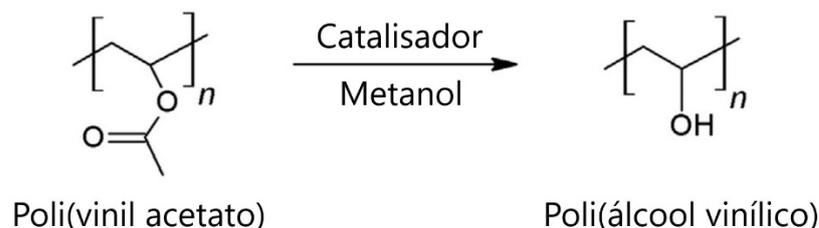
Esses vínculos físicos podem não ser de natureza permanente; entretanto, eles fornecem resistência suficiente para tornar os materiais insolúveis em meio aquoso com grandes taxas de intumescimento ^{7,8}. E por fim, os constituídos em hidrogéis de sistemas permanentes ou químicos em que este tipo são iniciados por reticulação covalente de um monômero polimérico através de um agente de reticulação que pode ser: (1) reação de um agente de reticulação de baixa massa molecular (por exemplo, cloretos diácidos, isocianatos, glutaraldeído, etc.); (2) uso de uma rede híbrida reticulada (polímero-polímero); (3) fotopolimerização por agente fotossensível; (4) processos de reticulação catalisados por enzimas; ou (5) o uso de redes de polímeros interpenetrante (IPNs), onde dois ou mais polímeros são formados em tal maneira que um polímero é reticulado na presença do outro ^{7,16,19}.

O método de *casting* é amplamente utilizado e adequado para produção de filmes poliméricos e membranas/hidrogéis por polímeros reticuláveis. Neste modelo, uma solução de PVOH e ácidos carboxílicos são colocadas em moldes e então o solvente é removido por evaporação ou pelo método de inversão de fases ¹.

3.2.1 Poli(álcool vinílico)

O poli(álcool vinílico) - PVOH é um polímero sintético hidrossolúvel, produzido a partir da hidrólise química de poli(acetato de vinila) - PVA, em que se substitui o grupo funcional acetato por um grupo hidroxila por meio de catalise alcalina, utilizando metanol como solvente na reação (Figura 2). Devido ao monômero precursor ser instável ele não pode ser isolado ou obtido em altas concentrações ^{19,20}. O PVOH por possuir melhor estereoisomeria tem a capacidade de cristalizar-se, ao contrário do PVA ²⁰.

Figura 2 – Ilustração de síntese química do PVOH



Fonte: adaptado e traduzido de Nthoiwa *et al.* ²⁰

Suas propriedades dependem de fatores como massa molecular, grau de hidrólise, teor de água e a presença de aditivos e método de obtenção ^{6,20}. O PVOH é

atóxico e possui uma alta barreira ao oxigênio e aromas, é resistente a óleos, graxas e solventes orgânicos^{20,21}. Existem muitos graus diferentes de PVOH que são produzidos variando a estrutura molecular durante o processo de síntese, resultando em uma gama diversificada de usos comerciais, emulsificantes, estabilizadores, espessante e outras aplicações^{12,19,20}. Na Tabela 1 são apresentadas algumas das propriedades do PVOH em suas diferentes formas comerciais.

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas do PVOH

Propriedades	Valores típicos	Observações
Cor	Incolor, branco para amarelo	Não há
Densidade (g/cm ³)	1,19 – 1,31	Não há
Temperatura de fusão (°C)	180 - 240	Aumenta com o grau de hidrólise
Temperatura de ebulição (°C)	228	Não há
Temperatura inicial de degradação (°C)	180	PVOH não plastificado
Temperatura de transição vítrea (°C)	75 - 85	Seco, aumenta com o grau de hidrólise
Grau de cristalinidade (%)	23,4	Parcialmente hidrolisado
	46,5	Totalmente hidrolisado

Fonte: traduzido de Nthoiwa *et al.*²⁰

As propriedades finais dependem de fatores como massa molecular, grau de hidrólise, teor de água e a presença final de aditivos²⁰. A miscibilidade depende da interação química de grupos hidroxila presentes no PVOH com os grupos funcionais de um segundo polímero^{20,22}. O PVOH tem sido um dos polímeros mais versáteis disponíveis aplicáveis em uma ampla gama de produtos, desde embalagens, têxteis, adesivos, produtos químicos industriais, cosméticos, à cerâmicos^{20,21}. Sua ampla aplicação em todas as indústrias surge da facilidade de influenciar as propriedades do polímero, controlando-se o grau de polimerização bem como a massa molecular e o grau de hidrólise dos grupos acetato^{6,22}. Kumar e Han¹⁹ descrevem que a presença desses grupos acetato residuais da síntese do PVOH, ajuda na cristalização após tratamento térmico durante dissolução em meio aquoso. Por fim, o PVOH é um polímero-hidrogel solúvel em água que é mais susceptível a biodegradação do que outros biopolímeros convencionais disponíveis²³.

Muitos trabalhos na literatura têm apresentado que uma das desvantagens do PVOH como matriz para incorporação de estruturas entrelaçadas de biopolímeros é sua alta solubilidade em água que limita sua aplicação em produtos com afinidade à água/fluídos²³. Para contornar este problema, várias estratégias e métodos são

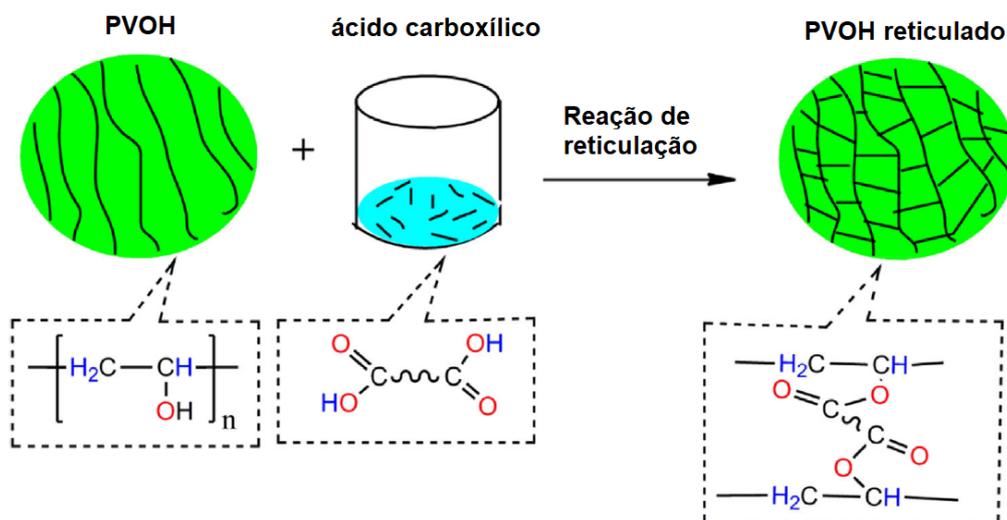
descritos na literatura, incluindo desenvolvimento de misturas com outros polímeros e agentes reticulantes afim de aumentar as propriedades finais ²¹.

3.2.2 Agentes reticulantes

Atualmente, a literatura é direcionada para o desenvolvimento de hidrogéis poliméricos com alto desempenho de inchamento via estrutura orgânica/inorgânica adicionados de pigmentos, proteínas, microalgas, ácidos orgânicos entre outros, a fim de se obter estruturas reticuladas compostas tridimensionais interpenetrantes ^{5,19,24}. O tipo de agente de reticulação químico utilizado e sua concentração final, apresenta grande impacto nas propriedades finais do PVOH reticulado, sendo que o tamanho dos poros dos hidrogéis e seu intumescimento podem ser controlados de acordo com o grau de reticulação final ^{1,13}.

A reticulação química envolve a reação entre grupos hidroxila (-OH) da cadeia polimérica (especialmente do PVOH) com grupos funcionais dos agentes reticuladores para formação de uma estrutura tridimensional (Figura 3) ^{2,15}. Para alguns agentes reticulantes, como hexametileno diisocianato e trimetafosfato de sódio, a reticulação ocorre à temperatura ambiente ⁵. Entretanto, a maioria dos outros agentes reticulantes orgânicos e inorgânicos como ácidos tricarboxílicos, ácidos dicarboxílicos, dialdeídos, poliuretanos, compostos epoxídicos, polifenóis, organossilanos, ácido bórico, entre outros; requerem reações sob aquecimento para reações de reticulação química ^{1,5}.

Figura 3 – Ilustração de reação de reticulação entre PVOH e ácido carboxílico



Fonte: traduzido de Gautam *et al.* ¹

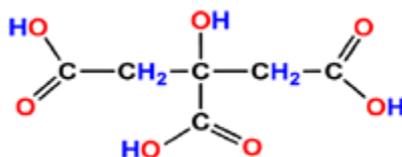
No entanto, alguns desses agentes reticulantes mencionados têm desvantagens específicas tais como: alguns são citotóxicos, podem produzir odores desagradáveis, tornar o PVOH não-biodegradável ou afetar adversamente as propriedades finais do produto ¹. Vários ácidos carboxílicos classificados como dicarboxílicos, policarboxílicos e seus derivados são usados como agentes reticulantes, por possuírem dois ou mais sítios reativos que promovem a formação de estruturas químicas reticuladas, estáveis e de alta densidade (compacta) ou fracas ^{1,13}. Esses ácidos orgânicos têm duas ou mais funções carboxílicas reativas e grupos funcionais químicos presentes em sua estrutura, que reagem com os grupos hidroxilas presentes na estrutura química do PVOH, através de reações de esterificação e diferentes formas de ligações covalentes (intermolecular/intramolecular) ^{1,25}.

Dentre as opções de modificação química às matrizes poliméricas para desenvolvimento de hidrogéis, especialmente de PVOH, estudaram-se o uso de ácidos orgânicos (cítrico, málico e tartárico) os quais são descritos a seguir.

3.2.2.1 Ácido cítrico

O ácido cítrico (AC) é um ácido orgânico natural extraído de frutas cítricas pelo método de fermentação do fungo *Aspergillus niger*. Possui estrutura química $C_6H_8O_7$ (Figura 4), uma massa molecular de 210,14 g/mol, e diferentes concentrações de dissociação ácida (pKa) de 3,4, 4,7 e 6,4 ²⁵. O AC pode participar ativamente em interações de pontes de hidrogênio com redes poliméricas devido aos seus três grupos carboxílicos (-COOH) e um único grupo hidroxila (-OH) ^{25,26}. É usado como um modificador polifuncional natural por transformar grupos hidroxilas (OH-) em polímeros funcionais reativos, por meio de reações de reticulação ^{1,25}.

Figura 4 – Estrutura química do ácido cítrico



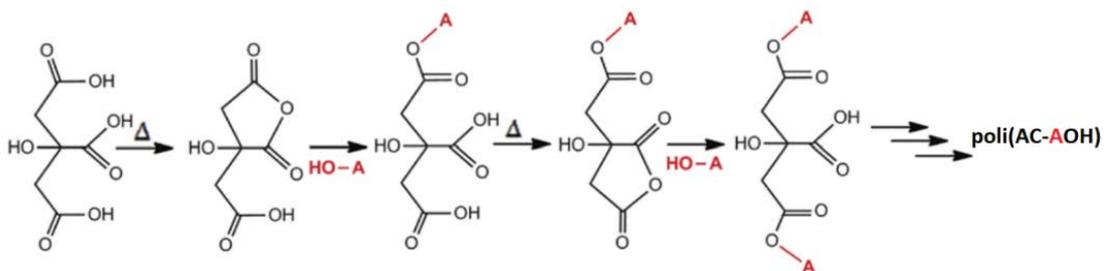
Fonte: Gautam *et al.* ¹

Além disso, a reticulação com AC fornece alguns grupos carboxílicos livres que podem aumentar a biocompatibilidade, ajustar a hidrofiliabilidade da superfície do polímero

e aumentar o número de sítios químicos ativos para bioconjugação e atividade antibacteriana ²⁷.

A quantificação dos grupos -COOH residuais (ou livres) também pode fornecer algumas informações adicionais sobre a formação de hidrogéis de PVOH-AC. A reação de esterificação, catalisada pelas ligações intramoleculares de anidrido de ácido cítrico (Figura 5), mostra a origem desses grupos carboxílicos livres. Se o AC for reagido quimicamente de acordo com esse mecanismo intramolecular, 2/3 das funções de grupos carboxílicos são convertidas quimicamente em ésteres com o PVOH ²⁶.

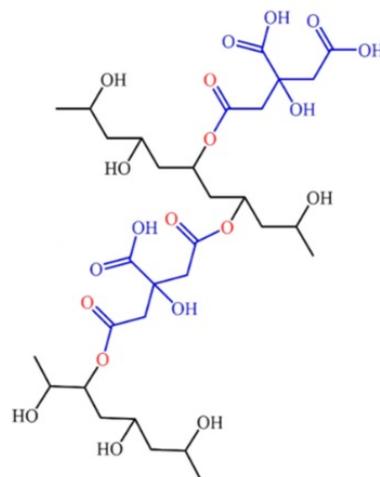
Figura 5 – Mecanismo de formação intramolecular de anidrido de AC e esterificação entre AC e PVOH



Fonte: Traduzido de Birck *et al.* ²⁶

Huang *et al.* ²³ dissolveram PVOH e AC em água deionizada para formar uma solução reticulada quimicamente pelo AC. Os grupos carboxílicos (-COOH) do AC realizaram reação de esterificação com os grupos hidroxilas do PVOH (Figura 6). Foi observado que os grupos carboxílicos remanescentes do AC não reagiram suficientemente com o PVOH durante o processo de reticulação, aumentando posteriormente a hidrofiliicidade da superfície para atuação em *scaffolds*.

Figura 6 – Ilustração de reticulação química entre o PVOH e AC

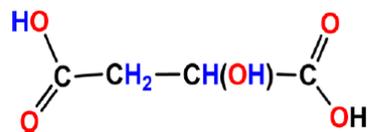


Fonte: Adaptado de Huang *et al.* ²³

3.2.2.2 Ácido málico

O ácido málico (AM) ($C_4H_6O_5$) é um ácido carboxílico com massa molar de 134,09 g/mol e ocorre sob os isômeros: ácido L-málico, ácido D-málico e mistura racêmica (DL); dependendo de seus isômeros têm diferentes pontos de fusão sendo termoestável até 150°C e acima desta, decompõe-se em ácido fumárico por desidratação, e sua degradação completa ocorre a aproximadamente 180°C²⁸. É obtido de fontes naturais, e especialmente utilizado como aditivo natural por ser atóxico¹⁷. Quando comparado a outros ácidos orgânicos, o AM é menos higroscópico naturalmente e a mistura racêmica tem um ponto de fusão mais elevado quando comparada aos outros isômeros²⁸. Na Figura 7 é mostrada a estrutura química do AM.

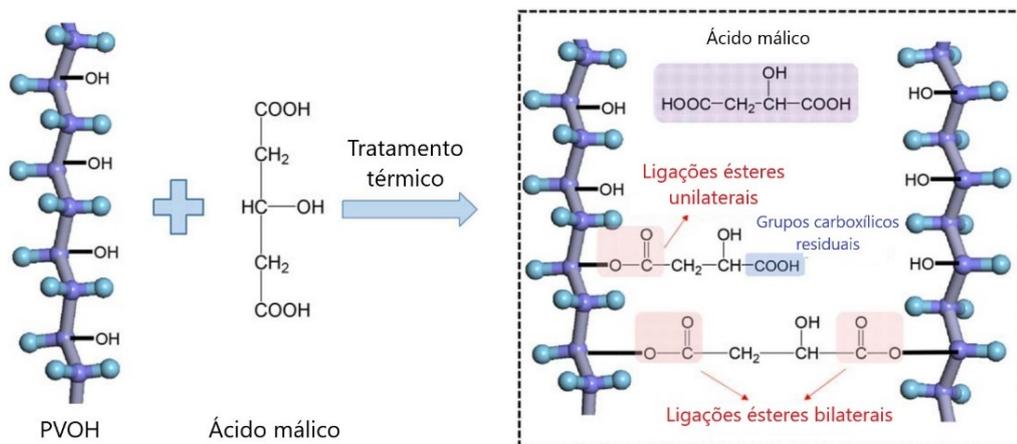
Figura 7 – Estrutura química do ácido málico



Fonte: Gautam *et al.*¹

Gao *et al.*²⁹ descreve que a reação de esterificação entre grupos hidroxilas do PVOH e grupos carboxílicos presentes no AM podem ocorrer em três estados químicos possíveis (Figura 8): moléculas de AM livres, grupos carboxílicos residuais e reticulados unilateralmente e bilateralmente na reação de esterificação, respectivamente.

Figura 8 – Ilustração de reticulação química entre o PVOH e AM



Fonte: Traduzido de Gao *et al.*²⁹

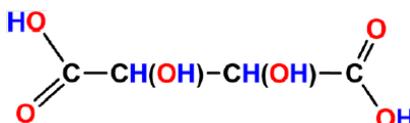
Tem sido relatado na literatura que o número de grupos hidroxilas presentes em um determinado agente reticulante afeta a hidrofilicidade de ligações cruzadas tais como

existentes no PVOH incorporado com o AM que por possuir um grupo hidroxila adicional é mais hidrofílico, criando um forte intertravamento de cadeias poliméricas e restringindo sua hidrofiliidade resultando na formação de estrutura mais fechada e rígida, além em conjunto com o AM, poder agir como um agente antimicrobiano por meio da diminuição do pH da bactéria em contato com o filme ¹.

3.2.2.3 Ácido tartárico

O ácido tartárico (AT) (C₄H₆O₆) é um ácido dicarboxílico de ocorrência natural contendo dois estereoisômeros. O enantiômero dextrogiro do ácido L (+) tartárico é amplamente distribuído na natureza e está presente na composição ácida das frutas, e o ácido levogiro puro D (-) tartárico é raro. O AT é um composto, que remonta sua descoberta a Louis Pasteur que o separou em dois enantiômeros há mais de 160 anos. Na Figura 9 é mostrada a estrutura química do AT ³⁰.

Figura 9 – Estrutura química do ácido tartárico



Fonte: Gautam *et al.* ¹

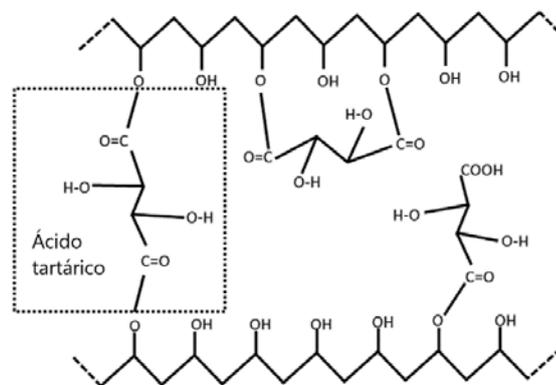
O fluxo de permeação e o grau de intumescimento do PVOH em um determinado solvente, diminui significativamente com o aumento da incorporação de ácido tartárico no filme reticulado. A alta concentração de AT, aumenta a taxa de reticulação final do PVOH o que leva à diminuição do volume livre da membrana para absorção e liberação de líquidos ¹.

Os pesquisadores Sonker e Verma ⁵ estudaram filmes de PVOH e AT como agente de reticulação, por meio de aquecimento e irradiação por micro-ondas, em que se comparou os dois métodos empregados. A incorporação do AT mostrou-se efetiva no processo de reticulação, especialmente no ensaio de intumescimento com diminuição da absorção de água em relação ao aumento da concentração de AT em um determinado período de tempo.

Bozdogan *et al.* ³¹ estudou filmes de PVOH/AT preparados por *casting* em diferentes concentrações de AT, para avaliar as possíveis resistências a deformação dos filmes após a reticulação química. Foram descritas as possíveis interações

moleculares das moléculas de AT entre as cadeias poliméricas de PVOH; formando ligações químicas inter- e intramoleculares, resultantes da conversão dos grupos hidroxilas do PVOH e AT por meio de ligações éster, identificadas no FTIR na região de carbonilas (C=O) entre 1715-1740 cm^{-1} . Os resultados mostraram um aumento das propriedades finais de acordo com o aumento do percentual de AT utilizado, proporcionando melhores propriedades mecânicas, tais como elevado módulo e alta resistência à tração. Na Figura 10 é mostrado os possíveis mecanismos de esterificação entre o PVOH e AT.

Figura 10 – Ilustração de reticulação química entre o PVOH e AT



Fonte: Bozdogan *et al.* ³¹

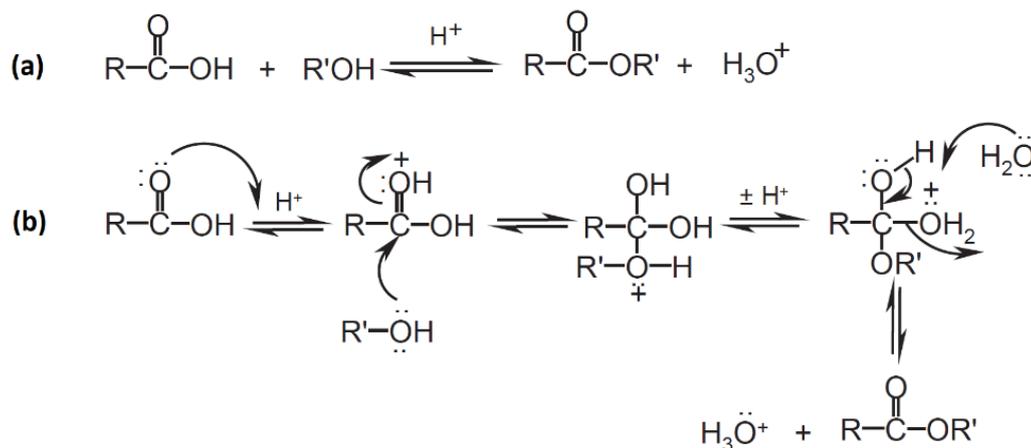
3.2.3 Catalisadores

Materiais que possuem propriedades ácidas de Brønsted-Lowry apresentam boa reação química na síntese de produtos e compostos químicos, e essa teoria é bastante utilizada para explicar as reações ácido-base em diversos sistemas ³².

Os grupos ésteres são obtidos por síntese entre um ácido carboxílico (-COOH) e um álcool (-OH) com um catalisador ácido. O grupo carbonila de um ácido carboxílico não é suficientemente eletrofílico para ser atacado por um grupo álcool. O catalisador ácido protona o oxigênio do grupo carbonila (C=O) e o ativa em direção ao ataque nucleofílico. O grupo álcool ataca o carbono (C=O) protonado e forma um intermediário tetraédrico. A transferência dos prótons (H^+) converte a hidroxila (-OH) em uma molécula de H_2O onde ocorre uma desprotonação simultânea e a perda de H_2O dando origem a um grupo éster (Reação A). O equilíbrio químico pode ocorrer e ser terminado usando um excesso de álcool, ou removendo a água à medida que se forma na reação química. Essa reação é conhecida como mecanismo de esterificação de Fischer-Speier ^{32,33}.

Há também o método de transesterificação química que ocorre quando um éster é reagido com um outro álcool. Esta reação pode ser iniciada por um ácido ou base, onde a parte alcoólica do éster pode ser substituída por um novo grupo álcool (-OH) (Reação B) ^{32,33}. Esse mecanismo de reação é muito semelhante ao de Fischer-Speier. Na Figura 11 são mostrados os mecanismos de esterificação primária (a) e transesterificação química (b).

Figura 11 – Reação química entre ácido carboxílico e álcool (a) e suas reações de esterificação (b)



Fonte: adaptado de Sarker *et al.* ³²

Existem diversos estudos reportados na literatura sobre o uso de métodos de catálise e catalisadores para hidrogéis à base de PVOH e seus derivados. Peng, Jiang e Hoek ³⁴ e Dlamini *et al.* ³⁵ descrevem o uso de ácido clorídrico (HCl) para produção de membranas baseadas em PVOH/polisulfona aplicadas a separação aquosa. Altaf *et al.* ³⁶ também descreveu um método de catálise simplificada com HCl em solução junto ao glutaraldeído como agente reticulante, para membranas de PVOH/amido incorporados com óleos essenciais. E por fim, hidrogéis à base PVOH foram reticulados com ácido málico através de catalise ácida aquosa (HCl) com diferentes proporções, para incorporação de alginato de cálcio revestido por quitosana, foram testados e avaliados ³⁷.

Zhang *et al.* ³⁸ desenvolveu uma técnica de reticulação e incorporação de ácidos orgânicos (AT e AM) em matriz de copolímero poliestireno-*b*-poli(2-vinilpiridina) em que os ácidos orgânicos foram solubilizados em água deionizada e HCl obtendo uma solução final de _D-AT ou AM (0,01 M, pH 2,5).

Entretanto, após a síntese os hidrogéis precisam ser lavados para remoção das impurezas excedentes do processo de síntese. Estes podem incluir monômeros não

reagidos, iniciadores e seus produtos de catálise, agentes reticulantes não reagidos, e produtos derivados de reações secundárias ⁸.

3.3 Óleos essenciais

3.3.1 Histórico, propriedades e suas aplicações

Plantas contendo óleos essenciais (OE) têm sido usadas desde a antiguidade pelas civilizações como temperos e remédios no tratamento de doenças em geral e em cerimônias religiosas por causa de suas propriedades terapêuticas e odores agradáveis ³⁹. Os OE têm sido amplamente empregados atualmente por suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes, anti-inflamatórias, atividade antifúngica e inseticida ^{9,36,40}.

A grande maioria dos OE são produzidos a partir de matérias-primas vegetais e plantas aromáticas, pois têm havido uma grande quantidade de insumos tanto industriais quanto de pesquisa, para analisar as aplicações finais em produtos alimentícios, medicamentos e cosméticos ^{11,41,42}. Estes óleos podem ser obtidos por diferentes métodos de destilação ou por prensagem a frio no caso dos óleos de casca de frutas cítricas ^{39,40}. A hidrodestilação é um processo para obtenção do OE, onde a matéria-prima selecionada é triturada, e colocada em bandeja perfurada ou recipiente, e submersa em água fervente ⁴³ para remoção rápida via extração exaustiva ^{39,41}. Em um mesmo sistema pode ser utilizado também a destilação a vapor de alta pressão devido ao aumento da temperatura aplicada reduzir significativamente o tempo de destilação. Estes métodos são aplicados a depender do tipo de matéria-prima, extrativos a serem removidos, sensibilidade e reatividade dos compostos químicos e substâncias presentes em cada matéria-prima ^{39,40}. Usualmente, o processo de destilação a vapor é o método mais antigo, prático e utilizado para a produção de OE em escala comercial ^{39,41}.

Alguns pesquisadores recentemente estão interessados em constituintes voláteis, compostos ou compostos ativos de aroma em OE específicos; assim, eles exploram outros métodos analíticos, que podem incluir: microextração em fase sólida (SPME), evaporação de aroma assistida por solvente (SAFE), extração por fluido supercrítico (SFE), extração de destilação simultânea (SDE), extração por micro-ondas sem solvente (SFME), e a técnica de purga e armadilha ^{40,41}.

Por serem constituídos de misturas complexas destes compostos produzidos pelas plantas, estes óleos são quimicamente hidrofóbicos; tendo uma densidade inferior à da água, alguns são parcialmente solúveis em água, lipídios e outros solventes polares, sendo que sua composição contém essencialmente grupos funcionais, constituintes ativos e suas interações sinérgicas são fatores que determinam a atividade final dos OE ^{9,40,41}. Os respectivos compostos principais dos OE são derivados principalmente de apenas três vias biossintéticas, a via do mevalonato levando a obtenção de sesquiterpenos; a via metil-eritritol onde se obtém o mono- e diterpenos; e a via de ácido chiquímico levando a obtenção de fenilpropenos ⁴⁴. Contudo, existem um número incontável destas substâncias específicas e variações na composição dos OE. A composição do OE geralmente muda entre as diferentes partes da planta, sendo o polimorfismo fitoquímico um frequente caso entre diferentes espécimes vegetais ^{11,43,44}. Na Tabela 2 é apresentado um descritivo dos principais compostos químicos e seus princípios ativos presentes nos OE.

Tabela 2 – Princípios ativos e propriedades bioativas presentes nos óleos essenciais

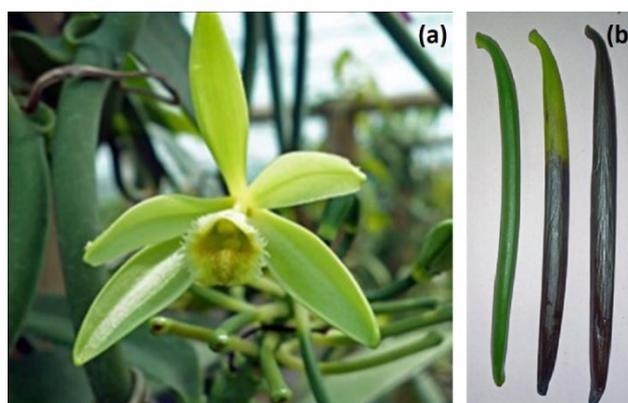
Classe de compostos	Exemplos	Princípios bioativos conhecidos
Hidrocarbonetos	Felandreno, cimeno, pineno, micreno, sabineno, germacreno, D-limoneno.	Descongestionante, antibacteriano, hemato-protetivo, antiviral, antitumoral, estimulante.
Ésteres	Acetato de linalol, acetato de bornil, acetato de eugenol, acetato de geranila.	Antiinflamatório, antifúngico, espasmolítico, anestésico, sedativo.
Ácidos	Ácido hexadecanoico, ácido octadecanoico, ácido tetradecanoico.	Antiinflamatório, antioxidante, repelente, emulsionante
Óxidos	Óxido de bisabolona, óxido de esclareol, óxido de linalol, oxido de cariofileno.	Expectorante, estimulante, antiinflamatório.
Lactonas	Custonolida, nepetalactona, dihidro nepetalactona, alantolactona, bergapteno.	Antiviral, sedativa, antipirético, antimicrobiano, analgésica, anti-hipertensivo.
Álcoois	Citronelol, geraniol, borneol, linalol, citronelol, mentol, germacreno-D-4-ol, nerol.	Anestésico, espamolítico, tonificante, antiinflamatório, antisséptico.
Fenóis	Carvacrol, timol, chavicol, eugenol.	Espamolítico, antianestésico, estimulante imunológico, irritante, antimicrobianos.
Anidridos	Cinamaldeído, citral, benzaldeído, cuminaldeído, mirtanal, citronelal.	Calmante, antiviral, antipirético, tônico, sedativo, vasodilatador, espamolítico, hipotensivo, antimicrobiano.
Cetonas	Tujona, mentona, verbenona, fenchona, carvona, pulegona, cânfora.	Antiviral, espamolítica, sedativa, mucolítica, neurotóxica, digestiva, regeneradora celular, analgésica.

A seguir é apresentado um descritivo da literatura sobre os OE utilizados neste estudo, suas origens, métodos de obtenção, composição química e propriedades físico-químicas específicas de seus extratos naturais.

3.3.1.1 Baunilha (*Vanilla planiflora* L.)

A baunilha tradicional é derivada da *Vanilla planifolia* L. pertencente à família das orquídeas, é uma monocotiledônea trepadeira, possuindo cerca de 20 cm de comprimento (Figura 12). Outras espécies de baunilha de importância secundária são: a baunilha das Índias Ocidentais, *V. pompona* Schiede (sinônimo: *V. grandiflora* Lindl.) e baunilha Tahiti, *V. tahitensis* J. W. Moore ⁴⁵⁻⁴⁸; e *V. planifolia* Andrews, uma orquídea nativa do México ⁴⁹.

Figura 12 – Ilustração da baunilha com destaque para as folhas (a) e frutos (b)

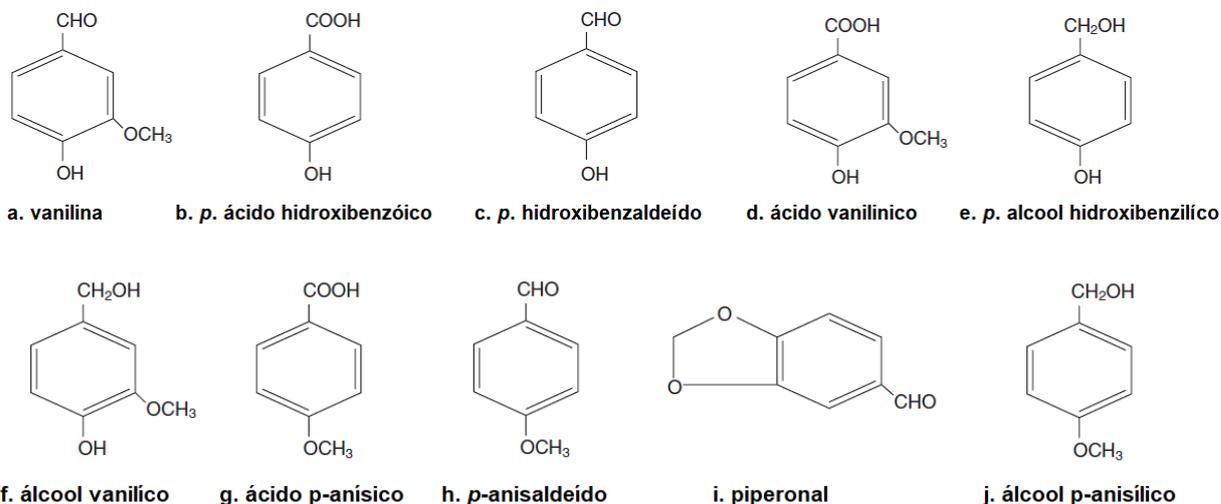


Fonte: Adaptado de Grisoni *et al.* ⁴⁷

Os compostos aromáticos das favas de baunilha, são obtidas após tratamento de cura, que inclui processos químicos, bioquímicos e reações enzimáticas, em que a vanilina, o principal composto aromático da baunilha é obtida em: extrato etanólico, açúcar de baunilha absoluto de baunilha e óleorresina ⁴⁹.

O sabor e aroma associado à baunilha é resultante de uma complexa e variada composição química em torno de 200 compostos voláteis ⁴⁸, que variam dependendo a espécie e a origem geográfica; a maioria dos quais ocorrem abaixo de 1 ppm, sendo a vanilina seu principal constituinte, ocorrendo em níveis de 1,52-2,42% ^{45,50}. Outros componentes importantes são ácidos p-hidroxibenzóico, p-hidroxibenzaldeído, ácido vanílico, p-hidroxibenzil álcool e álcool vanílico ^{45,48,51}. Na Figura 13 é mostrada os compostos químicos mais presentes em óleo essencial de baunilha (OEB).

Figura 13 – Estruturas químicas dos principais constituintes aromatizantes da baunilha



Fonte: adaptado e traduzido de Guzman *et al.* ⁴⁵

A fava de baunilha é o único fruto comestível da família das orquídeas da qual seu extrato vem de suas cápsulas de sementes curadas. Das 110 espécies conhecidas de baunilha, apenas duas, *Vanilla planifolia* Andrews e *Vanilla tahitensis* Moore, podem ser usados em alimentos ^{50,51}. Em 1874, os cientistas alemães Ferdinand Tiemann e Wilhelm Haarmann sintetizaram a vanilina usando coniferina, um componente da casca do pinheiro. Em 1891, o químico francês De Taire obteve quimicamente a vanilina a partir do eugenol, proveniente do óleo de cravo ⁴⁶. Na Tabela 3 são apresentados os valores médios relatados dos principais constituintes de sabor de favas de baunilha curadas obtidas de várias fontes geográficas.

Tabela 3 – Valores médios característicos de extrativos de baunilha de regiões específicas no mundo

Fontes de obtenção	Vanilina (mg 100 mL ⁻¹)	Ácido vanílico (mg 100 mL ⁻¹)	p-hidroxibenzaldeído (mg 100 mL ⁻¹)	Ácido p-hidroxibenzoico (mg 100 mL ⁻¹)
México	18-100	8-23	5-7	2-7
Madagascar	47-216	12-23	6-13,7	2-5,6
Comores	115-154	8-13	9-13	2-7
Java/Indonésia	63-142	7,7-11	7-10	2-4
Uganda	47-186	5-10	5-8	1-6
Tonga	197-320	7,6	10	2,1
Índia ocidental	20-136	15-22	2-6	2-4
Costa rica	135-161	12	14	5,2
Jamaica	216-265	4,2	8,4	-
Taiti	54-120	4-5	4-13	16-32,8

Fonte: adaptado e traduzido de Guzman *et al.* ⁴⁵

O maior produtor de baunilha atualmente é Madagascar. O principal produto derivado da baunilha curada é uma essência alcoólica derivada das sementes prensadas e trituradas, que é comercialmente conhecida como extrato de baunilha ⁴⁵⁻⁴⁷. O sabor de baunilha é obtido através de extração por solvente dos grãos macerados por meio de uma série de técnicas de percolação com o melhor grau de etanol obtido da essência, podendo variar o sabor e aroma obtido a depender da região de crescimento geográfico, métodos de cultivo, cura das sementes, extração ou condições de armazenamento da essência que contêm menos de 35% de álcool em sua composição final ^{45,51}. Como principal componente da essência, a vanilina exibe atividade antimicrobiana contra bactérias, fungos e leveduras ^{45,47}.

Atualmente o uso de vanilina sintética, tornou-se mais difundido nos últimos anos, especialmente em indústrias que dependiam de essência pura de baunilha, mas os avanços na tecnologia tornaram as essências sintéticas mais próximas das essências naturais ⁴⁶. Entretanto Kaur *et al.* ⁴⁸ destaca que as essências sintéticas, são capazes de imitar o sabor da vanilina, mas não são capazes de desempenhar funções bioativas que incluem compostos químicos tais como etil vanilina, piperonal e vanilina isolada de ligninas.

3.3.1.2 Cravo (*Syzygium aromaticum* L.)

O cravo, *Syzygium aromaticum* L. pertence à família botânica de *Myrtaceae*. A espécie é nativa de algumas ilhas do arquipélago malaio, especialmente as Molucas, na parte oriental da Indonésia, onde suas formas cultivadas e selvagens são encontradas, sendo que existem uma variedade selvagem de cravo também em Ambon e na parte ocidental da ilha de Papua. Os gêneros mais comuns são o *Caryophyllus aromatica* L., *Eugenia aromatica* Kuntze, *E. caryophyllata* Thunb. e *E. caryophyllus* (Sprengel) ^{52,53}.

O cravo-da-índia é colhido principalmente com os botões de flores fechados que nascem em cachos (Figura 14), que são secos posteriormente para produzir o cravo comercial e seus temperos. Os outros produtos do cravo são cravo moído e seus óleos voláteis essenciais são produzidos a partir dos botões de cravo, caule ou folha e óleoresinas ^{52,54,55}.

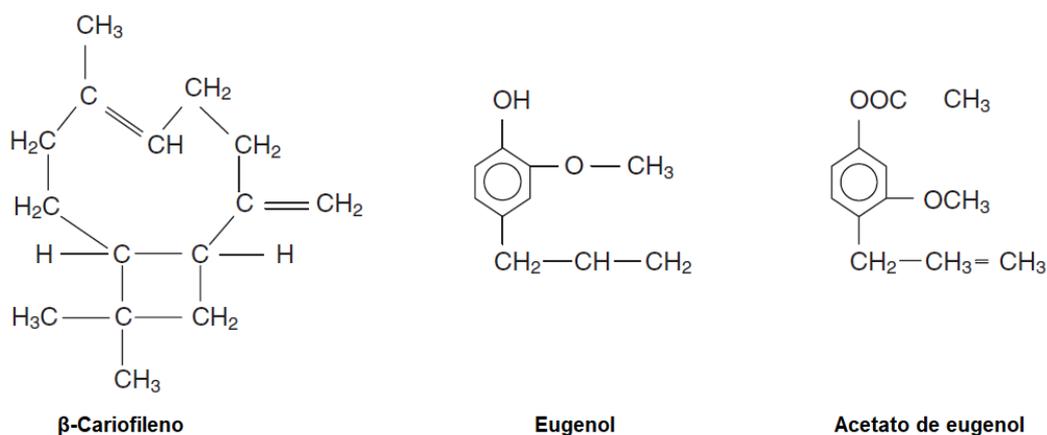
Figura 14 – Ilustração de folhas de *Syzygium aromaticum* L. (a) e seus botões secos e in natura (b)



Fonte: adaptado de Danthu *et al.* ⁵⁵

Os extratos obtidos do cravo-da-índia apresentam diversas atividades biológicas, incluindo antifúngica, antibacteriana, anticancerígena, atividades antioxidantes, antibacterianas, antivirais, anticonvulsivantes e inibidoras ^{53,54,56}. O cravo contém primariamente eugenol, acetato de eugenol, cariofileno, α -humuleno, β -elemeno, ledol e α -cadineno ⁵⁷. Entretanto é relatado na literatura ^{52,54} a ocorrência dos seguintes constituintes, com eugenol (76,8%-89,6%), seguido de β -cariofileno (8,6%-17,4%), α -humuleno (2,1%) e acetato de eugenol (1,2%-8%) e cariofileno (3,6%) como componentes principais; observou-se também a presença de compostos fenólicos, como 7-dihidroxi-2-metilcromona 8-C- β -d-glucopiranosídeo, biflorina, kaempferol, ramnocitrina, miricetina, ácido gálico, ácido elágico, bem como os terpenóides, e os ácidos oleanólicos foram isolados via extração por metanol, entre outros. A variação nos compostos e na composição final dos OE dependem de suas variedades, condições botânicas, pré-tratamentos, processamento e métodos de extração ^{52,54}. Na Figura 15 são mostradas as propriedades químicas primárias encontradas no cravo-da-índia.

Figura 15 – Principais compostos químicos presentes no cravo-da-índia



Fonte: traduzido de Nurdjannah *et al.* ⁵²

O óleo essencial de cravo (OEC) é um dos produtos processados de cravo mais utilizados. É tradicionalmente usado na assistência farmacológica, onde é reportado na literatura como agente antisséptico, analgésico, anti-inflamatório, antioxidante, antifúngico, antibacteriano, além de possuir propriedades rubefacientes, carminativas e atividade antiespasmódica ^{36,53,54,56}.

A maioria dos cravos produzidos são usados para *kretek* (cigarro de cravo) fabricado na Indonésia e apenas cerca de 10% para outros fins, como medicamentos, aromatizantes de alimentos, conservação de alimentos, fragrâncias e produtos farmacêuticos ⁵². A cor e teor de óleo dos botões de cravo secos ao sol e artificialmente secos não são significativamente diferentes. O teor de OEC e a relação entre eugenol e o acetato de eugenol influenciam o aroma final característico obtido, sendo que o eugenol é o seu maior constituinte percentual ^{52,53,55}. Portanto, um maior teor de eugenol produzirá um aroma mais áspero e o acetato de eugenol produzirá um aroma mais suave ⁵². A Indonésia tem três *grades* padronizados para qualidade de botões de cravo, e suas características específicas são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Propriedades e compostos primários encontrados em cravos-da-índia

Características	Estágios de maturidade dos botões de cravo			
	Flor caída	Não desenvolvido	Totalmente desenvolvido	Maduro
Botão de cravo				
Teor de água (% v/b)	12,3	5,0	12,8	6,5
Teor de óleos (% v/b)	13,9	19,9	16,4	16,1
Teor de cinzas (%)	4,7	3,8	4,7	6,11
Teor de fibras (%)	11,8	10,8	8,5	13,3
Teor de Silício (%)	0,15	0,11	0,11	0,10
Óleo de cravo (botão)				
Teor total de eugenol % ¹	91,0	90,0	94,0	93,0
Teor de eugenol (%) ²	54,2	55,6	68,5	72,2
Teor de acetato de eugenol (%) ²	34,4	36,5	22,0	9,4

¹Método de Cassia; ²Via Cromatografia gasosa.

Fonte: traduzido de Nurdjannah *et al.* ⁵²

O OEC é incolor ou amarelo pálido com aroma e sabor característicos. De acordo com a FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*), a Indonésia produziu 70% do óleo-de-cravo mundial em 2005-2008, seguido de Madagáscar com cerca de 12%. Tanzânia e Comores seguiram com quotas de 10% e 2,4%, respectivamente. A Indonésia também contribuiu com 75% dos derivados de óleo-de-cravo do mundo, como eugenol, iso-eugenol, metil eugenol, entre outros ^{52,54}. O método

mais utilizado para extração é conhecido como prensagem à frio, que não envolve tratamentos térmicos e químicos, e é considerada mais segura e rica em compostos lipofílicos antioxidantes do que outras técnicas convencionais, e tem um efeito significativo sobre o teor de eugenol final no óleo essencial ⁵³.

3.3.1.3 Laranja (*Citrus sinensis* L.)

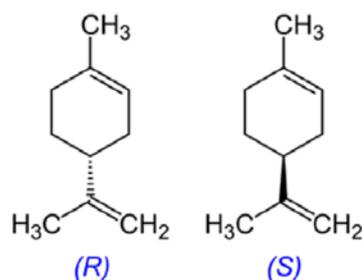
O género *Citrus sinensis* L. pertence à família Rutaceae, que inclui cerca de 140 gêneros e 1300 espécies diversificadas dentre elas a *Citrus sinensis* (laranja doce), originária do sopé dos Himalaias no norte da Índia, norte de Myanmar, no sul da China e no sudeste asiático ⁵⁸.

O óleo essencial de laranja – OEL é um óleo cítrico, e contém uma variedade ampla de compostos químicos, e biologicamente ativos, como α -/ β -pineno, sabineno, β -mirceno, β -limoneno, linalol, α -humuleno e α -terpineol, pertencentes ao grupo dos monoterpenos, aldeído/álcool monoterpeno e sesquiterpenos, respetivamente ^{58,59}.

O OEL é extraído basicamente das cascas, e os métodos convencionais de extração, são a extração por método de Soxhlet, a maceração, a infusão, a extração sólido-líquido, e a extração líquido-líquido; a depender de qual parte da planta é extraído ^{58,59}. Constitui-se essencialmente por compostos voláteis característicos (85%-99%) que contém principalmente monoterpenos, hidrocarbonetos de sesquiterpeno e alifáticos, derivados oxigenados dos mesmos, bem como aldeídos alifáticos, cetonas, álcoois e ésteres de ácido orgânico ^{43,60}. Também é aceito que os cítricos contém uma quantidade menor de frações não voláteis (1%-15%), como citropteno, meranzina, isomeranzina, felopterinas entre outros ⁶⁰. Os teores e composição média de óleo extraído por meio de prensagem a frio das sementes de laranja (*Citrus sinensis* L.) foram determinados entre 27%-52% do total, por meio da técnica de extração por solvente ⁶⁰.

