



CATÓLICA

ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

PORTO

FUNCIONALIZAÇÃO DE ESTRUTURAS TÊXTEIS COM ADITIVOS NATURAIS PARA MATERIAIS
DE PENSO DESBRIDANTES

por

Nuna Ramoa Miranda

Março, 2024



CATÓLICA

ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

PORTO

FUNCIONALIZAÇÃO DE ESTRUTURAS TÊXTEIS COM ADITIVOS NATURAIS PARA MATERIAIS DE PENSO DESBRIDANTES

Relatório de Estágio apresentado à Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica
Portuguesa para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Biomédica

por

Nuna Ramoa Miranda

Orientadora (Empresa): Doutora Helena Vilaça

Tutora (Universidade): Professora Doutora Freni Tavora

Março, 2024

Dedicatória

Este estudo merece uma dedicatória a todos aqueles que demonstraram apoio nesta jornada académica, seja em forma de passagem de conhecimento ou apoio moral.

Inicialmente, expresso a minha gratidão à minha orientadora Dr.^a Helena Vilaça, e à minha tutora Dr.^a Freni Tavarã, e ao CITEVE, pelo tempo que me foi disponibilizado, e apoio académico e pela oportunidade única de estágio.

À minha mãe, pela sua inegável força, apoio e compreensão ao longo dos anos da minha formação académica. Ao resto da minha família, pelo incentivo à conclusão do curso.

Aos meus amigos, pelo apoio, quando necessário, e compreensão, nos momentos de ausência por motivos superiores.

Além disso, quero expressar a minha gratidão a todos aqueles que possam ter estado envolvidos na elaboração desta tese, seja em que papel for, para atingir este marco académico.

Esta dissertação está inserida no projeto “TEX4WOUNDS - Desenvolvimento de materiais têxteis avançados para tratamento de feridas” (POCI-01-0247-FEDER-047029), financiado pelo Sistema de Incentivos à Investigação e Desenvolvimento Tecnológico I Projetos de I&D em Co-Promoção - Aviso 17/SI/2019, coordenado pela SOMANI - SOCIEDADE TÊXTIL S.A., e contando com a participação de outras entidades beneficiárias como a FOURMAG LDA, CITEVE – Centro Tecnológico das Indústrias Têxtil e do Vestuário de Portugal, e UCP – Universidade Católica Portuguesa.

Resumo

O desbridamento de uma ferida é uma das etapas mais importantes no processo de cicatrização. Os métodos mais utilizados atualmente, como o desbridamento mecânico, autolítico ou até mesmo enzimático ou cirúrgico, apresentam várias problemáticas associadas, tais como o aparecimento de danos nos tecidos adjacentes, o seu elevado custo, e o trauma para o paciente. A funcionalização de estruturas têxteis com aditivos naturais representa uma alternativa promissora para o desenvolvimento de materiais de penso mais eficazes e sustentáveis. Vários estudos têm demonstrado que a utilização de substâncias naturais pode reduzir o risco de reações alérgicas e efeitos colaterais adversos em comparação com o uso de aditivos químicos.

O óleo de melaleuca tem sido um aditivo natural amplamente estudado para o auxílio na cicatrização de feridas, devido às suas propriedades antibacterianas e anti-inflamatórias. Este aditivo foi explorado neste trabalho, sendo a sua ancoragem ao substrato têxtil apoiada pelo uso de uma matriz de origem natural, o alginato, selecionado pelas suas propriedades absorventes e elevada biocompatibilidade. Estes aditivos foram os escolhidos para este trabalho com o principal objetivo de os incorporar em material de penso têxteis, avaliando a sua possível utilização no desbridamento de uma ferida.

Através da dispersão do óleo numa solução aquosa de alginato pretendeu-se obter uma impregnação homogénea nas estruturas têxteis e uma libertação mais controlada. Foi realizado um estudo de libertação dependente do pH para analisar a libertação específica nos diferentes microambientes das feridas. Os substratos têxteis foram impregnados com os aditivos pela tecnologia de Foulard, sendo esta otimizada por forma a obter-se um bom pick-up dos aditivos, considerando a aplicação pretendida (uso do material ainda húmido no desbridamento).

Os resultados demonstraram que a libertação do óleo de melaleuca é mais rápida a pH 8,7, com uma concentração de 30% deste óleo. Estes resultados foram de encontro ao pretendido, ocorrendo uma maior libertação do óleo nas feridas crónicas, possuindo estas um pH mais alcalino.

Palavras-chave: Desbridamento, óleo de melaleuca, impregnação, libertação

Abstract

Wound debridement is one of the most important stages in the healing process. The most widely used methods today, such as mechanical, autolytic or even enzymatic or surgical debridement, present several associated problems, such as the appearance of damage to adjacent tissues, their high cost, and trauma to the patient. Functionalizing textile structures with natural additives represents a promising alternative for developing more effective and sustainable dressing materials. Several studies have shown that the use of natural substances can reduce the risk of allergic reactions and adverse side effects compared to the use of chemical additives.