O OEL é composto principalmente de β -limoneno ($C_{10}H_{16}$) (68%-98%), um hidrocarboneto líquido incolor sob a forma de molécula quiral e classificado como um terpeno cíclico ^{10,58}. Esse composto tem dois isômeros (Figura 16): β -limoneno (R-(+)-limoneno), caracterizado por um aroma semelhante ao da terebintina, e o β -limoneno (S-(-)-limoneno), mais difundido quimicamente, distinguindo-se por possuir um forte aroma característico de laranja ^{61,62}.

Figura 16 – Estruturas químicas do L-limoneno (R) e do D-limoneno (S)



Fonte: Souza *et al.* ⁶¹

A composição dos OEL varia acentuadamente em função da variedade, estação do ano e da localização geográfica, bem como do estado de maturação dos frutos ⁵⁸. Na Tabela 5 são apresentados os valores médios dos principais compostos constituintes do OEL obtidos de várias fontes geográficas a partir do método de hidroextração.

Tabela 5 – Propriedades e compostos primários encontrados em OEL (*Citrus sinensis* L.) de várias regiões geográficas

Origem geográfica	Índia	México	Espanha	Tunísia
Tipo de extração	Hidroextração			
Limoneno	90,66	96,62	96,75	85,35
β-mirceno	1,71	1,72	0,74	0,71
β-ocimeno	0,21	---	---	0,03
α-pineno	0,36	0,47	0,32	0,7
β-pineno	0,46	0,53	0,05	0,97
Sabineno	0,37	---	0,49	0,36
Terpinoleno	0,23	---	---	0,14
α-terpineno	0,02	---	---	0,93
Acetato de linalila	2,80	---	---	0,10

Fonte: Razola-Diaz *et al.* ⁴³

Nesse contexto, já existem pesquisas que apresentam aplicações de OEL com compostos bioativos ^{60,63} em propriedades antibacterianas ⁴³, antifúngicas ⁵⁸, inseticidas ^{62,64} e contra inúmeros parasitas e pragas de lavouras e agricultura ^{11,61}.

3.4 Óleos essenciais em hidrogéis

Os OE de extratos vegetais são agentes antimicrobianos e antioxidantes naturais; a incorporação de OE em hidrogéis pode não apenas melhorar as propriedades antibacterianas e antimicrobianas, através de seus extratos naturais, sua incorporação fornece propriedades específicas a vários produtos ^{10,63}. A bioatividade dos OE é conferida aos hidrogéis através de incorporação em polímeros, que podem ser

realizadas de duas maneiras, por pós-carregamento ou *in situ*⁹. Uma estratégia promissora para superar essa limitação físico-química de incorporação, incluindo a alta volatilidade e baixa solubilidade na fase aquosa dos OE é a técnica baseada em emulsificação^{9,42,65}.

Goudolas *et al.*¹⁰ desenvolveram e apresentaram hidrogéis de gelatina contendo microgotículas de OE de alecrim e OEL, em que as microgotas de OE foram adicionadas (0,25, 0,5 e 1% p/p), emulsificadas e estabilizadas através do surfactante TWEEN® 80. Os resultados obtidos mostraram que os hidrogéis de gelatina-EO preparados por emulsificação tiveram estabilidade físico-química e atividade antibacteriana, devido a presença de limoneno. Altaf *et al.*³⁶ avaliaram o uso de OE (cravo, orégano e melaleuca) incorporados em membranas de hidrogel à base de PVA/amido com o objetivo de promover atividade antibacteriana otimizada e resistência mecânica aplicadas a curativos, alcançada pela adição de 0,1 mL de OEC.

Stoleru *et al.*⁹ estudou uma metodologia para emulsificação de OEC em hidrogéis à base de quitosana por meio da adição do surfactante TWEEN® 80 e emulsificação assistida por ultrassom. Neste contexto, outros pesquisadores descrevem que a emulsificação assistida por ultrassom é uma técnica amplamente utilizada para produzir emulsões estáveis, uma vez que as ondas sonoras são consideradas seguras, não tóxicas e ecologicamente corretas, contribuindo para o desenvolvimento de materiais com propriedades e funcionalidades físico-químicas únicas⁴².

Assim, uma das alternativas para a utilização final de OE microencapsulados é como inseticida botânico, pois, a tecnologia de incorporação e microencapsulação auxilia na aplicação final do produto, sendo um método economicamente viável e eficaz, sem deixar resíduos perigosos nos produtos agrícolas aplicados^{11,63}.

3.4.1 Atividade fungicida e bioensaios em ambientes simulados

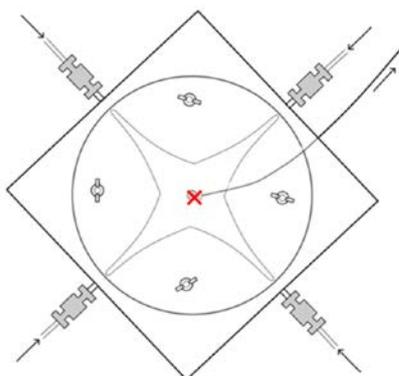
A aplicação de hidrogéis poliméricos na agricultura tem o objetivo atuar como regulador de solo para reduzir sua erosão, proporcionando assim uma estabilização da superfície durante a fase inicial do crescimento das culturas, atuando como uma membrana sob o solo que restringe o movimento da água, protegendo assim as culturas de eventuais danos¹⁵. Os OE têm sido amplamente estudados, pelas suas propriedades antioxidantes, antifúngicas, antibacterianas e inseticidas^{9,36,63,66}. Diversos estudos

visam o uso destes OE em aplicações no setor agrícola e de repelência com ação antimicrobiana, fungicida e inseticida os quais são apresentados a seguir:

Vários pesquisadores e colaboradores, apresentam as diversas atividades benéficas de compostos químicos originários dos gêneros *Citrus* e *Syzygium*, os quais apresentam propriedades repelentes e inseticidas ^{58,62,63,67}; por meio dos terpenos e monoterpenos, que são considerados os principais compostos químicos presentes em OE ^{63,68}; em que foram submetidos e estudados em *Myzus persicae* (Hemiptera, Aphididae) por meio de ensaios de olfatométria ^{68,69}.

Em ensaios de repelência de insetos e parasitoides de lavouras, Roberts *et al.* ⁷⁰ descreveu o uso de olfatômetros com especificidades aplicadas a sensibilidade dos insetos e no estudo da ecologia química experimental. Esses olfatômetros especialmente o de quatro-braços, consiste em uma arena fechada na qual um ou mais estímulos químicos que estão sendo investigados estão localizados antes de adicionar os insetos (Figura 17). Esse *design* é usado principalmente para estudar uma ampla variedade de pequenos insetos (<5 mm), mas também tem sido usado para estudar o comportamento de insetos voadores.

Figura 17 – Ilustração de olfatômetro de quatro-braços



Fonte: adaptado de Roberts *et al.* ⁷⁰

O comportamento em relação ao estímulo químico pode ser avaliado de várias maneiras ⁷⁰: contagem dos insetos/parasitoides do estudo que se movem em direção a um estímulo; tempo gasto dentro de uma distância ou área pré-determinada do estímulo; ou tempo gasto máximo ao responderem ao estímulo químico dos compostos químicos dentro da arena.

Para bioensaios em ambientes simulados em que são utilizados vegetais do gênero *Lactuca sativa* L. e *Allium cepa* L., a atividade fitotóxica do OE tem sido

associada à presença de monoterpenos e sesquiterpenos ^{59,71,72}; que também são presentes no OEB (linalol), e inibem significativamente a germinação e reduzem o crescimento de vegetais ^{73,74}.

Liu *et al.* ⁶⁵ estudou os efeitos de OEC nas atividades antifúngicas e inibidoras de micotoxinas por meio de emulsões revestidas em base de quitosana. Os resultados obtidos mostraram que o OEC emulsificados, trouxeram propriedades antifúngicas a micotoxinas produzidas pelo *Fusarium graminearum*, em torno de 87%, inibindo o crescimento de fungos e micotoxinas em grãos de alimentos. Em outro estudo paralelo, o OEC apresentou a maior atividade antifúngica contra *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *F. oxysporum* e inibiu completamente o crescimento micelial das espécies de fungos em concentração de 300 ppm e foi considerado fungicida a 400 ppm em testes realizados em conjuntos de discos fúngicos mantidos por 6 dias a $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ⁵⁷.

Střelková *et al.* ⁶⁶ estudou diversas composições químicas derivadas de mono- e sesquiterpenos de EO (tomilho, orégano, capim-limão, cajeput e OEC) no combate a contaminação microbiana e de fungos em grãos de alimentos armazenados. Os resultados obtidos mostraram que as concentrações de 250, 125 $\mu\text{L/L}$, resultaram na inibição completa do crescimento fúngico; e a 62,5 $\mu\text{L/L}$ mostrou um efeito antifúngico significativo. A eficiência dos OE utilizados foi crescente em tomilho, orégano, capim-limão, cravo e cajeput, que foi dependente da combinação do tipo de OE e da cepa dos fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* que foram isolados dos grãos de cereais. Em estudos paralelos, foi avaliado a toxicidade os gêneros de fungos citados anteriormente sob aplicação de OEC, e observou-se diferentes efeitos sobre os micélios de fungos; sendo que as doses de 10,0 a 20,0 μL em placa de Petri (ágar) até 8 dias, controlaram seu crescimento ⁷⁵.

Kaur *et al.* ⁴⁸ descreve que a atividade antifúngica de compostos químicos como a vanilina, *p*-hidroxibenzaldeído, ácido vanílico e ácido *p*-hidroxibenzóico, apresentam um efeito inibitório contra várias leveduras e fungos dos gêneros *Alternaria* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp, e também com propriedades antibacterianas, revelou atraso no início do crescimento de leveduras, mofo e crescimento bacteriano.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Reagentes utilizados

Neste trabalho foram utilizados: PVOH (Neon® 2565 - 87% hidrolisado, Brasil), ácido DL-málico (Êxodo® científico, pureza $\geq 99\%$, Brasil), ácido L-(+)-tartárico (Synth®, pureza $\geq 99\%$, Brasil), catalisador de ácido clorídrico (HCl) (Química Moderna®, 37% p/p), surfactante dodecil sulfato de sódio (SDS) (Promega®, grau de biologia molecular, Estados Unidos). Todos os solventes e reagentes comercialmente disponíveis foram usados sem purificação adicional. Os OE utilizados foram: cravo (*Syzygium aromaticum* L.), laranja (*Citrus sinensis* L.) e baunilha (*Vanilla planifolia* L.), todos da Via Aroma®, Brasil.

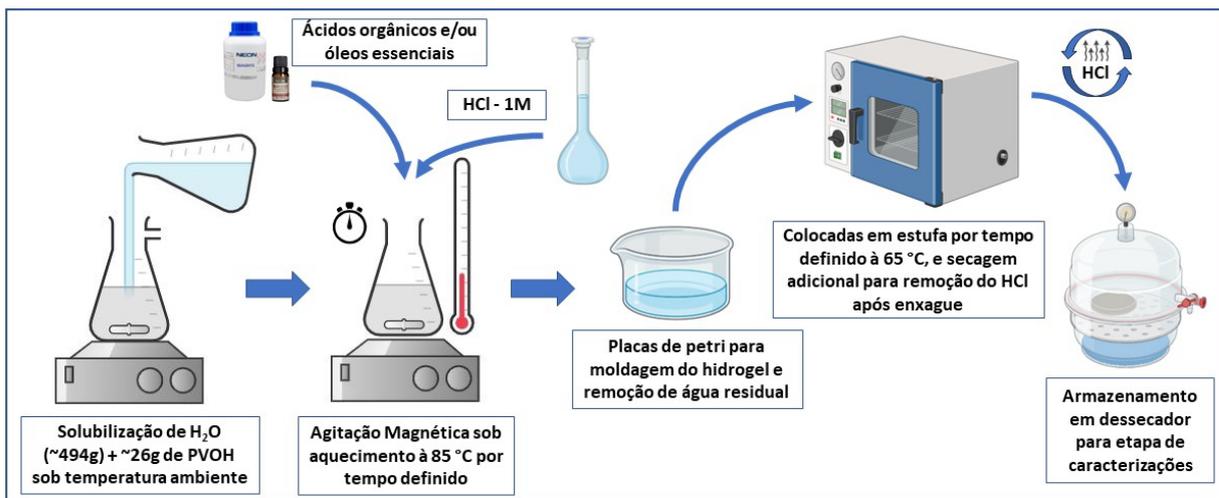
4.2 Metodologia experimental

O desenvolvimento experimental foi dividido em 3 etapas. Na **ETAPA I – Reticulação de hidrogéis com ácidos orgânicos**; na **ETAPA II – Incorporação de óleos essenciais em hidrogéis**; para avaliar suas propriedades ópticas, químicas e experimentos de liberação controlada. Por fim, na **ETAPA III – Ecotoxicidade dos hidrogéis PVOH/OE em ambientes simulados**: quimiotaxia, germinação e ecotoxicidade dos hidrogéis (com e sem OE) em ambientes simulados.

4.2.1 Desenvolvimento de hidrogéis à base de PVOH

Inicialmente, uma solução de água destilada (494 mL) e PVOH (26g) foi solubilizada sob agitação constante em temperatura ambiente e posteriormente a 85°C durante 40 minutos. Para a síntese dos hidrogéis pelo método de *casting*, a solução de PVOH solubilizada previamente foi misturada com diluição adicional (640mL volume total) de água destilada, 1% (p/p) em volume total de ácidos orgânicos (cítrico, málico e tartárico) e utilizou-se ácido clorídrico (HCl; 1M, 4mL) como catalisador^{35,38} sob agitação contínua em escala de tempos que variaram em 20 min, 1, 2 e 3h; seguindo um método adaptado de Sonker e Verma⁵. Posteriormente, a solução de hidrogel respectiva de tempo de reação (alíquota) foram pesadas e colocadas em placas de Petri e secas em estufa a 65°C por 24h, removidas para lavagem superficial de remoção do HCl residual da síntese e secadas novamente por 1h em estufa a 65°C e guardadas em dessecador por 6 dias para processo final de cura seguindo uma metodologia adaptada^{8,34}. A Figura 18 mostra o desenvolvimento e funcionalização dos hidrogéis deste estudo.

Figura 18 – Ilustração esquemática de síntese de hidrogéis



As amostras de hidrogéis foram feitas de acordo com uma nomenclatura específica denominada: PVOH (puro) e suas variações foram acrescidas de ácidos orgânicos e catalisador, que foram denominadas de: PVOH-ACx (ácido cítrico); PVOH-AMx (ácido málico) e PVOH-ATx (ácido tartárico). Suas variações no tempo de reação em horas (h) são apresentadas com a substituição dos sufixos (x) por: N/A (20 min), 1, 2 e 3 (h), e serão utilizadas para discussão de resultados da seção 5.1.

4.2.2 Desenvolvimento de hidrogéis com óleos essenciais

A preparação do hidrogel de PVOH e com OE, foi realizada de acordo com a literatura adaptada ^{5,64,76,77}. Em um frasco Erlenmeyer de 116 mL com solução de PVOH, o PVOH/OE foi preparado pela dissolução de 1% em peso de OE em 10 g de PVOH e 0,25% em peso de SDS por sonificação (30 min), seguindo a literatura adaptada ^{9,65}. A solução com os ácidos orgânicos selecionados para cada síntese foi mantida a uma temperatura de 85°C sob agitação magnética, para solubilização dos OE. Em seguida, foi adicionado HCl (1 mL), e o hidrogel de PVOH/OE foi agitado por 20 min e 2h; tempos que foram escolhidos após uma avaliação preliminar de comparação de tempos de reação para a liberação controlada de corante (Seção 4.3.7). Por fim, a solução de hidrogel de PVOH/OE (alíquotas) foi pesada, colocada em formas e seca em um forno a 65°C por 24h. Na Tabela 6 é apresentada as formulações e siglas utilizadas neste estudo e para discussão de resultados das seções 5.2 e 5.3.

Tabela 6 – Nomenclatura utilizada para os hidrogéis de PVOH/OE

	20 min	2h
Sem OE		
Ácido málico - AM	-AM	-AM2
Ácido tartárico - AT	-AT	-AT2
Com OE		
Óleo de baunilha (OEB)	-AM + OEB; -AT + OEB	-AM2 + OEB; -AT2 + OEB
Óleo de cravo (OEC)	-AM + OEC; -AT + OEC	-AM2 + OEC; -AT2 + OEC
Óleo de laranja (OEL)	-AM + OEL; -AT + OEL	-AM2 + OEO; -AT2 + OEO

4.3 Caracterização físico-química dos hidrogéis e óleos essenciais

4.3.1 Espectroscopia de absorção no Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A análise por FTIR dos OE e hidrogéis incorporados com OE, permite descrever as bandas de absorção características, e a comparação espectral das amostras, facilitando sua identificação e mostrando quaisquer mudanças ocorridas após a síntese química. As análises para os OE foram realizadas no Espectrômetro PerkinElmer® (modelo Spectrum Two™), na faixa de número de onda 4000-450 cm⁻¹ com o método ATR. Os espectros foram coletados em uma resolução de 4 cm⁻¹ e 8 varreduras combinadas. Para os filmes de PVOH e PVOH/OE, os espectros foram obtidos pelo Espectrômetro PerkinElmer® (modelo Spectrum 1000), na faixa de número de onda 4000-600 cm⁻¹ com o método HATR; resolução de 4 cm⁻¹ e 32 varreduras combinadas. Ambas análises foram efetuadas de acordo com a norma ASTM E1252 ⁷⁸.

As mudanças químicas de reticulação nos hidrogéis após a incorporação dos ácidos orgânicos foram observadas de acordo com a literatura ⁷⁹; sendo que as bandas características associadas a carbonila (1710 cm⁻¹) e hidroxilas (3280 cm⁻¹); foram comparadas com grupos vinilas padrão do PVOH (1462 cm⁻¹) e calculadas a partir das áreas integradas e corrigidas matematicamente (*Smooth Baseline Savitzky-Golay*, 5 pontos) dos espectros por meio do software Origin® 2018, utilizando-se as Equações a seguir.

$$\text{Índice de carbonila } (I_{CO}) = \frac{I(1710)}{I(1462)} \quad (1)$$

$$\text{Índice de hidroxila } (I_{OH}) = \frac{I(3280)}{I(1462)} \quad (2)$$

Em que: I (1710) e I (3280) é a incidência espectral das bandas de carbonila (I_{CO}) e hidroxila (I_{OH}) respectivamente; e I (1462) é a região espectral base de cálculo por bandas vinilas.

4.3.2 Análise termogravimétrica (TGA)

As análises de TGA foram feitas de acordo com a norma ASTM E1131⁸⁰, na termobalança modelo Q50 da TA Instruments®. As amostras foram submetidas a aquecimento em faixa de temperatura entre 25°C e 900°C, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 90 mL/min, razão de aquecimento de 20°C/min e colocadas em cadinho de platina com massa de amostra de aproximadamente 10 mg. A obtenção das curvas, interpretação e conversão dos resultados foram feitas por meio do software TA Universal Analysis®.

4.3.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As variações da entalpia (ΔH), T_g e T_m dos hidrogéis, permite avaliar quaisquer modificações na transição térmica e de cristalinidade das amostras após a síntese química e incorporação dos OE. As amostras foram analisadas por meio da técnica de DSC (TA Instruments®, modelo Q20) de acordo com a norma ASTM D3418⁸¹. As amostras com aproximadamente 5 mg foram inseridas em cadinhos com tampas (alumínio) e submetidas a um aquecimento de temperatura ambiente até 120°C por 5 min (Isoterma) para remoção de umidade adsorvida, e posteriormente foi realizado um segundo ciclo de aquecimento de 10°C até 220°C com isoterma de 1 min na qual os dados analisados foram retirados deste ciclo. A taxa de aquecimento utilizada foi de 10°C/min com fluxo de vazão de 50 mL/min de nitrogênio. O grau de cristalinidade (X_c %) dos hidrogéis foi calculado a partir da integração do pico endotérmico das curvas usando a Equação 3, seguindo um método aplicado por Yang *et al.*⁴. A obtenção das curvas, interpretação e conversão dos resultados foram feitas por meio do software TA Universal Analysis®.

$$X_c \% = \frac{\Delta H}{\Delta H_c} \times 100 \quad (3)$$

Em que: ΔH é a entalpia termodinâmica dos hidrogéis e ΔH_c é a entalpia termodinâmica de fusão do PVOH 100% cristalino (136,8 J g⁻¹)⁴.

4.3.4 Grau de Intumescimento

No ensaio de intumescimento são avaliadas as interações de moléculas de um determinado solvente com as cadeias do polímero, a qual ocasiona seu inchamento e posterior solubilização em uma determinada rede interpenetrante, um método proposto por Sonker e Verma ⁵ e Sonker *et al.* ⁸². Este ensaio consistiu na imersão de uma amostra ($1,5 \times 1,5 \times 0,03 \text{ cm}^3$) em água destilada em tempo determinado, a qual permitiu estimar o potencial de absorção/adsorção inicial dos hidrogéis até 24h de ensaio por meio da Equação 4. Os experimentos foram realizados em quintuplicata para cada formulação e as amostras foram secas superficialmente a cada verificação para obtenção de resultados precisos.

$$S\% = \frac{(M_f - M_i)}{M_i} \times 100 \quad (4)$$

Em que: S% (*Swelling*) é o intumescimento percentual; M_f a massa final intumescida; M_i a massa inicial seca respectivamente.

A cinética de intumescimento dos hidrogéis podem ser modelados usando a lei de Fick. A lei de Fick depende da taxa do grau de relaxamento da cadeia dos hidrogéis que está diretamente ligada ao grau de reticulação química promovida pelos ácidos orgânicos. Os parâmetros da cinética de intumescimento incluindo o expoente difusional (n) e constante de difusão (k) foram calculados seguindo a metodologia de Kanmaz *et al.* ²⁴ utilizando a Equação 5.

$$\frac{M_t}{M_{eq}} = kt^n \quad (5)$$

Em que: t é o tempo; k é a constante de difusão do hidrogel estudado e do meio de intumescimento; n é o expoente de difusão do solvente; M_t e M_{eq} são as massas do hidrogel em um tempo definido de intumescimento e no estado de equilíbrio, respectivamente.

4.3.5 Absorção de umidade

A absorção de umidade relativa (UR) a 75% foi realizada de acordo com normas ASTM D5229 ⁸³ e ASTM E104 ⁸⁴. As amostras ($1,5 \times 1,5 \times 0,03 \text{ cm}^3$) foram secas em estufa a 65°C por 24h e então colocadas em ambiente fechado sob tela de poliéster para evitar contato direto com a solução saturada (NaCl). Durante o ensaio as amostras

foram pesadas nos tempos de 0,5 min, 2, 4, 6, 8 e 24h. A quantidade de umidade absorvida foi calculada gravimetricamente conforme a Equação 6. O ensaio foi realizado em quintuplicata para cada formulação.

$$WA\% = \frac{(M_2 - M_1)}{M_1} \times 100 \quad (6)$$

Em que: WA% (*water absorption*) corresponde ao percentual de absorção de umidade; M₁ o peso da amostra seca e M₂ o peso final após exposição a umidade.

Os dados obtidos da Equação 7 foram ajustados de acordo com o modelo matemático proposto por Peleg⁸⁵, que permite uma análise matemática da cinética de absorção das amostras.

$$M_{(t)} = M_0 + \left[\frac{t}{(k_1 + k_2 t)} \right] \quad (7)$$

Em que: M(t) é a umidade definida no tempo t, M₀ é a umidade inicial, k₁ é a constante de velocidade (h/(g_{água}/g_{sólido})) e k₂ é a constante de capacidade (g_{sólido}/g_{água}).

O procedimento para a determinação dos valores de k₁ e k₂, baseia-se no ajuste e aplicação de uma regressão linear e linha de tendência aos gráficos, entre os valores atribuídos no intervalo de 30 min até 2h do experimento.

4.3.6 Fração sol-gel

As análises de sol-gel foram realizadas de acordo com a metodologia adaptada de Yang e colaboradores⁴, em um extrator do tipo *soxhlet* em que se utilizou duas amostras (1,5 × 1,5 × 0,03 cm³) de cada formulação que foram submetidas ao refluxo por água destilada por 24h e secadas a 65°C em estufa até peso constante. A fração sol (Fs%) e gel (Fg%) dos hidrogéis foi calculada gravimetricamente por meio das Equações 8 e 9.

$$Fs\% = \left(\frac{M_g}{M_0} \right) \times 100 \quad (8)$$

$$Fg\% = 100 - Fs\% \quad (9)$$

Em que: M₀ e M_g são a massa da amostra seca e após o ensaio, respectivamente.

Para avaliação teórica do rendimento das reações sob os diferentes agentes de reticulação e catalisador utilizado, foi calculado o grau teórico de reticulação dos hidrogéis (GX), um método proposto por Uyanga e Daoud¹³; Hoti *et al.*⁸⁶ e Sonker e

Verma ⁵ baseado na teoria de Flory–Rehner, descrita em detalhes com a taxa de volume de intumescimento (v_{2m}) e apresentada nas equações a seguir.

$$v_{2m} = \frac{V_p}{V_g} = \frac{V_g - V_w}{V_g} = 1 - \frac{m_w \rho_g}{\rho_w m_g} \quad (10)$$

Em que: V_p é o volume do polímero seco (hidrogel); V_g (gel) é o volume no estado de equilíbrio; ρ_g é a densidade do hidrogel intumescido em equilíbrio, ρ_w é a densidade da água, m_g é a massa do polímero intumescido em equilíbrio e m_w é a massa de água presente no polímero intumescido.

$$GX = \frac{V_1 [(v_{2m})^{\frac{1}{3}} - (\frac{2}{f} v_{2m})]}{- [\ln(1 - v_{2m}) + v_{2m} + x_1 (v_{2m})^2]} \quad (11)$$

Em que: onde x_1 é o parâmetro de interação solvente-polímero de Flory-Huggins, V_1 é o volume molar de água como solvente ($18 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$) e f é a funcionalidade de grupos hidroxilas disponíveis nos ácidos orgânicos para a formação de ligações cruzadas, Neste caso: $AM = 3$ e $AT = 4$. Essa adoção de funcionalidade química está baseada na interação química teórica de ligações ésteres entre os ácidos orgânicos e o PVOH, é mostrada e discutida na seção 5.1.1. A relação entre o GX e v é atribuída pela seguinte equação:

$$GX = \frac{\rho_p}{v} \quad (12)$$

Em que: GX é a massa molecular de polímero entre ligações cruzadas do hidrogel (g/mol); ρ_p é a densidade do polímero (g/cm^3) e v é a densidade de reticulação do hidrogel (mol/cm^3).

O procedimento da determinação de x_1 é descrito por meio da literatura ⁸⁶, e o valor de $x_1 = 0,49$ de interação solvente-polímero para os hidrogéis foi empregado ⁵.

4.3.7 Liberação controlada de corante e óleos essenciais por espectroscopia UV-vis

Para avaliação experimental do processo de liberação controlada nos hidrogéis, utilizou-se um corante orgânico como indicador, para avaliar o comportamento inicial sob difusão aquosa e a migração (opticamente) ao longo do tempo e comparar posteriormente os resultados de liberação controlada com hidrogéis PVOH/OE. Os hidrogéis foram preparados de acordo com a seção 4.2.1, e incorporados com uma

solução aquosa contendo o corante vermelho de metila (Neon®) em concentração de 0,05 µM, seguindo uma metodologia adaptada de Klucakova *et al.*⁸⁷. A solução foi acrescida no termino da reação de síntese aos hidrogéis (5 min finais) para evitar degradação precoce e mudança de comportamento físico-químico. Após a análise, as amostras foram secas em estufa a 65°C por 24h para avaliar a migração do corante para a solução. Para as amostras de hidrogéis contendo OE descritas na seção 4.2.2, a análise foi realizada sob mesma metodologia a seguir.

Para o ensaio todas as amostras (1,5 × 1,5 × ~0,03 cm³) foram colocadas em Erlenmeyers contendo 100 mL de água destilada e submetidos a diferentes tempos de liberação controlada (1, 2, 3, 5, 8, 10 e 24h) com agitação constante de 96,5 rpm e temperatura de 27,5°C em um incubador Shaker (Solab®). As alíquotas de líquidos contendo o corante liberado dos hidrogéis, foram separadas e o tempo de evolução da concentração do corante liberados foram monitorados por meio de espectrometria UV-Vis (Varian Cary® 50 Conc). No **APÊNDICE A** é apresentado os dados obtidos para a obtenção das curvas de calibração do corante vermelho de metila e dos óleos essenciais.

4.3.8 Microscopia óptica

A morfologia dos filmes de PVOH e das microgotículas de OE presentes nos hidrogéis foi escaneada utilizando o Microscópio Óptico ZEISS® (Axio Scope.A1™). O microscópio óptico foi operado com uma fonte de alimentação externa. Para essa finalidade, os hidrogéis foram depositados em um suporte de espelho e as imagens foram capturadas em diferentes ampliações (10 e 20x).

4.3.9 Análise química dos óleos essenciais por meio de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS)

As medições de GC/qMS foram realizadas em um sistema Shimadzu® GC/qMS, composto por um cromatógrafo a gás GC2010 e um espectrômetro de massa QP2010 Plus (qMS). O GC foi equipado com um injetor automático AOC-20i (*split/splitless*). A separação foi realizada em uma coluna DB5-MS (5% fenil, 95% dimetilpolissiloxano) com 60 m de comprimento × 0,25 mm de diâmetro interno × 0,25 µm de espessura de filme (Agilent®). O forno de GC começou a 50 °C por 5 minutos, foi aquecido a 4°C/min até 300°C e, em seguida, mantido por 5 minutos. A temperatura do injetor foi de 300°C

e a injeção foi realizada no modo split. Hélio de alta pureza (99,99%, Linde®) a uma taxa de fluxo de 1,0 mL/min foi usado como gás de arraste. A temperatura da interface e da fonte de íons foi de 300°C. O espectrômetro de massa operou no modo de impacto de elétrons a 70 eV e fez a varredura de 40 a 500 m/z em um modo de aquisição de varredura completa. Os dados foram adquiridos usando o software GCMS-*solution* versão 2.6 (Shimadzu®). O espectro de massa de cada composto detectado foi comparado com os da biblioteca de espectros de massa do NIST, usando correspondências de similaridade de pelo menos 80% para identificação. Essa identificação foi apoiada pelos valores do índice de retenção linear programada por temperatura (LTPRI) determinados experimentalmente e comparados com os valores relatados na bibliografia, quando disponíveis ^{88,89}. Os valores de LTPRI foram determinados usando uma série de n-alcenos C₆-C₃₀ e calculados a partir da equação de van den Dool e Kratz ⁹⁰. As quantidades relativas (%) de cada componente na amostra de óleo essencial foram expressas como áreas percentuais de pico em relação ao pico total de cada composto químico.

4.4 Bioensaios de quimiotaxia

4.4.1 Cultivo de Couve (*Brassica oleraceae* L.)

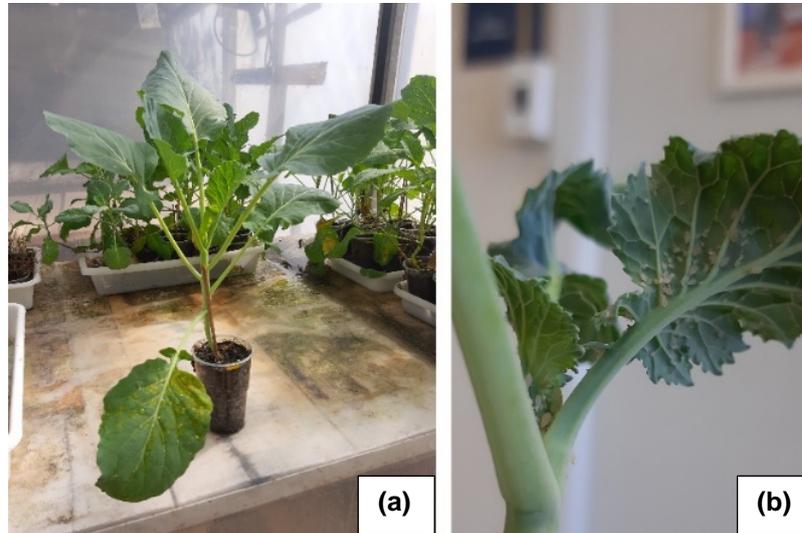
Para a criação e manutenção de ninfas e adultos de *Myzus persicae*, foi necessário o desenvolvimento de cultivo de couve, durante o tempo necessário para a reprodução do experimento descrito a seguir. As mudas de *Brassica oleraceae* var. *acephala* (Brassicaceae) foram cultivadas em vasos de 0,3 L contendo uma proporção de 2:1 de terra preta e substrato comercial Carolina Soil® e irrigadas de acordo com as necessidades individuais das plantas. As plantas de repolho foram colocadas em uma estufa na Faculdade de Agronomia da UFRGS (30°4'28.04" S e 51°8'6.87" O), em junho e julho de 2023. Não foram realizados tratamentos fitossanitários e de fertilização.

4.5.2 Criação de *Myzus persicae* (Sulzer, 1776)

Adultos e ninfas de *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera, Aphididae) foram coletados em uma horta na Faculdade de Agronomia da UFRGS em maio de 2023, e posteriormente, criados em plantas de repolho de 7-8 folhas (40 dias) (Figura 19) no laboratório até julho de 2023. Os pulgões foram transferidos para as novas plantas com um pincel de cerdas finas (nº 00). As ninfas foram transferidas para novos substratos e deixadas neles por aproximadamente 7 dias até se tornarem adultas (1,5 - 2 mm) (Figura

20b). As plantas e os discos infestados foram mantidos em condições ambientais controladas ($22^{\circ}\text{C} \pm 3,65\% \pm 10$ UR, fotofase de 12 horas).

Figura 19 – Bioensaio de quimiotaxia: Couve (a), detalhada com *M. persicae* sob a folha (b)



4.4.3 Bioensaio de quimiotaxia com olfatômetro

4.4.3.1 Respostas quimiotáticas de *M. persicae* em olfatômetro de múltipla escolha

Fêmeas de *M. persicae*, com 48h de idade, alimentadas com *B. oleraceae* var. acephala foram expostas simultaneamente aos hidrogéis em um olfatômetro de quatro-braços (1,5 cm de comprimento e 1,5 cm de diâmetro interno; Syntec®) de acordo com a literatura⁷⁰. Para avaliar a hipótese de que esses compostos poderiam ter um papel repelente para o *M. persicae*, três braços do olfatômetro foram tratados com os OE (cravo ou laranja) dos hidrogéis formulados (Tabela 6) e um braço do olfatômetro foi tratado com água (controle). Um ar filtrado umidificado com carvão vegetal foi conduzido (taxa de fluxo de 5 L/h) por meio de uma bomba para um frasco Erlenmeyer (200 mL) contendo cada tratamento (2 filmes de hidrogel usados). Os frascos foram conectados ao olfatômetro por meio de tubos de PTFE. O fluxo de ar que entrava no sistema era umidificado e odorizado com hidrogéis com ou sem OE, borbulhando-o em um frasco de água destilada. O fluxo de ar foi ajustado para 0,5 litro/min para cada braço, e o vácuo total foi ajustado para 0,4 litro/min; portanto, foi permitido formar um fluxo gradiente dentro do olfatômetro. As fontes de odor convergiram para o centro da arena, onde as fêmeas de *M. persicae* foram liberadas individualmente, e o vácuo necessário para fluxo de saída dos voláteis de odor dos OE liberados pelos hidrogéis do olfatômetro, foi aplicado por esta mesma saída no centro da arena, como mostrado na Figura 20.

Figura 20 – Sistema desenvolvido para estudo com hidrogéis PVOH/OE sob liberação controlada



Os seguintes tratamentos foram avaliados: a) hidrogéis formulados com ácidos orgânicos (ácido DL-málico ou ácido L-(+)-tartárico), OEC e OEL, com 20 min de síntese vs. água e b) hidrogéis formulados com ácidos orgânicos (ácido DL-málico ou ácido L-(+)-tartárico), OEC e OEL com 2h de síntese vs. água, totalizando 12 tratamentos. Os tratamentos com OEB não são usados devido à repelência inativa ⁹¹.

Os bioensaios foram realizados em uma sala climatizada (25°C, 70 ± 10% UR) durante a fotofase sob luz fluorescente (60 W, 290 lux). O *M. persicae* foi observada individualmente por 5 min no olfatômetro (uma fêmea/replicata). A arena foi dividida em uma zona central quadrada de 8 × 8 cm (de diâmetro) e quatro outras zonas relacionadas a uma das fontes de odor. A disposição das fontes de odor foi dividida em 3/1 com hidrogéis incorporados com OE do mesmo grupo de amostras de cada OE estudado. Uma rotação horária da fonte dos voláteis do pulgão foi realizada após 5 repetições ⁷⁰. A resposta olfativa do *M. persicae* determinou a zona em que ele passou a maior duração durante o teste de 5 minutos (% do tempo gasto em cada área) (tempo de residência). A cada 10 repetições, o olfatômetro foi lavado com sabão neutro, álcool etílico e água destilada e seco em uma estufa de esterilização a 150°C. Realize um total de 40 repetições (N = 40) para cada grupo de tratamento. Os insetos que permaneceram no quadrado foram considerados não responsivos e não foram usados na análise estatística.

A pontuação do bioensaio do olfatômetro de quatro braços normalmente envolve o registro do tempo cumulativo que os indivíduos passam em cada braço, bem como o número de vezes que cada braço é inserido; o organismo que seleciona um único braço de tratamento é uma indicação mais forte de preferência, pois há uma probabilidade de

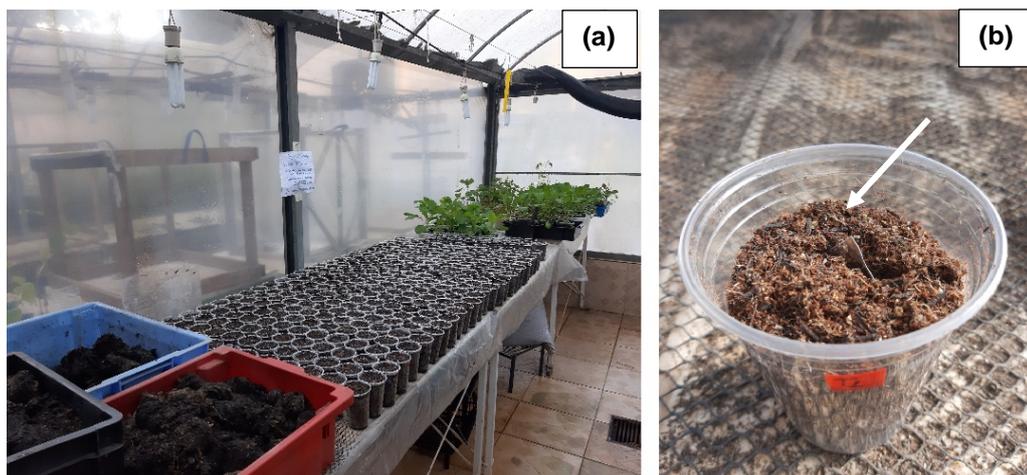
25% de um organismo em estudo escolher o braço de tratamento por acaso, em comparação com experimentos que apresentam dois braços de tratamento, pois essa probabilidade aumenta para 50% ⁷⁰.

4.5 Teste ambiental simulado em plantas e *Aspergillus fumigatus*

4.5.1 Teste de germinação

O teste de germinação foi realizado de acordo com a metodologia simplificada ⁹², usando semente da espécie: *Lactuca sativa* L. (alface crespa) da ISLA® com uma taxa de germinação mínima de 83%. O teste foi realizado com recipientes de plástico (300 mL) contendo ~60 g de substrato vegetal Carolina Soil®; foram usados 25 recipientes para cada grupo de amostra, incluindo o controle. Os hidrogéis foram adicionados sob o solo de cada recipiente e a semeadura foi realizada em julho de 2023 (inverno no sul do Brasil - 30°4'28.04" S e 51°8'6.87" O). Cada amostra de hidrogel foi inserida no centro do copo com as sementes a serem germinadas colocadas ao redor e depois cobertas com substrato. As plantas foram regadas em dias alternados. Considerou-se que uma semente havia germinado quando os brotos eram evidentes acima da superfície do solo. A Figura 21 mostra o experimento de germinação com os copos arranjados (a) com as amostras de hidrogéis destacadas em seta branca (b).

Figura 21 – Ensaio de germinação: Estufa (a) e amostras em copos arranjados (b)



Após 35 dias, as alfaces foram cuidadosamente removidas do solo e lavadas, e o comprimento da raiz e o peso seco foram medidos após a secagem em uma estufa (48h a 58°C). A porcentagem relativa de germinação das sementes foi calculada considerando a germinação total na amostra de controle como 100% (Tabela 7). Os comprimentos das raízes das mudas foram medidos com um paquímetro digital.

Tabela 7 – Nomenclatura utilizada no bioensaio de germinação

Código	Amostras
T0	Controle
T1	-AM + OEC
T2	-AM2 + OEC
T3	-AT + OEC
T4	-AT2 + OEC
T5	-AM + OEL
T6	-AM2 + OEL
T7	-AT + OEL
T8	-AT2 + OEL
T9	-AM + OEB
T10	-AM2 + OEB
T11	-AT + OEB
T12	-AT2 + OEB

4.5.2 Teste de ecotoxicidade

O teste de ecotoxicidade foi realizado com cebolas da espécie *Allium Cepa* L., adaptando a literatura⁹³⁻⁹⁵. Inicialmente, o teste foi realizado em duas fases. Na primeira fase, foram separados 6 grupos de cebolas, sendo que cada grupo continha 8 cebolas e o grupo de controle, selecionado aleatoriamente. O crescimento da raiz de cada grupo foi inicialmente estimulado em um tubo Falcon em uma estufa ($20 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$) contendo aproximadamente 50 mL de água filtrada por 48h. Posteriormente, o bulbo com menor ou nenhum crescimento de raiz foi excluído. Isso deixou 6 grupos e o grupo controle com 4 cebolas. Para a segunda fase, todas as raízes foram removidas e colocadas novamente em tubos Falcon, contendo água + hidrogel, e os 7 grupos foram divididos e classificados conforme mostrado na Tabela 7.

4.5.3 Atividade antimicrobiana e antifúngica para *A. fumigatus*

As amostras de hidrogéis foram colocadas na superfície de Ágar Batata Dextrose (PDA) (36 g de PDA por litro de água destilada) em placas de Petri e incubadas a 25°C , adaptando a literatura^{65,66}. Um tampão micelial de 1 cm de diâmetro contendo *A. fumigatus*, isolado de uma cultura de 5 dias de idade em PDA, foi inoculado simultaneamente no lado oposto de cada amostra de hidrogel na placa de Petri e incubado novamente a 25°C . Após 7 dias de incubação, o diâmetro da colônia de fungos miceliais foi observado e comparado com a placa de controle com filme de PVOH (Controle). As amostras de hidrogel -AM2 e -AT2 com OEC, OEL e OEB (Tabela 8)

foram selecionadas para comparar a inibição máxima pela liberação de OE nos fungos, como pode ser mostrado nas análises de FTIR, microscopia óptica e UV-vis.

Tabela 8 – Nomenclatura utilizada para atividade de inibição micelial de *A. Fumigatus*

Código	Amostras
T0	PVOH (Controle)
T1	-AM2 + OEC
T2	-AT2 + OEC
T3	-AM2 + OEL
T4	-AT2 + OEL
T5	-AM2 + OEB
T6	-AT2 + OEB

4.6 Tratamento estatístico

Os dados experimentais da seção 4.3 com exceção de hidrogéis com OE, foram apresentados como média \pm desvio padrão para cada tratamento amostral. As análises de variância e linhas de tendência foram feitas usando o software Microsoft Excel® 2019 e software STATGRAPHICS® Centurion XVI. Realizou-se um experimento no Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), em esquema fatorial (3x4), composto dos tratamentos como primeiro fator (com 3 ácidos orgânicos) e intervalos de tempo de síntese como segundo fator (20 min, 1, 2 e 3h), em triplicata. Foram elaborados gráficos e tabelas para comparação entre os diferentes grupos de dados e para as análises de variância simples, atribuiu-se a classificação de fatores em que foram usadas letras (A, B, C e D). O teste de Tukey-Kramer foi utilizado para verificar as diferenças estatísticas entre os grupos com 95% de confiança, com auxílio do software STATGRAPHICS® Centurion XVI.

As respostas de quimiotaxia, germinação e testes de ecotoxicidade (Seção 4.4 e 4.5), foram analisados usando o Modelo Linear Generalizado (GzLM), seguido pelo teste de Tukey. Para todas as análises, foi adotado um nível de significância $\alpha = 0,05$. Os modelos GzLM foram implementados usando os pacotes: "Stats" funções estatísticas do R, versão 4.2.2 ⁹⁶; "hnp" *Half-Normal Plots with Simulation Envelopes*, versão 1.2-6 ⁹⁷ e "multicomp" *Simultaneous Inference in General Parametric Models* (Inferência simultânea em modelos paramétricos gerais), versão 1.4-20 ⁹⁸. Todas as análises foram realizadas na interface R Studio e no software R (<https://www.r-project.org/>).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

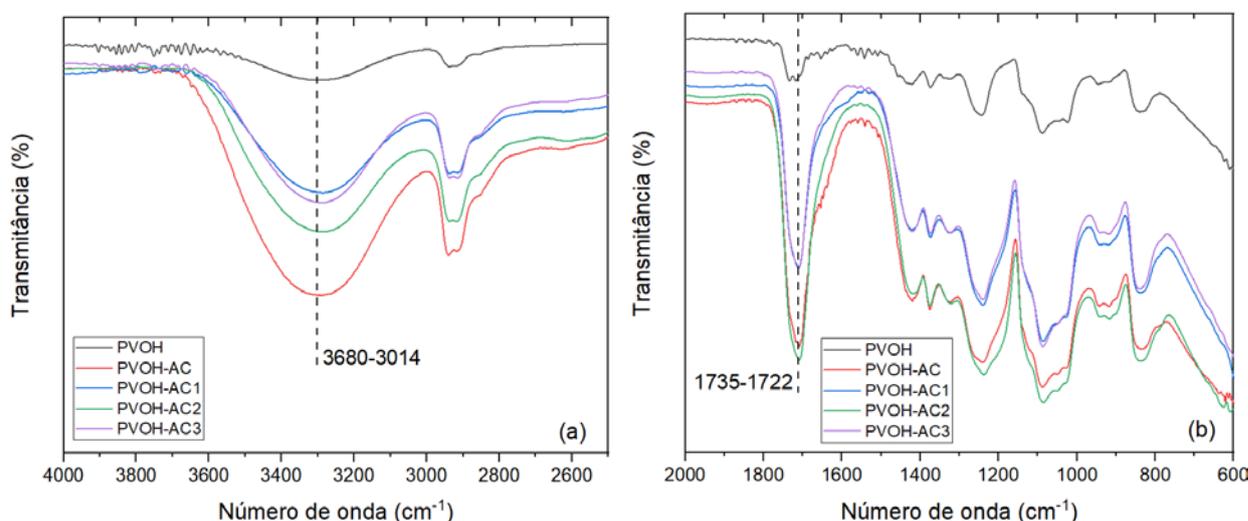
5.1 ETAPA I – Estudo da reticulação de hidrogéis com ácidos orgânicos

Nesta etapa, são avaliadas e estudadas as diferentes caracterizações físico-químicas para determinar o grau de reticulação dos hidrogéis, e avaliar suas diferentes propriedades de inchamento e dissolução de hidrogéis; propriedades cinéticas de difusão, umidade e liberação controlada de corante como indicador de migração em função do tempo.