Tea tree oil has been a widely studied natural additive for aiding wound healing, due to its antibacterial and anti-inflammatory properties. This additive was explored in this study, and its anchoring to the textile substrate was supported by the use of a matrix of natural origin, alginate, selected for its absorbent properties and high biocompatibility. These additives were chosen for this work with the main aim of incorporating them into textile dressing material, assessing their possible use in wound debridement.

By dispersing the oil in an aqueous alginate solution, the aim was to achieve homogeneous impregnation of the textile structures and a more controlled release. A pH-dependent release study was carried out to analyze the specific release in different wound microenvironments. The textile substrates were impregnated with the additives using Foulard technology, which was optimized in order to obtain a satisfactory pick-up of the additives, considering the intended application (use of the material while it was still wet for debridement). The results showed that the release of tea tree oil is faster at pH 8.7, with an oil concentration of 30%. These results were as intended, with greater oil release occurring in chronic wounds, which possess a more alkaline pH level.

Keywords: Debridement, Tea Tree oil, impregnation, release

Índice

Resumo	VII
Abstract	IX
Lista de Figuras	XIII
Lista de Tabelas	XIV
Lista de Gráficos	XV
Lista de Abreviaturas	XVI
1 Introdução	1
1.1 Feridas na pele	1
1.2 Desbridamento de uma ferida	2
1.3 Variação no pH de uma ferida	3
1.4 Materiais existentes para tratamento de feridas	4
1.4.1 Matriz Natural de Alginato	4
1.5 Óleos Essenciais	5
1.5.1 Óleo Essencial de Melaleuca	6
1.6 Agentes emulsificantes	6
1.7 Microencapsulação	7
1.7.1 Gelificação Iônica	7
1.7.2 Método da Extrusão.....	7
1.7.3 Microencapsulação por spray.....	8
1.8 Sistema de Foulard otimizado	8
1.9 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier	8
2 Objetivos	9
3 Materiais	10
4 Métodos	12
4.1 Soluções preparadas	12
4.2 Microencapsulação	12
4.2.1 Cápsulas de alginato com seringa:.....	12
4.2.2 Cápsulas de alginato em banho de ultrassons:.....	13
4.2.3 Cápsulas de alginato com spray:.....	13

4.3	Impregnação direta	13
4.3.1	Gelificação após impregnação	14
4.4	Emulsão de alginato e óleo de melaleuca	14
4.5	Teste de Viscosidade da solução de alginato	16
4.6	Espectros UV-Vis	16
4.7	Espetroscopia de infravermelho com transformada de Fourier	17
4.7.1	Efeito do pH na libertação recorrendo à pressão exercida por um peso:.....	17
4.7.2	Efeito do pH na libertação recorrendo ao procedimento Martindale:	19
5	Resultados e discussão	20
5.1	Microcápsulas de alginato	20
5.2	Impregnação direta	22
5.2.1	Soluções de alginato	22
5.2.2	Viscosidade das soluções de alginato	24
5.2.3	Emulsões Alginato e Óleo de Melaleuca	24
5.3	Análise dos espectros UV-Vis	26
5.4	Análise FTIR	30
5.4.1	Efeito do pH na libertação recorrendo à pressão exercida por um peso:.....	32
5.4.2	Efeito do pH na libertação recorrendo ao procedimento Martindale:	34
6	Conclusão	36
7	Trabalhos Futuros	37
8	Referências Bibliográficas	38

Lista de Figuras

Figura 1. Fases do Processo de cicatrização de feridas (Gushiken et al.)	2
Figura 2. Estrutura química dos blocos MG de alginato (Goh et al, 2012)	5
Figura 3. Estrutura molecular de Span 80 (a) e Tween 80 (b). (Sinzato et al, 2017).....	6
Figura 4. Sistema de Foulard Otimizado	8
Figura 5. Câmara de secagem e aquecimento B53.....	13
Figura 6. Fórmula do pick-up calculado	14
Figura 7. Expressão utilizada para o cálculo da absorvância	17
Figura 8. Cálculo da pressão exercida pelo peso	18
Figura 9. Execução do teste da aplicação de um peso.....	18
Figura 10. Execução do procedimento de Martindale.....	19
Figura 11. Microcápsulas de alginato.....	20
Figura 12. Microcápsulas obtidas com agulha e banho de ultrassons (4x)	21
Figura 13. Microcápsulas obtidas por spray (4x e 10x).....	21
Figura 14. Resultado das amostras impregnadas a 0,2 bar, após gelificação com CaCl ₂	23
Figura 15. Demonstração resultado nas malhas dos diferentes níveis de pressão aplicados no Foulard.	23
Figura 16. Emulsões de teste com alginato, óleo de melaleuca e agentes emulsificantes	24
Figura 17. Emulsões finais com diferentes concentrações de OEM e alginato	25
Figura 18. Amostras finais impregnadas na malha F.....	25

Lista de Tabelas

Tabela 1. Reagentes usados no âmbito do trabalho apresentado neste relatório de estágio	10
Tabela 2. Equipamento utilizados no âmbito do trabalho apresentado neste relatório de estágio	11
Tabela 3. Condições utilizadas nos ensaios de impregnação em amostras de alginato 1%, 2% e 4% e Remazol	14
Tabela 4. Composição emulsões de alginato e óleo de melaleuca. As percentagens de adição de cada componente das emulsões são percentagens mássicas (m/m)	15
Tabela 5. Otimização da proporção OEM e Alginato em emulsões. As percentagens de adição de cada componente das emulsões são percentagens mássicas (m/m)	16
Tabela 6. Pick-up obtido nas amostras preparadas por impregnação, com alginato e corante alimentar	22
Tabela 7. Pick-up nas amostras com alginato, corante alimentar e CaCl_2	22
Tabela 8. Pick up das amostras de solução aquosa de alginato 1% com corante a várias pressões e 2,2m/min.....	23
Tabela 9. Pick-up das amostras finais de OEM e alginato.....	25
Tabela 10. Picos presentes no espectro FTIR do OEM.....	30
Tabela 11. Pick up das amostras pressionadas por um peso.....	32

Lista de Gráficos

Gráfico 1. Espectro de absorvância do OEM.....	26
Gráfico 2. Espectros de absorvância das soluções de alginato a 1%, 2% e 4% em água destilada....	27
Gráfico 3. Espectros de absorvância das soluções de Remazol 1% em água destilada, e de alginato a 1%, 2% e 4% com Remazol a 1% em água destilada, diluídas 50x.	27
Gráfico 4. Espectros de absorvância das soluções de alginato a 1%, 2% e 4% com Remazol, em tampão fosfato pH 5, 7 e 9, e destes tampões.....	28
Gráfico 5. Espectros de transmitância de emulsões com OEM, Tween 80 e Span 80.....	29
Gráfico 6. Espectros de absorvância de emulsões com OEM, Tween 80 e Span 80.	29
Gráfico 7. Espectro de FTIR do OEM e de amostras têxteis impregnadas com emulsões de OEM, alginato e surfactante.	30
Gráfico 8. Espectro de FTIR das emulsões de OEM, alginato e surfactantes apresentadas na tabela 10	31
Gráfico 9. Libertação do OEM recorrendo a um peso.....	32
Gráfico 10. Espectro de FTIR das malhas impregnadas com emulsões contendo EOM, alginato e surfactantes, após contacto com soluções tampão fosfato a diferentes pH, sob ação de um peso, durante 1 e 2 minutos.....	33
Gráfico 11. Espectro de FTIR das malhas impregnadas com emulsões contendo EOM, alginato e surfactantes, após ciclos de abrasão com malhas impregnadas com soluções tampão fosfato a diferentes pH, durante 3 minutos	34
Gráfico 12. Espectro de FTIR das malhas impregnadas com emulsões contendo EOM, alginato e surfactantes, após ciclos de abrasão com malhas impregnadas com soluções tampão fosfato a diferentes pH, durante 1 e 2 minutos.	35

Lista de Abreviaturas

OEs – Óleos Essenciais

OEM – Óleo Essencial de Melaleuca

SFO – Sistema de Foulard Otimizado

FTIR – Espectroscopia de Infravermelhos por Transformada de Fourier

UV-Vis – Espectroscopia Ultravioleta-Visível

ATR – Refletância total atenuada

1 Introdução

1.1 Feridas na pele

Desde o aparecimento das primeiras etapas civilizacionais que o ser humano tem desenvolvido diferentes técnicas para o tratamento de feridas. Os antigos egípcios tratavam as suas feridas através da aplicação tópica de uma pasta de mel, gordura e algodão. Na idade média, esta e outras técnicas foram sendo esquecidas de tal forma que o método de tratamento consistia em deixar a ferida “apodrecer”, conduzindo por sua vez a infeções letais (Henry *et al*, 2003). Nos dias de hoje, o avanço da medicina permitiu desenvolver tecnologias capazes de responder aos desafios causados pelo processo de cicatrização de feridas.

As feridas resultam de interrupções da integridade do tecido cutâneo que afetam a função e estrutura natural da pele. Estas interrupções podem acontecer a qualquer momento através de: queimaduras, traumas, cirurgias, distúrbios genéticos, entre outros. As feridas podem ser classificadas como abertas ou fechadas, crónicas ou agudas. Feridas abertas consistem em lacerações, cortes cirúrgicos, picadas de insetos e radionecrose. As feridas fechadas incluem contusões, hematomas e abrasões tais como lesões nos tecidos moles, pequenos vasos sanguíneos ou camadas profundas da pele. Uma ferida pode ser considerada aguda quando é tratada em cerca de 8 a 12 semanas. Por sua vez, uma ferida crónica requer geralmente um período de tempo prolongado de cicatrização (Moeini *et al*, 2020).