5.1.1 Espectroscopia de absorção no Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Nas Figuras 22 a 25 são mostrados os espectros de FTIR e possibilidades de esterificação de PVOH e respectivamente dos hidrogéis: ácido cítrico (AC), ácido málico (AM) e ácido tartárico (AT), com tempos de reação em 20 min, 1, 2 e 3h, apresentados sob duas ampliações distintas: na faixa de 4000-2500 cm^{-1} (a) e 2000-600 cm^{-1} (b).

Figura 22 – HATR-FTIR das amostras de hidrogéis à base de AC, na faixa de 4000-2500 cm^{-1} (a) e 2000-600 cm^{-1} (b)



Os picos característicos de PVOH e suas interações com o AC são identificados e apresentados da seguinte maneira: As bandas de absorção em 3014–3680 cm^{-1} são atribuídas à vibração de alongamento dos grupos hidroxilas (-OH) presentes no PVOH e de moléculas livres não reticuladas de AC ^{27,99}; bandas características em 2931 cm^{-1} e 2853 cm^{-1} são atribuídas ao alongamento assimétrico e simétrico dos grupos C-H, respectivamente; uma banda em 1735 cm^{-1} originada de grupos carbonilas residuais nas cadeias moleculares do PVOH ^{26,27}; bandas características em 1426 cm^{-1} são resultantes da deformação no plano das ligações -CH₂-; banda característica em 1000–

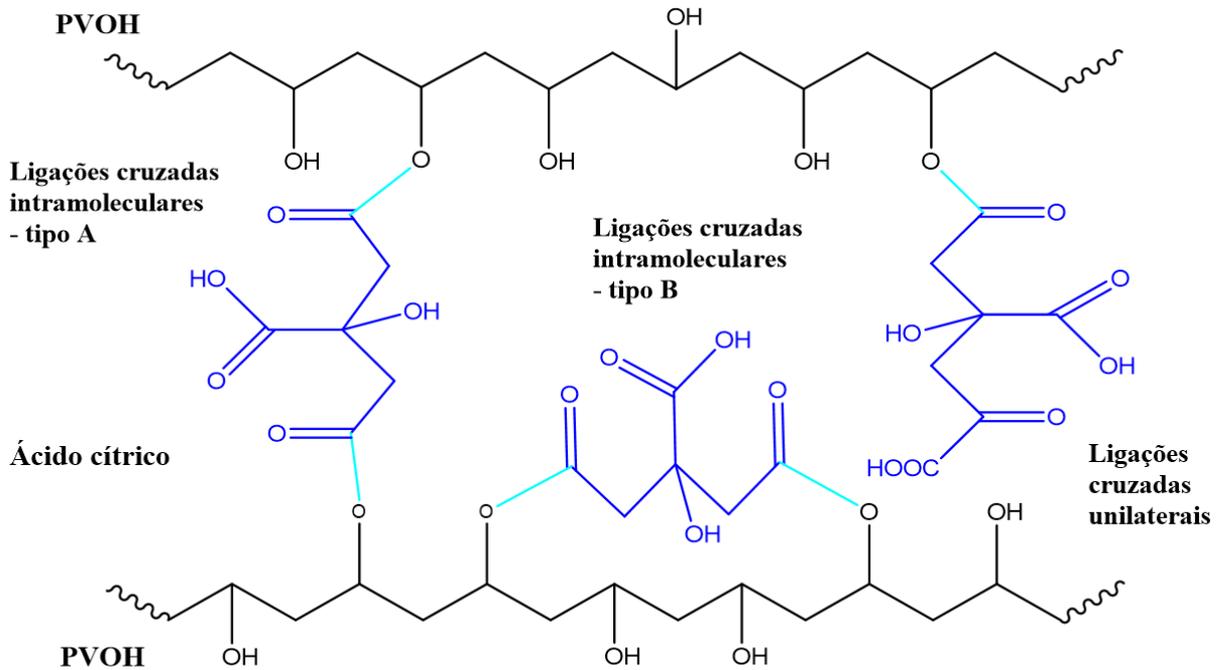
1180 cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento do C-O de ligações do PVOH; e a banda em 842 cm^{-1} está correlacionada com o alongamento vibracional de ligações C-C ^{23,27}.

Também foi observado uma redução na banda -OH em torno de 3200 cm^{-1} e uma banda intensa de carbonila (C=O) em 1715 cm^{-1} atribuída à formação de ligação de éster entre o PVOH e o AC ^{23,100}.

Sabzi *et al.* ²⁷; Franco *et al.* ⁹⁹ e Huang *et al.* ²³ afirmam que a reação de esterificação entre PVOH e AC, é também justificada por meio da ocorrência de banda de absorção próxima de 1722 cm^{-1} , atribuídas ao alongamento de carbonilas e grupos de ácido carboxílico (-COOH) remanescentes no AC e aumentou com o aumento do percentual de AC no hidrogel. Este comportamento das bandas intensas de carbonilas (C=O) e conseqüentemente das hidroxilas (-OH) ao longo da reação das amostras de hidrogéis, também é descrita por diversas literaturas, na seção de índices de carbonila (I_{CO}) e hidroxilas (I_{OH}) e detalhada com outros tipos de ácidos orgânicos.

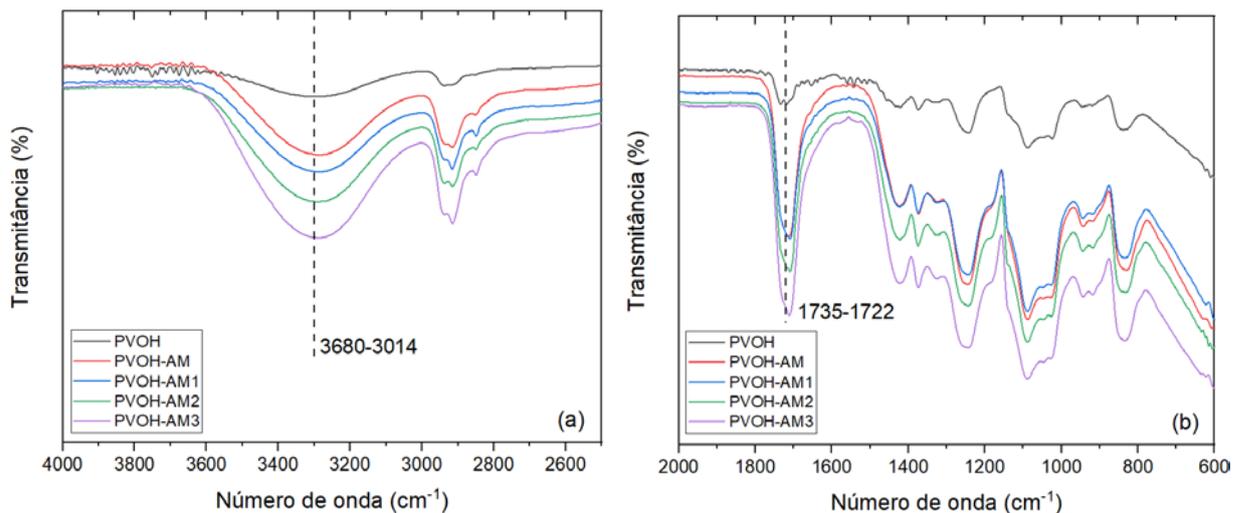
Apresentam-se a seguir os três mecanismos teóricos de esterificação ^{76,77} em matriz de PVOH para o AC que se dividem em: ligações cruzadas intermoleculares do tipo A, onde as moléculas de ácido cítrico interagem com o PVOH através das hidroxilas livres (-OH) ao centro da molécula; ligações cruzadas intermoleculares do tipo B em que a molécula de AC pode-se ligar contiguamente a uma única cadeia do PVOH assim não promovendo uma reticulação de fato, mas esterificando a cadeia principal do polímero paralelamente (impedimento estereo-químico); e pôr fim a ligação cruzada unilateral, em que o AC sofre somente esterificação química em uma das ramificações, deixando os demais grupos carboxílicos livres (-COOH). O AC por ter mais grupos funcionais (uma hidroxila e três grupos carboxila) possui tamanho molecular maior quando comparado aos outros ácidos orgânicos ^{25,101}. Este impedimento estereo-químico apresenta-se em menor esterificação química o que será apresentado nos resultados experimento de fração sol-gel. Esse modelo é descrito na literatura e apresentado como uma descrição das possibilidades de interações químicas de esterificação do AC com o PVOH ^{23,26,100}. Na Figura 23 é mostrada as possibilidades de esterificação química entre o AC e o PVOH.

Figura 23 – Possibilidades de esterificação para hidrogéis à base de AC



Na Figura 24 é mostrado os espectros de hidrogéis de PVOH, PVOH-AM e seus tempos de reação em 20 min, 1, 2 e 3h, apresentados sob duas ampliações distintas: na faixa de $4000\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ (a) e $2000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ (b).

Figura 24 – HATR-FTIR das amostras de hidrogéis à base de AM, na faixa de $4000\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ (a) e $2000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ (b)



As principais bandas características atribuídas ao ácido málico (AM) foram descritas a partir da literatura em vibrações de estiramento -OH em 3400 cm^{-1} aproximadamente, derivadas das hidroxilas presentes no PVOH e AM, vibrações de estiramento da ligação da carbonila (C=O) de carboxilas (-COOH) em 1728 cm^{-1} , vibrações de estiramento (-COOH) assimétricas em 1640 cm^{-1} e vibrações de

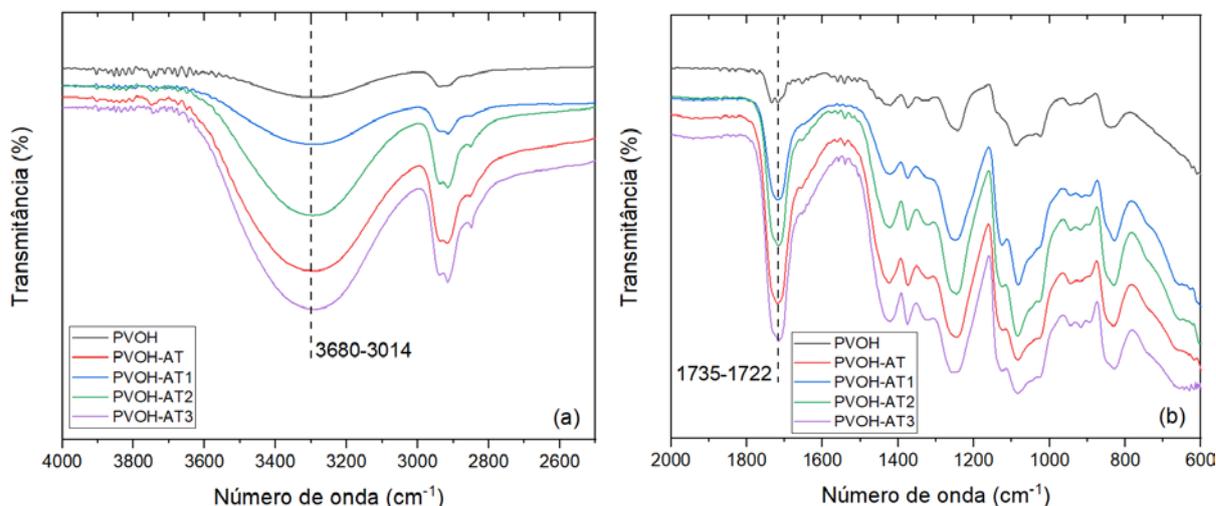
estiramento simétricas de -COOH a 1440 cm^{-1} ^{29,102}. Com as reações de reticulação e interações químicas promovidas entre o AM e o PVOH, houve um aumento da banda de absorção na região de carbonilas (C=O), apresentado em $1730\text{-}1740\text{ cm}^{-1}$. Observa-se também que ao longo do tempo de reação, houve um aumento da banda de absorção na região de hidroxilas, nos tempos desde 20 min e cresce até 3h, mostrando intensidade das hidroxilas presente no AM e incorporadas ao PVOH.

O AM também apresenta os três mecanismos teóricos de esterificação ⁷⁶ com o PVOH, mostradas na Figura 23 e descritos em: ligações cruzadas intermoleculares do tipo A, tipo B e ligações cruzadas unilaterais, em que o comportamento químico de reticulação. Gao *et al.* ²⁹ também descreve em seu estudo um mecanismo químico de reticulação do PVOH com o AM.

Yang *et al.* ⁴ ao estudar a incorporação do ácido tânico (TA) em hidrogéis à base de PVOH por FTIR, os resultados obtidos mostraram um deslocamento da banda de 3408 cm^{-1} para 3373 cm^{-1} , que é atribuído às bandas de estiramento de -OH , indicando interação intermolecular entre PVOH e o TA via ligação de hidrogênio são formadas, sendo caracterizadas pelos tipos intermoleculares (tipos A e B) descritos acima e observados nos espectros analisados na Figura 24. Também, Zhang *et al.* ³⁸ ao avaliar o comportamento do ácido málico e tartárico por titulação, observou que o potencial zeta (ζ) aumentou ligeiramente no início da titulação e depois diminuiu, enquanto na série de AT, assim a energia superficial diminuiu continuamente, mostrando uma forte influência da interação de ligação de hidrogênio no AM e evidenciando uma maior interação com grupos hidroxilas (-OH), apresentados sob a mudança química nas cadeias poliméricas do poli(2-vinilpiridina).

Na Figura 25 é mostrado os espectros de hidrogéis de PVOH, PVOH-AT e seus tempos de reação em 20 min, 1, 2 e 3h, apresentados sob duas ampliações distintas: na faixa de $4000\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ (a) e $2000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ (b).

Figura 25 – HATR-FTIR das amostras de hidrogéis à base de AT, na faixa de 4000-2500 cm^{-1} (a) e 2000-600 cm^{-1} (b)



Os espectros das amostras de PVOH e dos hidrogéis PVOH-AT e suas variáveis mostram a presença do ácido carboxílico e evidência a reticulação entre o PVOH e o ácido tartárico (AT). As bandas de absorção características correspondentes ao estiramento -OH (3200-3400 cm^{-1}) originárias das ligações de hidrogênio intra- e intermolecular dos ácidos orgânicos e PVOH ^{4,82}; estiramento -CH (2940 cm^{-1}); água adsorvida (1640 cm^{-1}) presente no AT e PVOH; torção molecular (1435 cm^{-1}); estiramento -C-O associado ao PVOH (1095 cm^{-1}) são mostrados e analisados ^{5,82}. A reticulação característica dos hidrogéis é mostrada nos espectros é resultante da redução das hidroxilas (-OH) com conversão em novas ligações ésteres no hidrogel, devido ao estiramento e aumento da região de carbonilas (-C=O) em 1735-1740 cm^{-1} originárias da interação com o AT ^{5,79}. Yang *et al.* ⁴ estudou o tratamento de diferentes concentrações de ácido tânico (TA), em que novas bandas de absorção nos hidrogéis de PVOH/TA apareceram em 1714 cm^{-1} , 1027 cm^{-1} e 755 cm^{-1} , que correspondem às bandas características de TA, comprovando a incorporação do TA no hidrogel de PVOH. Esse comportamento pode ser observado pela razão do picos (-C=O/-OH) que são obtidos por meio dos espectros que confirmam a interação do AT com o PVOH ⁸²; sendo que esse cálculo matemático foi realizado utilizando as Equações 1 e 2 (Seção 4.3.1), e serão discutidas na seção 5.1.1.1.

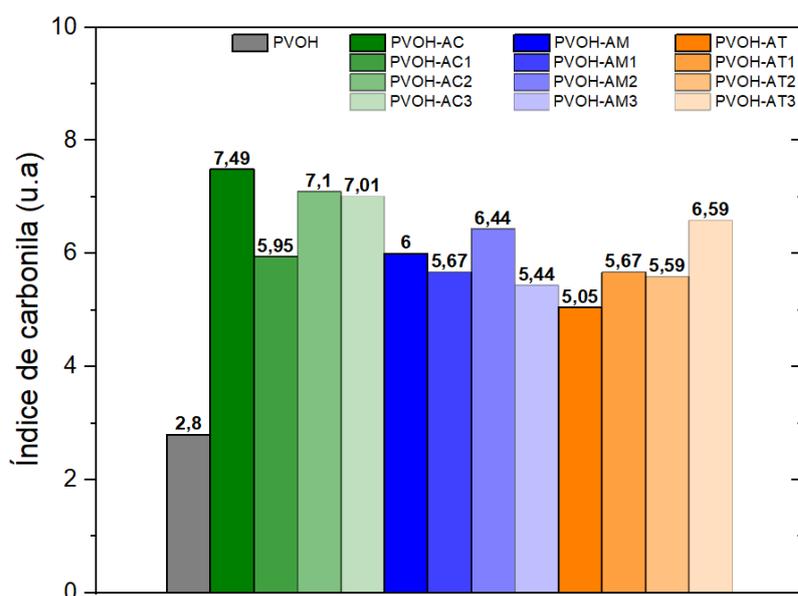
Sonker e Verma ⁵ e Sonker *et al.* ⁸² descrevem que a razão de intensidade (C=O/-OH) medida experimentalmente para o hidrogel de PVOH/TA (ácido tartárico), aumenta com o grau de reticulação e atingiu 0,5 para 35% p/p de TA-CLPVA, evidenciando que a adição de ácido orgânico modifica a estrutura do polímero.

Os três mecanismos primários de esterificação do AT ^{5,77,82} também seguem o modelo mostrado para o AC. Entretanto, as ligações cruzadas intermoleculares do tipo B em que a molécula de AT pode-se ligar paralelamente a uma única cadeia do PVOH assim não promovendo uma reticulação de fato, mas esterificando a cadeia principal do polímero. Tal fato é observado por Sonker e Verma ⁵ e Sonker *et al.* ⁸², que dependendo da orientação química do PVOH e AT, a reticulação pode ocorrer nos tipos A, B ou randômico. Além disso, também é possível que apenas uma das extremidades do ácido orgânico reaja com o PVOH, originando esterificação parcial sem reatividade química no outro grupo carboxílico (ligações cruzadas unilaterais).

5.1.1.1 Índices de carbonila (I_{CO}) e hidroxila (I_{OH})

Na Figura 26 são mostrados os índices de carbonilas dos hidrogéis de PVOH com AC, AM e AT calculados por meio dos espectros de HATR-FTIR, de acordo com a Equação 1.

Figura 26 – Índices de carbonila de PVOH e hidrogéis



A análise estatística inferencial foi utilizada para avaliar as diferenças nos índices de carbonila, usando como fatores o filme de PVOH e o tempo de reticulação dos hidrogéis de acordo com a Figura 26, e apresentada na Tabela 9. Nesta análise estatística realizada sob método de Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), observou-se que com os dados analisados em conjunto, não apresentou diferença significativa entre os grupos, apresentando mesmo desempenho na reticulação química,

conforme mostrado pelas classificações de grupos homogêneos atribuídos de Tukey-Kramer.

Tabela 9 – Estatística descritiva utilizada para comparar os índices de carbonila médios de PVOH e seus hidrogéis

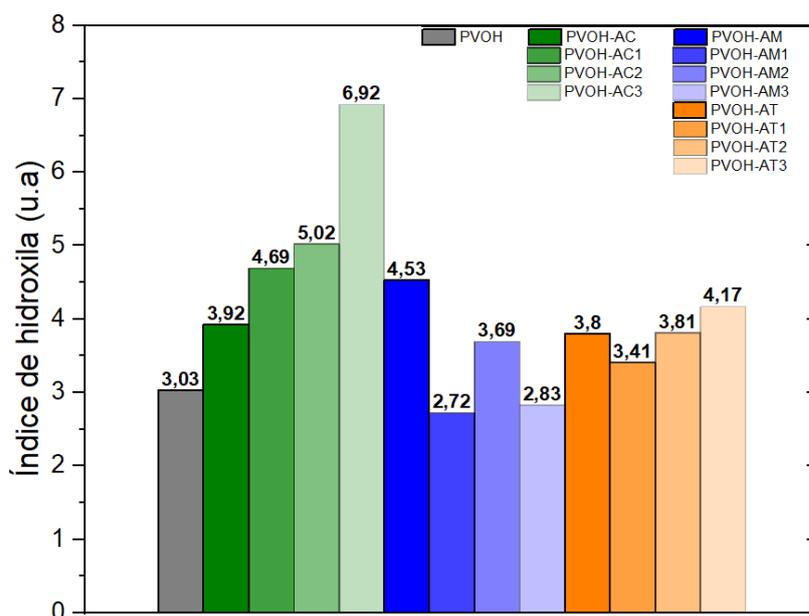
Índice de carbonilas				
PVOH	2,80 ± 0,21 ^A			
F ^b	0,91			
Ácido orgânico	20 min ^{a)}	1 h ^{a)}	2 h ^{a)}	3 h ^{a)}
Ácido cítrico	7,49 ± 1,71 ^A	5,95 ± 0,79 ^A	7,10 ± 1,91 ^A	7,01 ± 0,47 ^A
F ^b	0,91	0,91	0,91	0,91
Ácido málico	6,0 ± 0,56 ^A	5,67 ± 0,83 ^A	6,44 ± 0,49 ^A	5,44 ± 1,21 ^A
F ^b	0,91	0,91	0,91	0,91
Ácido tartárico	5,05 ± 0,89 ^A	5,67 ± 3,13 ^A	5,59 ± 1,71 ^A	6,59 ± 3,98 ^A
F ^b	0,91	0,91	0,91	0,91

a) Valores correspondentes ao coeficiente de variação (SD) para cada grupo; diferentes letras em negrito representam as diferenças significativas entre os grupos de acordo com o teste de Tukey-Kramer. b) F = Teste estatístico.

Os índices de carbonila das amostras mostram que o tempo de reação química para reticulação dos hidrogéis é determinante para o aumento das carbonilas em geral (C=O), o que normalmente indica uma maior concentração de ácidos orgânicos parcialmente esterificados a cadeia polimérica do PVOH (visualizado especialmente nos hidrogéis de PVOH com AC), entretanto ao decorrer da reação química essa concentração de ácido orgânico, diminuiu devido a uma maior reação química para reticulação por esterificação no decorrer do tempo (visualizado especialmente nos hidrogéis com o AM e AT, sendo os menores valores com o AT). Yang *et al.* ⁴ descreveu que também foi possível verificar que a intensidade das bandas em 1714 cm⁻¹ e 755 cm⁻¹ (C=O) aumentou com o aumento da concentração de ácido tânico (TA), demonstrando que a difusão de moléculas de TA nos hidrogéis são dependentes da concentração final ou de reação química. Sonker e Verma ⁵ e Huang *et al.* ²³ afirmam que o PVOH por ser um derivado de hidrólise do acetato de polivinila (PVA) apresenta bandas remanescentes de carbonilas (C=O) devido aos grupos acetatos remanescentes. Este comportamento pode ser observado no espectro de FTIR do PVOH em 1735-1740 cm⁻¹ em comparação com as demais amostras.

Na Figura 27 são mostrados os índices de hidroxilas dos hidrogéis de PVOH com AC, AM e AT calculados por meio dos espectros de HATR-FTIR, de acordo com a Equação 2.

Figura 27 – Índices de hidroxila de PVOH e hidrogéis



A análise estatística inferencial foi utilizada para avaliar as diferenças nos índices de hidroxila, usando como fatores o filme de PVOH e o tempo de reticulação dos hidrogéis são apresentadas na Tabela 10. Nesta análise estatística observou-se mesmo comportamento (DIC), conforme descrito anteriormente em índice de carbonilas.

Tabela 10 – Estatística descritiva utilizada para comparar os índices de hidroxila médios de PVOH e seus hidrogéis

Índices de hidroxila				
PVOH	3,03 ± 0,89 ^A			
F ^b	1,42			
Ácido orgânico	20 min ^{a)}	1 h ^{a)}	2 h ^{a)}	3 h ^{a)}
Ácido cítrico	3,92 ± 0,06 ^A	4,69 ± 2,69 ^A	5,02 ± 1,73 ^A	6,92 ± 0,08 ^A
F ^b	1,42	1,42	1,42	1,42
Ácido málico	4,53 ± 2,65 ^A	2,72 ± 0,06 ^A	3,69 ± 0,38 ^A	2,83 ± 0,16 ^A
F ^b	1,42	1,42	1,42	1,42
Ácido tartárico	3,80 ± 0,55 ^A	3,41 ± 0,86 ^A	3,81 ± 0,62 ^A	4,17 ± 1,72 ^A
F ^b	1,42	1,42	1,42	1,42

a) Valores correspondentes ao coeficiente de variação (SD) para cada grupo; diferentes letras em negrito representam as diferenças significativas entre os grupos de acordo com o teste de Tukey–Kremer. b) F = Teste estatístico.

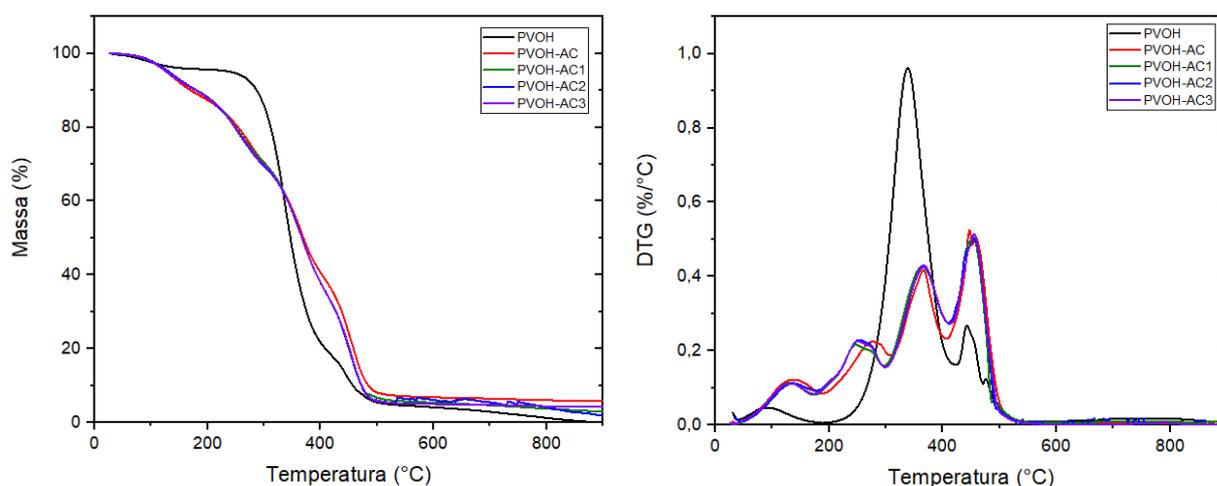
Os índices de hidroxilas das amostras mostram que além de a esterificação promovida pelos ácidos orgânicos reduzirem as hidroxilas presentes no PVOH, também pode haver um aumento dos índices -OH devido a presença de ligações de hidrogênio e hidroxilas livres entre os ácidos orgânicos e o PVOH ^{27,99}. Esse comportamento é mostrado com o AC, que por apresentar hidroxilas livres de sua estrutura química,

tiveram o maior percentual médio dentre todas as amostras devido a esterificação parcial com o PVOH, apresentando hidrogéis instáveis e com dissolução em meio aquoso; que de acordo com dados apresentados nas seções de intumescimento e fração sol-gel, além de este AC possuir 4 grupos hidroxila (sendo 3 deles de grupos -COOH) em sua molécula ^{1,76,77}. As amostras de constituídas por AM e AT obtiveram comportamentos semelhantes nos índices de hidroxilas em que a presença de uma estrutura tridimensional, reduziu indiretamente os índices de hidroxilas e aumentou as carbonilas na reação de esterificação.

5.1.2 Análise termogravimétrica (TGA)

Nas Figuras 28 a 30 são mostradas as curvas e eventos de TGA e suas derivadas termogravimétricas (DTG), das amostras de hidrogéis constituídas de ácido cítrico (AC), málico (AM) e tartárico (AT).

Figura 28 – Curvas de TGA e DTG de hidrogéis com AC

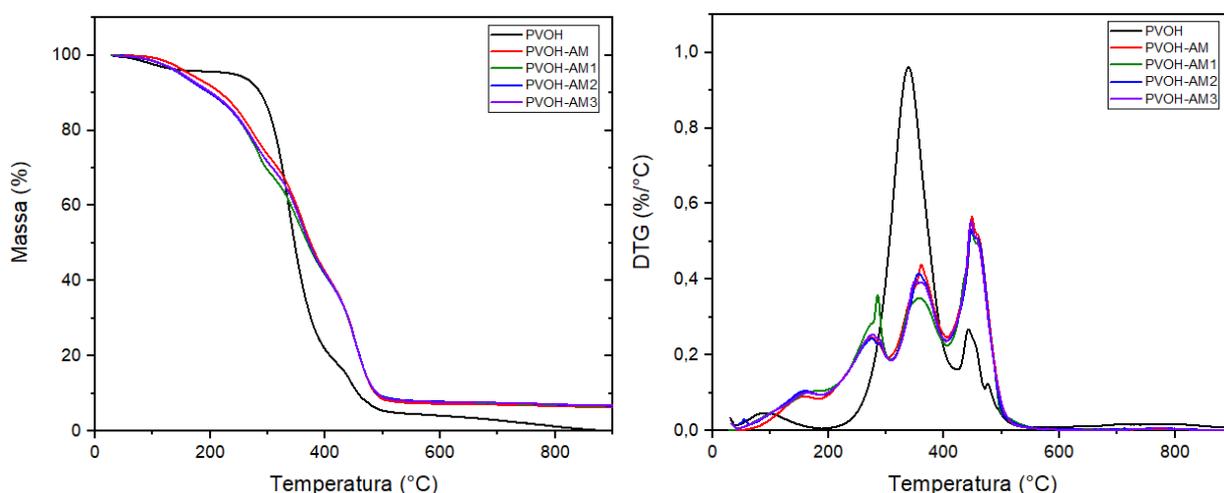


As análises térmicas das amostras de PVOH e seus hidrogéis mostram perda de massa significativa em até quatro estágios, sendo estudadas do segundo estágio em diante. Primeiramente, a perda de peso até 150°C foi atribuída à perda de água presente nos hidrogéis ^{5,103}. O primeiro estágio registrado de temperatura (M1%) variou de 200°C a 320°C foi devido à decomposição térmica inicial da estrutura química dos ácidos orgânicos, compostos químicos voláteis de catálise dos hidrogéis e oligômeros não reagidos de PVOH, compostos de baixa massa molecular, enquanto o segundo (M2%) processo de degradação (400°C-500°C) foi associado à decomposição da cadeia polimérica principal ^{103,104}. Nas curvas de DTG, as temperaturas correspondentes à taxa máxima de perda de peso do segundo estágio de degradação do PVOH, AC, -AC1,-

AC2 e -AC3 foram 443,76°C; 366,24°C; 364,35°C e 365,30°C respectivamente. Esse comportamento implicou em uma menor estabilidade térmica dos hidrogéis com a incorporação de ácido cítrico, o que se confirmou com a perda de massa na segunda etapa devido a decomposição da cadeia lateral do PVOH ¹⁰³. A temperatura de degradação térmica do terceiro estágio e ao longo dos tempos de reação aplicados com o AC, não alterou significativamente as curvas TGA/DTG porque a reação de reticulação não conseguiu alterar a estrutura da cadeia principal de PVOH, porém diminui sua cristalinidade devido a interação da água com a fase cristalina do PVOH e ácido cítrico ²⁶. Bulinski *et al.* ⁶ descreve que a presença de grupos de acetato remanescentes do PVOH, afeta a sua capacidade de cristalização após o tratamento térmico, o que é de interesse para obtenção de hidrogéis reticulados.

Na Figura 29 são mostradas as curvas e eventos de TGA e suas derivadas termogravimétricas (DTG), das amostras de hidrogéis constituídas de AM.

Figura 29 – Curvas de TGA e DTG de hidrogéis com AM

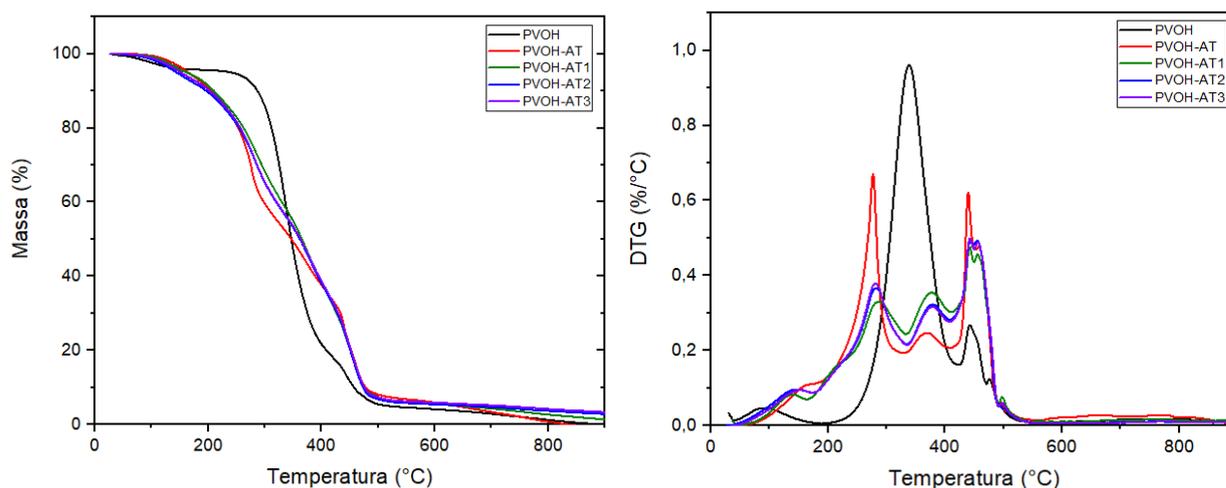


As curvas de TGA e DTG das amostras de hidrogéis de -AM mostram que geral, uma perda de massa significativa em até quatro estágios após a incorporação do -AM, e tendo seu estudo a partir do segundo estágio em diante; em que a perda de peso até 150°C foi atribuída à perda de água presente nos hidrogéis e entre 150°C e 200°C a água ocluída remanescente devido as ligações de hidrogênio com o PVOH ^{29,103}. Nas curvas de DTG, as temperaturas correspondentes à taxa máxima de perda de peso do segundo estágio de degradação do PVOH, AM, -AM1, -AM2 e -AM3 foram 443,76°C; 360,57°C; 356,79°C; 353,95°C e 356,79°C respectivamente. Esse comportamento implicou em uma menor estabilidade térmica dos hidrogéis com a incorporação de ácido málico, o que se confirmou com a perda de massa na segunda etapa devido a

decomposição da cadeia lateral do PVOH em torno de 400°C, em um comportamento similar estudado com a incorporação de ácido málico e cítrico ^{103,104}.

Na Figura 30 são mostradas as curvas e eventos de TGA e suas derivadas termogravimétricas (DTG), das amostras de hidrogéis constituídas de AT.

Figura 30 – Curvas de TGA e DTG de hidrogéis com AT



As curvas de TGA de filme de PVOH e hidrogéis com -AT mostram uma tendência de perda de peso semelhante em quatro faixas de temperatura (Figura 32), conforme relatado por Sonker e Verma ⁵; Sonker *et al.* ⁸² e Yang *et al.* ⁴. A faixa de temperatura de 80°C a 200 °C, corresponde à perda de massa ocasionada pela água absorvida e adsorvida. A diferença nesta região pode ser devido à presença de maior quantidade de água adsorvida nos filmes de PVOH reticulados. A primeira região de degradação (M1%) dos hidrogéis é correspondente à perda de massa máxima de 200°C a 320°C, registrando uma resistência menor a degradação do PVOH reticulado com os ácidos orgânicos em comparação com amostras de PVOH puro; também observado por meio dos valores de M2 (%) e M3 (%). Nesta região, a perda de massa também é observada devido à cisão da cadeia e degradação da cadeia principal do PVOH, iniciada somente a partir dos estágios de degradação térmica em M2 (%) e M3 (%), devido a sua estrutura química reticulada intra- e intermolecular ¹.

Na Tabela 11 são apresentados os eventos de TGA e suas derivadas termogravimétricas (DTG), das amostras constituídas de AC, AM e AT.

Tabela 11 – Temperaturas e eventos de TGA/DTG do PVOH e hidrogéis analisados

Amostras	TGA							DTG		
	T _{10%} (°C)	T _{50%} (°C)	M0* (%)	M1 (%)	M2 (%)	M3 (%)	Cinzas (%)	T _{evento 1} (°C)	T _{evento 2} (°C)	T _{evento 3} (°C)
PVOH	287,21	343,7	4,26	---	76,82	18,75	0,15	339,77	443,76	475,90
PVOH-AC	169,62	370,21	0,55	31,76	29,15	33,32	5,21	277,38	366,24	447,54
PVOH-AC1	180,02	365,83	0,58	28,61	37,18	31,28	2,34	248,08	364,35	453,21
PVOH-AC2	178,13	366,56	0,59	30,39	34,98	32,90	1,13	255,64	365,30	454,15
PVOH-AC3	180,02	367,72	0,56	30,45	34,44	30,86	3,68	256,59	365,30	456,04
PVOH-AM	210,27	375,34	0,43	27,61	31,35	34,61	5,98	275,49	360,57	448,48
PVOH-AM1	198,92	368,57	0,48	32,10	27,67	33,57	6,17	285,89	356,79	447,54
PVOH-AM2	197,03	372,71	0,45	30,02	29,82	33,37	6,33	274,55	353,95	448,48
PVOH-AM3	197,02	370,48	0,46	29,76	29,20	34,12	6,45	275,49	356,79	448,48
PVOH-AT	201,76	346,22	0,52	45,28	18,26	35,75	0,18	276,44	369,08	440,92
PVOH-AT1	204,60	362,83	0,54	41,09	23,65	33,94	0,77	286,84	375,69	443,76
PVOH-AT2	195,14	362,09	0,51	43,10	21,41	32,69	2,28	282,11	378,53	444,70
PVOH-AT3	199,87	363,32	0,58	42,84	21,08	32,82	2,74	280,22	377,58	444,70

Em que: T_{max.}: Temperatura máxima de degradação; M (%): Perda de massa no evento em cada estágio de decomposição; T_{evento} (°C): Temperatura máxima no evento; *Referente a perda de água inicial do PVOH e hidrogéis.

Na tabela acima é apresentado os dados dos resultados da degradação térmica das amostras de PVOH e dos hidrogéis de PVOH com os ácidos orgânicos. São apresentadas 3 regiões de degradação principais (M%) e o teor de cinzas (%). A primeira região observa uma degradação inicial maior para todas amostras com os ácidos orgânicos em decorrência da água absorvida e adsorvida ^{13,103}, estando o -AT com o maior percentual médio (41% a 45,2%). Na segunda região de degradação, a perda de massa é observada devido à cisão da cadeia e degradação da cadeia principal do PVOH ⁸², comportamento que acabou refletindo em uma menor DTG das amostras respectivamente em comparação ao PVOH ⁵. A reticulação do PVOH com ácidos orgânicos modifica sua estrutura química por meio das possibilidades de esterificação com a formação de uma estrutura quimicamente reticulada intra- e intermolecular ^{1,76,77}.

Entre as três redes de PVOH reticuladas desta pesquisa, pode-se observar que as amostras constituídas de ácido málico, apresentaram a maior estabilidade térmica devido à presença de grupos funcionais que podem participar ativamente da ligação de hidrogênio inter/intramolecular causada pela a proximidade espacial dos grupos carboxílico (-COOH) e hidroxila (-OH) ¹⁰⁴. Isso é observado pelo aumento do teor de cinzas presente nas amostras reticuladas com valores de até 6,5% aproximadamente. Por fim, os hidrogéis reticulados apresentam maior estabilidade térmica nos dois

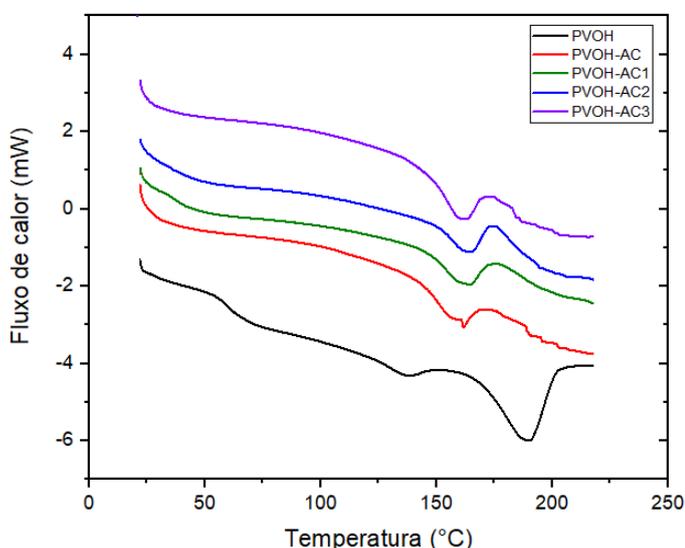
últimos estágios de decomposição, com perdas de massa menores de 20% a 35%, em comparação com 77% do PVOH.

5.1.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Nas Figuras 31 a 33 são mostradas as curvas de DSC de PVOH e respectivamente dos hidrogéis: ácido cítrico (AC), ácido málico (AM) e ácido tartárico (AT), com tempos de reação em 20 min, 1, 2 e 3h.

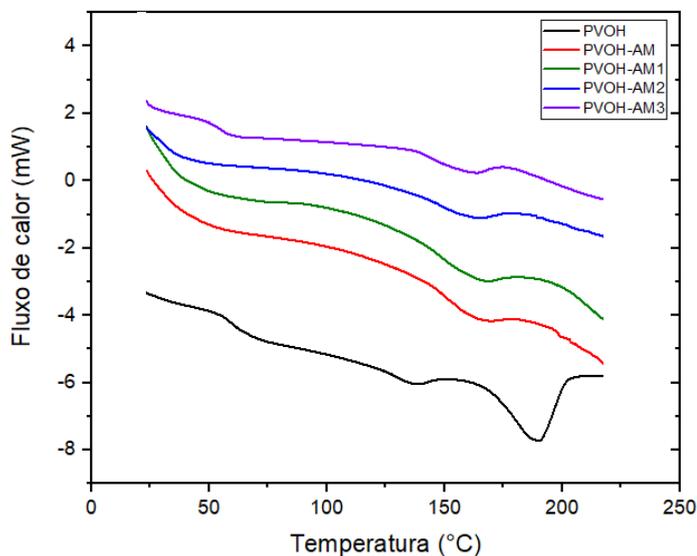
As curvas de DSC do PVOH, -AC, -AC1, -AC2, -AC3 são mostradas na Figura 33. É observado que o filme de PVOH tem temperatura de transição vítrea (T_g) próxima de 60,1°C e temperatura de fusão (T_m) em 190,1°C. Conforme é adicionado o ácido cítrico (AC) e observa-se o tempo de reação química para as amostras, o PVOH-AC e -AC3 tem uma diminuição da T_g , que não pode observada quando comparada as demais amostras, enquanto as amostras -AC1 e -AC2 exibem uma diminuição da T_g para 38,5°C e 28,6°C respectivamente. Essa diminuição da T_g se deve pela adição do ácido cítrico que possibilitou uma reticulação (esterificação) parcial do PVOH, através de interações químicas ésteres e de hidroxilas livres (-OH) presentes no AC e de água adsorvida ocluída. Essa água adsorvida e ocluída agiu como plastificante para o hidrogel que resultou em diminuição de sua T_g ²⁶. Esse comportamento reacional é descrito por Yu *et al.* ¹⁰³ em que a incorporação do AC implica em uma menor estabilidade térmica dos hidrogéis, o que se confirma com a perda de massa na segunda etapa devido a decomposição da cadeia lateral do PVOH.

Figura 31 – Curvas de DSC do filme PVOH e hidrogéis com AC



Na Figura 32 é mostrada as curvas de DSC de PVOH e respectivamente dos hidrogéis com AM, com tempos de reação em 20 min, 1, 2 e 3h.

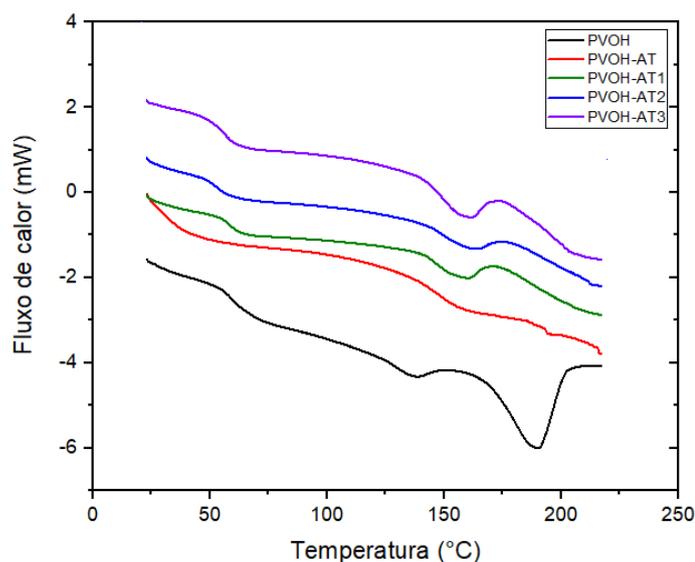
Figura 32 – Curvas de DSC do filme PVOH e hidrogéis com AM



Para as curvas de DSC do PVOH, -AM, -AM1, -AM2, -AM3 é observado que com a incorporação do ácido málico (AM) o tempo de reação química para todas as amostras, com exceção do PVOH-AM3, tem uma diminuição da T_g , em torno de 30°C, enquanto a amostra de hidrogel -AM3, apresentou uma diminuição da T_g para 55,03°C. Essa diminuição na T_g se deve pela plastificação nos hidrogéis, promovida pela água adsorvida/ocluída e a incorporação do AM que reticulou e rearranjou as cadeias químicas do PVOH em um comportamento químico observado anteriormente com os hidrogéis de PVOH/AC. Kanmaz *et al.*²⁴ descreveu em seu estudo que essa alteração de T_g é atribuída a incorporação de ácido orgânico que promove mudanças no arranjo estrutural das moléculas de PVOH. Gao *et al.*²⁹ afirma que as moléculas de água, sejam elas ocluídas ou congeladas só possuem ligações intermoleculares (ligações de hidrogênio), aos grupos hidrofílicos do PVOH, sendo mostradas como picos endotérmicos inicialmente em análise de DSC.