O processo de cicatrização de feridas é um sistema complexo e coordenado e encontra-se dividido em 3 fases: inflamatória, proliferativa e de remodelação (Laureano *et al*, 2011). Na fase inflamatória os vasos sanguíneos contraem-se e ocorre coagulação no sangue. Esta coagulação consiste na agregação de trombócitos e plaquetas numa matriz provisória para a migração de várias células, restaurando a função da pele como barreira protetora. O mecanismo celular é a etapa seguinte dominada pelo influxo de leucócitos. Esta resposta celular é rápida e coincide com a revelação do edema e eritema no local da ferida. Normalmente, dura entre 24 e 48 horas. Em feridas crónicas a fase inflamatória inclui a presença de tecido necrótico, corpos estranhos ou contaminação bacteriana, havendo um prolongamento desta fase. A fase proliferativa tem como objetivo diminuir a área lesionada através da contração das margens, fecho da lesão, e produção de colagénio. Este processo começa no microambiente da lesão dentro de 48 horas e pode durar até 14 dias. A terceira fase de cicatrização de feridas é caracterizada pela remodelação do tecido cutâneo, e ocorre após 2 a 3 semanas desde a lesão, podendo continuar após 1 ano, com o intuito de recuperar parcialmente a estrutura da pele (Gonzalez *et al*, 2016).

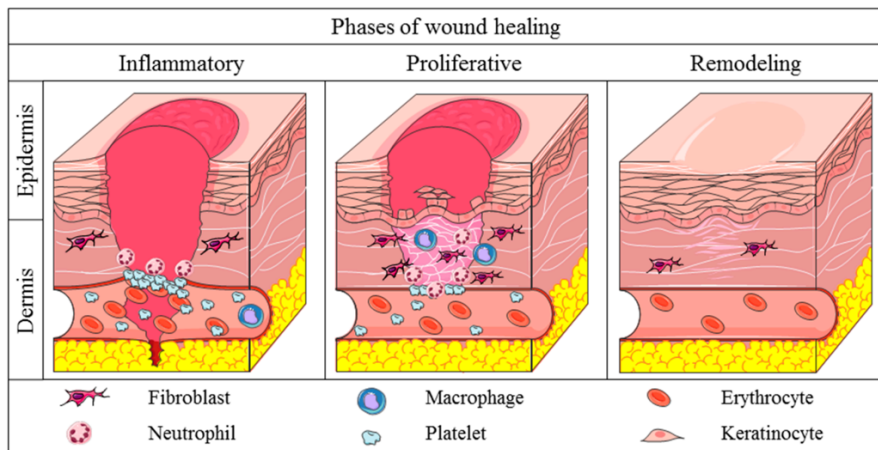


Figura 1. Fases do processo de cicatrização de feridas (Gushiken et al.)

Um estudo fez a comparação entre um processo seco e um processo húmido de cicatrização, revelando que o tratamento com um ambiente húmido é mais rápido comparativamente ao processo seco, pois este permite a renovação da pele sem a formação de escaras (Gupta et al, 2010).

1.2 Desbridamento de uma ferida

O desbridamento de uma ferida corresponde à remoção de tecido necrótico, indesejado ou contaminado de uma ferida para descobrir e expor o tecido saudável subjacente, promovendo assim, a cicatrização do mesmo. O desbridamento ajuda particularmente feridas crônicas que se encontram na fase inflamatória durante um longo período com pouca evolução (Madhok et al, 2013).

As feridas com tecido necrótico não cicatrizam até que todo o tecido necrótico seja removido. Este tecido pode desprender-se do corpo naturalmente, no entanto o desbridamento acelera este processo. Assim que o tecido necrótico seja removido, a ferida pode começar a granular e, conseqüentemente, epitelizar. O tecido necrótico é o tecido com as maiores contagens bacterianas, o que inibe a ferida de avançar no processo de cicatrização (Steed et al, 2004).

O desbridamento pode ser de vários tipos: autolítico, osmótico, cortante, larval, cirúrgico, mecânico e enzimático. O desbridamento autolítico é um processo natural que ocorre em todas as feridas. Neste processo os tecidos desvitalizados sofrem uma autodigestão pela liquefação dos fagócitos presentes no leito da lesão, junto dos macrófagos e enzimas proteolíticas. Requer um ambiente húmido e um sistema imunitário funcional. A utilização de pensos retentores de humidade pode aumentar a sua eficácia, destacando-se aqui os hidrogéis, sistemas microcristalinos de polissacarídeos e polímeros absorventes. Este é o método mais seletivo, não traumático e indolor. O desbridamento osmótico provém do intercâmbio de fluidos de diferente densidade, e consiste na aplicação de soluções hiperosmolares, ou pensos impregnados com essas soluções. Tem a desvantagem de exigir a mudança de penso a cada 12-24 horas. O desbridamento cortante é realizado por um profissional de saúde que remove seletivamente os tecidos desvitalizados, com recurso a um objeto cortante, como um bisturi. Apesar das suas vantagens, tais como rapidez, redução da carga bacteriana e do mau cheiro da ferida, este processo traz também desvantagens devido à dor, ao risco

de hemorragia, ou introdução de bactérias em tecidos profundos e ao stress que transfere para o paciente. O desbridamento larval consiste na utilização de larvas para remoção de tecido necrótico. É maioritariamente apropriado em feridas de maior dimensão. O desbridamento cirúrgico é executado através de instrumentos de corte em contexto de cirurgia, apresentando como potencial desvantagem o recurso a anestesia no procedimento. O desbridamento mecânico é um processo traumático e não seletivo, que não remove apenas tecido necrótico, mas também tecido viável devido ao método utilizado: irrigação da ferida, pensos húmidos que secam, ou lavagem por pulso do leito da ferida (Manna et al, 2021). Este desbridamento é indicado em situações em que a rapidez é valorizada, dado que o processo pode demorar 20 minutos ao invés das 2 semanas comumente necessárias com o desbridamento autolítico (Young et al, 2019).

O desbridamento enzimático consiste na utilização de uma enzima proteolítica exógena, a colagenase, para desbridar a bactéria *Clostridium*. Desta forma, o colagénio no tecido necrótico é digerido, permitindo que este se separe do tecido viável (Manna *et al*, 2021). O desbridamento enzimático tem várias vantagens tais como maior rapidez na remoção de escaras, redução da perda de sangue, e menor necessidade de enxertos de pele (Heitzmann et al, 2020).

Apesar do conceito de desbridamento ser amplamente conhecido por profissionais de saúde, não existe um consenso sobre o método, a altura ótima de atuação e a quantidade de tecido a remover.

1.3 Variação no pH de uma ferida

O pH é também considerado um fator importante para o processo de cicatrização de uma ferida, pois demonstra o estado do tecido cutâneo, tanto à superfície como nas subcamadas. Devido aos queratinócitos, células que produzem queratina, o pH da pele intacta tem normalmente valores ácidos entre 4 e 6 (Power et al, 2019). Uma ferida aguda tem um pH neutro a alcalino, situando-se normalmente entre 6,5 e 8,5. O pH de uma ferida crónica, tipicamente com um cenário de infeção associado, pode situar-se entre valores de 7,2 a 8,9. (Bennison et al, 2017). Este valor tende a diminuir à medida que o processo de cicatrização da ferida progride (Gethin et al, 2007).

As feridas infetadas sofrem um aumento no valor do pH devido ao crescimento bacteriano que perpetua a sua alcalinização. O valor do pH pode ser utilizado para diagnosticar o estado da infeção da ferida e também para controlar o crescimento bacteriano de modo a promover a cicatrização da mesma. Para além disso, o pH de uma ferida pode também afetar a eficácia dos antibióticos e antissépticos, modelando a sua eficácia e sucesso (Bennison et al, 2017).

O valor do pH impacta também com a forma como o oxigénio é distribuído pelo tecido, sendo que quanto mais baixo o nível de pH mais oxigénio é libertado no tecido cutâneo (Gethin et al, 2007). Vários estudos afirmam que feridas alcalinas demonstram uma taxa de cicatrização mais lenta do que feridas ácidas (Vu et al, 2020; Bennison et al, 2017).

1.4 Materiais existentes para tratamento de feridas

A escolha do material de penso para feridas é um fator importante no processo de cicatrização pois influencia não só a duração, mas também o resultado da mesma. Um material de penso deve satisfazer qualidades que incluem: ser não tóxico, altamente absorvente (para feridas exsudativas), não alergénico, respirável, hemostático, biocompatível e, de preferência, capaz de incorporar medicação no tratamento, tais como antibacterianos/antibióticos, antivíricos e antifúngicos (Petrulyte et al, 2008).

Os pensos atuais podem incluir gazes, películas, géis, espumas, hidrocolóides, alginatos, hidrogéis, etc. Os têxteis podem incluir fibras, filamentos ou fios fabricados através de materiais naturais ou artificiais. Relativamente às fibras naturais, salientam-se o algodão, a seda e o linho entre as mais estudadas. As fibras artificiais dividem-se entre polímeros sintéticos e polímeros de origem natural. Os primeiros incluem o poliéster, a poliamida, o polipropileno, o poliuretano, etc., e os últimos incluem materiais como alginato, ácido poliglicólico, celulose regenerada, quitosano, etc. (Gupta et al, 2010).

Estes polímeros formadores de fibras são utilizados como veículos condutores de medicação em pensos. As suas estruturas semi-cristalinas e porosidade a nível macro, micro e nano permitem a incorporação e libertação de ingredientes ativos no tecido cutâneo para acelerar o processo de cicatrização (Maver et al, 2015).

Um exemplo de produtos existentes no mercado para tratamento de feridas, nomeadamente no processo de desbridamento, é o DEBRICHEM®. Este trata-se de um dispositivo médico de utilização única que substitui o desbridamento cirúrgico. Este produto é um gel vermelho cuja aplicação tópica tem como propósito a facilitação da remoção de tecido desvitalizado através de um composto ácido que ataca também a infeção.

1.4.1 Matriz Natural de Alginato

Entre as várias fibras existentes no mercado, os produtos contendo alginato são dos mais popularmente utilizados devido às suas propriedades como biocompatibilidade, baixo custo, e boa gestão da humidade no leito da ferida, possuindo capacidade média de absorção do exsudado formando um gel que mantém a ferida húmida (Bajpai et al, 2012; Liu et al, 2013). O alginato é um polímero natural proveniente de diferentes fontes de macroalgas (algas marinhas) presentes nas zonas costeiras de vários países. Das algas marinhas existentes, as algas castanhas revelam a maior quantidade de alginato. Esta substância pode ser extraída das macroalgas sob a forma de alginato solúvel em água (Varaprasad et al, 2020).