Na Figura 33 é mostrada as curvas de DSC de PVOH e respectivamente dos hidrogéis com AT, com tempos de reação em 20 min, 1, 2 e 3h.

Figura 33 – Curvas de DSC do filme PVOH e hidrogéis com AT



Para as curvas de DSC do PVOH, -AT, -AT1, -AT2, -AT3 é observado que com a incorporação do AT o tempo de reação química para todas as amostras, com exceção do PVOH-AT, não tiveram uma diminuição significativa de sua T_g , ficando em torno de 53°C a 58°C, enquanto a amostra -AT mostrou uma maior diminuição da T_g para 29,6°C. Comparado com o filme de PVOH ($T_g = 60,15^\circ\text{C}$) a faixa máxima de diferença de T_g do AT para o PVOH é de 30,5°C. Yang *et al.*⁴, afirma em seu estudo que o grau de cristalinidade (% X_c) dos hidrogéis com ácido tânico (TA) sofreram diminuição de 46,7 a 8,7% com o aumento de sua concentração de 0 a 0,5% em massa, indicando que a incorporação de TA, reduz a cristalização do PVOH devido à forte ligação de hidrogênio formada entre o TA e suas cadeias poliméricas.

Para investigar o efeito da concentração dos ácidos orgânicos na cristalização dos hidrogéis, na análise de DSC além da temperatura de transição vítrea (T_g), a temperatura de fusão (T_m), calor de fusão (ΔH_f) e o grau de cristalinidade (X_c) foram obtidos a partir das curvas das amostras de hidrogéis de PVOH com AC, AM, AT e suas variações de tempo são apresentadas na Tabela 12.

Tabela 12 – Temperaturas e eventos de DSC das amostras avaliadas

Amostras	Tg (°C)	Tm (°C)	ΔHf (J/g)	% Xc
PVOH	60,15	190,18	46,34	32,52
PVOH-AC	*	161,52	9,30	6,53
PVOH-AC1	38,52	162,03	13,87	9,73
PVOH-AC2	28,66	164,37	12,95	9,09
PVOH-AC3	*	159,72	12,06	8,46
PVOH-AM	30,40	163,06	10,74	7,54
PVOH-AM1	30,58	163,74	12,66	8,88
PVOH-AM2	31,27	161,82	8,88	6,23
PVOH-AM3	55,03	160,55	9,04	6,34
PVOH-AT	29,67	155,46	4,73	3,32
PVOH-AT1	58,10	158,04	9,87	6,93
PVOH-AT2	53,35	161,05	8,07	5,66
PVOH-AT3	56,43	157,79	9,89	6,94

Em que: T_{max}: Temperatura de transição vítrea; T_m (°C): Temperatura de fusão; ΔHf (J/g): Entalpia de fusão; % Xc: percentual de cristalinidade; * Não calculável.

A curva DSC para o filme de PVOH exibe um pico endotérmico em 190,18°C que é correspondente à temperatura de fusão da fase cristalina do PVOH⁴. Para hidrogéis compostos de PVOH/AC e -AM, o ponto de fusão T_m de -AC, -AC1, -AC2, -AC3 e -AM, -AM1, -AM2, -AM3 são 161,52°C a 164,37°C e de 160,55°C a 163,74°C respectivamente, e todos os pontos de T_m foram deslocados para uma temperatura mais baixa à medida que a concentração dos ácidos orgânicos aumentou, com um comportamento semelhante para o grupo de AT. Esse comportamento também foi observado em um estudo de Birck *et al.*²⁶ e Yang *et al.*⁴ com a incorporação de ácido tânico. Enquanto isso, o Xc dos hidrogéis compósitos diminuiu de 32,52% para -AC (6,53%; 9,73%; 9,09% e 8,46%); -AM (7,54%; 8,88%; 6,23% e 6,34%) e -AT (3,32%; 6,93%; 5,66% e 6,94) com a incorporação de ácido orgânico em 1% em peso, indicando que a introdução de ácidos orgânicos podem inibir quimicamente a cristalização do PVOH devido à forte interação das ligações de hidrogênio e -OH livres formadas entre o AC, AM e AT respectivamente as cadeias poliméricas de PVOH¹.

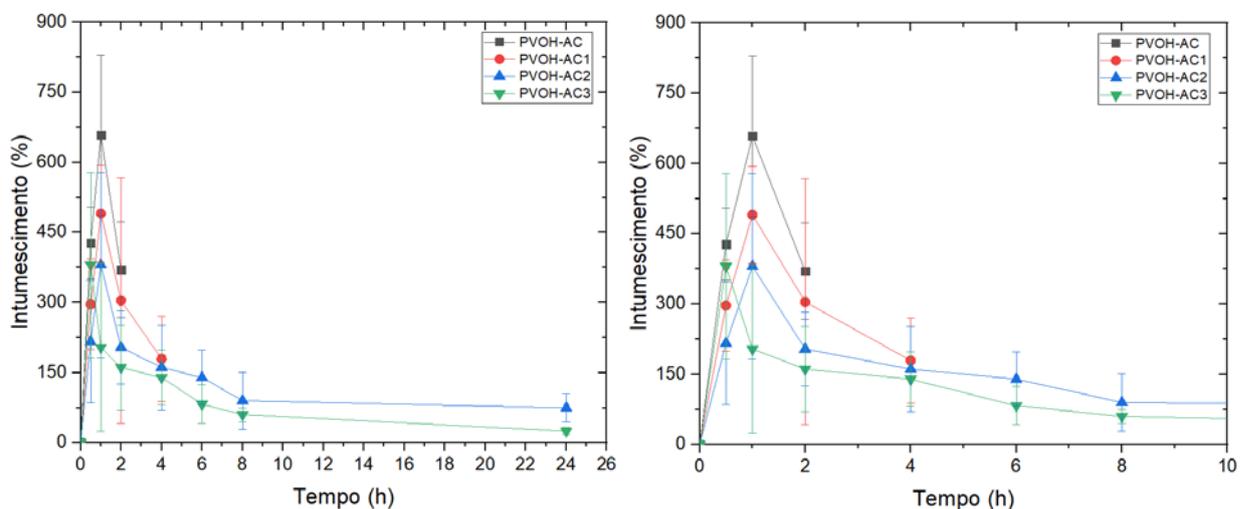
5.1.4 Grau de intumescimento

A capacidade de absorção de água pelos hidrogéis foi observada por medidas de grau de intumescimento (S%) em função do tempo. Os mecanismos de absorção da água na estrutura tridimensional de um hidrogel têm sido descritas por difusão, difusão

e relaxamento macromolecular, e somente por relaxamento macromolecular^{7,24,105}. A absorção/adsorção de água durante o intumescimento se deve a um grande número de grupos hidroxilas (-OH) presentes no PVOH resultando em alto inchamento e, portanto, reduzindo conseqüentemente sua resistência e propriedades finais^{5,18}. A reticulação não só reduz os grupos -OH ativos, mas também liga covalentemente as cadeias de PVOH, reduzindo seu grau de interação com a água, resultando em um intumescimento final reduzido. Além disso, a estrutura reticulada do hidrogel promovida pelo ácido orgânico confere melhor resistência mecânica sem desintegrar-se na presença de umidade entre as cadeias interpenetrantes, resultantes da formação de uma ligação química de éster entre as cadeias da matriz com os ácidos orgânicos^{1,5,76,77}. A seguir são mostrados e discutidos os gráficos utilizados durante o ensaio de intumescimento em que as medições foram realizadas em quintuplicata para cada amostra e mensurados por meio de uma média global e seu respectivo erro estatístico.

Na Figura 34 é mostrado o grau de intumescimento e sua ampliação para as amostras de hidrogéis de PVOH com ácido cítrico (-AC) até 24h.

Figura 34 – Grau de intumescimento dos hidrogéis com AC, em detalhamento até 10h



A análise estatística inferencial foi utilizada para avaliar as diferenças no ensaio de intumescimento, usando como fatores o tempo de reticulação dos hidrogéis de acordo com a Figura 34, e apresentada na Tabela 13. Para fins de comparação a estatística inferencial apresentadas nas Tabelas 13, 14 e 15 e a seguir nesta seção, foram realizadas tendo como base um comparativo amostral entre todos os grupos de ácidos orgânicos e tempo utilizados, porem apresentadas em seções distintas, de acordo com as discussões apresentadas.

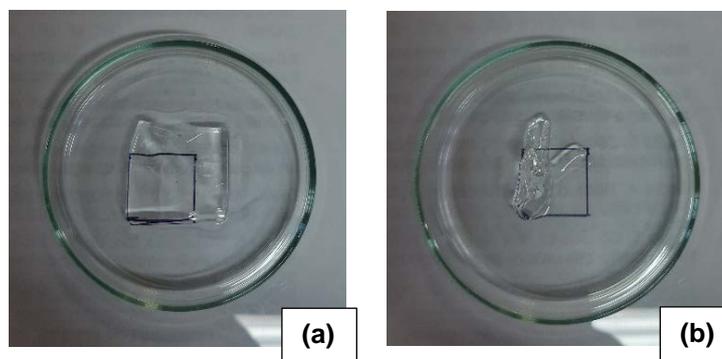
Tabela 13 – Estatística de intumescimento dos hidrogéis com AC

Ácido orgânico	Intumescimento (%)			
	20 min ^{a)}	1 h ^{a)}	2 h ^{a)}	3 h ^{a)}
Ácido cítrico	485,38 ± 152,59 ^B	317,62 ± 128,52 ^{AB}	180,89 ± 102,51 ^A	150,38 ± 118,58 ^A
F ^b	6,64	6,64	6,64	6,64

a) Valores correspondentes ao coeficiente de variação (SD) para cada grupo mediano; diferentes letras em negrito representam as diferenças significativas entre os grupos de acordo com o teste de Tukey–Kremer. b) F = Teste estatístico.

Avaliando o comportamento do intumescimento aplicado ao hidrogel de PVOH-AC, observa-se um intumescimento acelerado até o limite máximo de 680% em 1h de intumescimento, para a reação de 20 min em decorrência da baixa interação química do AC com o PVOH, as demais amostras de -AC1, -AC2 e -AC3 obtiveram maiores tempos de estabilidade durante o ensaio, entretanto com menores taxas relativas de intumescimento e com dissolução gradual. Esse comportamento é também resultado de uma diminuição da estrutura dimensional final do hidrogel e sua dissolução devido à alta interação com a hidrólise promovida com a água e os ácidos, fazendo com que ele perca sua forma e dimensão final dependendo da cinética de reação elaborada e do tempo para reticulação do hidrogel ^{5,26,76,100}. É relatado que o número de grupos residuais carboxílicos livres (-COOH) aumentam com o teor de AC no hidrogel ^{26,27}. Essa teoria apoia-se no conceito de síntese química e estabilidade dos hidrogéis que foi desenvolvida a partir do estudo da literatura ^{1,5,18,77} que foi abordada e apresentada na seção de discussão de FTIR e teve seu método aplicado conceitualmente aos demais ácidos orgânicos deste estudo. Na Figura 35 é mostrada um hidrogel constituído de PVOH-AC durante os ensaios de intumescimento até o limite de 2h.

Figura 35 – Hidrogéis de PVOH-AC após teste de intumescimento em 30 min (a) e 2h (b)

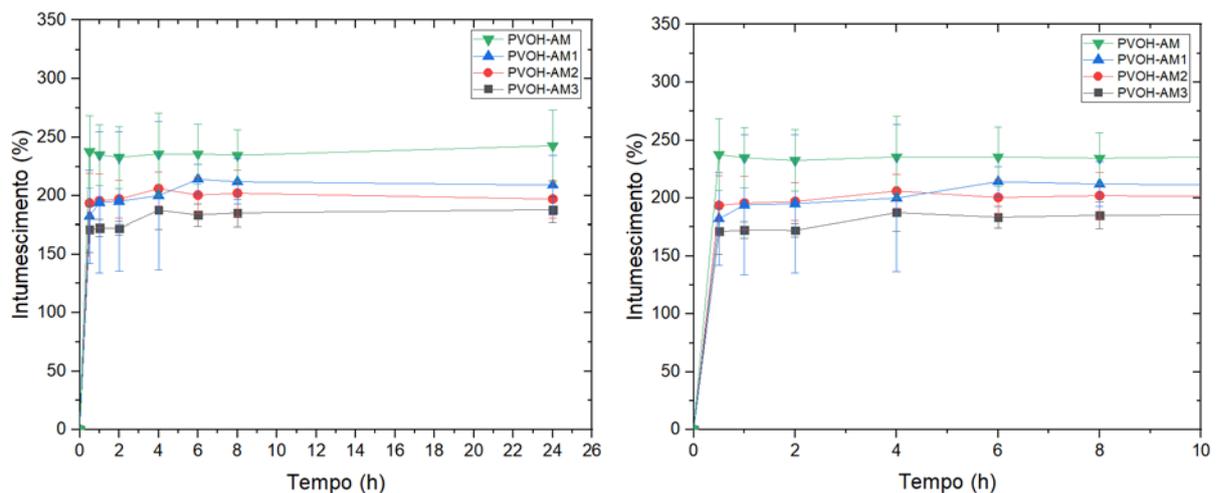


Entretanto, as amostras PVOH-AC1, PVOH-AC2 e PVOH-AC3, tiveram percentuais menores de intumescimento devido ao aumento da reticulação aplicado, mas com maior percentual de reticulação, quando comparado com a amostra PVOH-

AC; já as amostras -AC2 e -AC3 tiveram estabilidade dimensional até 24 hs de ensaio, mas com dissolução gradual no decorrer do tempo devido a hidrólização promovida pela água no hidrogel ¹⁰⁰. Este comportamento se deve ao fato de quanto mais tempo para a reação, maior será o percentual de reticulação nas amostras promovendo um menor intumescimento; porém, com um maior tempo de estabilidade em líquidos respectivamente, a cinética de reticulação com o ácido cítrico não favorece uma estabilidade química a qual fica evidenciada pela hidrólização total do hidrogel. Esse comportamento foi estudado e relatado por diversos pesquisadores ¹.

Na Figura 36 são mostrados o grau de intumescimento e sua ampliação para as amostras constituídas por ácido tartárico (-AM) até 24h.

Figura 36 – Grau de intumescimento dos hidrogéis com AM, em detalhamento até 10h



A análise estatística inferencial foi utilizada para avaliar as diferenças no ensaio de intumescimento, usando como fatores o tempo de reticulação dos hidrogéis de acordo com a Figura 38, e apresentada na Tabela 14.

Tabela 14 – Estatística de intumescimento dos hidrogéis com AM

Ácido orgânico	Intumescimento (%)			
	20 min ^{a)}	1 h ^{a)}	2 h ^{a)}	3 h ^{a)}
Ácido málico	236,15 ± 3,23 ^C	200,97 ± 11,56 ^B	198,91 ± 4,24 ^B	179,98 ± 7,70 ^A
F ^b	69,37	69,37	69,37	69,37

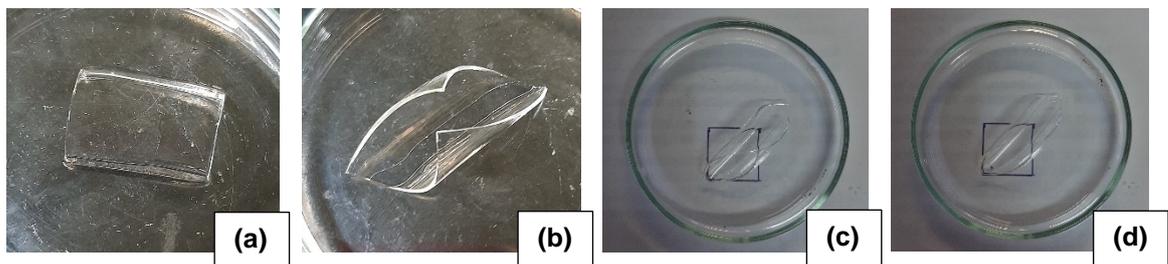
a) Valores correspondentes ao coeficiente de variação (SD) para cada grupo mediano; diferentes letras em negrito representam as diferenças significativas entre os grupos de acordo com o teste de Tukey–Kremer. b) F = Teste estatístico.

Para o intumescimento do PVOH-AM, observou-se uma diminuição do percentual médio de intumescimento das amostras em 200%, em que a amostra PVOH-AM alcançou o valor máximo de intumescimento em 240%. As amostras -AM1, -AM2 e -

AM3 tiveram uma diminuição do intumescimento com o aumento do tempo de reação, onde a amostra -AM3 teve o menor valor de intumescimento 180%, sendo que todas as amostras de hidrogéis tiveram estabilidade dimensional sem desintegrar-se até 24h. Gautam *et al.*¹ descreve que o AM por possuir um grupo hidroxila adicional é mais hidrofílico, criando um forte intertravamento de cadeias poliméricas no PVOH, restringindo sua hidrofilicidade, assim resultando na formação de estrutura mais reticulada tridimensionalmente e estável, resultando em menores valores de intumescimento em comparação com os demais. Esse comportamento é apresentado pela baixa característica ao intumescimento mostrada anteriormente no ácido cítrico e sua cinética de reticulação química por esterificação.

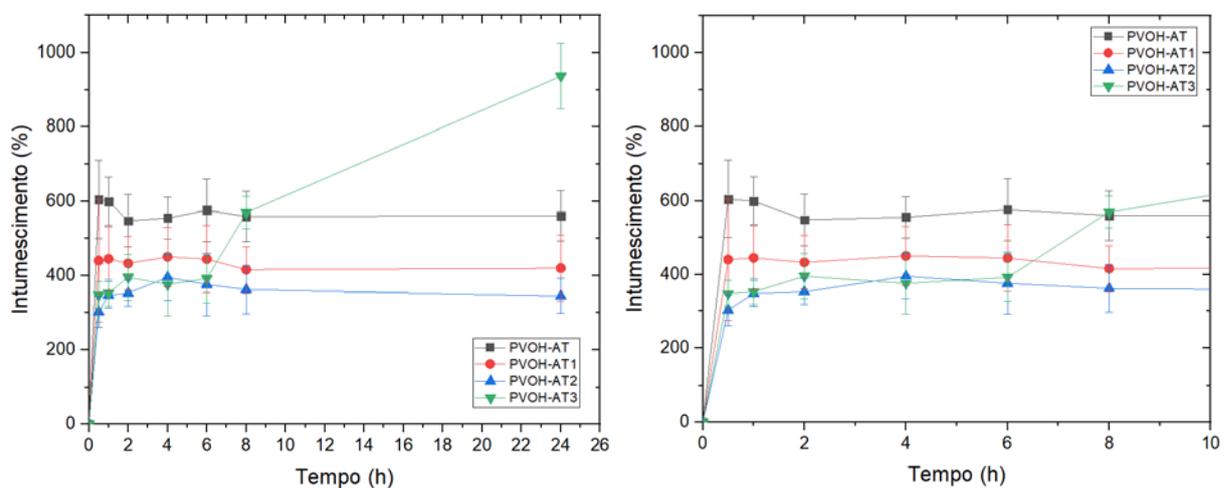
Na Figura 37 é mostrada o comportamento físico dos hidrogéis com AM e suas variações descritas em -AM (A); -AM1 (B); -AM2 (C) e -AM3 (D) durante o ensaio até 24h.

Figura 37 – Hidrogéis de PVOH-AM após teste de intumescimento em 24h; -AM (a); -AM1 (b); -AM2 (c) e -AM3



Na Figura 38 são mostrados o grau de intumescimento e sua ampliação para as amostras constituídas por ácido tartárico (-AT) até 24h.

Figura 38 – Grau de intumescimento dos hidrogéis com AT, em detalhamento até 10h



A análise estatística inferencial foi utilizada para avaliar as diferenças no ensaio de intumescimento, usando como fatores o tempo de reticulação dos hidrogéis de acordo com a Figura 38, e apresentada na Tabela 15.

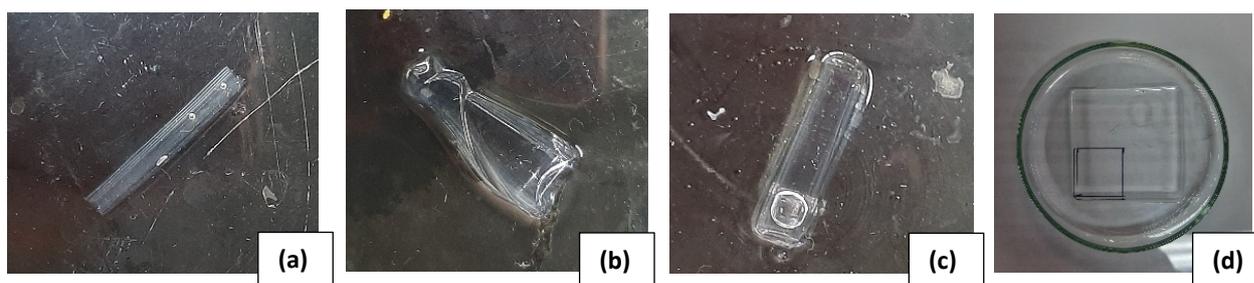
Tabela 15 – Estatística de intumescimento dos hidrogéis com AT

Ácido orgânico	Intumescimento (%)			
	20 min ^{a)}	1 h ^{a)}	2 h ^{a)}	3 h ^{a)}
Ácido tartárico	571,95 ± 22,32 ^B	435,56 ± 13,24 ^{AB}	354,91 ± 28,82 ^A	481,68 ± 214,50 ^{AB}
F ^b	4,85	4,85	4,85	4,85

a) Valores correspondentes ao coeficiente de variação (SD) para cada grupo mediano; diferentes letras em negrito representam as diferenças significativas entre os grupos de acordo com o teste de Tukey–Kremer. b) F = Teste estatístico.

Para o intumescimento do PVOH-AT observa-se um valor médio de 600% para as amostras com reação de 20 min (PVOH-AT); entretanto a amostra de PVOH-AT3 obteve o maior valor dentre todas as amostras analisadas com o intumescimento máximo de 900% proporcionado pelo desenrolamento e lineamento do hidrogel, permitindo uma maior expansão dimensional. Sonker e Verma ⁵ descrevem que o intumescimento médio máximo para o -AT foi de 180% para 30 min e 150% para 2h com a adição de no mínimo 5% de AT, sendo que o intumescimento foi reduzido com o aumento do percentual de AT adicionado ao hidrogel. Esse valor também é apresentado para a reação obtida em 2h (PVOH-AT2) com o valor de 380% em média, levado em consideração a diferença percentual de AT usado para a síntese 1% vs 5%. Além disso, o percentual de intumescimento pode ser controlado tanto pela concentração de AT ou seu tempo de reticulação, bem como a cinética de reticulação pode ser alterada pela reticulação intra- ou intermolecular que está descrita na seção de discussão de FTIR ⁵. Na Figura 39 é mostrada as amostras de hidrogéis com AT e suas variáveis após as 24h de intumescimento.

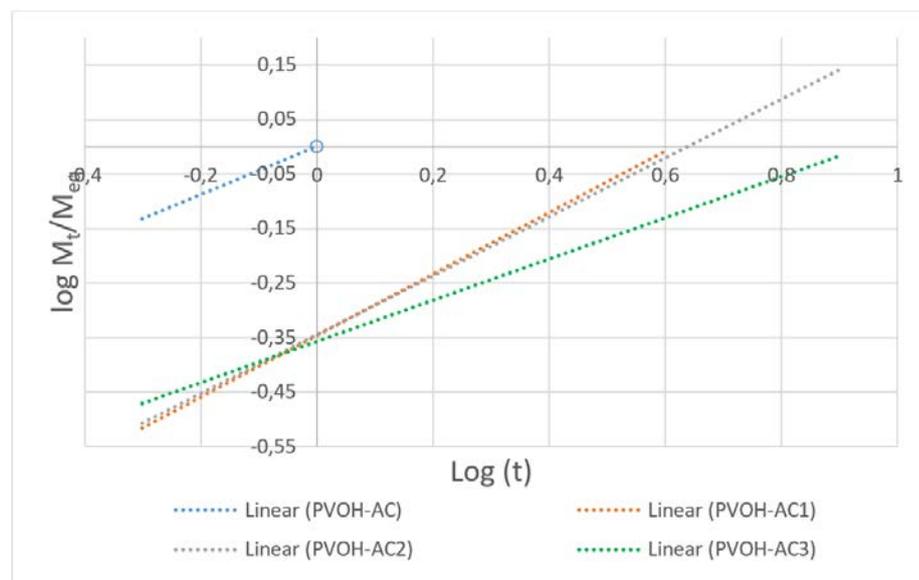
Figura 39 – Hidrogéis de PVOH-AT após teste de intumescimento em 24h; -AT (a); -AT1 (b); -AT2 (c) e -AT3 (d)



5.1.4.1 Cinética de intumescimento e difusão

Na Figuras 40 a 42 são mostrados os gráficos de cinética de intumescimento para os hidrogéis de PVOH com AC, AM e AT e suas variações de tempo de reação. Os gráficos foram plotados tendo a cinética reacional definida por uma linha de tendência linear, a partir da Equação 5 (Seção 4.3.4) em que os valores de n e k foram atribuídos para a cinética de intumescimento e o coeficiente de difusão do solvente respectivamente. O erro do modelo aplicado foi atribuído ao R^2 .

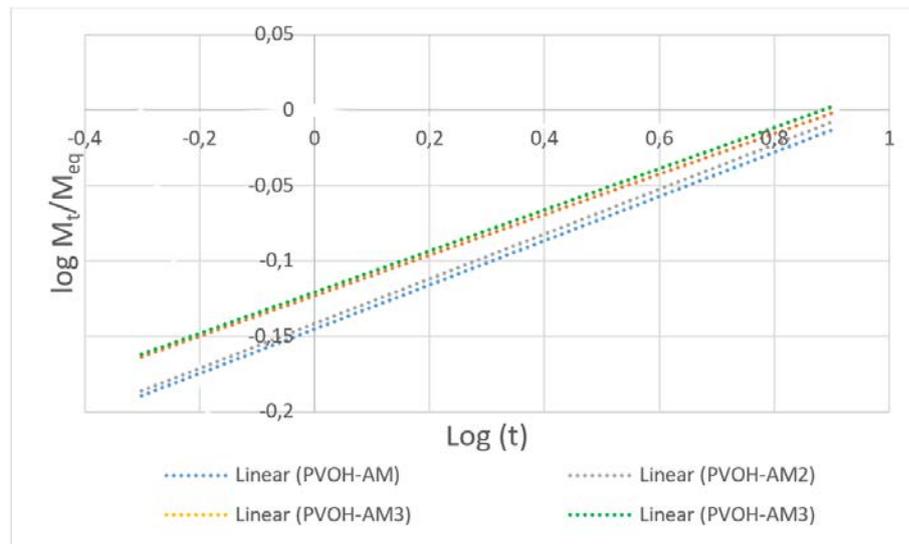
Figura 40 – Cinética de intumescimento para hidrogéis com AC



Observa-se a partir do gráfico, que o PVOH-AC teve menor tempo para a reação em comparação com as demais devido sua cinética reacional ($n = 0,4399$). Tal fato é demonstrado por um maior intumescimento inicial obtido por este e apresentado anteriormente na seção de intumescimento. Já as amostras de hidrogéis com -AC1 ($n = 0,5637$) e -AC2 ($n = 0,5396$) obtiveram cinéticas reacionais semelhantes e percentuais de intumescimento próximos, além de terem sofrido desintegração de massa em mesma escala de tempo. A amostra -AC3 obteve uma cinética mais estável e consequentemente apresentou uma estabilidade dimensional no ensaio de intumescimento, mas com perda de massa gradual. Pode ser visto que a razão de inchamento de um hidrogel é afetada tanto pela concentração de AC quanto pelo pH final da solução no meio de intumescimento, através da conversão de moléculas carboxílicas (-COOH) em ácidos protonados que podem resultar em redução do inchamento ^{24,27,100}.

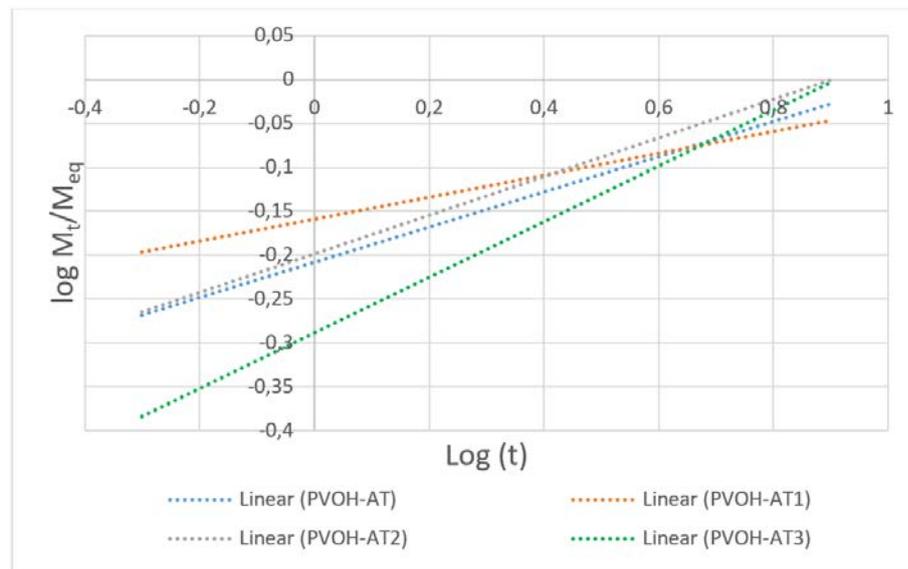
Na Figura 41 observa-se que as amostras de hidrogéis com AM tiveram cinética reacionais semelhantes o que acarretou em uma estabilidade dimensional e química, entretanto com menores valores de intumescimento ($n = 0,1344$ a $n = 0,1465$). Esse comportamento é apresentado anteriormente no ensaio de intumescimento. Também é descrito na literatura que o pH da solução também influencia no intumescimento das amostras e conseqüentemente em sua cinética de intumescimento ^{7,24}.

Figura 41 – Cinética de intumescimento para hidrogéis com AM



As amostras de hidrogéis com AT tiveram os segundos maiores valores de cinética de intumescimento ($n = 0,2198 - 0,3170$) e a amostra -AT3 ($n = 0,3170$) que obteve este maior percentual devido ao final da cinética de reação da amostra, mostrada pelo ensaio de intumescimento e sua estabilidade dimensional até 8h do ensaio. O comportamento de sua cinética de intumescimento ocorreu devido ao intumescimento ser dependente do pH (3,5) obtido experimentalmente dos hidrogéis reticulados via catalise química (HCl) e o presença de grupo -COOH livre não reagido dos agentes reticulantes (AT). Esse comportamento também foi estudado e observado por Kanmaz *et al.* ²⁴.

Figura 42 – Cinética de intumescimento para hidrogéis com AT



Na Tabela 16 são apresentados os valores das constantes cinéticas de intumescimento de n e k para os hidrogéis, obtidos dos gráficos de $\log\left(\frac{M_t}{M_{eq}}\right)$ vs $\log(t)$ e foram calculados a partir da inclinação e interceptação das linhas dos gráficos anteriores, sendo que um valor de n como 0,5 é uma descrição de transferência de massa Fickiana, e entre 0,5 e 0,89 mostra um mecanismo de transporte não-Fickiano^{24,105}. A avaliação de dados para cálculo de cinética de intumescimento fora atribuída no intervalo de tempo de 0,5 min até 8h do ensaio.

Tabela 16 – Valores de n e k para os hidrogéis durante o intumescimento

Hidrogel	n	k	Erro do modelo (%)
PVOH-AC	0,4399	1	1
PVOH-AC1	0,5637	0,4501	0,3184
PVOH-AC2	0,5396	0,4525	0,5893
PVOH-AC3	0,3768	0,4402	0,1861
PVOH-AM	0,1465	0,7160	0,1463
PVOH-AM1	0,1344	0,7537	0,0985
PVOH-AM2	0,1485	0,7219	0,1186
PVOH-AM3	0,1364	0,7575	0,1001
PVOH-AT	0,2004	0,6194	0,0733
PVOH-AT1	0,1248	0,6934	0,0340
PVOH-AT2	0,2198	0,6329	0,1572
PVOH-AT3	0,3170	0,5146	0,1360

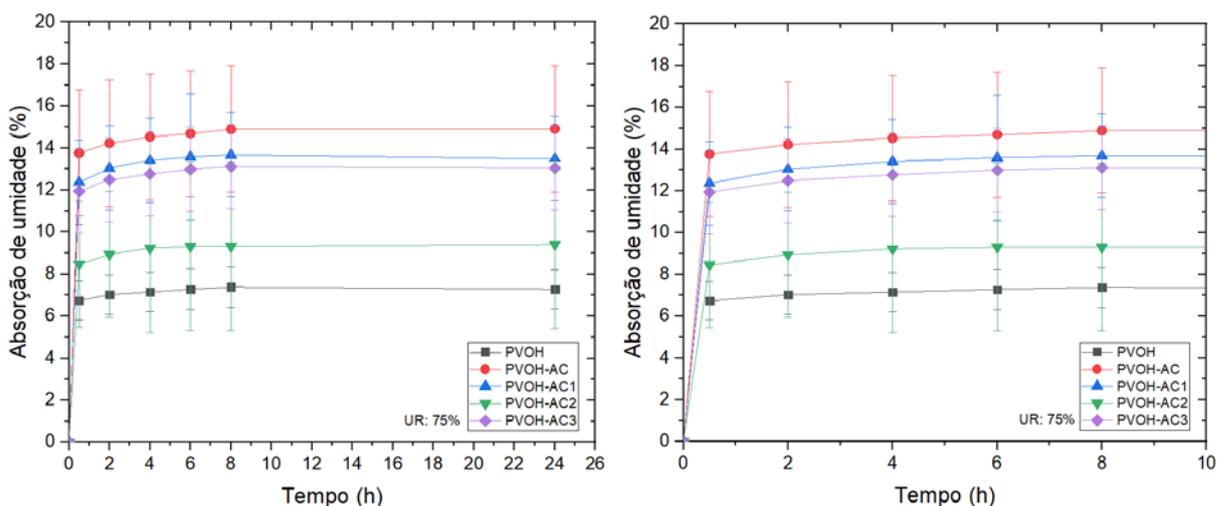
Os valores de n foram abaixo de 0,5 para todos os hidrogéis o que está atribuído a uma maior cinética de intumescimento de solvente para os hidrogéis estudados, sendo que as amostras de PVOH-AC (0,4399); PVOH-AM2 (0,1485) e PVOH-AT3 (0,3170) obtiveram os maiores valores em seus respectivos grupos. Isso está atribuído a maior cinética reacional para intumescimento dessas amostras e converge parcialmente com os dados de intumescimento apresentados anteriormente. Kanmaz *et al.*²⁴ descreve que os hidrogéis podem ter mobilidade suficiente para permitir a difusão de solventes e este modelo pode ser expresso como transferência de massa Fickiana. A amostra de hidrogel de PVOH-AC por ter tido a maior cinética de intumescimento apresentou o maior intumescimento percentual, as demais amostras constituídas por PVOH-AM2 e PVOH-AT3 devido a reticulação química e tiveram estabilidade dimensional e não atingiram platôs difusionais superiores ao PVOH-AC.

5.1.5 Absorção de umidade

Nas Figuras 43 a 45 são mostradas as curvas de absorção e adsorção de umidade em função do tempo de exposição em um ambiente a 75% UR por cloreto de sódio (NaCl). A absorção de umidade foi mais rápida durante as primeiras 8h de ensaio e estabilizou-se no decorrer do tempo, até atingir um platô após cerca de 24h, indicando que o equilíbrio de absorção foi atingido. O tempo para atingir esse equilíbrio foi similar para todos os grupos analisados.

Na Figura 43 é mostrada as curvas de absorção e adsorção de umidade dos hidrogéis para o ácido cítrico (-AC) até 24h de ensaio (a) com ampliação até as 8h de ensaio (b).

Figura 43 – Absorção de umidade de hidrogéis com AC, em detalhamento até 10h



A análise estatística inferencial foi utilizada para avaliar as diferenças no ensaio de absorção de umidade, usando como fatores o filme de PVOH e o tempo de reticulação dos hidrogéis de acordo com a Figura 43, e apresentada na Tabela 17. Para fins de comparação a estatística inferencial apresentadas nas Tabelas 17, 18 e 19 nesta seção, foram realizadas tendo como base um comparativo amostral entre todos os grupos de ácidos orgânicos e tempo utilizados, porém apresentadas em seções distintas, de acordo com as discussões apresentadas.

Tabela 17 – Estatística de absorção de umidade dos hidrogéis com AC

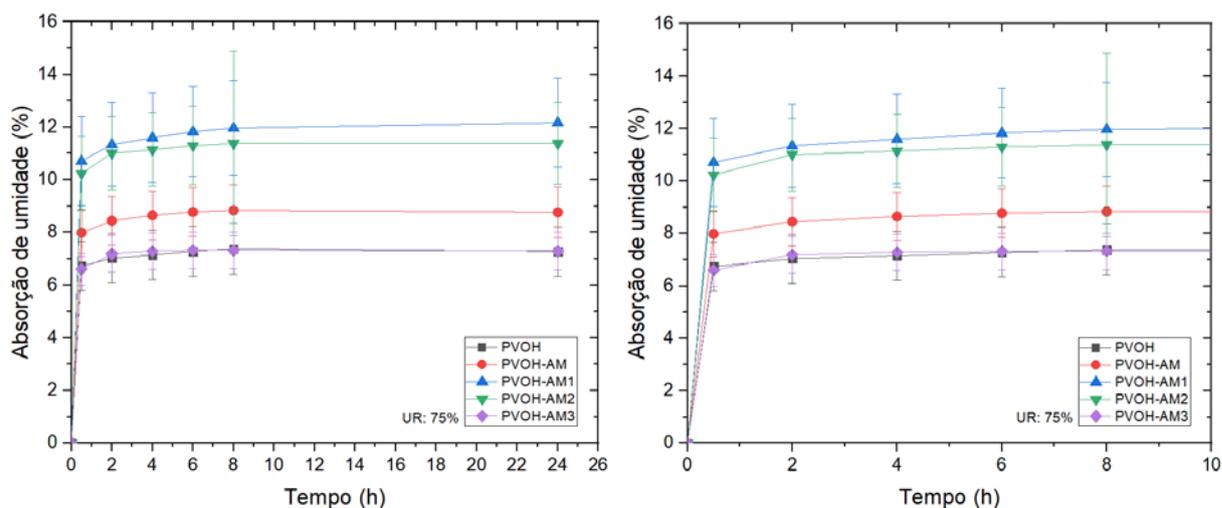
Ácido orgânico	Absorção de umidade (%)			
	20 min ^{a)}	1h ^{a)}	2h ^{a)}	3h ^{a)}
Ácido cítrico	14,50 ± 0,44 ^A	13,26 ± 0,49 ^B	9,11 ± 0,35 ^C	12,72 ± 0,44 ^B
F ^b	351,17	351,17	351,17	351,17
Filme de PVOH	7,14 ± 0,23 ^D e 351,17			

a) Valores correspondentes ao coeficiente de variação (SD) para cada grupo mediano; diferentes letras em negrito representam as diferenças significativas entre os grupos de acordo com o teste de Tukey–Kremer. b) F = Teste estatístico.

As amostras de hidrogéis com ácido cítrico (-AC) obtiveram o valor máximo de umidade para a reação de 20 min (PVOH-AC) com o valor médio de 14,50%; sendo que a amostra PVOH-AC3 obteve boas taxas de absorção de umidade com 13% em média. A absorção de umidade está diretamente ligada a química reacional do ácido cítrico que por ter baixa interação química e apresentar hidroxilas livres (-OH) e disponíveis transmite um caráter mais hidrofílico a amostra proporcionando maiores percentuais de absorção/adsorção por meio das ligações de hidrogênio ²⁷. Observa-se que a amostra de PVOH obteve o menor percentual de absorção de umidade com 7% caracterizado por sua característica hidrofílica e estrutura química que após a adsorção inicial, impede maiores absorções de umidade em comparação com as amostras incorporadas de ácido cítrico por apresentar grupos hidroxilas livres (-COOH) em sua superfície em um estudo abordado por Uyanga e Daoud ¹³. Esta observação está de acordo com os resultados de outra técnica já discutida (Intumescimento).

Na Figura 44 é mostrada as curvas de absorção e adsorção de umidade dos hidrogéis com ácido málico (-AM) até 24h de ensaio (a) com ampliação até as 8h de ensaio (b).

Figura 44 – Absorção de umidade de hidrogéis com AM, em detalhamento até 10h



A análise estatística inferencial foi utilizada para avaliar as diferenças no ensaio de absorção de umidade, usando como fatores o filme de PVOH e o tempo de reticulação dos hidrogéis de acordo com a Figura 46, e apresentada na Tabela 18.

Tabela 18 – Estatística de absorção de umidade dos hidrogéis com AM

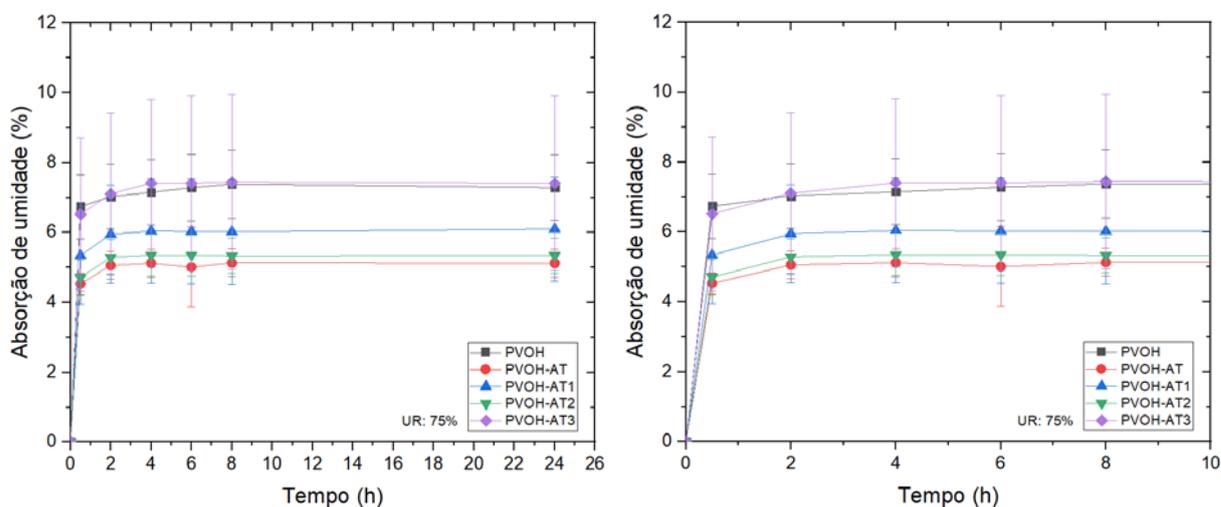
Ácido orgânico	Absorção de umidade (%)			
	20 min ^{a)}	1h ^{a)}	2h ^{a)}	3h ^{a)}
Ácido málico				
	8,58 ± 0,32 ^B	11,60 ± 0,52 ^A	11,07 ± 0,43 ^A	7,17 ± 0,28 ^C
F ^b	192,91	192,91	192,91	192,91
Filme de PVOH		7,14 ± 0,23 ^C	e	192,91

a) Valores correspondentes ao coeficiente de variação (SD) para cada grupo mediano; diferentes letras em negrito representam as diferenças significativas entre os grupos de acordo com o teste de Tukey–Kremer. b) F = Teste estatístico.

As amostras constituídas por ácido málico (-AM) obtiveram o valor máximo de umidade para a reação de 1h (PVOH-AM1) com o valor médio de 12%; sendo que a amostra PVOH-AM2 obteve boas taxas de intumescimento com 11,50% em média. O número de grupos hidroxila adicionais presentes no ácido málico e sua geometria molecular cria um forte intertravamento de cadeias poliméricas e restringindo sua hidrofiliidade resultando na formação de estrutura tridimensional ¹. A amostra PVOH-AM3 obter o menor valor para absorção de umidade em 7,20%, ficando abaixo da amostra PVOH-AM2 com 8,30%. Essa diferença observada entre o -AM3 e -AM2 fica caracterizada por uma cinética de intumescimento maior para o -AM2 em relação ao AM3 e explicada anteriormente na seção de cinética de intumescimento.

Na Figura 45 é mostrada as curvas de absorção e adsorção de umidade dos hidrogéis com o ácido tartárico (-AT) até 24h de ensaio (a) com ampliação até as 8h de ensaio (b).

Figura 45 – Absorção de umidade de hidrogéis com AT, em detalhamento até 10h



A análise estatística inferencial foi utilizada para avaliar as diferenças no ensaio de absorção de umidade, usando como fatores o filme de PVOH e o tempo de reticulação dos hidrogéis de acordo com a Figura 45, e apresentada na Tabela 19.

Tabela 19 – Estatística de absorção de umidade dos hidrogéis com AT

Ácido orgânico	Absorção de umidade (%)			
	20 min ^{a)}	1 h ^{a)}	2 h ^{a)}	3 h ^{a)}
Ácido tartárico				
	5,00 ± 0,23 ^A	5,91 ± 0,28 ^B	5,23 ± 0,25 ^A	7,22 ± 0,36 ^C
F ^b	84,60	84,60	84,60	84,60
Filme de PVOH		7,14 ± 0,23 ^C	e	84,60

a) Valores correspondentes ao coeficiente de variação (SD) para cada grupo mediano; diferentes letras em negrito representam as diferenças significativas entre os grupos de acordo com o teste de Tukey–Kremer. b) F = Teste estatístico.

Para os hidrogéis de PVOH-AT, os dados apresentam os menores valores em relação as amostras analisadas -AC e -AM tendo o platô próximo de 7,50%, observado e abordado em outros estudos recentes envolvendo hidrogéis e ácidos carboxílicos, em que quanto maior a densidade reticulada do hidrogel, menor a absorção de água e o grau de intumescimento final do hidrogel em sua superfície ¹³.

Para uma melhor compreensão da cinética de absorção dos hidrogéis PVOH-AC, PVOH-AM; PVOH-AT e suas variações, os resultados obtidos através do experimento de umidade foram analisados utilizando um modelo matemático de cinética de absorção de umidade, muito utilizado em alimentos e aplicável aos hidrogéis, o modelo de Peleg

^{85,106}. As constantes de Peleg (k_1 e k_2) para os hidrogéis analisados são apresentados na Tabela 20. O símbolo k_1 representa a transferência de massa (água). Assim, quanto menor o valor de k_1 maior a taxa de absorção inicial do hidrogel. O valor de k_2 representa a capacidade máxima de absorção. Em que, quanto maior o valor de k_2 , menor será a capacidade de absorção do hidrogel.