A estrutura química do alginato consiste maioritariamente em duas unidades monoméricas: os resíduos de ácido β -D-manurónico (M) e os resíduos de ácido α -L-gulurónico (G). Ambos estão conectados através de ligações glicosídicas. Estes resíduos podem aparecer em blocos individuais ou em sequências alternadas, conhecidos como blocos MG. A relação entre os resíduos ácidos M e G e a ordem em que aparecem é um fator distintivo dos alginatos obtidos de diferentes algas, pois influenciam diretamente as suas propriedades e pesos moleculares (Ching et al, 2017).

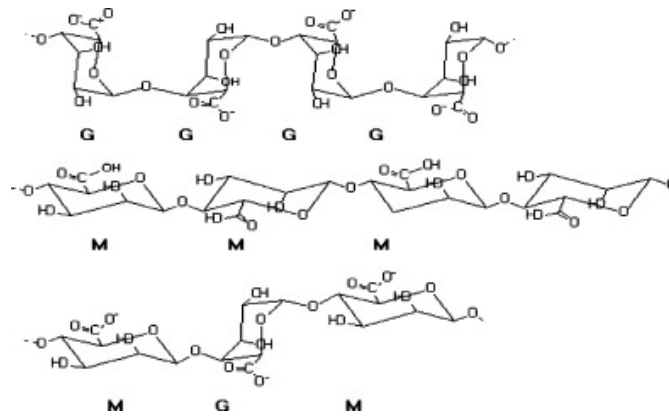


Figura 2. Estrutura química dos blocos MG de alginato (Goh et al, 2012)

Existem atualmente vários tipos de fibras de alginato que são utilizadas como material de penso para feridas devido às suas propriedades físico-químicas como a viscosidade, propriedade térmica, capacidade de transformação de matéria sólida para gel, e liberação de fármacos. A preferência dos produtos de alginato em relação às gazes de algodão convencionais envolve a melhor compreensão do processo de cicatrização de feridas, e as suas propriedades superiores. Como mencionado anteriormente, um ambiente húmido promove este processo. Os pensos de alginato resultam de uma transformação de uma solução aquosa de alginato que reage com cátions bivalentes e forma um hidrogel que mantém a ferida húmida. Os materiais existentes para o tratamento de feridas à base de alginato são considerados adequados, não só dadas as propriedades já mencionadas, mas também devido à sua estabilidade, capacidade de retenção do exsudado e propriedades antimicrobianas (Gokarneshan et al, 2018; Goh et al, 2012).

1.5 Óleos Essenciais

Os óleos essenciais (OEs) são substâncias naturais, provenientes do extrato de plantas, que podem ser utilizados em várias aplicações médicas, tais como no combate às infeções cutâneas. Estes têm sido estudados, sobretudo, como potenciais agentes antimicrobianos e antioxidantes. As propriedades dos OEs extraídos da planta de melaleuca, eucalipto, tomilho e outras plantas medicinais e aromáticas foram já estudados quanto ao seu efeito antimicrobiano. OEs de plantas como a camomila, o alecrim, a alfazema, entre outros, demonstraram também capacidades antioxidantes (Ramsey et al, 2020).

Apesar do vasto leque de vantagens, os OEs são ativos instáveis e frágeis. Consequentemente, podem degradar-se facilmente se não forem protegidos dos fatores externos. O método de proteção mais utilizado é a microencapsulação (Asbahani et al, 2015), que pode ser feita pela produção de micro ou nano partículas de um polímero matriz numa emulsificação com o(s) OE(s), acompanhado do uso de um agente reticulante. O alginato é um polímero bastante usado como veículo condutor de OEs, dada a facilidade de produzir microcápsulas com este, reticuladas numa solução de e.g., cloreto de cálcio (Hosseini et al, 2013).

1.5.1 Óleo Essencial de Melaleuca

O óleo essencial de melaleuca (OEM) pertence a um grupo de OEs com propriedades bactericidas. Este é obtido através da destilação das folhas da planta *Melaleuca alternifolia*. O OEM é caracterizado pela sua capacidade inibidora do desenvolvimento de vários micro-organismos, o que por sua vez demonstra benefícios em condições respiratórias, dentárias, dermatológicas, e no tratamento de feridas. Como propriedades principais, o OEM possui um efeito anti-inflamatório, antiviral, antioxidante, antisséptico e antifúngico (Tarach et al, 2020).

Um estudo realizado sobre o efeito do OEM em feridas crônicas demonstrou bons resultados no processo de cicatrização. Este estudo comparou 32 pacientes de dois lares diferentes com feridas crônicas, em que 16 foram tratados com OEM 10% e 16 foram mantidos num grupo de controlo. No grupo de pacientes do OEM, todas as feridas crônicas que tiveram previamente dificuldade no processo de cicatrização conseguiram ser tratadas em menos de 28 dias sem quaisquer efeitos secundários (Lee et al, 2014).

Outros estudos apontam também para possíveis benefícios do OEM em feridas crônicas tais como: redução do tamanho da ferida, redução da camada bacteriana e melhoramento do processo de granulação do tecido cutâneo (Haesler et al, 2021).

Dadas as suas propriedades, o OEM foi o aditivo natural selecionado para a elaboração deste estudo experimental.

1.6 Agentes emulsificantes

O Span 80 e o Tween 80 são agentes emulsificantes biodegradáveis que permitem a mistura entre substâncias hidrofílicas e lipofílicas, reduzindo a taxa de separação entre estas. Estes agentes possuem afinidade tanto para substâncias hidrofílicas como hidrofóbicas, devido à sua estrutura química que possui uma parte hidrofílica e uma cadeia lipídica hidrofóbica (Figura 3) (Sinzato et al, 2017). O primeiro agente emulsificante, denominado Span 80 é um agente mais lipofílico, adicionado à substância de óleo. O segundo, denominado Tween 80, é um agente mais hidrofílico, adicionado à base aquosa.

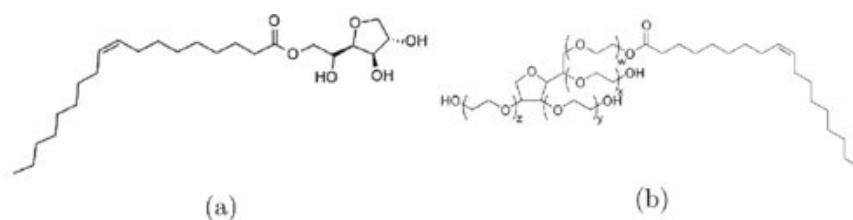


Figura 3. Estrutura molecular de Span 80 (a) e Tween 80 (b) (Sinzato et al, 2017)

1.7 Microencapsulação

A microencapsulação é uma tecnologia em que gotículas individuais ou partículas de materiais líquidos, sólidos ou gasosos, são isoladas por uma camada feita de materiais poliméricos. Este processo parece ser o mais adequado para estabilizar compostos voláteis. Envolve a criação de cápsulas entre micromilímetros e milímetros de diâmetro, através de vários métodos tais como coacervação simples ou complexa, e utilização de spray (Ocak et al, 2011). Os métodos utilizados neste estágio envolveram a gelificação iônica combinada com extrusão, e a gelificação iônica combinada com spray.

A microencapsulação de aditivos pode de certa forma controlar efetivamente a taxa de libertação de fragrâncias e também de OEs. Assim, a sua popularidade tem crescido nas aplicações têxteis devido à sua facilidade de produção e aplicação e ao prazo de validade das microcápsulas (West et al, 2014). Esta tecnologia é uma das maneiras mais competentes de proteger OEs contra possível degradação ou deterioração dos produtos contendo OEs (Rabani et al, 2015).

1.7.1 Gelificação Iônica

A gelificação iônica é um dos métodos de microencapsulação normalmente utilizado na área farmacêutica e alimentar para encapsular compostos ativos, medicamentos ou nutrientes. Refere-se à formação de géis por meio de interações eletrostáticas entre diferentes espécies iônicas. Os dois principais métodos de gelificação iônica são a gelificação externa e a interna.

Na gelificação externa, uma solução contendo um polímero e o agente ativo desejado é lentamente adicionada a uma solução que contém iões multivalentes. Um gel é formado instantaneamente à medida que cada gota da solução polimérica entra em contato com a solução iônica, devido às interações eletrostáticas. O cloreto de cálcio é um dos compostos mais utilizados para este método. Na gelificação interna, uma solução iônica é diretamente misturada com a solução que contém o polímero e o agente ativo. Assim que entram em contato, ocorre a formação imediata do gel.

A escolha do método depende da aplicação desejada, das propriedades do polímero e do agente ativo, e das condições específicas do processo. A gelificação iônica é amplamente estudada devido à sua simplicidade, eficiência e capacidade de formar cápsulas com um alto grau de uniformidade (Pedroso-Santana et al, 2020; Ozkan et al, 2019).

1.7.2 Método da Extrusão

A extrusão é a técnica mais utilizada para a transformação de hidrocolóides em microcápsulas, formadas por gelificação iônica. Este método consiste em incorporar a substância a encapsular numa solução com material adequado, passando esta solução através de uma agulha ou fenda para um banho de reticulação, gota a gota, com a finalidade de formar microcápsulas. Neste banho ocorre a formação de uma cápsula ao redor da gota, por reação com o polímero. O tamanho das cápsulas, que

pode variar entre 0,5 e 3 mm, depende da viscosidade da mistura, do diâmetro da agulha e a solução de reticulação (Gushiken et al, 2021) (Etchepare et al. 2015).

1.7.3 Microencapsulação por spray

Este método envolve a atomização de uma emulsão, ou solução contendo o material ativo, e um material de revestimento numa câmara de secagem. A atomização pode ser feita de várias maneiras: atomização pneumática, bocal pressurizado, bocal fluído, bocal sónico ou disco giratório. Assim, a emulsão é pulverizada através de um bocal, criando uma névoa de gotículas finas que entram em contacto com ar quente. A água evapora rapidamente, resultando em microcápsulas. Para reduzir o tamanho das cápsulas, deve-se aumentar a energia da atomização. A viscosidade e a tensão de superfície também impactam o tamanho das mesmas (Estevinho et al, 2013).