Pode-se observar que os hidrogéis PVOH-AC, PVOH-AM, PVOH-AT e suas variações apresentaram maiores constantes k_1 e k_2 em relação a amostra de PVOH (puro), indicando que os hidrogéis apresentaram menor absorção inicial e menor capacidade de absorção total, o que é apresentado nos ensaios de intumescimento e umidade. Observa-se que os valores das constantes aumentaram do PVOH para o PVOH-AC e PVOH-AC3 (onde k_1 e k_2 atingiram seu valor máximo para -AC) e diminuíram novamente nas amostras de PVOH-AM e seguiu-se menores para o grupo de PVOH-AT, que devido o valor de k_2 elevado para os hidrogéis de -AC, eles sofrem por hidrólise de umidade e conseqüentemente de intumescimento e desintegraram-se, fenômeno observado pelos ensaios de umidade e intumescimento. Sabzi *et al.* ²⁷ descreve que esse fenômeno se deve devido as hidroxilas livres do ácido cítrico, que proporcionam absorções de umidade elevadas. Uyanga e Daoud ¹³ e Gautam *et al.* ¹, afirmam que quanto uma maior taxa de reticulação no hidrogel menor será o percentual de umidade absorvida. Também se nota que todas as amostras tiveram os valores de k_1 e k_2 superiores aos do PVOH o que indica a mudança do comportamento de absorção com a inclusão dos ácidos orgânicos e que a taxa de absorção média inicial é maior que a do PVOH. El Sayed *et al.* ¹⁰⁶, descreve que a afinidade dos hidrogéis pelo intumescimento/absorção de água é máxima quando o processo de intumescimento começou, a afinidade diminui à medida que o hidrogel fica saturado.

As amostras da família de PVOH-AT exibiram um comportamento semelhante ao encontrado nos hidrogéis do grupo de PVOH-AM. A amostra PVOH-AT3 obteve a maior constante k_2 , o que mostra que este hidrogel possui menor capacidade de absorção de umidade do que as outras amostras avaliadas, mas com uma maior velocidade de absorção quando comparável com a amostra de PVOH nos tempos iniciais.

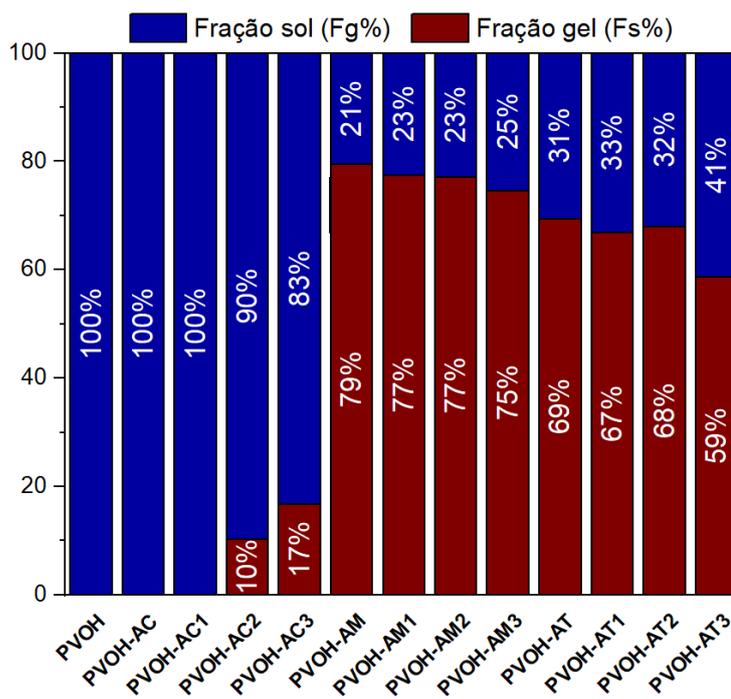
Tabela 20 – Constantes de Peleg k_1 e k_2 dos hidrogéis analisados

Hidrogel	k_1	k_2
PVOH	0,193	6,643
PVOH-AC	0,307	13,607
PVOH-AC1	0,447	12,147
PVOH-AC2	0,320	8,300
PVOH-AC3	0,367	11,757
PVOH-AM	0,307	7,837
PVOH-AM1	0,420	10,500
PVOH-AM2	0,513	9,983
PVOH-AM3	0,393	6,403
PVOH-AT	0,353	4,353
PVOH-AT1	0,407	5,137
PVOH-AT2	0,387	4,517
PVOH-AT3	0,393	6,323

5.1.6 Fração Sol-Gel

Na Figura 46 são mostrados os valores de fração sol-gel para todas as amostras a fim de se comparar e estudar o comportamento da solubilidade dos hidrogéis após 24h de ensaio.

Figura 46 – Fração sol-gel das amostras



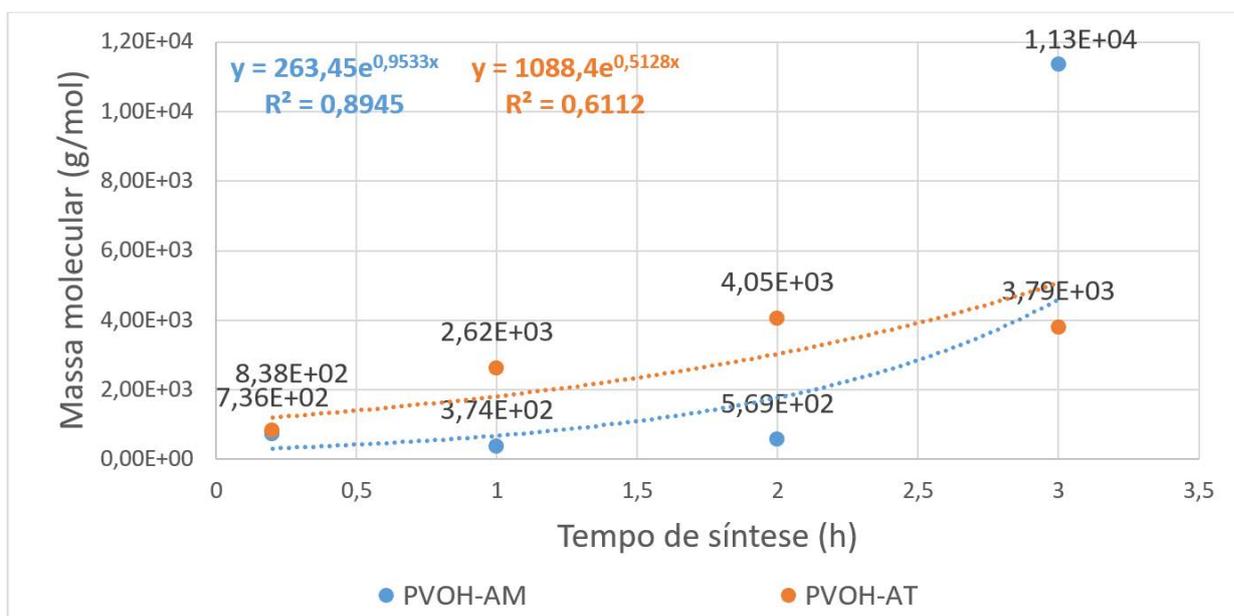
Para a interpretação das análises definiu-se o PVOH como padrão amostral devido ser totalmente solúvel (fração sol) para todas as amostras incorporadas com ácidos orgânicos. Os resultados mostram que as reações -AM e -AT, obtiveram os maiores percentuais de fração gel nos hidrogéis, respectivamente com 79% e 69%, em que o -AM apresentou o maior percentual de reticulação obtido. Observa-se também que a cinética de reação química para os ácidos málico e tartárico (-AM e -AT) são maiores para menores tempos reacionais e vão diminuindo o percentual de reticulação dos hidrogéis no decorrer da separação das alíquotas da solução principal (20 min, 1, 2 e 3h) o que fica evidenciado pelos percentuais finais decrescentes de reticulação química ao longo do tempo de reação. Esse tempo de reação é demonstrado pela cinética de intumescimento das amostras apresentada e discutida na seção 5.1.4.1. Entretanto as amostras constituídas pelo -AC3 tiveram o maior índice de fração sol (83%), atribuídas a baixa cinética de reticulação química do AC, que se hidrolisa facilmente ocasionando sua desintegração. É também descrito na literatura ¹ que a estabilidade dimensional do AM favorece estruturas dimensionalmente rígidas e estáveis intertravadas que são condicionadas ao seu grau de reticulação elevado. Pei *et al.* ³ e Yang *et al.* ⁴, descrevem em seus resultados de sol-gel que a interação de ligações de hidrogênio pode melhorar a densidade de reticulação da rede de hidrogel para formar uma estrutura de rede densa, porém com menor intumescimento, mostrado pela incorporação de ácido orgânico (tânico) em seus hidrogéis.

5.1.6.1 Densidade de reticulação química

A Figura 47 mostra a relação da densidade de reticulação média (GX) obtida dos hidrogéis analisados utilizando o modelo de Flory-Rehner ¹⁰⁷. Para fins de análise foram atribuídos os valores para os respectivos platôs de grau de intumescimento que foram determinados previamente em 1h para os hidrogéis de PVOH-AM e 2h para o PVOH-AT. Nos hidrogéis constituídos de -AC não foi possível realizar o GX devido à baixa estabilidade dimensional química e física dos hidrogéis, o que impossibilitou seu ensaio, conforme apresentado anteriormente. Além disso, o modelo de Flory-Rehner foi aplicado a cada tempo (20 min, 1, 2 e 3h) para mostrar as alterações a cada síntese estudada e mostrar a influência no decréscimo da massa molecular de reticulação (GX) ao longo do tempo e estimar matematicamente a equação da reação de esterificação do experimento. Os resultados obtidos para os hidrogéis de PVOH-AM e PVOH-AT, mostram que as reações com menor tempo, geraram hidrogéis mais esterificados

quimicamente com GX médio de $7,36 \times 10^2$; $3,74 \times 10^2$; $5,69 \times 10^2$ e $1,13 \times 10^4$ g.mol⁻¹ para -AM e $8,38 \times 10^2$; $2,62 \times 10^2$; $4,05 \times 10^2$ e $3,79 \times 10^3$ g/mol para os hidrogéis de PVOH-AT, respectivamente. Por meio da teoria de Flory-Rehner, as amostras compostas de ácido málico obtiveram os maiores índices médios de reticulação, tendo o valor máximo de reticulação (g/mol) para o tempo de 20 min de reação. Assim, a diminuição da massa molar entre a estrutura química do PVOH e, conseqüentemente, um aumento na densidade média entre os ácidos usados (maior para o ácido málico em comparação com o ácido tartárico) formou hidrogéis mais esterificados com maior GX em um tempo de síntese mais curto ¹. O aumento da reatividade química induzida pelo ácido málico em relação ao ácido tartárico é evidenciado a partir dos tempos iniciais da reação química até as 3h de reação com a diminuição do GX de todos os hidrogéis ao longo do tempo de reação, devido ao consumo de reagentes (ácidos orgânicos) desde o início da reação.

Figura 47 – Relação de densidade de reticulação dos hidrogéis de AM e AT



5.1.7 Liberação controlada

Nas Figuras 48 e 49 são mostradas as faixas de cinética de migração média para os hidrogéis de PVOH com AM, AT e suas variações de tempo de reação de síntese.

Figura 48 – Liberação controlada de corante para hidrogéis de AM

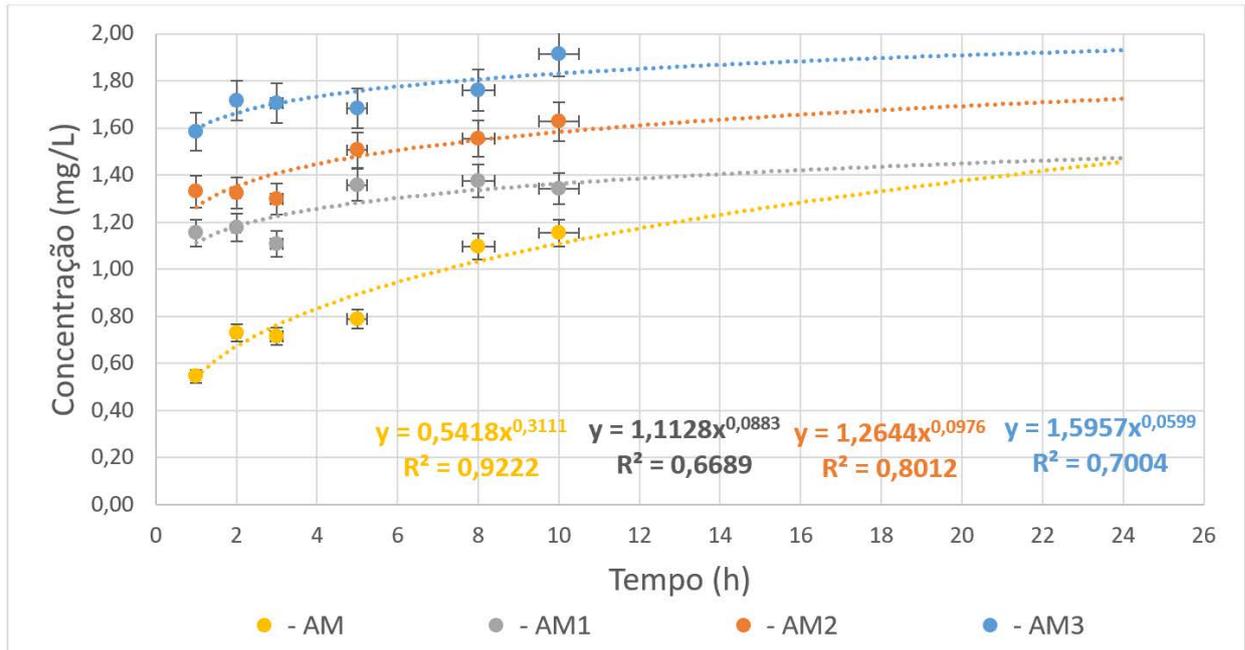
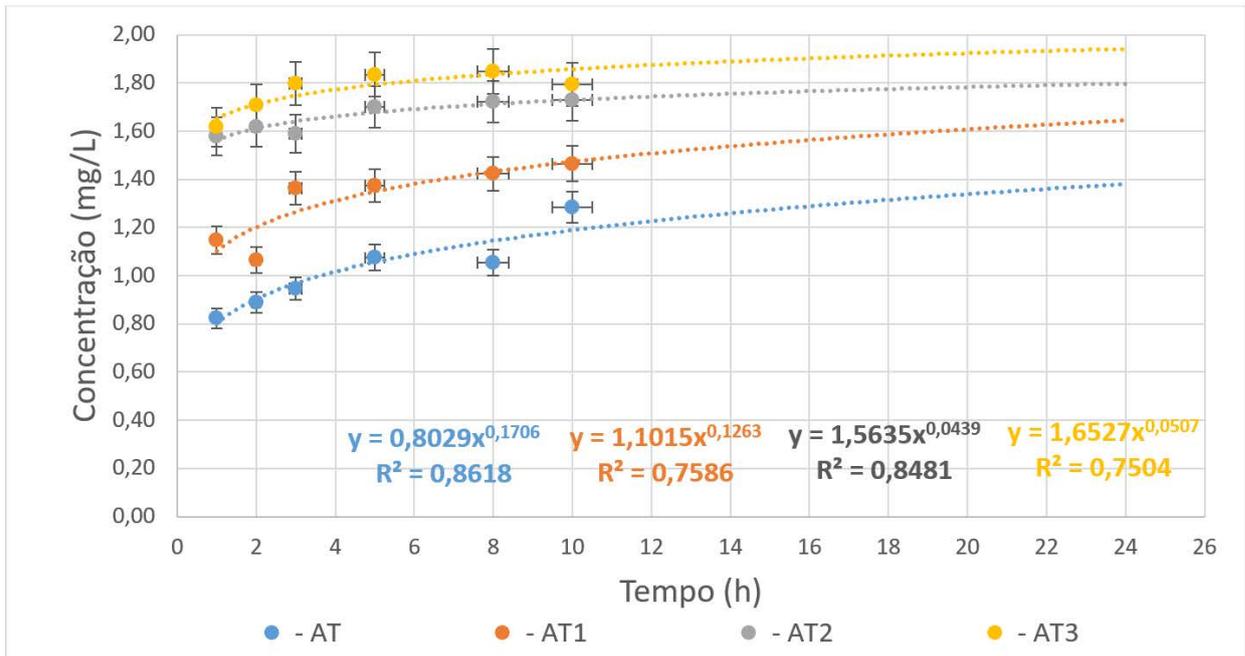


Figura 49 – Liberação controlada de corante para hidrogéis de AT

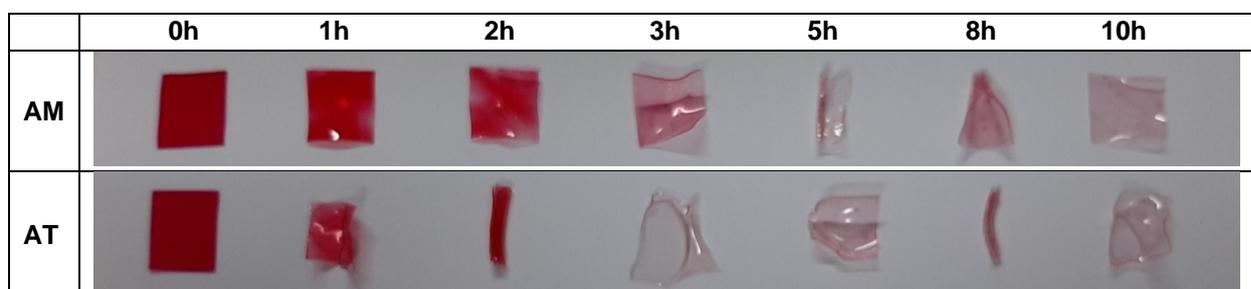


Os resultados mostram que a migração do corante vermelho de metila utilizado, aumentou com o tempo de síntese, sendo que com tempos menores obteve-se uma maior reticulação química para os hidrogéis constituídos de ácido málico (-AM) e conseqüentemente, uma menor liberação no decorrer do tempo. O processo de liberação ocorreu de forma exponencial e foi baseado nos fatores calculados aproximadamente e descritos nas figuras acima. As amostras -AM e -AT obtiveram

melhores resultados de liberação (20 min/1h de reação) quando comparadas aos demais tempos empregados, sendo que a amostra PVOH-AM teve uma liberação mais lenta quando comparada ao ácido tartárico, devido à interação química promovida pela funcionalização específica a partir de hidroxilas (-OH) ^{1,5}. Para as amostras com AM e AT, a concentração (mg/L) em 3h teve valores aproximados devido a uma liberação mais rápida do corante por causa de um menor grau de reticulação promovido no final da reação de 3h.

Na Figura 50 é mostrado os estágios de migração do corante em função do tempo de liberação dos hidrogéis com AM e AT em tempo de reação de 20 min para comparação óptica.

Figura 50 – Estágios de migração de corante em hidrogéis com AM e AT



Em um estudo mais recente, pesquisadores investigaram a migração de corantes em hidrogéis usando modelos e teorias de migração ^{87,105,108}. Os resultados obtidos indicaram que a migração do corante foi influenciada pela concentração, temperatura, tamanho molecular do corante e suporte da matriz polimérica e rugosidade superficial; tal comportamento deste modelo de difusão do corante para o meio aquoso também foi estudado ^{108,109}. Além disso, foi observado que a migração do corante aumentou com o aumento da temperatura da solução, e diminuição da massa molar reticulada do PVOH, em relação aos seus tempos de síntese o que é observado ao correlacionar os valores médios para as amostras de PVOH-AM e PVOH-AT com liberação inicial de corante (~1,60 mg/L) em 3h de reação, o que ocasionou a seleção dos tempos no intervalo de 20 min e 2h de reação para a incorporação e estudo com os OE a seguir.

Fujimoto *et al.* ¹⁰⁹ estudou filmes de PVOH incorporados com corantes catiônicos/aniônicos (azul de metileno e vermelho Nilo) insolúveis em água e analisadas em relação a suas moléculas carregadas eletricamente. Com base nos resultados do potencial zeta (ζ), as superfícies dos filmes foram carregadas negativa e positivamente, respectivamente, sendo o azul de metileno (molécula catiônica) devido à carga negativa

da superfície, ficou transparente (estado original) após imersão em água por 2 dias e o composto por vermelho Nilo (molécula aniônica) inalterado; sendo que as propriedades mecânicas de ambos se mantiveram estáveis mesmo em estado intumescido.

Vyroubal e Klučáková¹⁰⁸ estudaram hidrogéis de PVOH desenvolvidos utilizando SDS como surfactante e corante vermelho Nilo, e que devido às várias curvaturas dos poros, a difusão é fortemente influenciada não apenas pela porosidade superficial, mas também pela composição química. Os resultados obtidos mostram que hidrogéis SDS com corante em concentrações de 100 a 400mM, contém muito menos SDS livre sua estrutura química, sendo menos reticulada e, portanto, a difusão no hidrogel é menos difícil favorecendo a difusão do corante para a solução. Em estudos posteriores, Klučáková *et al.*⁸⁷ observou que a maior parte do SDS pode ser consumida na síntese de reticulação do hidrogel e o excesso de surfactante pode resultar na formação de micelas com o corante. Essas observações descritas e observadas com o corante, foram estudadas posteriormente na liberação controlada com OE na seção [5.2.4](#).

5.1.8 Conclusões parciais

Na **Etapa I** foi estudado o efeito dos ácidos orgânicos: AC, AM e AT em hidrogéis baseados em PVOH, obtendo sucesso na reação de esterificação proposta inicialmente somente para o AM e AT. Os hidrogéis constituídos de -AC apresentaram os maiores percentuais de intumescimento, mas com menores tempos de intumescimento devido à instabilidade dimensional (efeito estérico) e sua fraca interação química promovida entre o AC e o PVOH, também observadas pelas análises de sol-gel, tendo os menores índices calculados para as amostras com 2 e 3h de reação. As amostras -AM e -AT obtiveram resultados ao intumescimento em valores médios máximos de 240 e 572%, respectivamente, que promoveram boas propriedades a absorção de umidade, sol-gel e FTIR, sendo que as amostras de PVOH-AM tiveram maior estabilidade dimensional em todos tempos de síntese química. Para as amostras de hidrogéis -AC, -AM e -AT o comportamento para a absorção de umidade, apresenta valores próximos de k_1 para todas e todos superiores ao PVOH, o que mostra a interação dos ácidos orgânicos com a água absorvida e adsorvida, sendo que o k_2 foi maior para as amostras constituídas com ácido cítrico, resultantes das ligações químicas presentes de grupos funcionais hidroxilas dos ácidos orgânicos. Nas análises térmicas as amostras tiveram comportamento à degradação semelhantes em todas, onde os hidrogéis de -AC

mostrou-se susceptível devido ao percentual de água adsorvida/adsorvida que promoveu uma diminuição inicial da temperatura inicial de degradação ($T_{10\%}$) demonstrada em todas as amostras. As análises das curvas de DTG, mostram estágios de degradação característicos e definidos, em que os hidrogéis de PVOH-AM seguidos do PVOH-AT e PVOH-AC apresentaram os melhores resultados de resistência à degradação. Com base nos resultados obtidos, foram selecionados o AM e AT em seus tempos de reação de 20 min e 2h, para desenvolvimento e incorporação dos OE, descritos na **Etapa II**.

5.2 ETAPA II – Estudo da incorporação de óleos essenciais em hidrogéis

Nesta etapa, é estudado os efeitos da incorporação dos OE e suas interações com o hidrogel de PVOH. Inicialmente é apresentado as propriedades dos OE avaliados por GC-MS para quantificação de seus compostos químicos, após a incorporação nos hidrogéis (PVOH/OE), estuda-se suas propriedades físico-químicas e morfológicas; avalia-se as propriedades térmicas e de cristalinidade, e como essas propriedades são alteradas com a incorporação dos OE estudados e como isto interfere nas propriedades de liberação controlada dos OE.

5.2.1 Análise química dos óleos essenciais

Os compostos químicos do OEC, OEL e OEB, foram analisados por GC-MS e estão listados em detalhes na Tabela 21. Os compostos ativos do OEC são constituídos de monoterpenos, denominados, eugenol (81,74%), cariofileno (13,56%) e isovalerato de linalol (3,31%), e continham outros substituintes, como Cadina-1,4-dieno, (E, E)- α -farneseno e limoneno, que foram estudados e quantificados ¹¹⁰.

Alexa *et al.* ¹¹¹ estudaram o OEC, OEL, e a composição foi relatada anteriormente em conjunto com o óleo de bergamota (OEBg). O OEC contém eugenol como o principal componente (80,11% vs. 81,74% obtidos) e acetato de eugenol (13,54%); o *D*-limoneno representa 97,93% da composição do OEL vs. 93,06% obtidos. Outros componentes menores são β -mirceno (1,52%, em OEBg vs. 1,98% obtido), α -pineno (32,63%, em OEBg), *o*-cimeno (3,82%, em OEBg vs. 0,05% em OEL), 4-careno (6,35%, em OEBg), β -linalol (3,02%, em OEBg vs. 0,76% em OEL). Outros estudos relataram o *D*-limoneno e o eugenol como o principal componente e o principal composto do OEL ^{62,111-113}; o limoneno (C₁₀H₁₆) é uma olefina monoterpênica com propriedades de aroma cítrico que tem sido aplicada como agente antimicrobiano ^{58,62,114}; sendo este o principal constituinte, conforme descrito na literatura sobre óleos cítricos ^{61,112,114}, e contém duas ligações duplas conjugadas devido ao efeito estérico na estrutura ¹¹⁵.

Os compostos ativos do OEB são constituídos por componentes voláteis nos quais os aldeídos representaram 47,00%, os ácidos representaram 0,16% e os álcoois representaram 33,84%. As principais substâncias no OEB foram 2-Propanol, 1,1'-oxibis- (14,41%), vanilina (20,23%) e etil vanilina (12,05%), de acordo com o tempo de retenção (RT, 22,9 min; RT, 41,48 min; e RT, 43,89 min). Neste estudo, a vanilina (20,23%) foi o principal componente da baunilha, que foi um pouco menor do que o resultado

encontrado na literatura, extraído por um fluido supercrítico com um rendimento final mais alto ¹¹⁶⁻¹¹⁸. Éteres benzílicos, como éter metílico vanílico, éter etil vanílico, éter metílico de p-hidroxibenzil e éter etílico de p-hidroxibenzil foram relatados em favas curadas de baunilha ¹¹⁹.

Diferentes componentes de terpenos no OEC, OEL e OEB afetam suas propriedades como agentes antimicrobianos, antifúngicos e antioxidantes ^{110,111,113,117,118} e influenciam sua reatividade com outros componentes presentes em OE. Os cromatogramas dos compostos identificados nos óleos de cravo, laranja e baunilha são mostrados em detalhes no **APÊNDICE B**.

Tabela 21 – Composição química do OEC (*Syzygium aromaticum* L.), OEL (*Citrus sinensis* L.) e OEB (*Vanilla planifolia* L.) determinadas por GC-MS

Óleo Essencial	Pico N°	Composição química	Tempo de retenção (min)	Abundância* (%)
Cravo (OEC)	1	Ciclohexano, metil-	8,34	0,06
	2	Limoneno	23,22	0,05
	3	Acetato de linalol	34,66	0,01
	4	α -Cubebeno	39,37	0,01
	5	Eugenol	39,895	81,74
	6	α -Copaeno	40,7	0,07
	7	Cariofileno	42,76	13,56
	8	9-epi-(E)-Cariofileno	43,915	0,02
	9	Isovalerato de linalol	44,17	3,31
	10	(E,E)- α -Farneseno	45,9	0,26
	11	α -Bulneseno	46,215	0,01
	12	δ -Cadineno	46,56	0,02
	13	Acetato de chavibetol	46,645	0,06
	14	Cadina-1,4-dieno	46,855	0,51
	15	10-epi-Cubebol	47,015	0,10
	16	Óxido de cariofileno	48,475	0,02
Laranja (OEL)	1	Ciclohexano, metil-	8,335	0,08
	2	α-Pineno	18,065	0,82
	3	Sabineno	20,205	0,42
	4	β -Pineno	20,43	0,04
	5	Mirceno	21,065	1,98
	6	Octanal	21,665	0,11
	7	α -Felandreno	21,885	0,04
	8	3-Careno	22,225	0,23
	9	o-Cimeno	23,005	0,05
	10	Limoneno	23,435	93,06
	11	β -Ocimeno	24,17	0,02
	12	γ -Terpineno	24,82	0,01
	13	Linalol	26,875	0,76

(continua)

				(conclusão)
	14	Nonanal	27,09	0,03
	15	trans-p-Mentha-2,8-dienol	28,085	0,06
	16	Óxido de limoneno, cis-	28,77	0,27
	17	Óxido de limoneno, trans-	28,99	0,12
	18	Citronelal	29,625	0,04
	19	Terpineol	31,7	0,14
	20	Decanal	32,225	0,29
	21	trans-Carveol	33,06	0,07
	22	cis-Carveol	33,64	0,06
	23	Neral	34,045	0,06
	24	Carvone	34,315	0,12
	25	Geranial	35,425	0,09
	26	α -Copaeno	40,64	0,06
	27	Sibireno	41,225	0,06
	28	Dodecanal	41,635	0,05
	29	β -copaeno	43,03	0,05
	30	Germacreno D	45,25	0,01
	31	γ -Patcholeno	45,74	0,31
	32	trans- β -Guaieno	45,86	0,04
	33	Zonareno	46,83	0,09
Baunilha (OEB)	1	Ácido acético, éster hexílico	22,195	0,16
	2	2-Propanol, 1,1'-oxibis-	22,9	14,41
	3	Álcool benzílico	23,415	3,53
	4	Dipropileno glicol	23,945	14,33
	5	Linalol	26,88	1,57
	6	Etil maltol	32,045	11,54
	7	2(3H)-Furanona, di-hidro-5-pentil-	39,72	5,23
	8	Acetato de geranila	40,455	0,65
	9	Vanilina	41,48	20,23
	10	Etil vanilina	43,895	12,05
	11	γ -Heptilbutirolactona	48,61	0,29
	12	Hediona	51,695	3,17
	13	α -Hexilcinamil aldeído	55,29	10,19

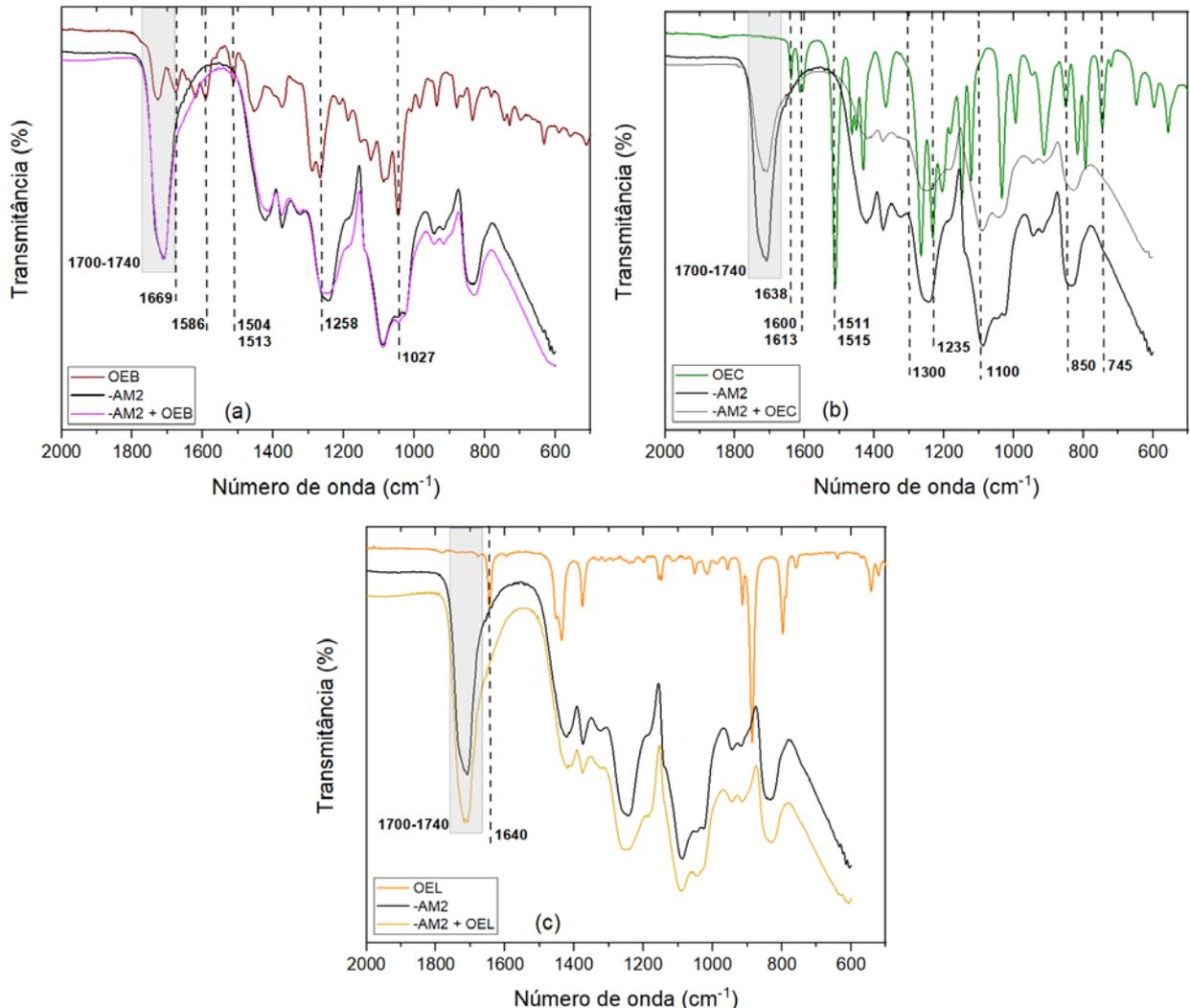
*Principais compostos encontrados (%) do total, estão apresentados em negrito.

5.2.2 Espectroscopia de absorção no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Para o estudo da incorporação de OE em hidrogéis, decidiu-se após avaliação de resultados da liberação controlada com corante discutida na seção 5.1.7 e que os espectros estudados seriam os atribuídos somente as amostras de -AM com 2h de reação para os três OE estudados. Essa escolha se deve pela possibilidade de que em tempos de reação mais altos (2h) elas tiveram mais tempo de incorporação e solubilidade, no hidrogel, ocorrendo maior incorporação do OE, assim possibilitando sua

identificação espectral na matriz polimérica do hidrogel. Na Figura 51 são mostrados os espectros de PVOH-AM2 (ATR/HATR) incorporados com OEB, OEC e OEL.

Figura 51 – Espectros das amostras à base de PVOH-AM2 incorporados com OE na faixa de 2000-450 cm^{-1} : OEB (a); OEC (b) e OEL (c)



Os picos na faixa de 1700-1740 cm^{-1} representam as ligações C=O do hidrogel de PVOH e a formação de novas ligações químicas com ácido málico e tartárico ^{5,76,77}. Os resultados de FTIR indicam a ocorrência de grupos hidroxila que são responsáveis pela capacidade de retenção de água no hidrogel e a intensidade do óleo essencial no hidrogel depende diretamente da concentração ³⁶. As bandas de absorção do eugenol foram caracterizados por picos em 1511, 1613 e 1638 cm^{-1} , atribuídos à vibração de estiramento originada da ligação C-C aromática, e vários picos na faixa de 1100-1300 cm^{-1} decorrentes do estiramento assimétrico de C-O-C originado do grupo funcional éter do eugenol ¹²⁰. Além disso, os picos entre 1600-1800 cm^{-1} são devidos à presença de ligações duplas C=O e C=C encontradas em todos os três principais componentes do OEC ³⁶. Stoleru *et al.* ⁹ observaram a presença de eugenol e acetato de eugenol no

OEC, demonstrada por um ombro em 1515 cm^{-1} , os quatro picos específicos na faixa de $745\text{-}850\text{ cm}^{-1}$ e o pequeno pico em 1235 cm^{-1} correspondente à estrutura aromática e aos grupos funcionais de acetato.

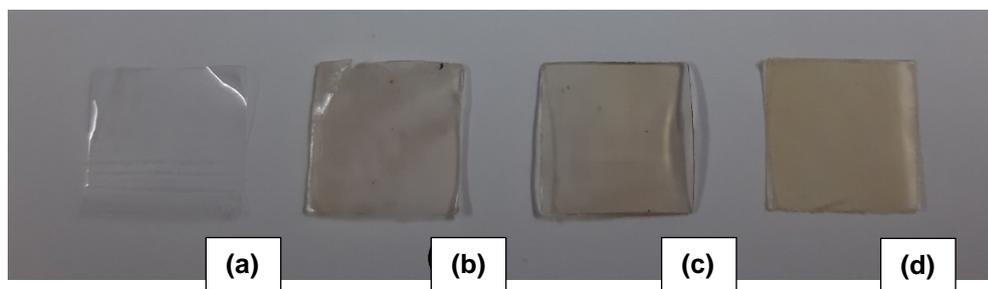
Os espectros de FTIR do OEL mostram uma banda de absorção de vibrações de valência a 1640 cm^{-1} correspondente à ligação dupla exocíclica do limoneno ¹¹⁵. Pode-se observar que na mesma banda de absorção no filme com óleo de laranja incorporado (-AM2 + OEL) há um abrandamento da banda, o que mostra a incorporação no hidrogel de PVOH em torno do pico de 1640 cm^{-1} identificado como o estiramento da ligação C=C ¹¹². Além disso, é possível observar as bandas de absorção características de 1027 cm^{-1} (vibração de estiramento da ligação de oxigênio do éter), 1669 cm^{-1} atribuídas a picos de absorção de aldeído, 1258 cm^{-1} (picos de absorção de grupos hidroxila fenólicos) e 1586 cm^{-1} , 1513 cm^{-1} , 1504 cm^{-1} característicos atribuídos a picos de absorção do anel de benzeno na Figura 53c, que são os picos característicos da vanilina ^{116,121}.

Da mesma forma, as bandas características do OE observadas nas emulsões contendo OE em FTIR ^{116,120}. Em conjunto, as análises de FTIR indicaram a incorporação bem-sucedida do OE em microcápsulas (apresentadas a seguir) no PVOH sem alterações químicas, pois não surgiram novas bandas de absorção características e nenhuma delas desapareceu após a síntese química.

5.2.3 Microscopia óptica

Na Figura 52 são mostrados o filme de PVOH e os hidrogéis incorporados com OE após a síntese química.

Figura 52 – Filme de PVOH (a) e Hidrogéis: OEB (b); OEC (c) e OEL (d)

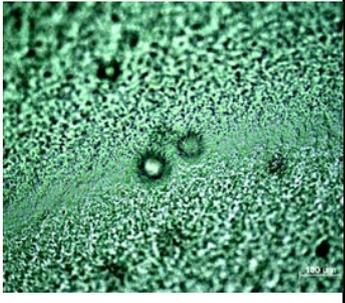
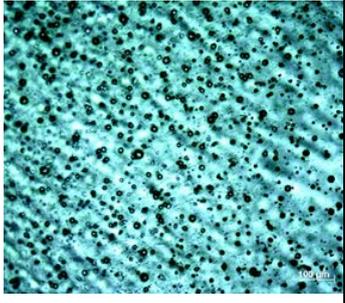
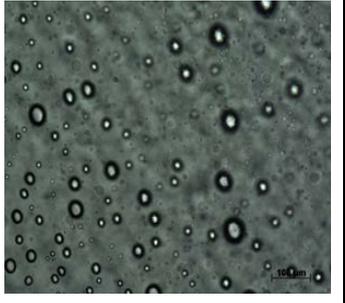


Os vários tipos e concentrações finais de OE nos hidrogéis, influenciaram a forma e a aparência final das gotículas de OE, como pode ser observado visualmente na Figura 53, em que a microscopia óptica foi usada para complementar a caracterização

físico-química. Essas microcápsulas apareceram embutidas entre a matriz de PVOH, e a superfície do hidrogel, pois há uma grande quantidade de OE livre, que fica evidente em todas as imagens.

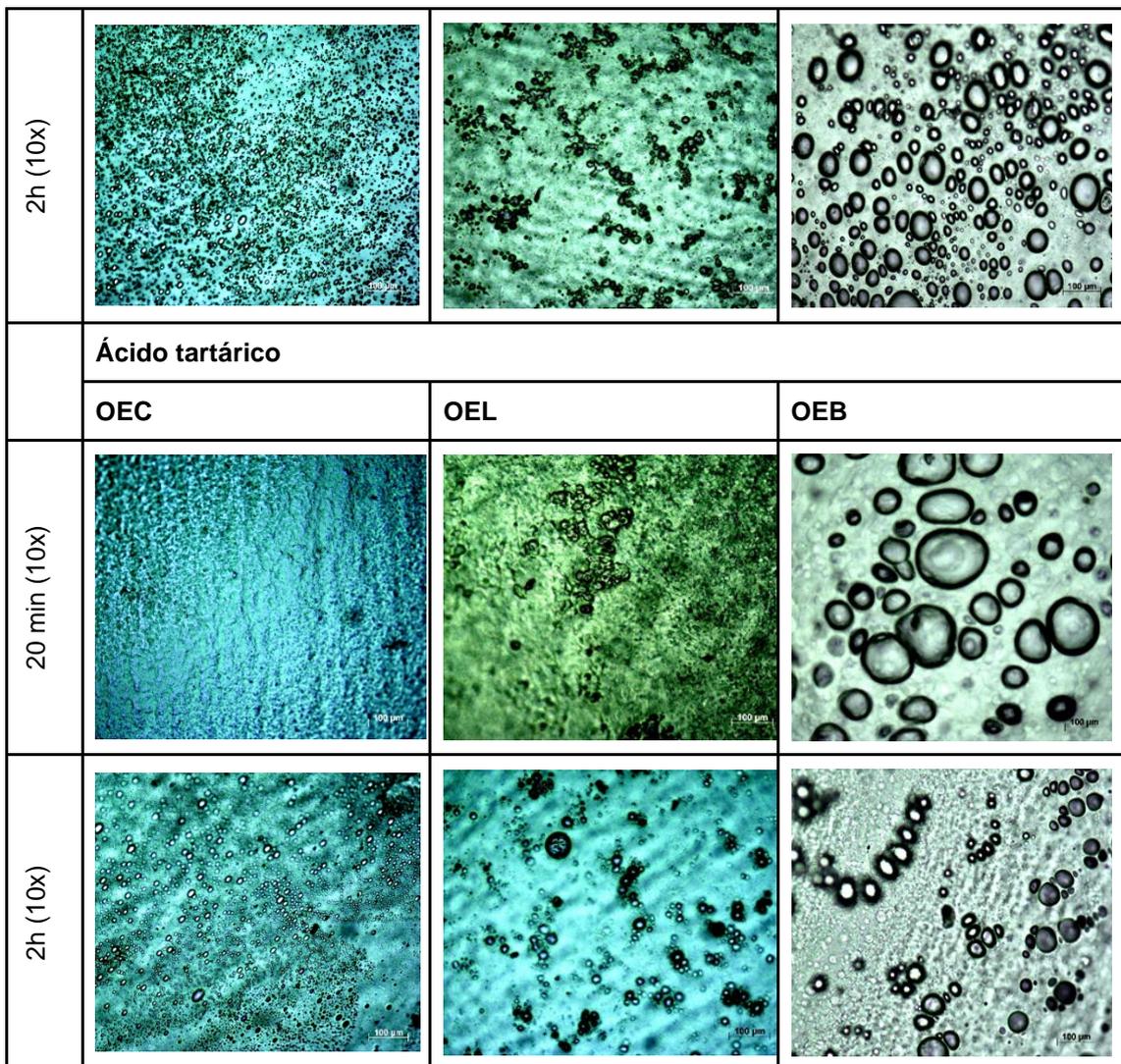
A partir das imagens do microscópio óptico, e em comparação com a amostra de PVOH, a presença de OE é identificado pelo formato de gotículas dispersas no filme e apresentam no geral uma forma ovoide flexível, especialmente mostradas nas imagens com ampliação de 10x. As superfícies dos filmes com OE têm uma aparência lisa e brilhante, sem defeitos ou rachaduras ^{10,122}. O tamanho e a morfologia das cápsulas foram investigados usando imagens obtidas de emulsões no hidrogel de PVOH que mostraram o diâmetro médio das partículas obtidas apresentadas na Tabela 22. Além disso, as microcápsulas de OE e surfactante, mostraram-se bem dispersas em todas as emulsões e também foram significativamente influenciadas pela quantidade de surfactante, em que as maiores concentrações de surfactante resultaram na formação das menores gotículas ^{120,123,124}. As imagens de microscopia óptica do filme de PVOH e dos OE incorporados nas ampliações de 10 e 20x podem ser vistas no **APÊNDICE C**.

Figura 53 – Imagens de microscopia óptica de filmes e hidrogéis de PVOH incorporados com OEC, OEL e OEB por 20 min e 2h de reação na ampliação de 10x

		PVOH		
	20 min (10x)			
		Ácido málico		
		OEC	OEL	OEB
	20 min (10x)			

(Continua)

(conclusão)



A amostra de filme de PVOH mostra uma morfologia uniforme, com uma superfície clara, transparente e lisa, sem qualquer distinção dos materiais componentes. As gotículas carregadas com OEC têm uma forma esférica predominantemente flexível e uma superfície lisa e brilhante sem rachaduras ou defeitos; o uso de sonificação resultou em um tamanho pequeno e em uma distribuição mais homogênea das gotículas de OEC na matriz de hidrogel após uma reação de 2h; esse aspecto foi estudado e descrito na literatura ⁵⁶. As gotículas carregadas com OEL apresentaram a mesma condição estudada por microscopia de luz polarizada ⁶¹. A dispersão de líquidos assume a forma de gotículas finas, em que as microemulsões têm estabilidade termodinâmica, enquanto as macroemulsões são termodinamicamente instáveis ⁴². Todas as gotículas tiveram uma microemulsão, caracterizada pelo tamanho obtido após o método de sonificação (Tabela 22). No entanto, para a síntese realizada em 20 min com ácido málico, o tempo de síntese influenciou o encapsulamento do OE, especialmente para o

OEC, em que uma menor concentração de gotículas foi observada em todas as superfícies em comparação com a amostra de PVOH, que ocorreu devido à limitação química imposta pelo tamanho da molécula de OEC no encapsulamento químico ao hidrogel e à hidrofobicidade natural, as gotículas de óleo ocuparam parcialmente a rede do hidrogel preenchido com emulsão, resultando, conseqüentemente, em menor ligação de hidrogênio entre o hidrogel e a água ocluída ⁵⁶. Entretanto, com 2h de reação de síntese química e usando ácido tartárico como reticulante, a concentração foi alterada e aumentada, tornando-se visível em todos os hidrogéis sintetizados.

Tabela 22 – Características médias das microcápsulas de OEC, OEL e OEB com síntese de 2h

Amostras	Espessura da parede (µm)	Diâmetro das gotas (µm)
OEC (-AM2)	4,15 ± 0,50	26,63 ± 0,22
OEC (-AT2)	3,35 ± 0,56	21,10 ± 2,52
OEL (-AM2)	4,28 ± 0,76	19,33 ± 2,23
OEL (-AT2)	4,65 ± 0,96	27,23 ± 3,93
OEB (-AM2)	12,20 ± 1,25	72,25 ± 6,82
OEB (-AT2)	8,11 ± 1,05	54,02 ± 3,42

Esse processo de sonificação com um emulsificante misturado na interface óleo-água reduz a tensão interfacial e aumenta a dispersão do OE na matriz do polímero ^{56,125}. Assim, o efeito da geometria molecular dos surfactantes aniônicos sobre o tamanho da gota das emulsões foi demonstrado de acordo com a literatura ¹²³. Quando o OEC foi introduzido no hidrogel, além de sua hidrofobicidade natural, as gotículas de óleo ocuparam parcialmente a rede do hidrogel, resultando em menos ligação de hidrogênio entre a matriz e a água, criando um fenômeno de coalescência, que foi observado e descrito na literatura ⁵⁶.

Rostami *et al.* ¹²³ avaliaram que, após 5 min de sonificação, as gotículas de OE de cominho com um diâmetro médio de 470 nm foram formadas nas emulsões usando 0,25%, e 126 nm com 1% de Tween® 20. Os resultados obtidos para o SDS em 0,25% na solução de PVOH durante 30 min calculados foram: 21,10 µm para OEC; 19,33 µm OEL e 54,02 µm para o OEB. A coacervação na fase aquosa só pode ser usada para encapsular materiais insolúveis em água (materiais de núcleo hidrofóbico apresentados no estado sólido ou líquido); essas condições promovem as interações macromolécula-macromolécula em detrimento das interações macromolécula-solvente; fenômeno químico especialmente observado nas microgotículas de OEB ¹²⁶ e observadas na microscopia óptica.

Após a análise do OEL e do OEB, não foram observadas diferenças de morfologia entre os ácidos orgânicos usados para sintetizar os hidrogéis, mas a concentração do OE se tornou visível e com variações na concentração da superfície, especialmente mais presente para o OEL em relação ao OEB, o que pode ser visto nos tempos de reação de 20 min, as amostras com OEL mostraram maiores aglomerações de óleo na superfície, não eram uniformes e a superfície regular das gotículas de OE tinha uma aparência opaca. Esse resultado foi observado com a interferência do tempo do processo de emulsificação em temperatura ambiente para o OEL e as gotículas de OEB parecem se dividir em tamanhos menores após um tempo maior de sonificação ¹²⁵. O OEB tinha uma forma esférica predominantemente flexível e uma superfície lisa e brilhante sem defeitos, conforme mostrado nas ampliações de 10x com os ácidos málico/tartárico. Esse comportamento da morfologia do OE foi estudado e descrito na literatura ¹²². A microscopia óptica é um método muito eficaz para estudar a morfologia das composições de hidrogel polimérico para destacar as características morfológicas do material e as alterações que ocorrem durante as reações físicas em experimentos químicos na superfície ^{122,125,127}. Por esse motivo, vários estudos realizados em matrizes poliméricas compostas de polímeros com OE foram realizados por microscopia óptica ^{10,61,122}.

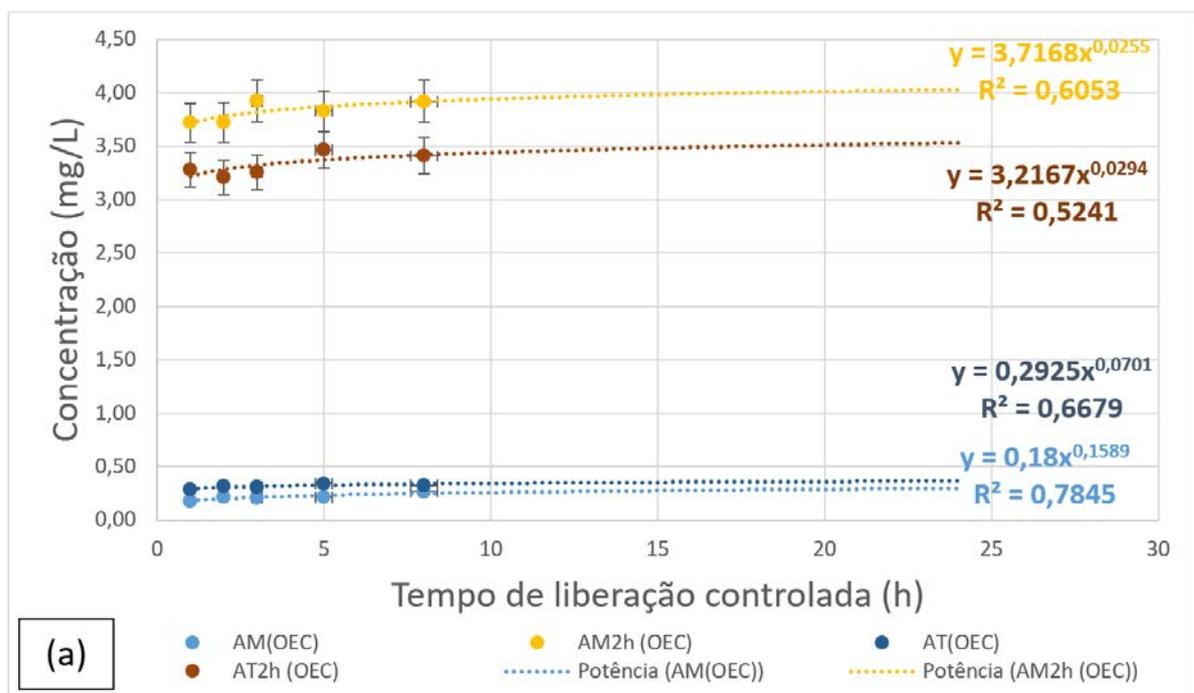
Como mostrado, gotículas muito dispersas foram formadas assim que o OE foi inserido na fase contínua da matriz do polímero e quantidades muito baixas de emulsificante aniônico foram necessárias para obter gotículas pequenas. Esse fenômeno obtido com o surfactante foi explorado e estudado por Tian *et al.* ¹²⁸. A influência do OE na estabilidade e nas propriedades do hidrogel depende de diferentes fatores estruturais, como o tipo de polímero e os agentes de reticulação usados, a composição e a quantidade de óleo adicionado e as interações com a matriz polimérica ¹²⁷. Neste ponto, o efeito do surfactante hidrofílico não iônico, tem uma grande proporção de volume entre a cabeça hidrofílica e a cauda hidrofóbica, e essa alta proporção leva a uma maior curvatura das gotículas no OE ^{10,42}.

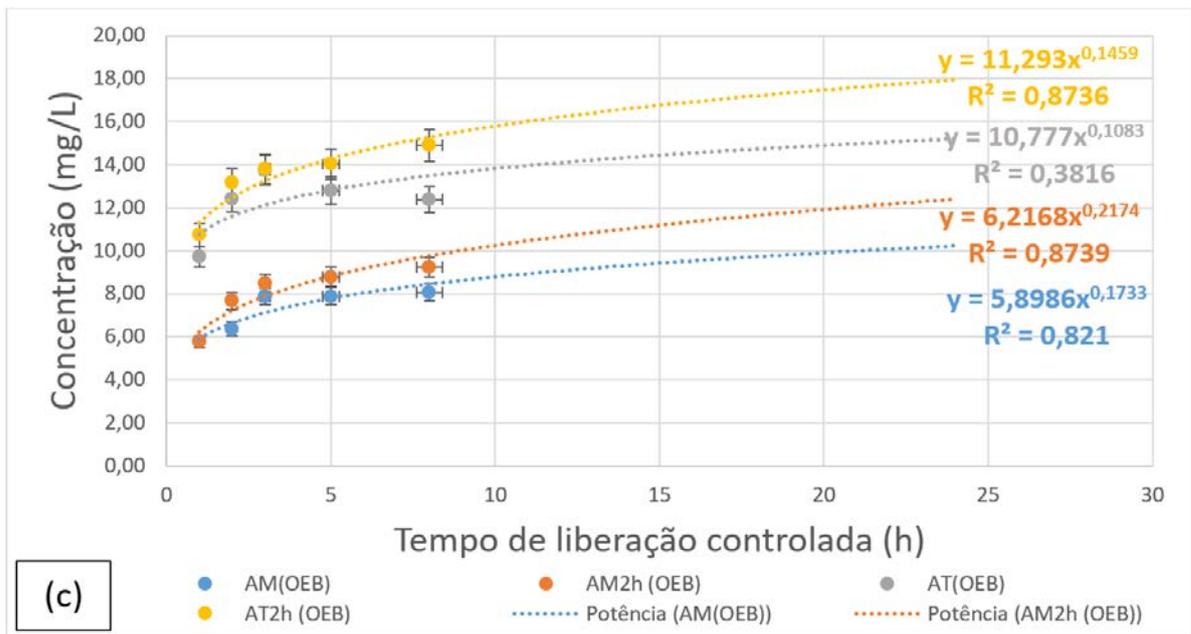
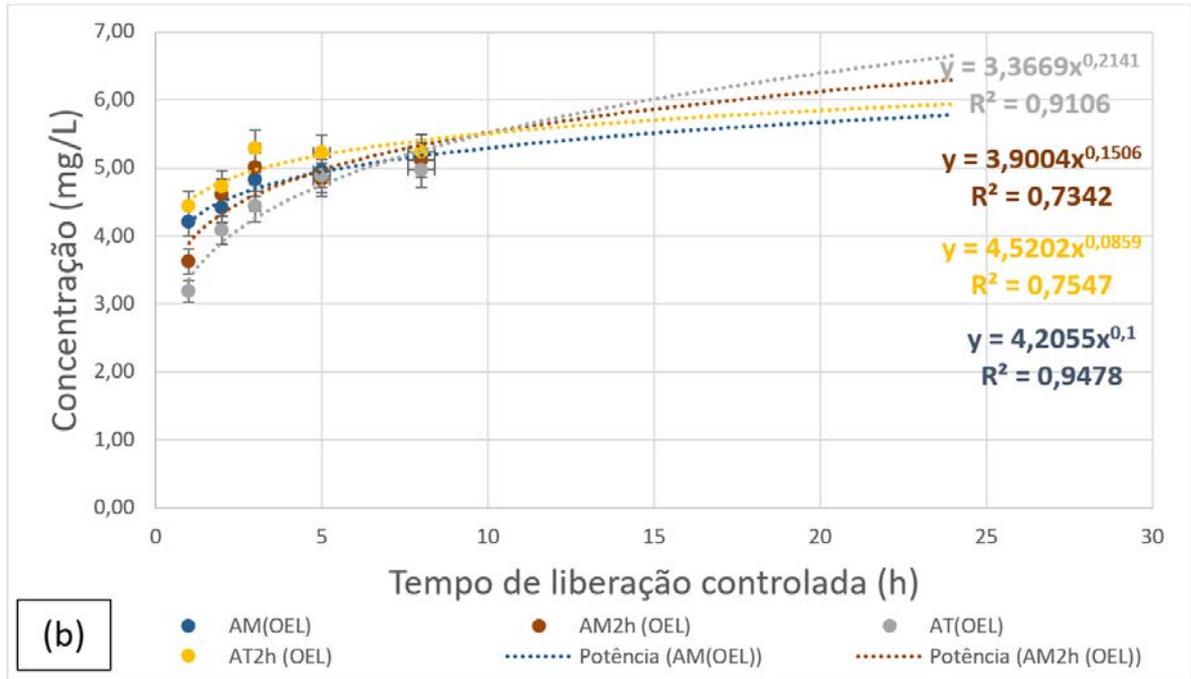
5.2.4 Liberação controlada

A espectroscopia UV-vis é empregada para a liberação controlada em fase aquosa do OE ¹²⁸. O resultado da eficiência da emulsão e das propriedades controladas de liberação de OE de diferentes tempos de síntese para OEC, OEL e OEB é apresentado nas Figuras 54a, 54b e 54c respectivamente. De acordo com a Figura 54a

(OEC), a maior média obtida foi de 3,2 mg/L e a menor média de 0,20 mg/L de encapsulamento para as amostras de -AM2/-AT2 e -AM/-AT, respectivamente. Com relação às propriedades de liberação do OE, observou-se uma liberação rápida até 8 horas, e uma projeção de liberação de 8 a 24h no teste de liberação controlada. No total, as amostras -AM/-AT (OEC) e -AM/-AT (OEL) apresentaram a menor taxa média de liberação de 5,20 mg/L até 8h, enquanto todas as amostras de OEB apresentaram a maior taxa média de liberação de óleo (Figura 54c), atingindo um valor máximo de 15 mg/L até 8h. A distribuição das partículas não se mostrou uniforme e regular nas imagens de microscopia óptica, o que justifica as diferentes interações e liberação controlada de todos os OE nos hidrogéis de PVOH. Essa interação e os métodos de difusão dos OE ao longo do tempo foram descritos na literatura ¹²⁹. As interações por meio de ligações de hidrogênio podem ocorrer entre os grupos hidroxila do PVOH e os grupos carbonila (C=O) no eugenol e no acetato de eugenol em pH neutro, perturbando as forças repulsivas entre as macromoléculas, com uma diminuição no espaço intermolecular e uma menor capacidade de absorção de água em equilíbrio e de pH neutro ⁹.

Figura 54 – Liberação controlada de OE dos hidrogéis com OEC (a), OEL (b) e OEB (c) por espectroscopia UV-vis





A capacidade de inchaço dos hidrogéis carregados com OE é explicada pelas interações entre os compostos de OE usados na síntese e as partes hidrofílicas do polímero, promovendo um aumento geral na natureza hidrofóbica da matriz do polímero¹²⁷. A proporção de reticulação, a variação do pH (~3,5) e a concentração de surfactante são fatores-chave que controlam a taxa de liberação controlada^{128,130}. Além disso, a conformação da cadeia do polímero e o relaxamento dos segmentos, que influenciam a viscosidade da parede, exercerão impactos sobre a cinética de difusão das moléculas ativas¹²⁸.

Além disso, a estrutura química de um hidrogel e a presença de grupos funcionais ionizáveis nele, influenciam significativamente sua capacidade de inchaço e liberação, de modo que uma variação de pH no meio, terá uma influência significativa em seu comportamento¹³⁰. Uma consideração da liberação cinética de OE, é que seus métodos de aplicação são limitados devido ao seu baixo peso molecular, hidrofobicidade e alta volatilidade, necessária para desenvolver técnicas de formulação que permitam um perfil de liberação de controle usando uma nanoemulsão com surfactantes e outras técnicas de encapsulamento⁷¹.

5.2.5 Conclusões parciais

Na **Etapa II**, o objetivo principal foi aprimorar o desempenho físico-químico dos hidrogéis, e incorporar três tipos de OE propostos inicialmente (baunilha, cravo e laranja), para avaliar e estudar suas propriedades de liberação controlada. Inicialmente foram realizadas caracterizações de GC-MS para obter os dados referentes aos compostos químicos presentes em cada um dos OE estudados. Para a incorporação dos OE, utilizou-se o surfactante dodecil sulfato de sódio (SDS) em proporção mínima de 0,25% em peso dos OE, que serviu de agente de emulsificação para a solução de hidrogel + OE sonificadas por 30 min que posteriormente foi acrescentada a solução síntese dos hidrogéis; com as amostras obtidas, realizou-se caracterizações químicas e ópticas. Foram testadas diferentes formas de liberação controlada com os tempos de síntese definidos em 20 min e 2h estimados até 24h do experimento para todas as amostras. Os resultados obtidos mostraram sucesso na incorporação dos OE, observados em análises de FTIR e microscopia óptica com as amostras selecionadas de -AM2; e posteriormente foi observado que cada um dos OE apresentou propriedades distintas de incorporação, e morfologia, que foram observadas nas análises de microscopia óptica; sendo o OEB o que mostrou maior capacidade média de liberação controlada (15 mg/L) em relação ao OEC e OEL ambos com ~3,2 mg/L; apresentando a funcionalização dos hidrogéis.

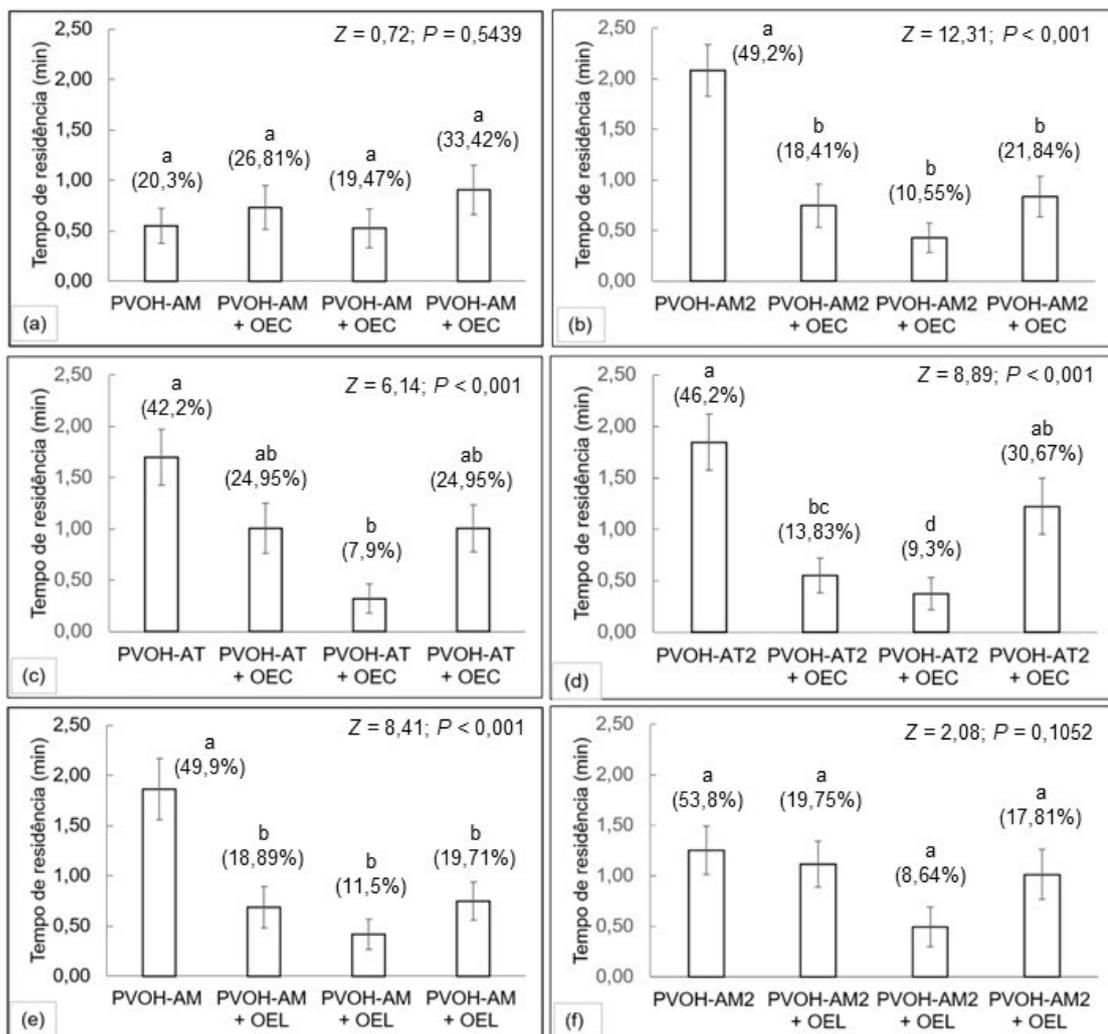
5.3 ETAPA III – Estudo e avaliação da ecotoxicidade dos hidrogéis PVOH/OE em ambientes simulados

Nesta etapa são descritas e avaliadas as atividades inseticidas, repelência e fitotóxicas de PVOH/OE, e suas propriedades específicas obtidas de acordo com o tempo de síntese aplicado. Também a apresentado como o uso de diferentes OE podem interferir sensorialmente em insetos e também promover alterações em plantas e fungos, de acordo com a taxa de liberação controlada em função do tempo.

5.3.1 Bioensaio de quimiotaxia com olfâmetro

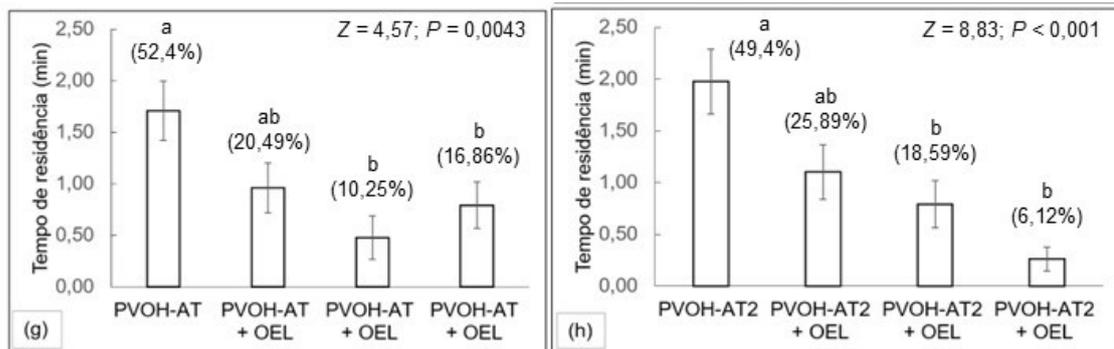
A Figura 55 mostra a indicação e percentual da preferência do *M. persicae* ao escolher o tratamento sem a aplicação do hidrogel (Coluna 1) com OEC ou OEL, (PVOH-AM; -AM2 e PVOH-AT; -AT2) nos tempos de 20 min e 2h de síntese.

Figura 55 – Tempo de permanência e a porcentagem de fêmeas de *M. persicae* em um olfâmetro de quatro braços, submetido a voláteis de OEC (a - d) e OEL (e - h) (N = 40)



(Continua)

(conclusão)



Os resultados obtidos indicam que as amostras que foram sintetizadas com ácido málico em um tempo de síntese de 20 min apresentaram menor preferência pela seletividade do braço de tratamento sem OEL (20,3%), porém com a síntese realizada em 2h para o OEL esse valor aumentou para 49,2%, o que indica que um tempo de síntese mais longo, aumenta a incorporação do OE na matriz polimérica e, conseqüentemente, a repelência e a escolha do tratamento neutro por *M. persicae*; aumentando a porcentagem de tempo de residência no braço sem OE. Giunti *et al.*⁶² e Laudani *et al.*¹²⁴ estudaram que a nanoemulsão de OE foi eficaz no controle e repelência das pragas-alvo usando um OEL. Nas amostras sintetizadas com AT (Figuras 56c; 56d), a incorporação do OEL foi quimicamente mais eficaz, o que gerou porcentagens de repelência mais altas, em comparação com o grupo -AM (Figuras 56a; 56b), obtendo valores de 42,2% (20 min) e 46,2% (2 h), respectivamente. Arena *et al.*⁶⁷ observaram que o OE de *S. aromaticum* (0,03 µl/g) apresenta 78% de repelência contra insetos adultos após dez minutos de exposição. Essa incorporação e concentração de OEL e OEL nos hidrogéis podem ser observadas em detalhes nos dados de espectroscopia UV-vis (Figuras 55a; 55b) para comparação com esses resultados obtidos.

Para as amostras de hidrogel de ácido málico não incorporadas com OEL (Fig. 56e; 56f), os valores obtidos foram 49,9% (20 min) e 53,8% (2h), e para a síntese com ácido tartárico sem OEL (Figuras 56g; 56h), foram 52,4% (20 min) e 49,4% (2h), respectivamente. Os resultados do olfâmetro mostram que, quanto maior o tempo de síntese, maior a concentração final de OE no hidrogel, o que afeta significativamente o tempo médio de repelência final; esse resultado foi observado na microscopia óptica; além disso, os resultados obtidos pelo OEL (49,2%) (Figura 56b) e OEL (53,8%) (Figura 56f) para o tempo de síntese de 2h em ambos os ácidos orgânicos usados, está

seguindo o limite máximo (24h) para a concentração de OE nos hidrogéis medidos por espectroscopia UV-vis; OEC [-AM2 = $\pm 4,00$ mg/L; -AT2 = $\pm 3,50$ mg/L] e OEL [-AM2 = $\pm 6,30$ mg/L; -AT2 = $\pm 6,00$ mg/L], respectivamente. A eficácia do eugenol foi consistente com estudos anteriores que relataram que o eugenol, o β -cariofileno (para OEC) e o limoneno (para OEL) têm atividade repelente contra *M. persicae*^{124,131}; e Espinoza *et al.*¹³² e Silva *et al.*⁶⁹ estudaram que o uso de (+)-limoneno não apresentou atividade repelente espacial a 1% em insetos. A resposta de repelência aos compostos voláteis depende de sua concentração na combinação percebida pelos pulgões^{68,69,131}. Além disso, tanto o limoneno quanto o linalol são venenosos para os insetos; eles amplificam o nervo sensorial, causando considerável estimulação dos nervos motores, o que pode levar a convulsão e paralisia^{69,133}.

Também foi observado que a substituição do ácido málico pelo ácido tartárico também permite uma melhor capacidade de concentrar e reter o OE no hidrogel, o que aumenta o tempo médio dos índices de repelência para *M. persicae* no olfatômetro. Vários estudos mostraram as diversas atividades benéficas do *Citrus* e do *Syzygium* e seus constituintes, especialmente com propriedades repelentes e inseticidas^{42,58,62,67,124}. As diferenças entre os resultados foram provavelmente relacionadas a variações qualitativas e quantitativas na composição química dos voláteis percebidos pelos pulgões e variações^{124,131}. Esses perfis podem estar relacionados a diferenças genéticas e a vários fatores bióticos e abióticos ligados ao estado nutricional da planta, condições de estresse e estágios fenológicos dos pulgões¹³⁴.

Os metabólitos secundários das plantas que constituem os OE, os terpenos e, especificamente, os monoterpenos, são considerados os principais compostos químicos responsáveis pela bioatividade e repelência contra insetos-praga nas plantações^{68,133}. Os monoterpenos podem penetrar no interior do corpo do inseto por meio da cutícula (contato), do sistema respiratório (fumigação) e do sistema digestivo (ingestão)^{58,62}. Nossos resultados corroboram relatórios anteriores sobre a repelência desses compostos contra pulgões e outros insetos^{67-69,124,132,135}.

5.3.2 Ensaio de germinação e ecotoxicidade

O PVOH não é prontamente degradado no ambiente natural, resultando em sérios problemas ambientais quando misturado ao solo, podendo afetar a absorção de nutrientes e água pelas culturas, levando à redução da produtividade das culturas e,

consequentemente, da germinação das sementes ¹³⁶. Assim sua disposição em filmes permite o uso adequado, manutenção e posterior remoção do solo sem comprometer o ecossistema e a agricultura. Os bioensaios de germinação e crescimento de mudas são as principais ferramentas para determinar o potencial alelopático dos metabólitos secundários; os efeitos limitadores do crescimento de vários tipos de estresse foram relacionados à sua influência nas raízes e na divisão celular ^{63,137}. As primeiras adaptações do teste de espécies de cebolas *Allium cepa* L. foram feitas por Fiskesjo ⁹³, com o objetivo de torná-lo um organismo de teste para monitoramento ambiental ¹³⁸. Por fim, o teste da cebola é um método experimental bem organizado para a triagem de compostos químicos e o monitoramento *in situ* da citogenotoxicidade de diversas substâncias, inclusive extratos brutos, compostos naturais isolados e tóxicos ambientais ^{138,139}.

Todos os OE afetaram a germinação e o crescimento dos vegetais nas espécies-alvo, de acordo com a concentração liberada dos OE; sendo que uma tiveram maior atividade fitotóxica quando comparados entre si (Figuras 56 e 57). No entanto, a germinação da alface (Figura 58) foi mais afetada do que o crescimento da raiz da cebola (Figura 59). Em comparação com o grupo de controle, os grupos tratados apresentaram uma redução máxima significativa na germinação, com a alface em 84,21% (T3) e a cebola em 47,37% (T11), especialmente o OEB com um valor percentual médio menor. A velocidade de germinação acumulada (GA) da cebola também foi afetada e mostrada por uma equação exponencial (Figura 60) com uma linha de tendência decrescente para o OEB. Esses resultados mostram os seguintes compostos de monoterpenos e terpenos presentes nos OE que normalmente suprimem a germinação de sementes e causam danos ao crescimento vegetal ^{59,63,74,137,140}. O OE reduziu a porcentagem média de GA da alface em 7,9% (OEC); 30,27% (OEL); 38,16% (OEB) e reduziu a da cebola em 29,25% (OEC); 14,5% (OEL); 37,5% (OEB). A exposição ao OEC, OEL e OEB resultou em diferentes efeitos inibitórios sobre o crescimento vegetal da cebola e da alface ^{63,137}. Em comparação com o grupo de controle, os óleos essenciais afetaram mais o comprimento do broto do que o comprimento da raiz na cebola, enquanto a alface foi afetada pela germinação e pela massa seca. A sequência de testes de germinação realizada para a *Lactuca sativa* L. e raízes para *Allium cepa* L. podem ser vistas no **APÊNDICE D** e **APÊNDICE E**, respectivamente. Os gráficos estatísticos obtidos de massa seca, comprimento radicular (alface) e germinação da raiz (cebola) podem ser vistos no **APÊNDICE F**.

Figura 56 – Testes de germinação realizados: *Lactuca sativa* L. (a), amostra detalhada com escala branca (5 cm) (b)



Figura 57 – Amostras de *Allium cepa* L. submetido a teste de ecotoxicidade

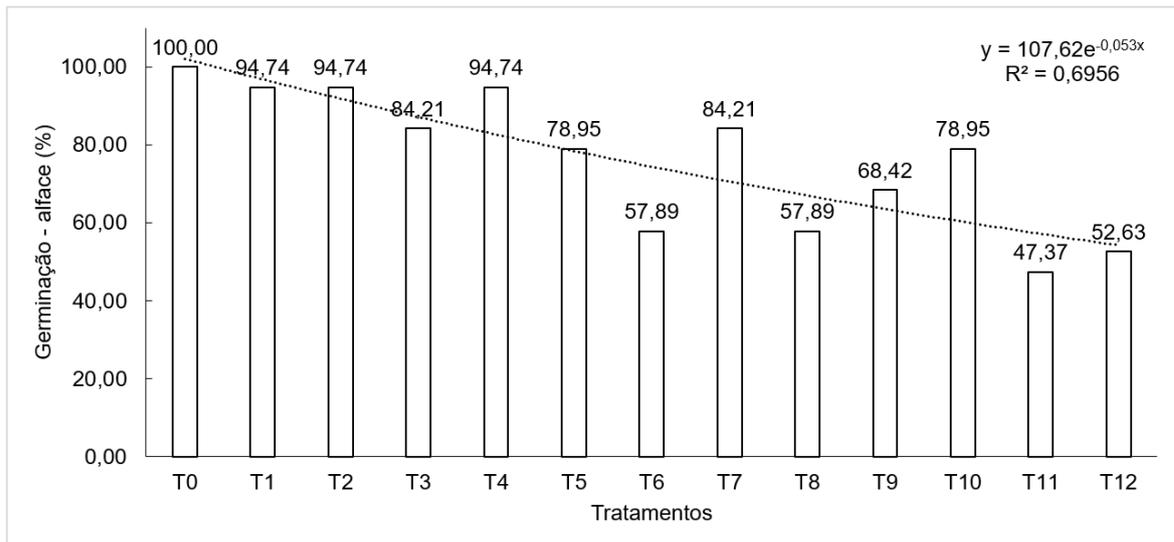
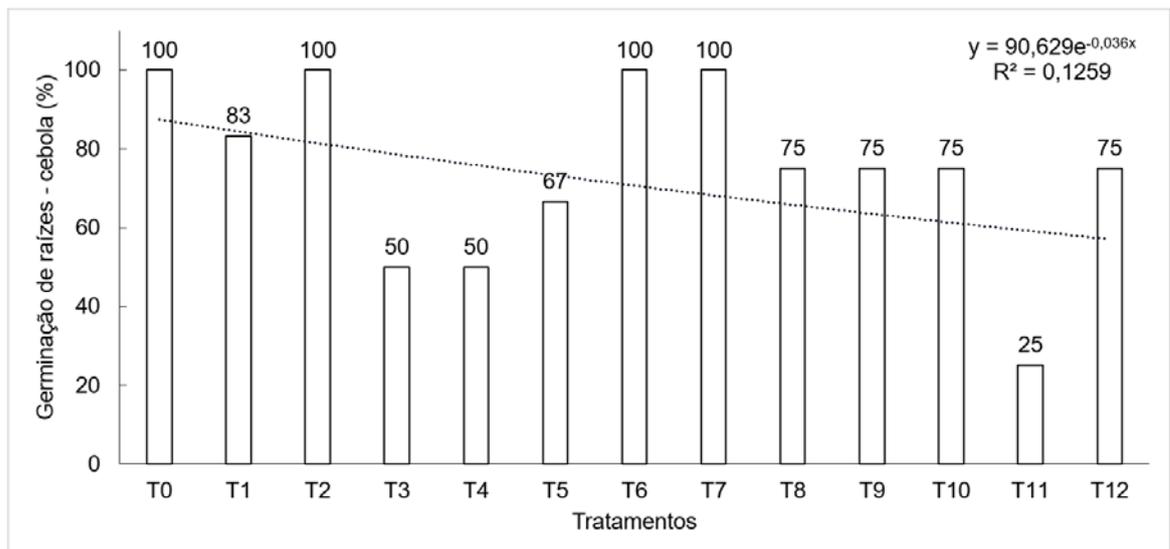


No entanto, o OE não afetou significativamente o comprimento da raiz da cebola e da alface, conforme demonstrado na análise estatística. Além disso, observou-se que a massa seca (%) não apresentou diferença estatística e o comprimento radicular não apresentou diferença nos grupos OEC e OEL, mas o OEB não apresentou crescimento no comprimento radicular médio. Uma redução no crescimento vegetal pode causar uma perda progressiva da capacidade produtiva e uma redução na uniformidade da germinação promovida pelo controle liberado dos hidrogéis no solo. Está claro que as raízes das mudas de *Lactuca sativa* L. foram mais afetadas pelo OE do que os brotos, e isso pode ser atribuído ao contato direto com o OE, bem como à permeabilidade das membranas da raiz; esse comportamento foi estudado em pesquisas anteriores ¹⁴⁰.

A atividade fitotóxica do OE tem sido associada à presença de monoterpenos e sesquiterpenos ^{72,73,133,141,142}. Os monoterpenos, como os principais compostos que exibiram atividade fitotóxica significativa contra várias espécies de plantas-alvo, por

exemplo, l-linalol, acetato de linalila, α -terpineol e geraniol, reduzem a germinação em *Lactuca sativa* L. e, por exemplo, β -pineno, δ^3 -careno, lima e sesquiterpeno, β -pineno, δ^3 -careno e limoneno para *Lactuca sativa* L., *Allium cepa* L., foram relatados como inibidores significativos da germinação e redutores do crescimento das plantas^{59,73,74}. Azizan *et al.*¹⁴¹ estudaram a presença de hidrocarboneto monoterpeneo de α -felandreno, limoneno e b-felandreno, que demonstraram considerável atividade fitotóxica sobre a germinação e o crescimento em condições controladas e um aumento da inibição da germinação e da raiz de *Lactuca sativa* L. na concentração de 1 μ l/ml, o OE cultivado em condições controladas registrou 58 e 47,94% de inibição máxima contra a germinação e o crescimento das raízes da alface, respectivamente. Neste estudo, os valores máximos obtidos foram 57,89 (OEL) e 50% (OEC), respectivamente. Em outros estudos, na concentração mais baixa aplicada, o OE de *Citrus* reduziu ligeiramente a germinação de sementes sem efeito em cultura sem solo e em argila a 0,250 μ L/mL, com limoneno (59,28%) e terpenos como os principais compostos constituintes⁶³; e 0,10-1,50 mg/mL para o ciclo celular das células meristemáticas da raiz de *Allium cepa* L.¹⁴²; finalmente, a concentração mais alta do OE em emulsão de surfactante (até 40 μ L) inibiu completamente a germinação de *Sativa* L. e *Sativum* L., e diminuiu o peso seco das plantas como consequência dos mono, sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados⁷³.

Com relação à absorção pela raiz, um estudo com timol marcado radioativamente demonstra a translocação de monoterpeneos em árvores cítricas com uma mistura de dois isômeros de monoterpeneos; os monoterpeneos alcoólicos parecem ter um modo de ação diferente, afetando mais ácidos graxos insaturados e estigmasterol, levando a interferências no crescimento das mudas^{59,63,71,143}; como 2-propanol, 1,1'-oxibis- e etil vanilina que ocorreram em abundância no OEB; e observados nos tratamentos (T9 a T12) na germinação (alface) e germinação da raiz (cebola).

Figura 58 – Germinação (%) de *Lactuca sativa* L.Figura 59 – Germinação de raízes (%) para *Allium cepa* L.

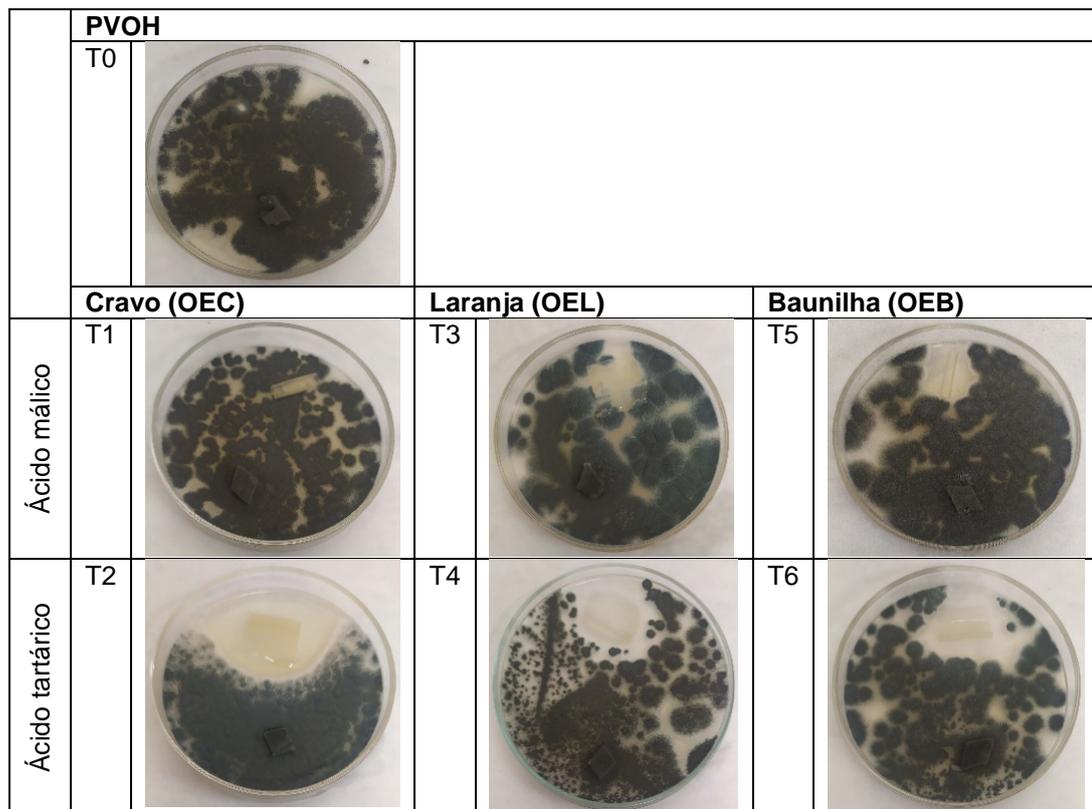
Por exemplo, OEC, OEL e OEB apresentam fitotoxicidade, inibindo a germinação e o crescimento de mudas de alface e cebola. Os principais componentes do OE são monoterpenos, mas os monoterpenos oxigenados demonstraram mais efeitos fitotóxicos do que os hidrocarbonetos monoterpenos e os sesquiterpenos^{63,72,142}, como o linalol e a vanilina presentes no OEB^{73,117,144}. Além disso, os monoterpenos oxigenados têm muito mais efeitos fitotóxicos do que os hidrocarbonetos monoterpênicos^{143,145}. Também foi observado que a redução do conteúdo de clorofila, da eficiência fotossintética e da respiração celular alterou a atividade mitótica, desorganizando a organização dos microtúbulos e alterando a biossíntese da parede celular^{63,142,145}.

5.3.3 Atividade antifúngica para *A. fumigatus*

O efeito de inibição das amostras de hidrogel nos micélios de *A. fumigatus* foi avaliado com PDA e filme de PVOH como controle. Conforme mostrado na Figura 60, as diferenças entre os hidrogéis sintetizados com ácido málico e tartárico com 2h, incorporados com OEC, OEL e OEB para comparação. Todas as imagens de amostras realizadas por *A. fumigatus* podem ser vistas no **APÊNDICE G**.

Observou-se que as amostras compostas por ácido málico e OEC tiveram pouca incorporação devido à hidrofobicidade do OEC na matriz do hidrogel; entretanto, para as amostras com OEL e OEB, houve incorporação e liberação, o que levou à inibição dos micélios desses OE, promovendo, conseqüentemente, a atividade antifúngica. Além disso, foi relatado que gotículas de emulsão menores tendem a ter áreas de contato maiores com os microrganismos ⁶⁵. Esses eventos são observados mais claramente quando o OE é incorporado em hidrogéis compostos de ácido tartárico, que, devido à sua estrutura química, promove uma maior possibilidade de incorporação durante a síntese e uma maior ação inibitória sobre os micélios de *A. fumigatus*. O OEC inibiu o amplo espectro de atividade antifúngica, a produção de aflatoxina B1 e o crescimento completamente radial do grupo *Aspergillus* ¹¹⁰. Huynh *et al.* ¹¹³ e Gupta *et al.* ¹⁴⁶ também destacaram que o limoneno foi o principal composto do OE da casca de laranja doce responsável pelo efeito inibitório contra as hifas de *Aspergillus niger*. Portanto, pode-se concluir que o limoneno (93,06%) no OEL apresentou o efeito inibitório predominante contra o crescimento micelial do *A. fumigatus* sobre o hidrogel. Foi estudado que a etilvanilina e a vanilina do OEL apresentaram atividades antimicrobianas e de eliminação de radicais pronunciadas devido à toxicidade desses compostos ^{48,117,144}.

O potencial antifúngico pode ser devido à presença de vários fitoquímicos no OE, como monoterpenos, terpenoides, ésteres de ácidos graxos, fenóis e ésteres ^{66,72,110,113}; foi relatado que o OE exibiu atividade antifúngica devido a alterações na permeabilidade da membrana celular, resultando na desestabilização da membrana plasmática e, finalmente, na morte do fungo estudado ^{42,59,110,113}.

Figura 60 – Amostras de hidrogéis (2h) em micélios de *A. fumigatus* após 7 dias de teste

Isso ainda indica que a síntese com ácido tartárico pode aumentar a capacidade inibitória das propriedades antifúngicas, embora o OE incorporado ao ácido málico mostre propriedades antifúngicas após a incubação liberada na placa de Petri com o crescimento do *A. fumigatus*. Isso é devido ao desempenho antifúngico dos hidrogéis após a incorporação dos OE, e as diferenças entre os ácidos orgânicos e surfactante usados, são mostradas por meio do tamanho da área de contato em branco ao redor dos fungos cultivados na placa de Petri, sendo umas amostras com fungos mais próximos dos hidrogéis, e outras com a área de contato maior entre o OE e o *A. fumigatus*. Pesquisas indicaram que a atividade antifúngica do OE poderia ser melhorada convertendo-o em emulsões^{65,123}, o que foi observado nesses resultados obtidos, com diferentes amostras usadas e discutidas em microscopia óptica.

5.3.4 Conclusões parciais

Na **Etapa III**, é descrito os ensaios de quimiotaxia, fitotóxicas, e fungicidas dos hidrogéis, que foram aplicados a experimentos ecotoxicológicos com espécies de *Lactuca sativa* L., *Allium cepa* L. e fungo do gênero *A. fumigatus*. Os resultados obtidos mostram efetividade fitotóxicas dos compostos químicos presentes dos OE nas plantas,

especialmente na germinação e crescimentos de raízes, o que impactou no desenvolvimento final das plantas, alterando sua germinação e comprimento de raízes (alface e cebola) e para massa seca final (%) da alface; especialmente para as amostras incorporadas com OEB. Nos ensaios fungicidas as amostras com -AT2 tiveram os melhores resultados fungicidas para todos os OE estudados, entretanto para as amostras com 20 min de reação a efetividade fitotóxica dos OE não foi totalmente alcançada para o OEC e OEL em decorrência do menor tempo de incorporação na síntese química, apresentando menor concentração de OE nas amostras de hidrogel.

6 CONCLUSÕES

Nesta tese que foi dividida em 3 etapas, estudou-se o desenvolvimento, incorporação, caracterização e aplicação de hidrogéis com OE com liberação controlada para ser empregada em sistemas agrícolas, visando o combate a pragas naturais. As conclusões foram as seguintes:

Na **Etapa I** foi estudado o efeito da reticulação dos ácidos orgânicos em hidrogéis baseados em PVOH. Genericamente os ácidos orgânicos modificaram a estrutura e as propriedades físico-químicas do PVOH. Os hidrogéis PVOH-AC apresentaram os maiores percentuais de intumescimento, mas com menores tempos de intumescimento devido à instabilidade dimensional (efeito estérico) e sua fraca interação química promovida entre o AC e o PVOH, também observadas pelas análises de sol-gel, tendo os menores índices calculados para as amostras com 2 e 3h de reação. As amostras PVOH-AM e PVOH-AT obtiveram resultados ao intumescimento satisfatórios com percentuais de reticulação que promoveram boas propriedades a absorção de umidade, sol-gel e FTIR, sendo que as amostras de PVOH-AM tiveram maior estabilidade dimensional em todos tempos de síntese química. Para as amostras de hidrogéis PVOH-AC, PVOH-AM e PVOH-AT o comportamento para a absorção de umidade, apresenta valores próximos de k_1 para todas e todos superiores ao PVOH, o que mostra a interação dos ácidos orgânicos com a água absorvida e adsorvida, sendo que o k_2 foi maior para as amostras constituídas do AC, resultantes das ligações químicas presentes de grupos funcionais hidroxilas dos ácidos orgânicos. Nas análises térmicas as amostras tiveram comportamento à degradação semelhantes em todas, onde os hidrogéis de PVOH-AC mostraram-se susceptíveis devido ao percentual de água adsorvida/adsorvida que promoveu uma diminuição inicial da temperatura inicial de degradação ($T_{10\%}$) demonstrada em todas as amostras. As análises das curvas de DTG, mostram estágios de degradação característicos e definidos, em que os hidrogéis de PVOH-AM seguidos do PVOH-AT e PVOH-AC apresentaram os melhores resultados de resistência à degradação.

Assim, os resultados para a incorporação dos ácidos AM e AT na síntese de hidrogéis mostraram promissores, sendo o AT com propriedades superiores de inchamento e de estabilidade dimensional; e com base nas limitações químicas identificadas para a síntese com o AC, foram selecionados os ácidos (AM e AT) e seus

tempos de síntese (20 min e 2 h) que foram os mais efetivos na capacidade de liberação controlada de corante, para o desenvolvimento de hidrogéis funcionalizados com OE.

Na **Etapa II**, o objetivo principal foi aprimorar o desempenho físico-químico dos hidrogéis, e incorporar três tipos de OE (baunilha, cravo e laranja), estudando suas propriedades de liberação controlada aplicadas a diferentes áreas da entomologia e agricultura. Para a incorporação dos OE, se avaliou na literatura o melhor surfactante aplicável, sendo escolhido o SDS em proporção mínima de 0,25% em peso dos OE, para a metodologia de síntese do hidrogel; sendo testadas diferentes formas desta liberação controlada com os tempos de síntese definidos em 20 min e 2h. Os resultados obtidos mostraram sucesso na incorporação dos OE, observados em análises de FTIR e microscopia óptica; em que cada um dos OE apresentou propriedades distintas de incorporação, sendo o OEB o que mostrou maior capacidade média de liberação controlada (15 mg/L) em relação ao OEC e OEL ambos com 3,2 mg/L; apresentando a efetividade da síntese e funcionalização dos hidrogéis.

Na **Etapa III**, foram avaliadas as propriedades de quimiotaxia, fitotóxicas, e fungicidas dos hidrogéis, submetidos a ensaios com espécies de *Lactuca sativa* L., *Allium cepa* L. e *A. fumigatus*. Os resultados obtidos mostram efetividade fitotóxicas dos compostos químicos presentes dos OE nas plantas, especialmente no retardamento da germinação e crescimentos de raízes, o que impactou no desenvolvimento das plantas, especialmente para as amostras com OEB. Nos ensaios fungicidas as amostras com PVOH-AT2 tiveram os melhores resultados fungicidas para todos os OE estudados, entretanto para as amostras com 20 min de reação a efetividade fitotóxica dos OE não foi totalmente alcançada para o OEC e OEL em decorrência do menor tempo de incorporação na síntese química.

Por fim, esse estudo mostra que os ácidos orgânicos podem ser utilizados como agentes reticulantes para o PVOH, e os hidrogéis de AM e AT são mais promissores ao desenvolvimento de hidrogéis incorporados com OE para aplicações em sistemas agrícolas de liberação controlada de OE para combate a pragas e insetos e atividade antifúngica.

7 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

- Otimização da síntese química utilizando novas rotas de catálise orgânica com compostos orgânicos naturais;
- Estudar a incorporação de diferentes ácidos orgânicos e tempos de reação para avaliar as capacidades de incorporação e liberação controlada em hidrogéis;
- Estudar os efeitos de diferentes OE e surfactantes na incorporação em hidrogéis de PVOH;
- Avaliar por meio de experimentos biológicos, os efeitos fitotóxicos e de diferentes concentrações ao longo do tempo em diferentes microrganismos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gautam L, Warkar SG, Ahmad SI, Kant R, Jain M. A review on carboxylic acid cross-linked polyvinyl alcohol: Properties and applications. *Polymer Engineering and Science*. 2022;62(2):225-246.
2. Awada H, Daneault C. Chemical Modification of Poly(Vinyl Alcohol) in Water. *Applied Sciences-Basel*. 2015;5(4):840-850.
3. Pei MJ, Peng XT, Wan TT, et al. Double cross-linked poly(vinyl alcohol) microcomposite hydrogels with high strength and cell compatibility. *European Polymer Journal*. 2021;160:9.
4. Yang MC, Guo WH, Liu SB, Zhang BS, Chen Y, Wang Y. Highly stretchable gamma-irradiated poly (vinyl alcohol)/Tannic acid composite hydrogels with superior transparency and antibacterial activity. *Journal of Polymer Research*. 2021;28(11):13.
5. Sonker AK, Verma V. Influence of crosslinking methods toward poly(vinyl alcohol) properties: Microwave irradiation and conventional heating. *Journal of Applied Polymer Science*. 2018;135(14):8.
6. Bulinski M. Metal Doped PVA Films for Opto-Electronics-Optical and Electronic Properties, an Overview. *Molecules*. 2021;26(10).
7. Karoyo AH, Wilson LD. A Review on the Design and Hydration Properties of Natural Polymer-Based Hydrogels. *Materials*. 2021;14(5):35.
8. Omidian H, Park K. Introduction to Hydrogels. In: Park K, Okano T. *Biomedical Applications of Hydrogels Handbook*. 1 ed. ed: Springer; 2010.
9. Stoleru E, Dumitriu RP, Ailiesei GL, Yilmaz C, Brebu M. Synthesis of Bioactive Materials by In Situ One-Step Direct Loading of *Syzygium aromaticum* Essential Oil into Chitosan-Based Hydrogels. *Gels*. 2022;8(4):20.
10. Goudoulas TB, Vanderhaeghen S, Germann N. Micro-dispersed essential oils loaded gelatin hydrogels with antibacterial activity. *Lwt-Food Science and Technology*. 2022;154:10.
11. Prakash B, Media A, Mishra PK, Dubey NK. Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities - Potentials and challenges. *Food Control*. 2015;47:381-391.
12. Abedi-Firoozjah R, Chabook N, Rostami O, et al. PVA/starch films: An updated review of their preparation, characterization, and diverse applications in the food industry. *Polymer Testing*. 2023;118.
13. Uyanga KA, Daoud WA. Green and sustainable carboxymethyl cellulose-chitosan composite hydrogels: Effect of crosslinker on microstructure. *Cellulose*. 2021;28(9):5493-5512.
14. Thakur S, Thakur VK, Arotiba OA. History, Classification, Properties and Application of Hydrogels: An Overview. In: Thakur VK, Thakur MK. *Hydrogels: Recent Advances*. UK: Springer; 2018.
15. El Sayed MM. Production of Polymer Hydrogel Composites and Their Applications. *Journal of Polymers and the Environment*. 2023;31(7):2855-2879.
16. Mishra S, Rani P, Sen G, Dey KP. Preparation, Properties and Application of Hydrogels: A Review. In: Thakur VK, Thakur MK. *Hydrogels: Recent Advances*. UK: Springer; 2018.
17. Sethi S, Medha, Thakur S, et al. Malic acid cross-linked chitosan based hydrogel for highly effective removal of chromium (VI) ions from aqueous environment. *Reactive & Functional Polymers*. 2022;177:19.

18. Jiang X, Li CL, Han Q. Modulation of swelling of PVA hydrogel by polymer and crosslinking agent concentration. *Polymer Bulletin*. 2023;80:1303-1320.
19. Kumar A, Han SS. PVA-based hydrogels for tissue engineering: A review. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. 2017;66(4):159-182.
20. Nthoiwa KKM, Diaz CA, Chaudhari Y. Vinyl Alcohol Polymers. In: Olabisi O, Adewale K. *Handbook of Thermoplastics*. 2nd Edition ed: CRC Press; 2016.
21. Goksen G, Fabra MJ, Perez-Cataluna A, Ekiz HI, Sanchez G, Lopez-Rubio A. Biodegradable active food packaging structures based on hybrid cross-linked electrospun polyvinyl alcohol fibers containing essential oils and their application in the preservation of chicken breast fillets. *Food Packaging and Shelf Life*. 2021;27:8.
22. Mitrea L, Calinoiu LF, Martau GA, et al. Poly(vinyl alcohol)-Based Biofilms Plasticized with Polyols and Colored with Pigments Extracted from Tomato By-Products. *Polymers*. 2020;12(3):19.
23. Huang SM, Liu SM, Tseng HY, Chen WC. Effect of Citric Acid on Swelling Resistance and Physicochemical Properties of Post-Crosslinked Electrospun Polyvinyl Alcohol Fibrous Membrane. *Polymers*. 2023;15(7):13.
24. Kanmaz N, Saloglu D, Hizal J. Humic acid embedded chitosan/poly (vinyl alcohol) pH-sensitive hydrogel: Synthesis, characterization, swelling kinetic and diffusion coefficient. *Chemical Engineering Communications*. 2019;206(9):1168-1180.
25. Salihu R, Abd Razak SI, Zawawi NA, et al. Citric acid: A green cross-linker of biomaterials for biomedical applications. *European Polymer Journal*. 2021;146:12.
26. Birck C, Degoutin S, Tabary N, Miri V, Bacquet M. New crosslinked cast films based on poly(vinyl alcohol): Preparation and physico-chemical properties. *Express Polymer Letters*. 2014;8(12):941-952.
27. Sabzi M, Afshari MJ, Babaahmadi M, Shafagh N. pH-dependent swelling and antibiotic release from citric acid crosslinked poly(vinyl alcohol) (PVA)/nano silver hydrogels. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*. 2020;188:10.
28. Iyyappan J, Baskar G, Gnansounou E, et al. Recent advances in microbial production of malic acid from renewable byproducts. *Reviews in Environmental Science and Bio-Technology*. 2019;18(3):579-595.
29. Gao Y, Ye H, Wang LW, Liu MH. Experimental investigation of the effects of crosslinking processes on the swelling and hygroscopic performances of a poly(vinyl alcohol) membrane. *Journal of Applied Polymer Science*. 2017;134(7):7.
30. Ukaji Y, Soeta T. Acetogenin (Polypropionate) Derived Auxiliaries: Tartaric Acid. In: Yamamoto H, Carreira E. *Comprehensive Chirality*. Vol 3. 1st. Edition ed: Elsevier; 2012.
31. Bozdogan A, Aksakal B, Denktas C, Salt Y. Prestretching effect and recovery process of polyvinyl alcohol film crosslinked with tartaric acid. *Journal of Applied Polymer Science*. 2020;137(46):15.
32. Sarker SD, Nahar L. *Chemistry for Pharmacy Students: General, Organic and Natural Product Chemistry*. 1st. Edition ed. UK: John Wiley & Sons; 2007.
33. Khan Z, Javed F, Shamair Z, et al. Current developments in esterification reaction: A review on process and parameters. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 2021;103:80-101.
34. Peng FB, Jiang ZY, Hoek EMV. Tuning the molecular structure, separation performance and interfacial properties of poly(vinyl alcohol)-polysulfone

- interfacial composite membranes. *Journal of Membrane Science*. 2011;368(1-2):26-33.
35. Dlamini DS, Wang JW, Mishra AK, Mamba BB, Hoek EMV. Effect of Cross-Linking Agent Chemistry and Coating Conditions on Physical, Chemical, and Separation Properties of PVA-Psf Composite Membranes. *Separation Science and Technology*. 2014;49(1):22-29.
 36. Altaf F, Niazi MBK, Jahan Z, et al. Synthesis and Characterization of PVA/Starch Hydrogel Membranes Incorporating Essential Oils Aimed to be Used in Wound Dressing Applications. *Journal of Polymers and the Environment*. 2021;29(1):156-174.
 37. Valdes C, Valdes O, Bustos D, et al. Use of Poly(vinyl alcohol)-Malic Acid (CLHPMA) Hydrogels and Chitosan Coated Calcium Alginate (CCCA) Microparticles as Potential Sorbent Phases for the Extraction and Quantitative Determination of Pesticides from Aqueous Solutions. *Polymers*. 2021;13(22):20.
 38. Zhang QY, Huang XY, Zhang L, Jin ZX. Isothermal Titration Calorimetry Directly Measures the Selective Swelling of Block Copolymer Vesicles in the Presence of Organic Acid. *Acs Omega*. 2022;7(12):10580-10587.
 39. Kubeczka K-H. History and Sources of Essential Oil Research. In: Başer KHC, Buchbauer G. *Handbook of Essential Oils - Science, Technology, and Applications*. 3rd Edition ed: CRC Press; 2020.
 40. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Waomar M. Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*. 2008;46(2):446-475.
 41. Adeyemi AD, Oluigbo CC, Esan AO, et al. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential oils of 14 known Ficus species - A Concise Review. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2022;12(6):8003-8034.
 42. Sharma K, Babaei A, Oberoi K, Aayush K, Sharma R, Sharma S. Essential Oil Nanoemulsion Edible Coating in Food Industry: a Review. *Food and Bioprocess Technology*. 2022;15(11):2375-2395.
 43. Razola-Diaz MD, Guerra-Hernandez EJ, Garcia-Villanova B, Verardo V. Recent developments in extraction and encapsulation techniques of orange essential oil. *Food Chemistry*. 2021;354:13.
 44. Franz C, Novak J. Sources of Essential Oils. In: Başer KHC, Buchbauer G. *Handbook of Essential Oils - Science, Technology, and Applications*. 3rd Edition ed: CRC Press; 2020.
 45. Guzman C, Zara R. Vanilla. In: V. PK. *Handbook of herbs and spices*. Vol 1. 2nd. Edition ed: Woodhead Publishing Series; 2012.
 46. Abreu-Runkel R. *Vanilla: A Global History*. 1st. Edition ed. UK: Reaktion Books Ltd; 2020.
 47. Grisoni M, Nany F. The beautiful hills: half a century of vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) breeding in Madagascar. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2021;68(5):1691-1708.
 48. Kaur K, Sharma R, Singh S. Bioactive composition and promising health benefits of natural food flavors and colorants: potential beyond their basic functions. *Pigment & Resin Technology*. 2020;49(2):110-118.
 49. Hernández-Fernández MA, García-Pinilla S, Ocampo-Salinas OI, et al. Microencapsulation of Vanilla Oleoresin (*V. planifolia* Andrews) by Complex Coacervation and Spray Drying: Physicochemical and Microstructural Characterization. *Foods*. 2020;9(10):17.
 50. Chambers AH. *Vanilla (Vanilla spp.) Breeding*. In: Al-Khayri JM, Jain SM, Johnson DV. *Advances in Plant Breeding Strategies: Industrial and Food Crops*. Vol 6. First edition ed: Springer; 2019.

51. Toth S, Lee KJ, Havkin-Frenkel D, Belanger FC, Hartman TG. Volatile Compounds in Vanilla. In: Havkin-Frenkel D, Belanger FC. 1st ed. ed. UK: Wiley-Blackwell Publishing Ltd.; 2011.
52. Nurdjannah N, Bermawie N. Cloves. In: Peter KV. Handbook of herbs and spices. Vol 1. 2nd Edition ed: Woodhead Publishing Limited; 2012.
53. Devkota HP, Adhikari-Devkota A. Cold pressed clove (*Syzygium aromaticum*) oil. In: Ramadan MF. Cold Pressed Oils - Green Technology, Bioactive Compounds, Functionality, and Applications. 1st Edition ed: Elsevier; 2020.
54. Mbaveng AT, Kuete V. *Syzygium aromaticum*. In: Kuete V. Medicinal spices and vegetables from Africa - Therapeutic Potential against Metabolic, Inflammatory, Infectious and Systemic Diseases. 1st Edition ed: Elsevier; 2017.
55. Danthu P, Penot E, Ranoarisoa KM, et al. The clove tree of Madagascar : a success story with an unpredictable future. Bois Et Forets Des Tropiques. 2014(320):83-96.
56. Huerta RR, Silva EK, El-Bialy T, Saldana MDA. Clove essential oil emulsion-filled cellulose nanofiber hydrogel produced by high-intensity ultrasound technology for tissue engineering applications. Ultrasonics Sonochemistry. 2020;64:10.
57. Kumar N, Khurana SMP, Pandey VN. Application of clove and dill oils as an alternative of salphos for chickpea food seed storage. Scientific Reports. 2021;11(1):10.
58. Bora H, Kamle M, Mahato DK, Tiwari P, Kumar P. Citrus Essential Oils (CEOs) and Their Applications in Food: An Overview. Plants-Basel. 2020;9(3):25.
59. Brah AS, Armah FA, Obuah C, Akwetey SA, Adokoh CK. Toxicity and therapeutic applications of citrus essential oils (CEOs): a review. International Journal of Food Properties. 2023;26(1):301-326.
60. Aydeniz-Guneser B. Cold pressed orange (*Citrus sinensis*) oil. In: Ramadan, F. M. Cold Pressed Oils - Green Technology, Bioactive Compounds, Functionality and Applications. 1st Edition, Elsevier; 2020.
61. Souza J, Santos GS, Barbosa TC, et al. Citrus sinensis Essential Oil-Based Microemulsions: Green Synthesis, Characterization, and Antibacterial and Larvicide Activities. Acs Food Science & Technology. 2021;1(3):462-469.
62. Giunti G, Palermo D, Laudani F, Algeri GM, Campolo O, Palmeri V. Repellence and acute toxicity of a nano-emulsion of sweet orange essential oil toward two major stored grain insect pests. Industrial Crops and Products. 2019;142:8.
63. Verdeguer M, Sánchez-Moreiras AM, Araniti F. Phytotoxic Effects and Mechanism of Action of Essential Oils and Terpenoids. Plants-Basel. 2020;9(11):52.
64. Campolo O, Giunti G, Laigle M, Michel T, Palmeri V. Essential oil-based nano-emulsions: Effect of different surfactants, sonication and plant species on physicochemical characteristics. Industrial Crops and Products. 2020;157:8.
65. Liu H, Chu BB, Li JY, et al. Effect of hydroxypropylation on physical properties, antifungal and mycotoxin inhibitory activities of clove oil emulsions coated with chitosan. Food Bioscience. 2022;50:8.
66. Strelková T, Nemes B, Kovács A, Novotny D, Bozik M, Kloucek P. Inhibition of Fungal Strains Isolated from Cereal Grains via Vapor Phase of Essential Oils. Molecules. 2021;26(5):10.
67. Arena JS, Zygadlo JA, Defagó MT. Bioactive essential oil-treated feed as a potential tool for the management of *Alphitobius diaperinus* in poultry farms. International Journal of Tropical Insect Science. 2022;42(5):3447-3454.

68. Sayed S, Soliman MM, Al-Otaibi S, et al. Toxicity, Deterrent and Repellent Activities of Four Essential Oils on *Aphis punicae* (Hemiptera: Aphididae). *Plants-Basel*. 2022;11(3):13.
69. da Silva SG, Sant'Ana J, Jahnke SM, dos Santos CDR. Effects of essential oils from the Brazilian pepper tree, eucalyptus and citronella on brassica aphids *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) and their parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Plant Protection Research*. 2023;63(3):286-296.
70. Roberts JM, Clunie BJ, Leather SR, Harris WE, Pope TW. Scents and sensibility: Best practice in insect olfactometer bioassays. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*. 2023:13.
71. Werrie PY, Durenne B, Delaplace P, Fauconnier ML. Phytotoxicity of Essential Oils: Opportunities and Constraints for the Development of Biopesticides. A Review. *Foods*. 2020;9(9):24.
72. Amri I, Khammassi M, Gargouri S, et al. Tunisian Pine Essential Oils: Chemical Composition, Herbicidal and Antifungal Properties. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2022;25(3):430-443.
73. Ulukanli Z, Çenet M, Öztürk B, Bozok F, Karabörklü S, Demirci SC. Chemical Characterization, Phytotoxic, Antimicrobial and Insecticidal Activities of Vitex agnus-castus' Essential Oil from East Mediterranean Region. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2015;18(6):1500-1507.
74. Abd-ElGawad AM, El Gendy AEG, Assaeed AM, et al. Phytotoxic Effects of Plant Essential Oils: A Systematic Review and Structure-Activity Relationship Based on Chemometric Analyses. *Plants-Basel*. 2021;10(1):16.
75. Rangsuwan S, Rattanakreetakul C, Pongpisutta R. Competency of Clove and Cinnamon Essential Oil Fumigation against Toxigenic and Atoxigenic *Aspergillus flavus* Isolates. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 2021;15(3):1325-1337.
76. Castro DP, Kieffer VZ, Santana RMC. Incorporation of organic acids in the crosslinking of polyvinyl alcohol hydrogels. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*. 2023;33(3):11.
77. Castro DP, Santana RMC. Influence of chemical nature of citric and tartaric acids on reaction time of the crosslinking of polyvinyl alcohol hydrogels. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2024;96(1).
78. ASTM E1252-98(2021). Standard Practice for General Techniques for Obtaining Infrared Spectra for Qualitative Analysis 2021.
79. Awad SA, Khalaf EM. Evaluation of the photostabilizing efficiency of polyvinyl alcohol-zinc chloride composites. *Journal of Thermoplastic Composite Materials*. 2020;33(1):69-84.
80. ASTM E1131-20. Standard Test Method for Compositional Analysis by Thermogravimetry 2020.
81. ASTM D3418-21. Standard Test Method for Transition Temperatures and Enthalpies of Fusion and Crystallization of Polymers by Differential Scanning Calorimetry 2021.
82. Sonker AK, Rathore K, Teotia AK, Kumar A, Verma V. Rapid synthesis of high strength cellulose-poly(vinyl alcohol) (PVA) biocompatible composite films via microwave crosslinking. *Journal of Applied Polymer Science*. 2019;136(17):9.
83. ASTM D5229/D5229M-20. Standard Test Method for Moisture Absorption Properties and Equilibrium Conditioning of Polymer Matrix Composite Materials 2020.

84. ASTM E104-20a. Standard Practice for Maintaining Constant Relative Humidity by Means of Aqueous Solutions 2020.
85. Peleg M. An empirical-model for the description of moisture sorption curves. *Journal of Food Science*. 1988;53(4):1216-&.
86. Hoti G, Caldera F, Cecone C, et al. Effect of the Cross-Linking Density on the Swelling and Rheological Behavior of Ester-Bridged beta-Cyclodextrin Nanosponges. *Materials*. 2021;14(3):20.
87. Klucakova M, Havlikova M, Mravec F, Pekar M. Diffusion of dyes in polyelectrolyte-surfactant hydrogels. *Rsc Advances*. 2022;12(21):13242-13250.
88. Adams RP. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. 4th Edition ed. Illinois, United States: Allured Publishing Corporation; 2007.
89. Wiley Registry®/NIST Mass Spectral Library [computer program]. Version 2023.
90. Vandendool H, Kratz PD. A generalization of retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography*. 1963;11(4):463-&.
91. Parhomenko OV, Kolomiichuk SV, Omelianov DD, Brygadyrenko VV. Potential use of synthetic and natural aromatic mixtures in prevention from *Shelfordella lateralis* cockroaches. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2022;13(2):174-179.
92. Tomacheski D, Pittol M, Simões DN, Ribeiro VF, Santana RMC. Impact of silver ions and silver nanoparticles on the plant growth and soil microorganisms. *Global J. Environ. Sci. Manage*. 2017;3(4):341-350.
93. Fiskesjö G. The allium test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*. 1985;102(1):99-112.
94. Palsikowski PA, Roberto MM, Sommaggio LRD, Souza PMS, Morales AR, Marin-Morales MA. Ecotoxicity Evaluation of the Biodegradable Polymers PLA, PBAT and its Blends Using *Allium cepa* as Test Organism. *Journal of Polymers and the Environment*. 2018;26(3):938-945.
95. Brandão JAO. Avaliação da degradação abiótica de filmes de PEAD/PEBD processados com aditivos pró-degradantes. LUME/UFRGS: Federal University of Rio Grande do Sul; 2021.
96. R Core Team and contributors worldwide Maintainer: R Core Team <do-use-Contact-address@r-project.org> [computer program]. Version 4.2.2, 2022.
97. Half-Normal Plots with Simulation Envelopes. Maintainer: Rafael de Andrade Moral <rafael_moral@yahoo.com.br> [computer program]. Version 1.2-62018
98. Simultaneous Inference in General Parametric Models. Maintainer: Torsten Hothorn <Torsten.Hothorn@R-project.org> [computer program]. Version 1.4-20, 2022.
99. Franco E, Dussan R, Navia DP, Amu M. Study of the Annealing Effect of Starch/Polyvinyl Alcohol Films Crosslinked with Glutaraldehyde. *Gels*. 2021;7(4):10.
100. Truong YB, Choi J, Mardel J, et al. Functional Cross-Linked Electrospun Polyvinyl Alcohol Membranes and Their Potential Applications. *Macromolecular Materials and Engineering*. 2017;302(8):9.
101. Wei QQ, Zhang Q, Chen JY, et al. Adsorption behavior and mechanism of tetracycline onto hematite: Effects of low-molecular-weight organic acids. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*. 2022;641:9.

102. Zhang YZ, Lin SC, Qiao JQ, et al. Malic acid-enhanced chitosan hydrogel beads (mCHBs) for the removal of Cr(VI) and Cu(II) from aqueous solution. *Chemical Engineering Journal*. 2018;353:225-236.
103. Yu D, Feng YY, Xu JX, Kong BH, Liu Q, Wang H. Fabrication, characterization, and antibacterial properties of citric acid crosslinked PVA electrospun microfibre mats for active food packaging. *Packaging Technology and Science*. 2021;34(6):361-370.
104. Suganthi S, Vignesh S, Sundar JK, Raj V. Fabrication of PVA polymer films with improved antibacterial activity by fine-tuning via organic acids for food packaging applications. *Applied Water Science*. 2020;10(4):11.
105. Kim SJ, Lee KJ, Kim IY, Lee YM, Kim SI. Swelling kinetics of modified poly(vinyl alcohol) hydrogels. *Journal of Applied Polymer Science*. 2003;90(12):3310-3313.
106. El Sayed MM, Alaraby R, Amin A. Swelling Kinetics Investigation of Polymer Hydrogel Composed of Chitosan-g-(AA-AM). *Egyptian Journal of Chemistry*. 2021;64(10):5999-6005.
107. Borges FTP, Papavasiliou G, Teymour F. Characterizing the Molecular Architecture of Hydrogels and Crosslinked Polymer Networks beyond Flory-Rehner-I. Theory. *Biomacromolecules*. 2020;21(12):5104-5118.
108. Vyroubal D, Klucakova M, Ltd T. Diffusion of dyes in biopolymeric hydrogels. 12th International Conference on Nanomaterials - Research & Application (Nanocon 2020). 2021:379-384.
109. Fujimoto K, Yamawaki-Ogata A, Narita Y, Kotsuchibashi Y. Fabrication of Cationic Poly(vinyl alcohol) Films Cross-Linked Using Copolymers Containing Quaternary Ammonium Cations, Benzoxaborole, and Carboxy Groups. *Acs Omega*. 2021;6(27):17531-17544.
110. Akansha, Kaushal S, Arora A, Heena, Sharma P, Jangra R. Chemical composition and synergistic antifungal potential of *Nigella sativa* L. seeds and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & LM Perry buds essential oils and their major compounds, and associated molecular docking studies. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2023;26(3):602-625.
111. Alexa VT, Szuhaneck C, Cozma A, et al. Natural Preparations Based on Orange, Bergamot and Clove Essential Oils and Their Chemical Compounds as Antimicrobial Agents. *Molecules*. 2020;25(23):18.
112. da Silva CF, de Oliveira FSM, Gaetano VF, Vinhas GM, Cardoso SA. Orange essential oil as antimicrobial additives in poly(vinyl chloride) films. *Polimeros-Ciência e Tecnologia*. 2018;28(4):332-338.
113. Huynh PX, Tran NTH, Ly DTT, Nguyen TN, Le TD. Physicochemical properties, antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of essential oils from orange (*Citrus nobilis*) peel. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 2022;34(4):289-296.
114. Campolo O, Romeo FV, Malacrino A, et al. Effects of inert dusts applied alone and in combination with sweet orange essential oil against *Rhizopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) and wheat microbial population. *Industrial Crops and Products*. 2014;61:361-369.
115. Lyubushkin RA, Cherkashina NI, Pushkarskaya D, Matveenko DS, Shcherbakov AS, Ryzhkova YS. Renewable Polymers Derived from Limonene. *Chemengineering*. 2023;7(1):11.
116. Wang YT, Li B, Zhu LB, Wang P, Xu F, Zhang YJ. Octenyl Succinic Acid Starch-Stabilized Vanilla Essential Oil Pickering Emulsion: Preparation,

- Characterization, Antioxidant Activity, and Storage Stability. *Foods*. 2022;11(7):18.
117. Morlock GE, Busso M, Tomeba S, Sighicelli A. Effect-directed profiling of 32 vanilla products, characterization of multi-potent compounds and quantification of vanillin and ethylvanillin. *Journal of Chromatography A*. 2021;1652:13.
 118. Yeh CH, Chou CY, Wu CS, Chu LP, Huang WJ, Chen HC. Effects of Different Extraction Methods on Vanilla Aroma. *Molecules*. 2022;27(14):12.
 119. Pérez-Silva A, Odoux E, Brat P, et al. GC-MS and GC-olfactometry analysis of aroma compounds in a representative organic aroma extract from cured vanilla (*Vanilla planifolia* G. Jackson) beans. *Food Chemistry*. 2006;99(4):728-735.
 120. Shlosman K, Rein DM, Shemesh R, Koifman N, Caspi A, Cohen Y. Encapsulation of Thymol and Eugenol Essential Oils Using Unmodified Cellulose: Preparation and Characterization. *Polymers*. 2023;15(1):12.
 121. Zhang YX, Ma JZ, Xu QN. Polyelectrolyte complex from cationized casein and sodium alginate for fragrance controlled release. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*. 2019;178:439-444.
 122. Gheorghita D, Grosu E, Robu A, et al. Essential Oils as Antimicrobial Active Substances in Wound Dressings. *Materials*. 2022;15(19):30.
 123. Rostami H, Nikoo AM, Rajabzadeh G, Niknia N, Salehi S. Development of cumin essential oil nanoemulsions and its emulsion filled hydrogels. *Food Bioscience*. 2018;26:126-132.
 124. Laudani F, Campolo O, Caridi R, et al. Aphicidal Activity and Phytotoxicity of *Citrus sinensis* Essential-Oil-Based Nano-Insecticide. *Insects*. 2022;13(12):11.
 125. Unnikrishnan S, Donovan J, Macpherson R, Tormey D. In-process analysis of pharmaceutical emulsions using computer vision and artificial intelligence. *Chemical Engineering Research & Design*. 2021;166:281-294.
 126. Raksa A, Sawaddee P, Raksa P, Aldred AK. Microencapsulation, chemical characterization, and antibacterial activity of *Citrus hystrix* DC (Kaffir Lime) peel essential oil. *Monatshefte Fur Chemie*. 2017;148(7):1229-1234.
 127. Gherman T, Popescu V, Carpa R, et al. Potential Use of Galium verum Essential Oil for Antibacterial Properties in Gelatin Based Hydrogels Prepared by Microwave Irradiation Technique. *Revista de Chimie*. 2018;69(3):575-580.
 128. Tian QR, Zhou WQ, Cai Q, Ma GH, Lian GP. Concepts, processing, and recent developments in encapsulating essential oils. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 2021;30:255-271.
 129. Taban A, Saharkhiz MJ, Khorram M. Formulation and assessment of nano-encapsulated bioherbicides based on biopolymers and essential oil. *Industrial Crops and Products*. 2020;149:11.
 130. Ureña-Amate MD, Socias-Viciano MD, Urbano-Juan MD, García-Alcaraz MD. Effects of pH and Crosslinking Agent in the Evaluation of Hydrogels as Potential Nitrate-Controlled Release Systems. *Polymers*. 2023;15(5):18.
 131. Dardouri T, Gautier H, Ben Issa R, Costagliola G, Gomez L. Repellence of *Myzus persicae* (Sulzer): evidence of two modes of action of volatiles from selected living aromatic plants. *Pest Management Science*. 2019;75(6):1571-1584.
 132. Espinoza J, Medina C, Aninir W, et al. Insecticidal, Repellent and Antifeedant Activity of Essential Oils from *Blepharocalyx cruckshanksii* (Hook. & Arn.) Nied. Leaves and *Pilgerodendron uviferum* (D. Don) Florin Heartwood against Horn Flies, *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). *Molecules*. 2021;26(22):14.

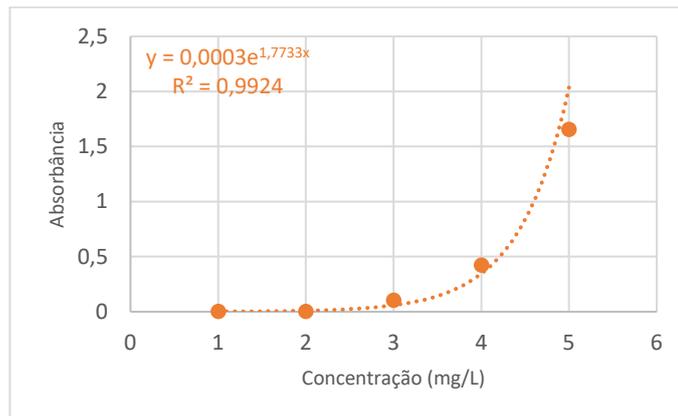
133. Alotaibi SS, Darwish H, Alzahrani AK, et al. Environment-Friendly Control Potential of Two Citrus Essential Oils against *Aphis punicae* and *Aphis illinoisensis* (Hemiptera: Aphididae). *Agronomy-Basel*. 2022;12(9):16.
134. Schröder ML, Glinwood R, Webster B, Ignell R, Krüger K. Olfactory responses of *Rhopalosiphum padi* to three maize, potato, and wheat cultivars and the selection of prospective crop border plants. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*. 2015;157(2):241-253.
135. Silva RL, Mello TR, Souza JPB, et al. Brazilian Cerrado biome essential oils to control the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Industrial Crops and Products*. 2022;178:10.
136. Deng YL, Wang CY, Liu YL, Chen P, Lin XS, Zhang Y. The first demonstration of a novel isolated fungus *Eutypella* sp. BJ associated with the biodegradation of polyvinyl alcohol. *Rsc Advances*. 2019;9(47):27398-27405.
137. Pawlowski A, Kaltchuk-Santos E, Brasil MC, Caramao EB, Zini CA, Soares GLG. Chemical composition of *Schinus lentiscifolius* March. essential oil and its phytotoxic and cytotoxic effects on lettuce and onion. *South African Journal of Botany*. 2013;88:198-203.
138. Leme DM, Marin-Morales MA. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research-Reviews in Mutation Research*. 2009;682(1):71-81.
139. Bhuia MS, Siam MSH, Ahamed MR, et al. Toxicity Analysis of Some Frequently Used Food Processing Chemicals Using *Allium cepa* Biomonitoring System. *Biology-Basel*. 2023;12(5):10.
140. Abd-ElGawad AM, El Gendy ANG, Assaeed AM, et al. Essential Oil Enriched with Oxygenated Constituents from Invasive Plant *Argemone ochroleuca* Exhibited Potent Phytotoxic Effects. *Plants-Basel*. 2020;9(8):13.
141. Azizan KA, Ghani NHA, Nawawi MF. Discrimination and prediction of the chemical composition and the phytotoxic activity of *Wedelia trilobata* essential oil (EO) using metabolomics and chemometrics. *Plant Biosystems*. 2022;156(1):217-231.
142. Fagodia SK, Singh HP, Batish DR, Kohli RK. Phytotoxicity and cytotoxicity of *Citrus aurantiifolia* essential oil and its major constituents: Limonene and citral. *Industrial Crops and Products*. 2017;108:708-715.
143. Han CX, Shao H, Zhou SX, et al. Chemical composition and phytotoxicity of essential oil from invasive plant, *Ambrosia artemisiifolia* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2021;211:9.
144. Liu Y, Sun LC, Huo YX, Guo SY. Strategies for improving the production of bio-based vanillin. *Microbial Cell Factories*. 2023;22(1):11.
145. Ahuja N, Singh HP, Batish DR, Kohli RK. Eugenol-inhibited root growth in *Avena fatua* involves ROS-mediated oxidative damage. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2015;118:64-70.
146. Gupta A, Jeyakumar E, Lawrence R. Journey of Limonene as an Antimicrobial Agent. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 2021;15(3):1094-1110.

APÊNDICE A – Dados utilizados para obtenção das curvas de calibração do corante vermelho de metila e dos OE por meio de espectroscopia UV-Vis

1 – Corante vermelho de metila

Dados utilizados: Concentração inicial 0,05 µM; Absorbância máx.: 513nm.

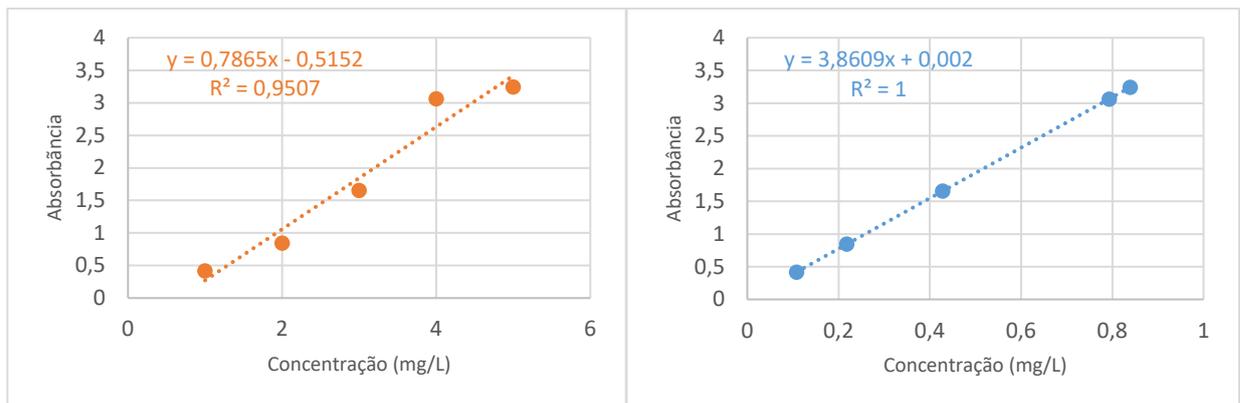
Figura 61 – Curva de calibração de corante vermelho de metila



2 – Óleo de baunilha (OEB)

Dados utilizados: Concentração inicial 0,839 mg/L; Absorbância máx.: 280nm.

Figura 62 – Curva de calibração de OEB: equipamento (a) e teoricamente (b)



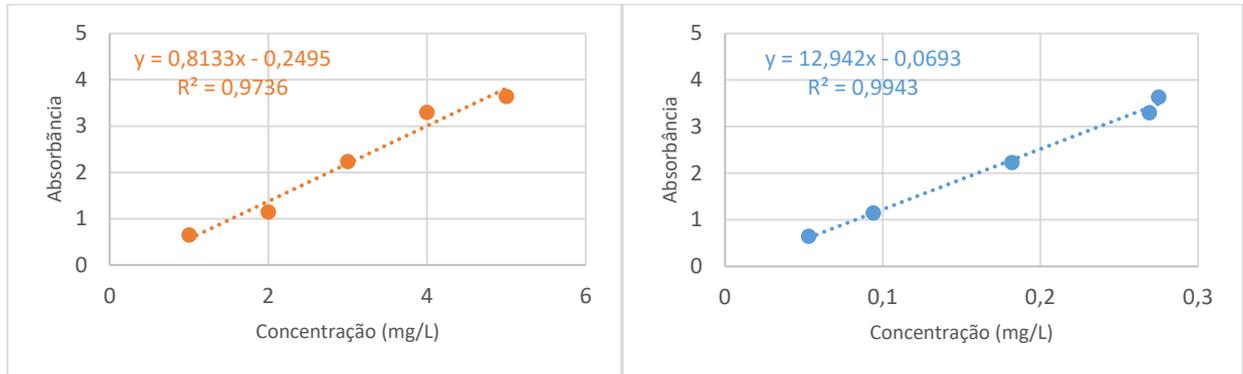
(a)

(b)

3 – Óleo de cravo (OEC)

Dados utilizados: concentração inicial 0,275 mg/L; Absorbância máx.: 228nm.

Figura 63 – Curva de calibração de OEC: equipamento (a) e teoricamente (b)



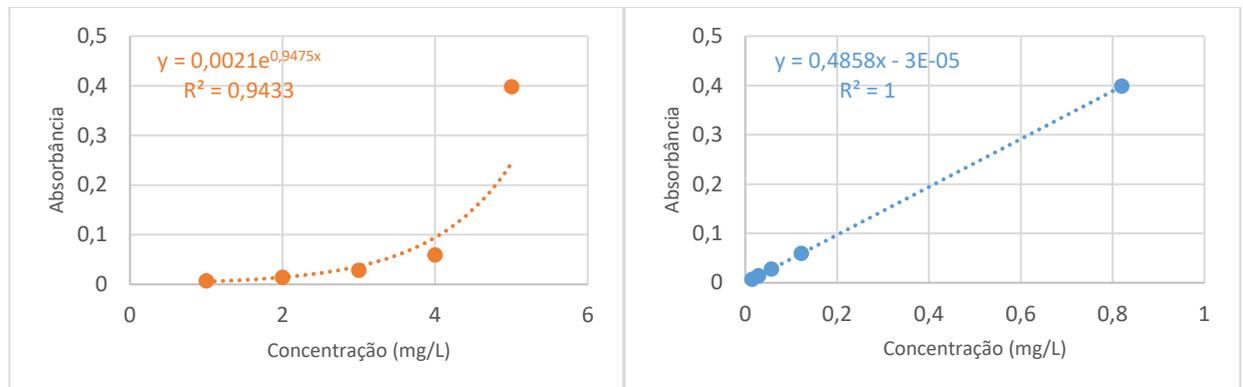
(a)

(b)

4 – Óleo de laranja (OEL)

Dados utilizados: Concentração inicial 0,820 mg/L; Absorbância máx.: 332nm.

Figura 64 – Curva de calibração de OEL: equipamento (a) e teoricamente (b)

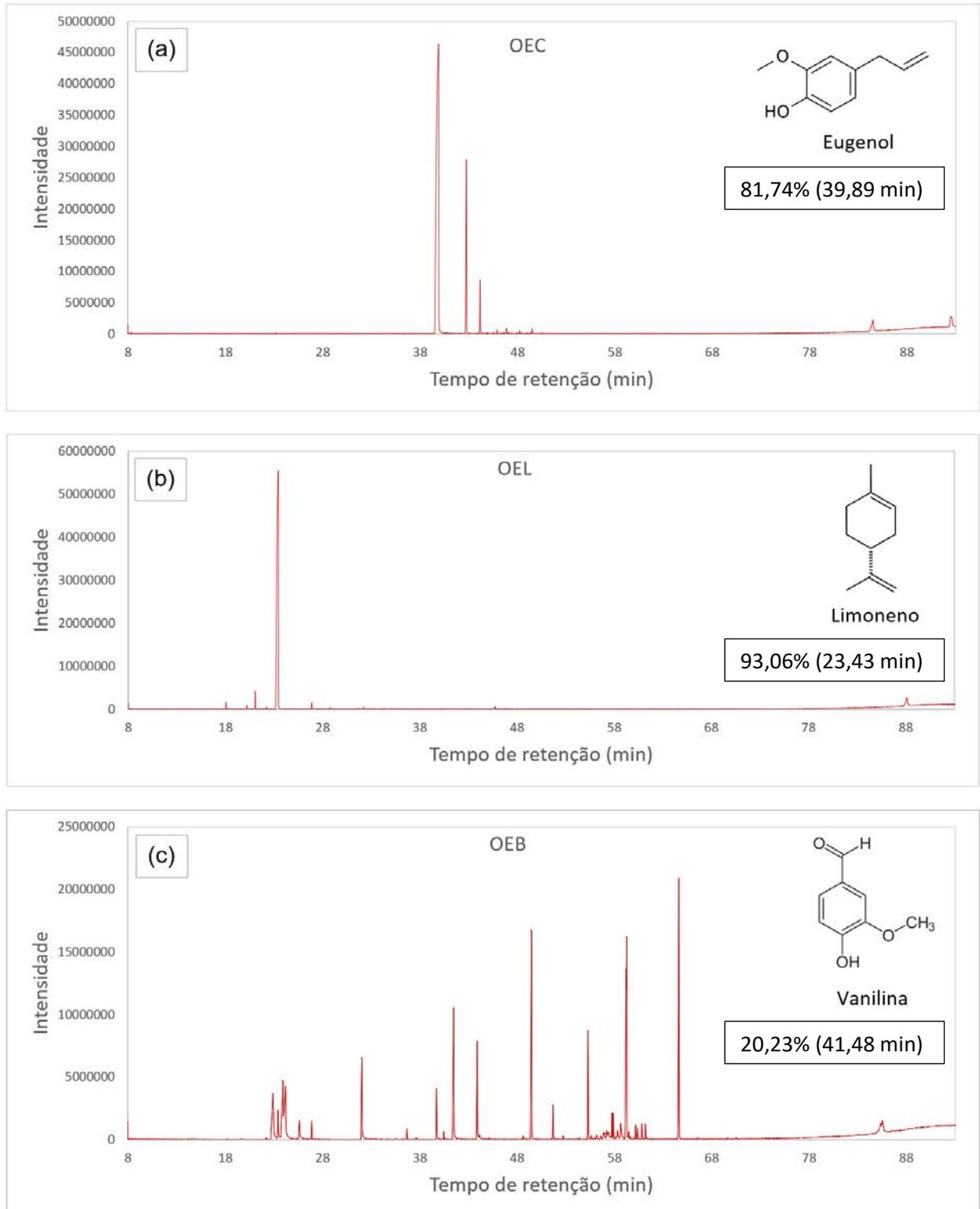


(a)

(b)

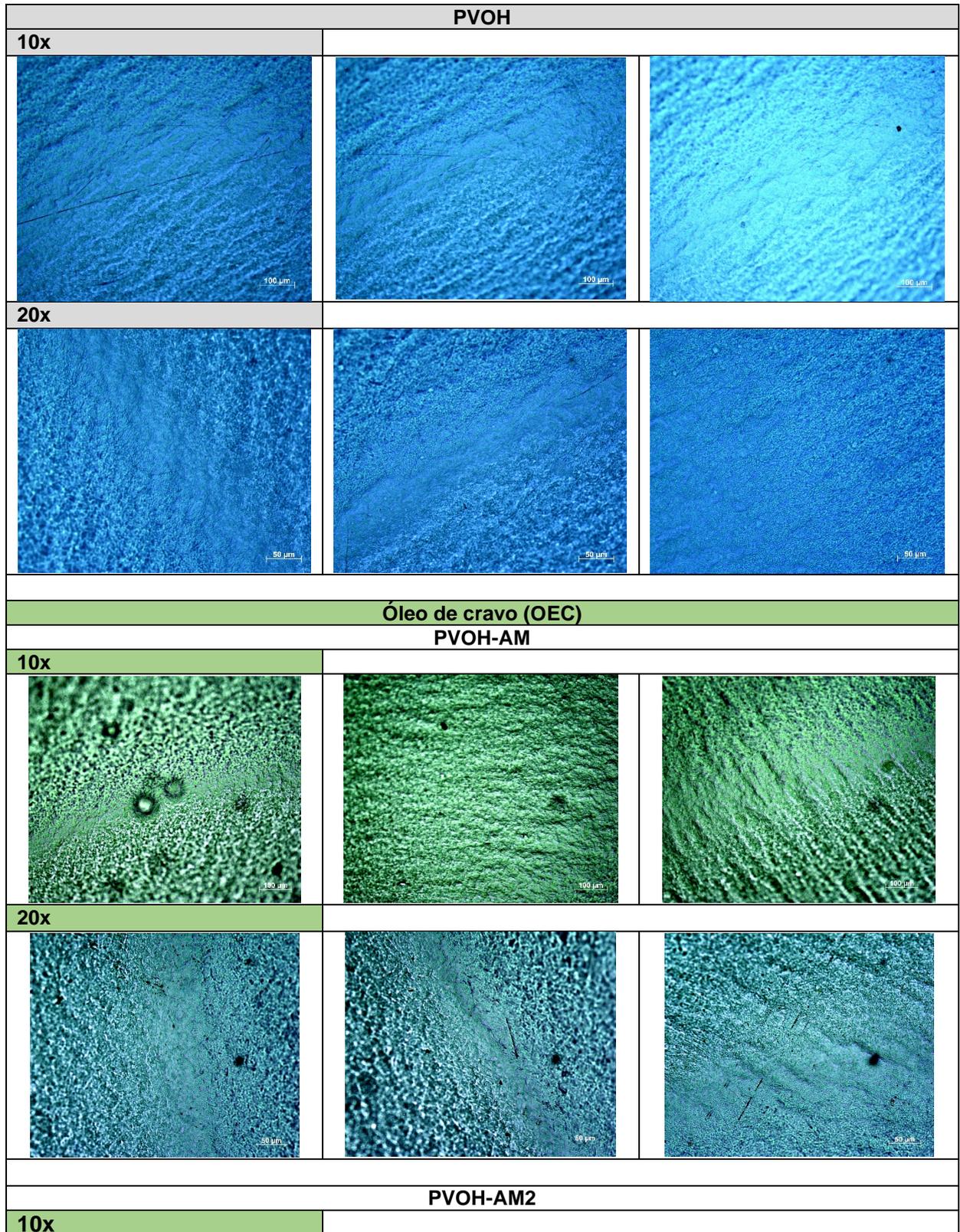
APÊNDICE B – Cromatogramas de OEC, OEL e OEB identificados por GC-MS

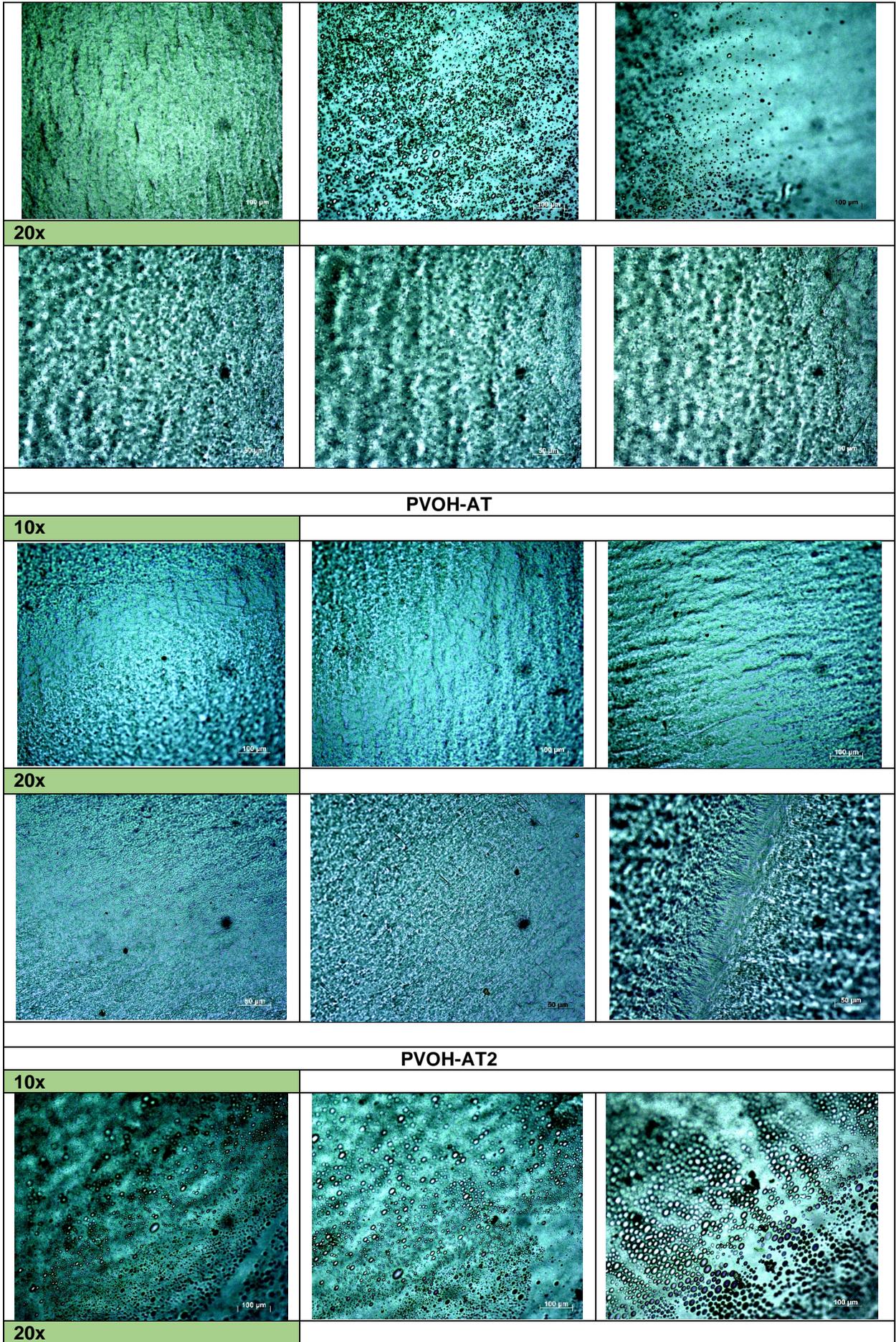
Figura 65 – Cromatogramas representativos e principal composto identificado em OEC (a), OEL (b) e OEB (c) por GC-MS

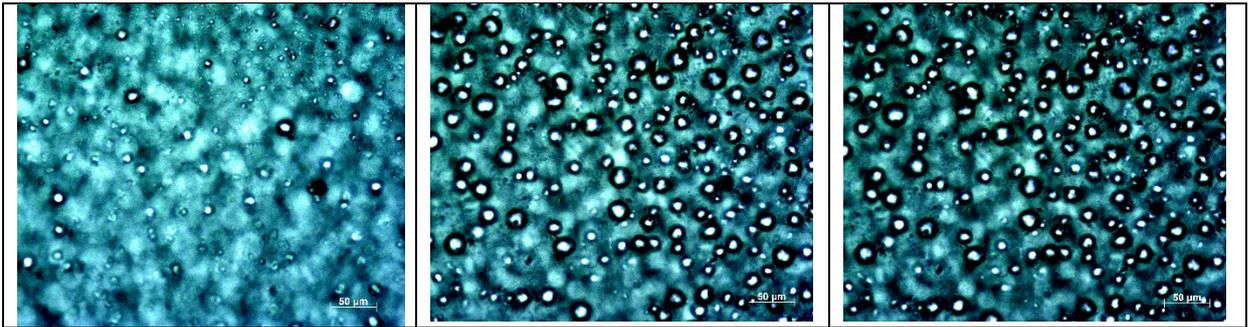


APÊNDICE C – Microscopias ópticas em diferentes ampliações de PVOH e hidrogéis, classificadas de acordo com o OE e tempo de síntese química

Figura 66 – Microscopias ópticas das amostras de PVOH e hidrogéis em diferentes ampliações de 10 e 20x

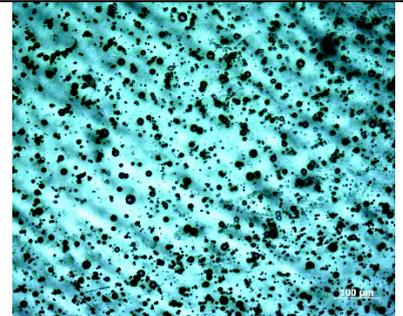
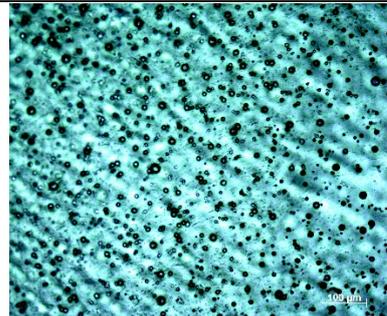
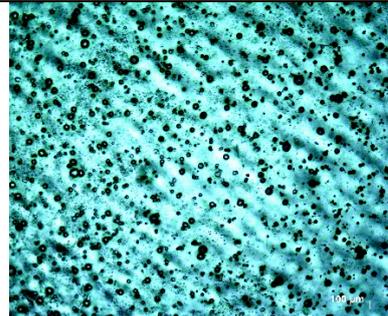




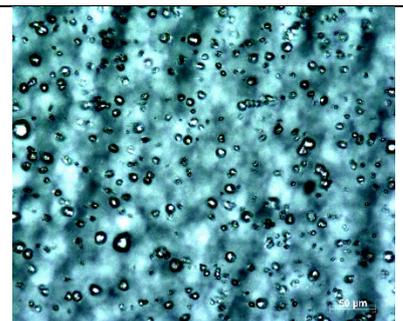
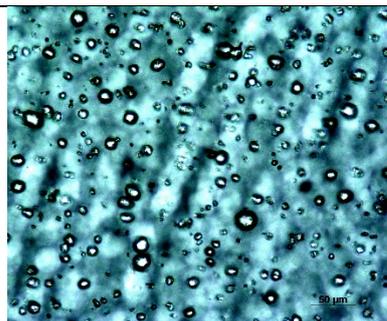
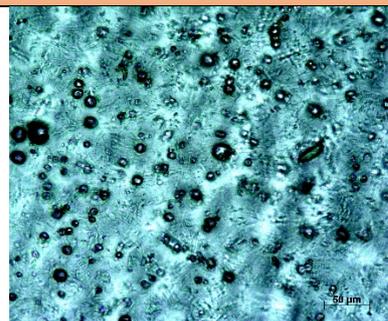


**Óleo de laranja (OEL)
PVOH-AM**

10x

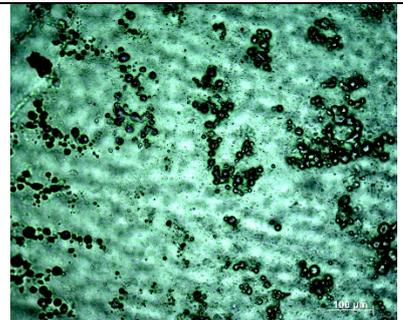
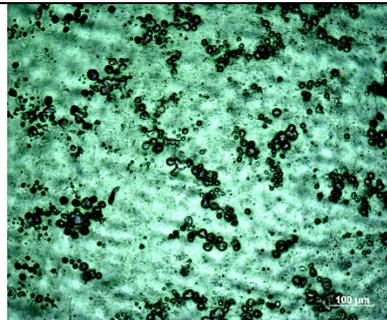
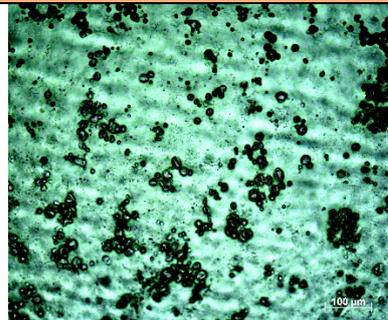


20x

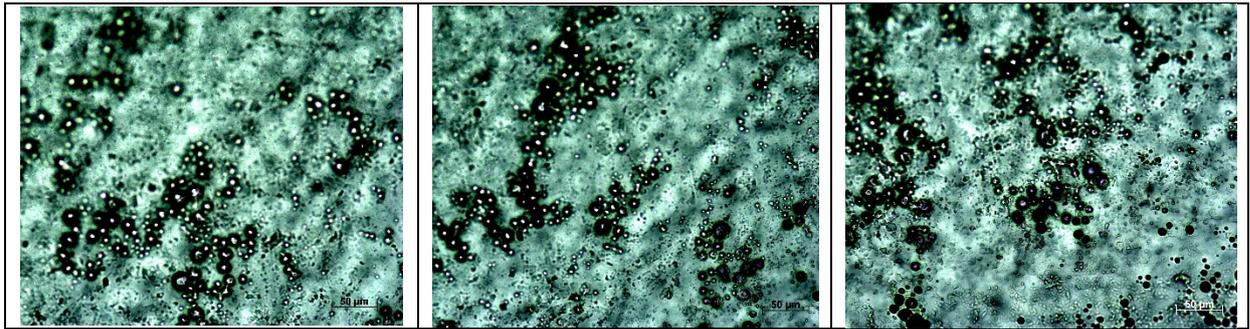


PVOH-AM2

10x

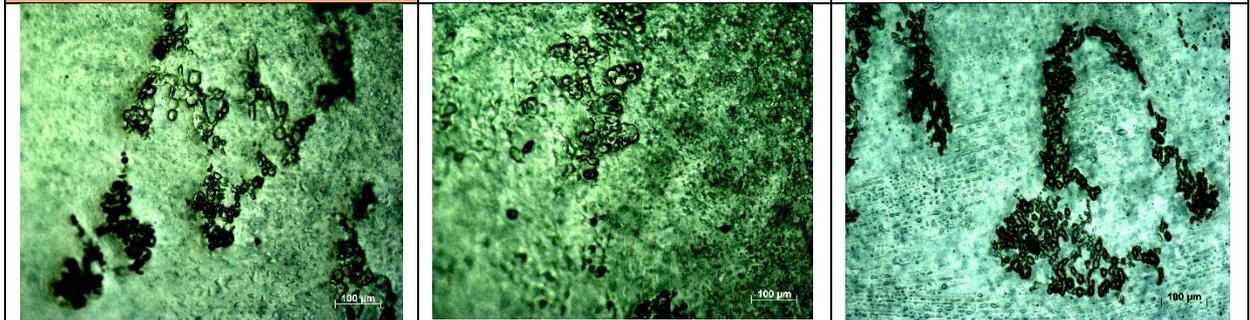


20x

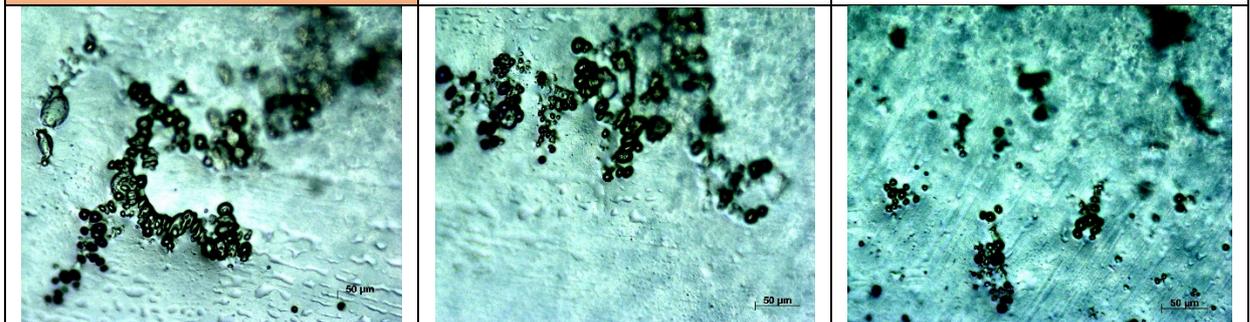


PVOH-AT

10x

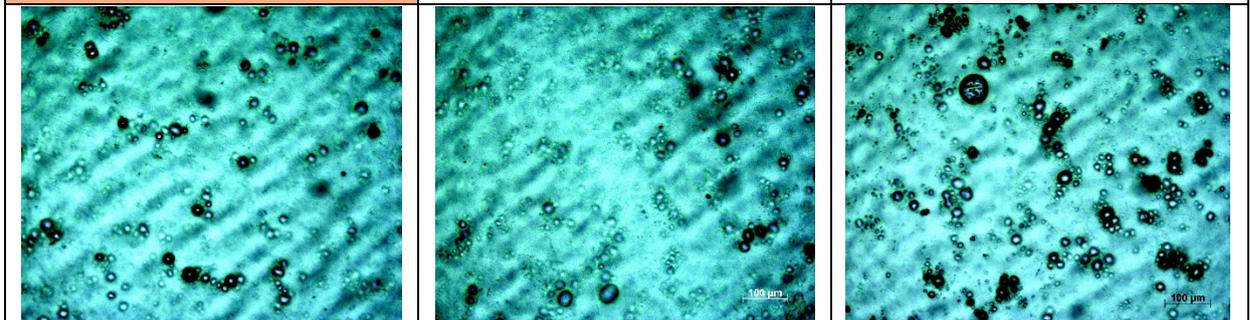


20x

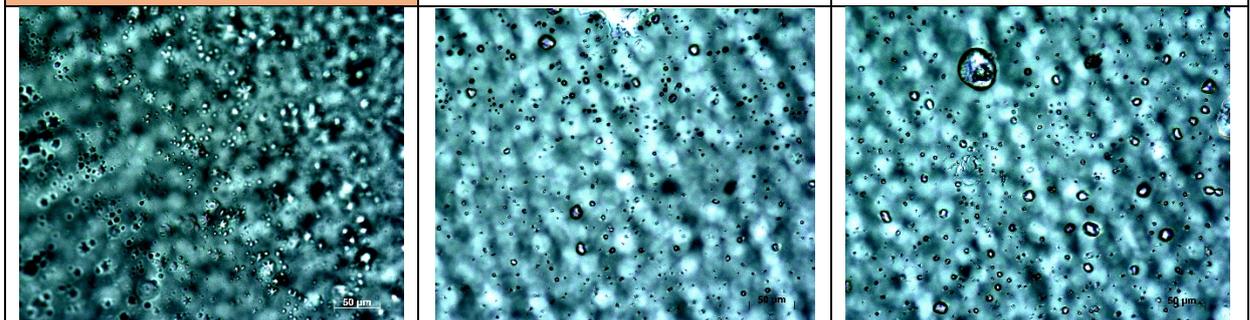


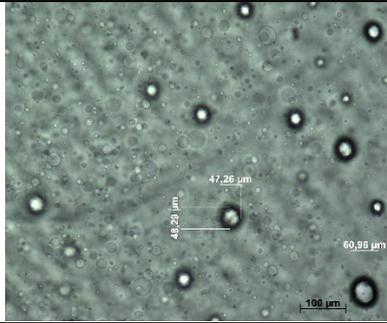
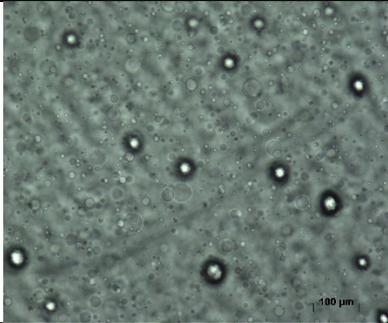
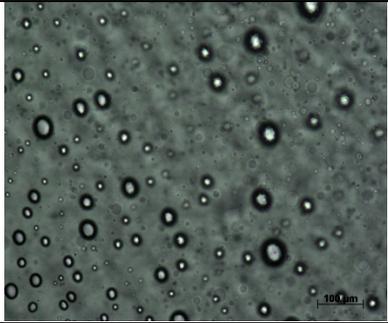
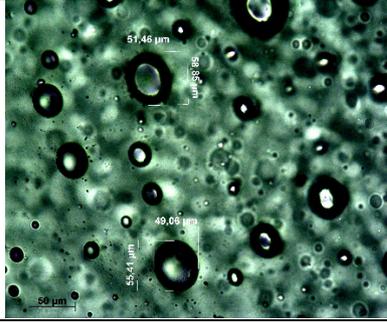
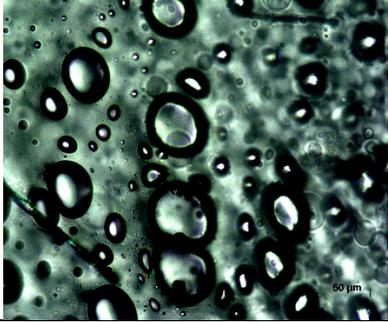
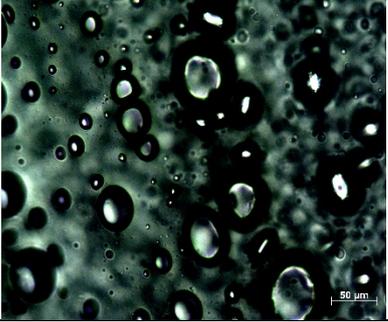
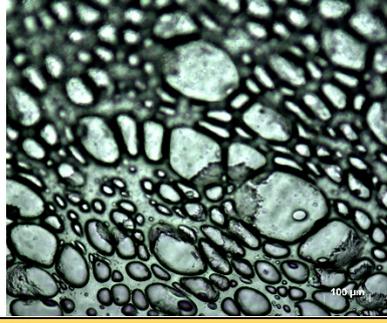
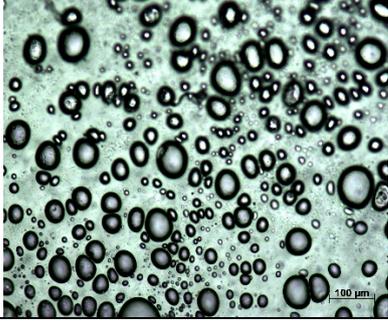
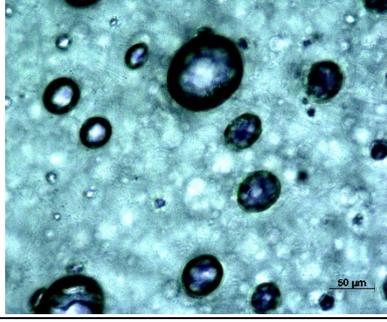
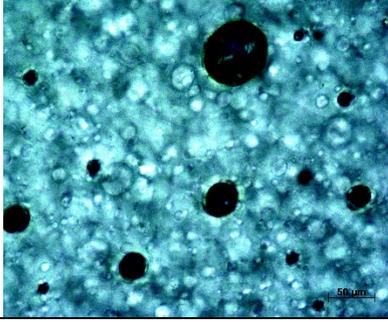
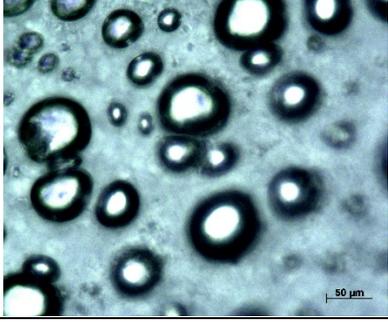
PVOH-AT2

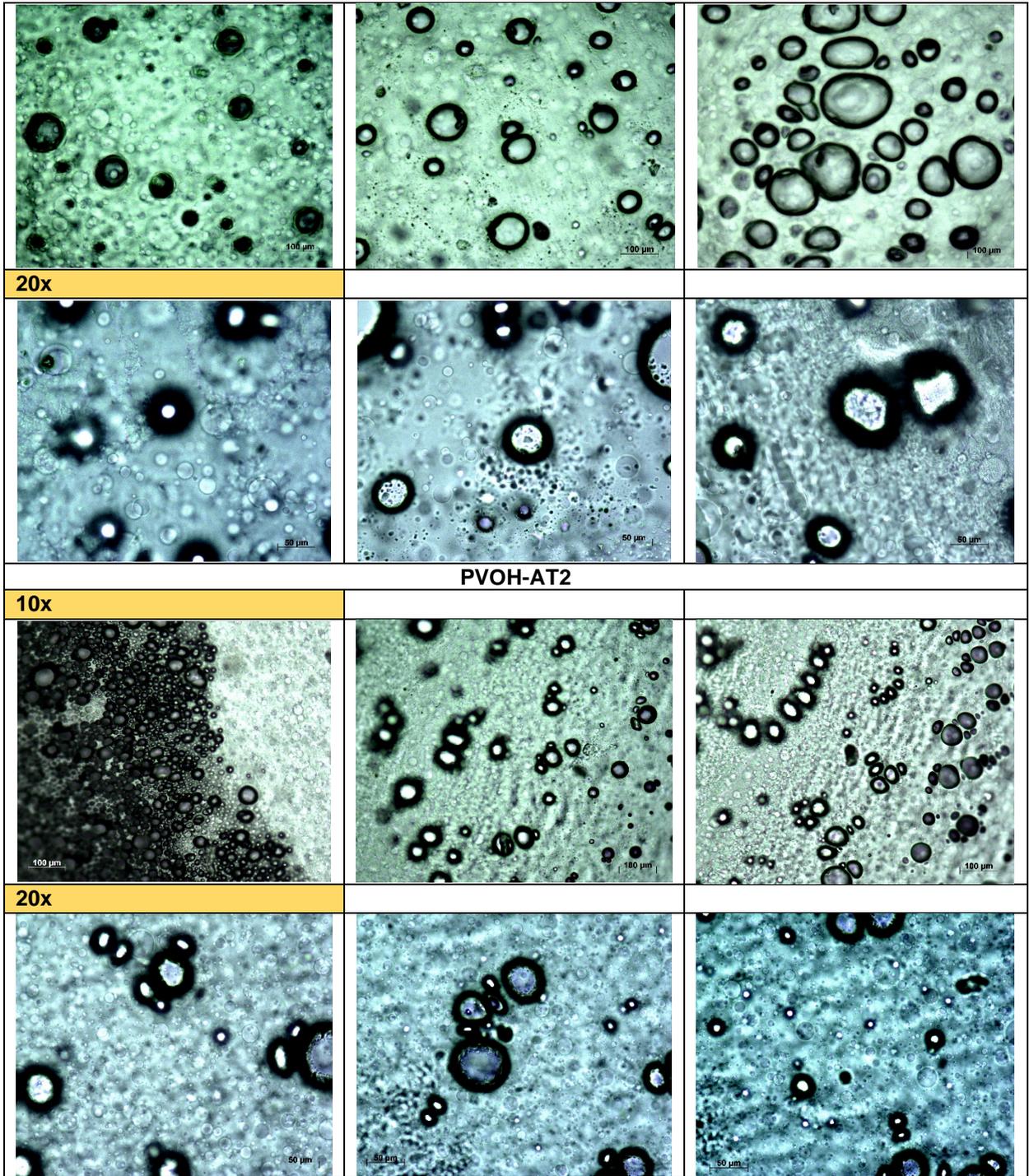
10x



20x



Óleo de baunilha (OEB)			
PVOH-AM			
10x			
20x			
PVOH-AM2			
10x			
20x			
PVOH-AT			
10x			



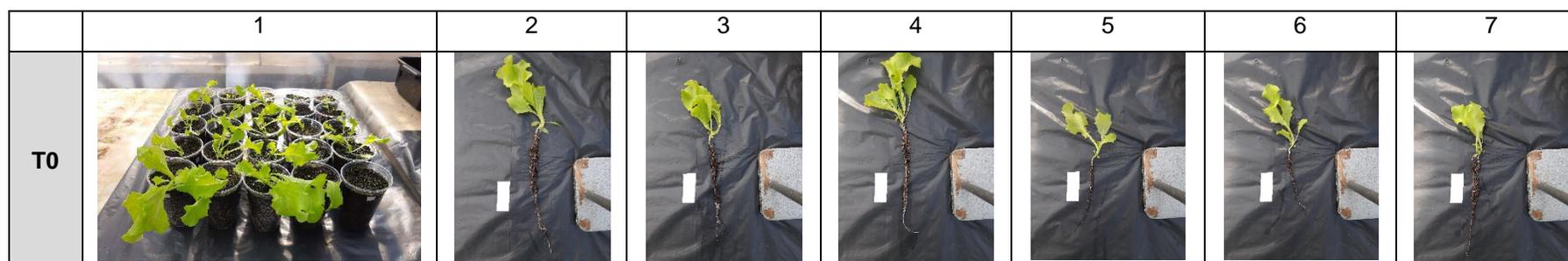
APÊNDICE D – Imagens de *Lactuca sativa* L. cultivadas e classificadas de acordo com o OE e tempo de síntese química

As imagens estão classificadas ilustrativamente sob a ordem de 6 amostras e foram selecionadas de acordo com a sequência do plantio inicial. O experimento foi realizado entre os meses de julho e agosto de 2023. A escala observada nas fotos em tarja branca paralela as raízes, corresponde a 5 cm de altura. Na Tabela 23 e Figura 67 são apresentadas e mostradas as classificações das alfaces após o bioensaio.

Tabela 23 – Identificação amostral das alfaces para o bioensaio de germinação

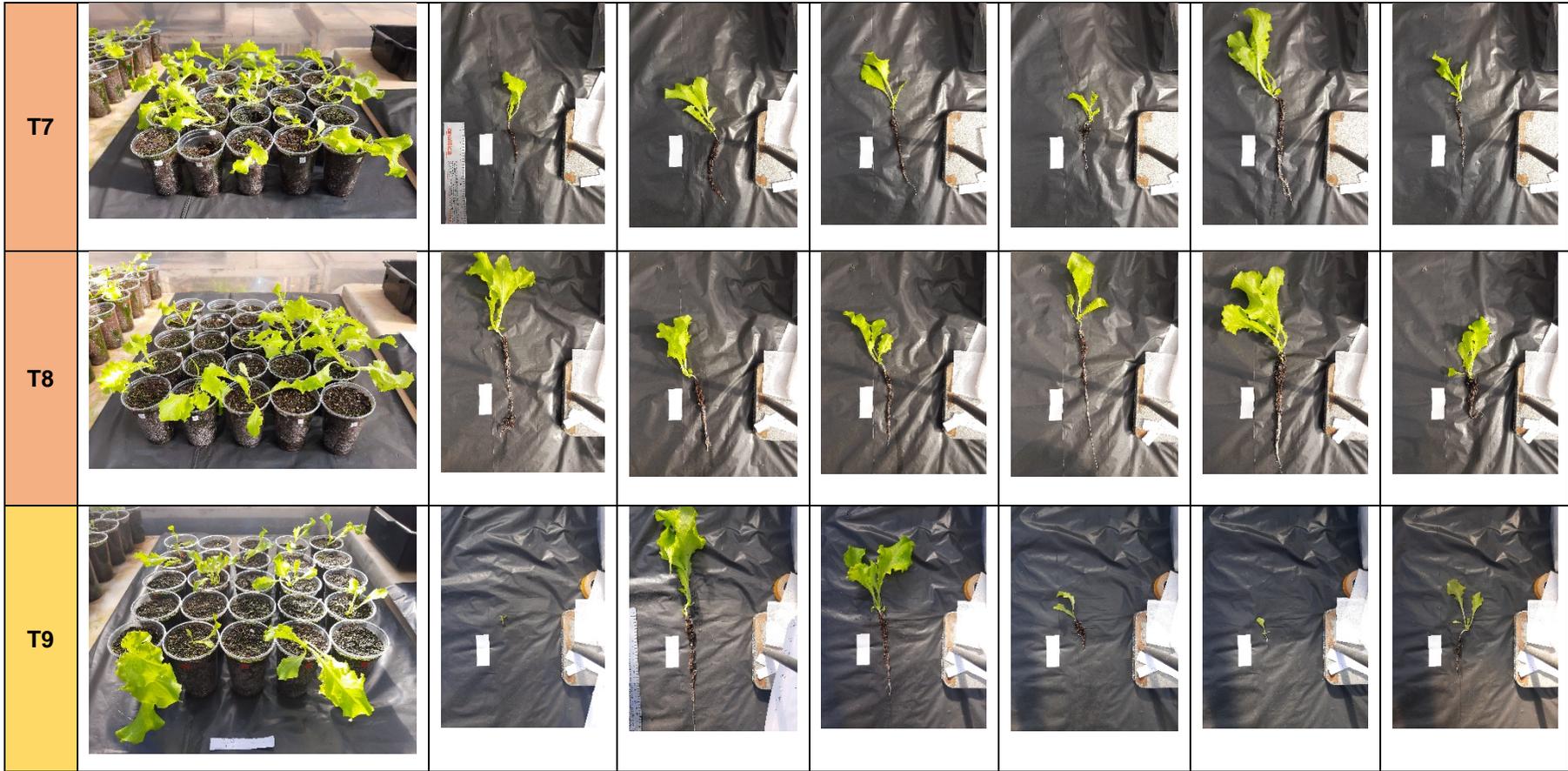
Controle	Cravo				Laranja				Baunilha			
	Málico		Tartárico		Málico		Tartárico		Málico		Tartárico	
Controle	20 min	2h	20 min	2h	20 min	2h	20 min	2h	20 min	2h	20 min	2h
T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12

Figura 67 – Alfaces classificadas de acordo com o OE utilizado e tempo de síntese







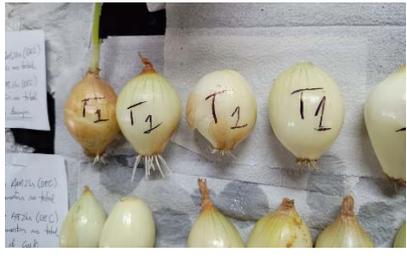
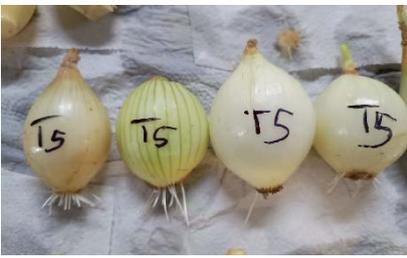




APÊNDICE E – Imagens de *Allium cepa* L. cultivadas e classificadas de acordo com o OE e tempo de síntese química

As imagens estão classificadas ilustrativamente sob a ordem de 13 amostras individuais e em 2 grupos distintos: solução **sem** hidrogel (crescimento inicial) e solução **com** hidrogel (ensaio efetivo). Na Figuras 68 e 69 são mostradas as classificações das cebolas após as duas fases do bioensaio.

Figura 68 – Cebolas em solução sem hidrogel após o bioensaio em estufa

Código	Solução sem hidrogel	
T0		
T1		T2 
T3 	T4 	
T5 	T6 	
T7 	T8 	

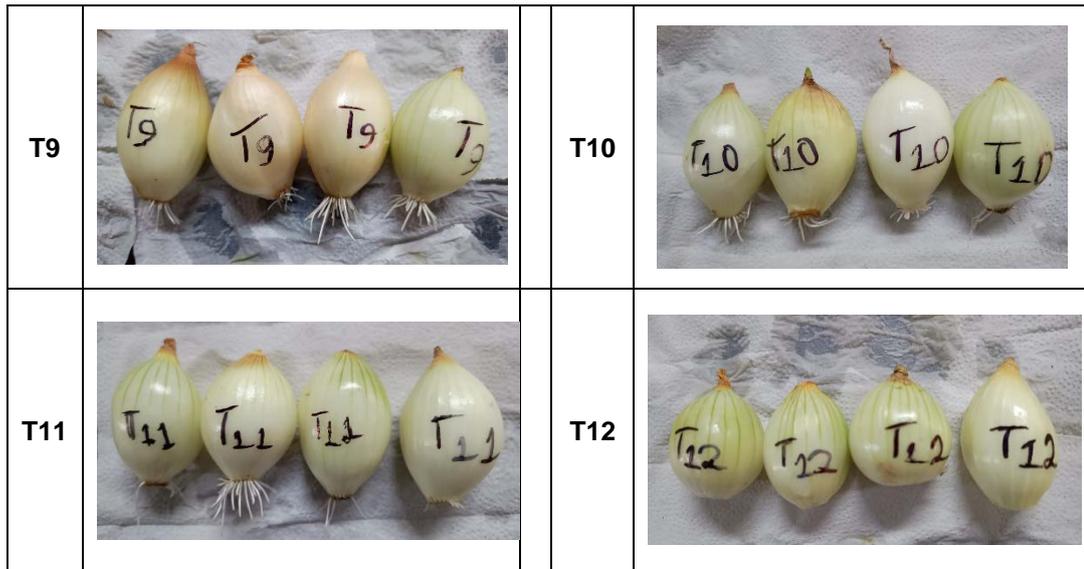
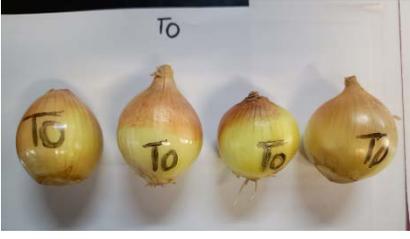
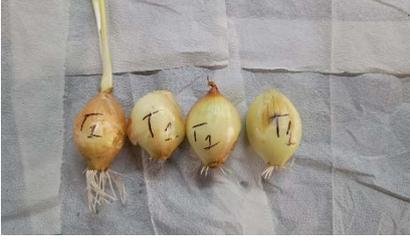
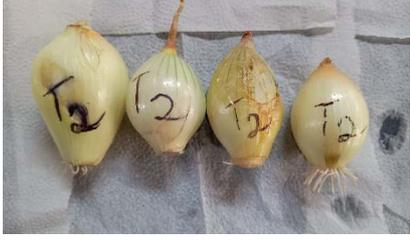
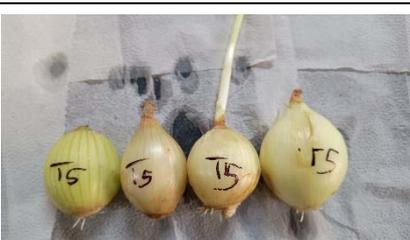
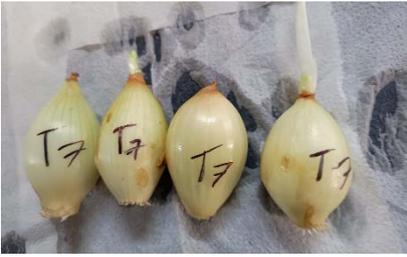


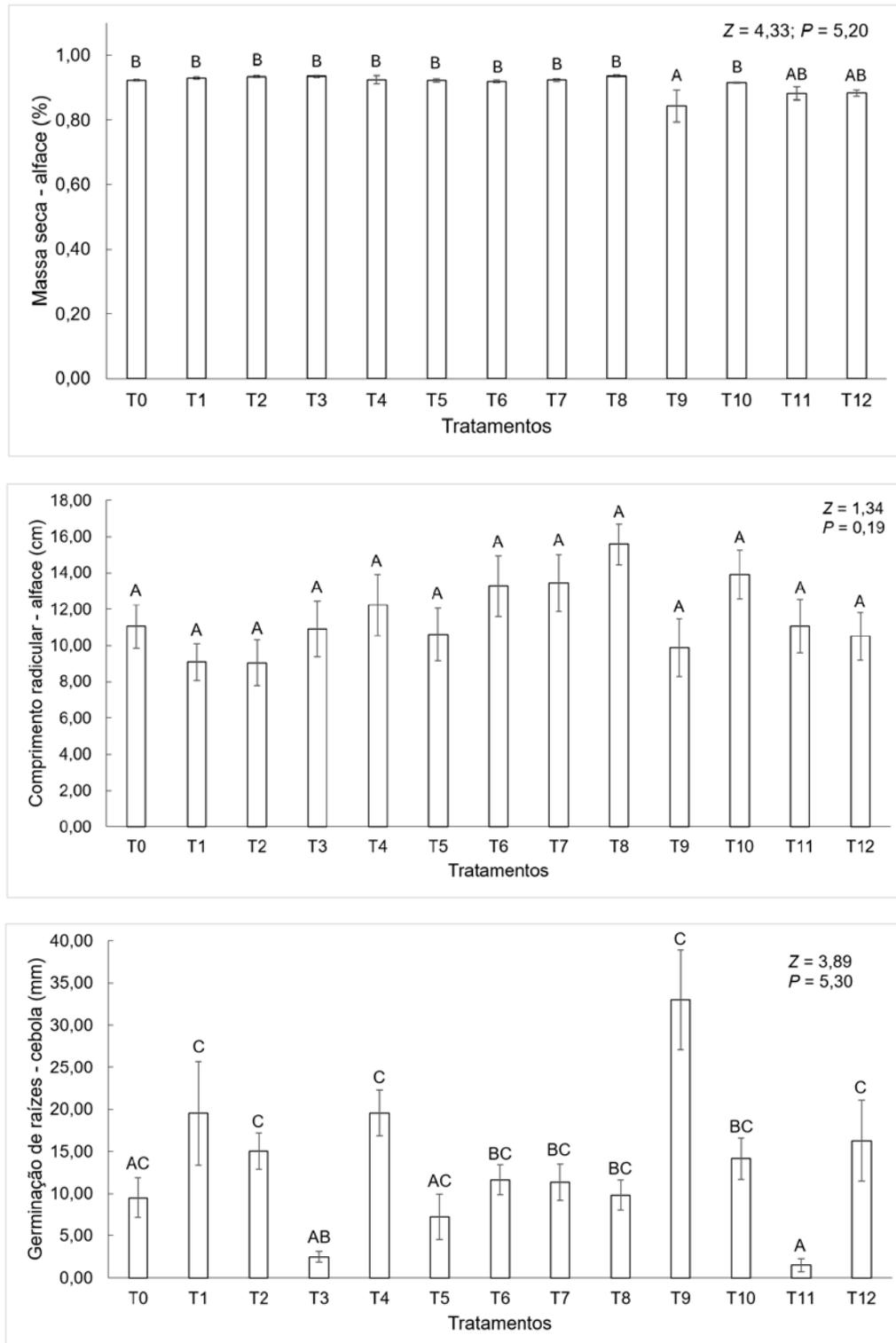
Figura 69 – Cebolas em solução com hidrogel após o bioensaio em estufa

Código	Solução com hidrogel		
T0			
T1		T2	
T3		T4	
T5		T6	

<p>T7</p>		<p>T8</p>	
<p>T9</p>		<p>T10</p>	
<p>T11</p>		<p>T12</p>	

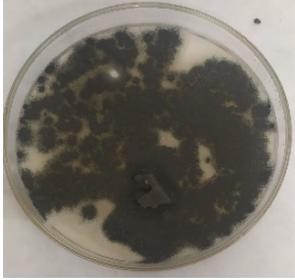
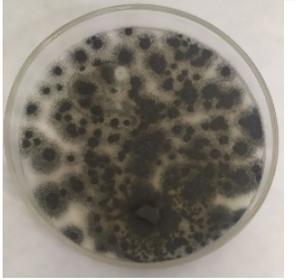
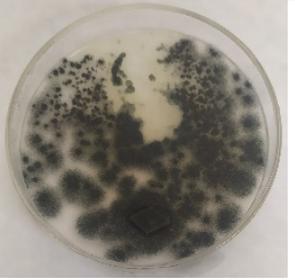
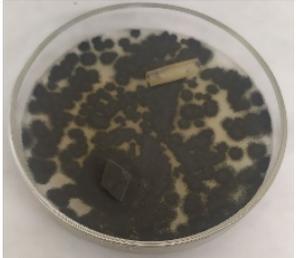
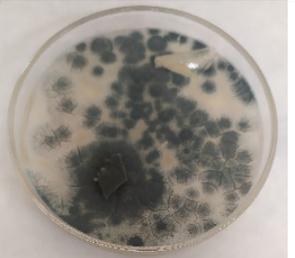
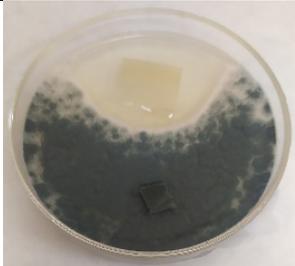
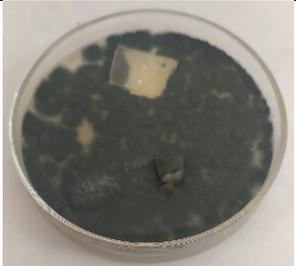
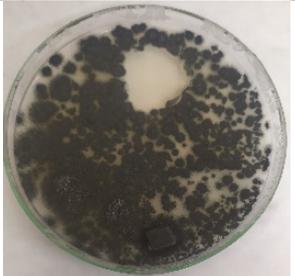
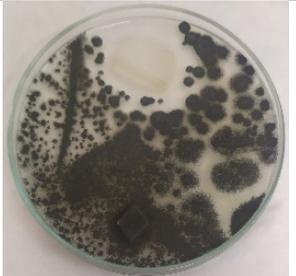
APÊNDICE F – Gráficos e dados estatísticos de massa seca para *Lactuca sativa* L., e de comprimento radicular e raízes para *Allium cepa* L.

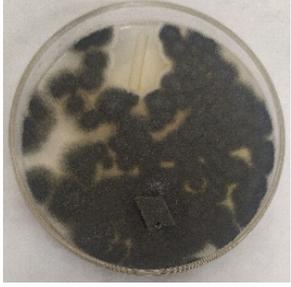
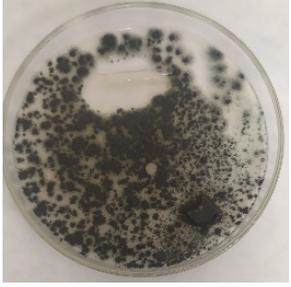
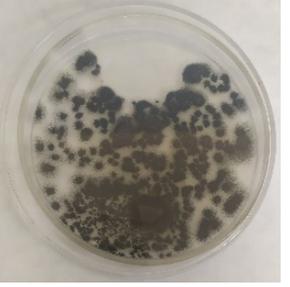
Figura 70 – Dados estatísticos de massa seca e comprimento radicular (alface); germinação de raízes (cebola) realizados em *Lactuca sativa* L. e *Allium cepa* L.



APÊNDICE G – Imagens de hidrogéis submetidos a atividade antimicrobiana e antifúngica com *A. fumigatus*

Figura 71 – Imagens de Placas de Petri dos hidrogéis até 2h de reação com OEC, OEL e OEB submetidos a *A. fumigatus*

Código				
T0	PVOH			
				
Cravo (OEC)				
T1				
T2				
Laranja (OEL)				
T3				
T4				

Baunilha (OEB)			
T5			
T6		