1.8 Sistema de Foulard otimizado

A segunda técnica utilizada neste estágio envolveu a impregnação direta de aditivos em têxteis funcionais. Para tal, foi empregue o Sistema de Foulard Otimizado (SFO). O SFO consiste numa máquina composta por dois grandes rolos entre os quais o tecido passa. Este é um método utilizado na impregnação de substâncias líquidas em têxteis. Inicialmente, o têxtil é embebido com a solução desejada através de um reservatório, e ao sair do mesmo, passa entre os dois rolos de Foulard. Estes rolos espremem o líquido em excesso, assegurando uma aplicação uniforme da solução. A pressão efetuada entre os dois rolos pode ser ajustada conforme desejado (Giessmann et al, 2008), por forma a ajustar o grau de pick-up do têxtil.



Figura 4. Sistema de Foulard Otimizado

1.9 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

A espectroscopia por Transformada de Fourier no Infravermelho (FTIR) é uma técnica que explora a absorção de luz infravermelha para induzir vibrações nas ligações moleculares. A manifestação dos espectros vibracionais, advindos da soma das interações de múltiplas macromoléculas celulares — tais como ácidos nucleicos, proteínas, lípidos e polissacarídeos —, gera um espectro de absorção no infravermelho que serve como uma impressão digital molecular distinta do material biológico em análise (Taha et al, 2013).

2 Objetivos

O estágio no CITEVE teve como objetivo incorporar aditivos naturais em material de penso de modo a melhorar o desbridamento de uma ferida. Após uma pesquisa inicial, selecionou-se o OEM como aditivo funcional a impregnar nos materiais de penso têxteis, devido às suas qualidades medicinais. O alginato foi selecionado como o material polimérico a usar, devido às propriedades anteriormente apresentadas.

Numa primeira fase, foi testado o método de microencapsulação de aditivos em microcápsulas de alginato. Inicialmente, de modo a visualizar a otimização do processo de formação das cápsulas de alginato, foram utilizados apenas corantes alimentares e Remazol Vermelho RGB. De seguida, iniciou-se o processo com amostras mais complexas, incorporando-se o OEM.

Dado que para alcançar o desbridamento de uma ferida é necessária uma reação rápida com a pele infetada (apenas uns minutos), a microencapsulação não demonstrou ser o método mais adequado pela sua libertação lenta. Assim, o tempo de reação pretendido foi alcançado com a impregnação direta da emulsão do óleo de melaleuca com alginato no têxtil selecionado para o projeto. Este método provou-se capaz de atender ao desafio lançado devido à rapidez de ação.

A variação de pH no têxtil utilizado após a impregnação direta de aditivos naturais foi a análise mais relevante neste estágio, providenciando conclusões consideráveis sobre a eficácia da combinação do óleo de melaleuca e da solução de alginato no desbridamento de uma ferida.

3 Materiais

Foi escolhido para o projeto como aditivo funcional o OEM da empresa FOURMAG (parceira do projeto financiado no qual se integra este trabalho), devido às propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias mencionadas anteriormente. No entanto, este óleo foi substituído por corante alimentar nos ensaios iniciais, de forma a facilitar a visualização da interação do aditivo com os restantes elementos.

Relativamente à matriz utilizada nos estudos, foi escolhido o alginato como substância predominante nos ensaios experimentais e testes de produto. Juntamente com esta substância, os reagentes essenciais encontram-se detalhados na tabela 1.

Tabela 1. Reagentes usados no âmbito do trabalho apresentado neste relatório de estágio

Reagente	Fornecedor
Alginato (SMT)	CHT
Cloreto de cálcio (CaCl_2)	Panreac
Ácido acético (CH_3COOH)	Fisher
Hidróxido de sódio (NaOH)	Fisher
Fosfato de sódio dibásico hepta-hidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	Merck
Fosfato de sódio monobásico mono-hidratado ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	Merck
Remazol Vermelho RGB	DyStar
Corante alimentar azul, amarelo e vermelho	Vahiné
Tween 80	Croda
Span 80	Croda

O substrato têxtil utilizado nas funcionalizações foi uma malha felpa 100% poliéster, com argola apenas numa das faces. A malha foi sujeita a uma lavagem para remover qualquer impureza proveniente do processo de produção: 70°C com o detergente não iónico Diadavin® UN (Tanatex Chemicals - Holanda) durante 30 minutos. Após a lavagem, o têxtil apresentava uma gramagem de aproximadamente 198 g/m².

De seguida, na tabela 2 são apresentados os detalhes dos instrumentos e equipamentos empregados neste trabalho.

Tabela 2. Equipamento utilizados no âmbito do trabalho apresentado neste relatório de estágio

Equipamentos	Marca
Balança Analítica AG245	Mettler Toledo
Espectrofotómetro de feixe duplo UV-2600i	Shimadzu
Espectrofotómetro Spectrum 100 FTIR	Perkin Elmer®
Medidor de pH 7110	WTW inoLab®
Foulard horizontal, vertical tipo «HVF»	Werner Mathis
Secador/ Vaporizador Tipo DHE 51991	Werner Mathis
Câmara de secagem e aquecimento B53	Binder
Agitadores magnéticos, com aquecimento, M21 e M6.1	CAT
Martindale Wear & Abrasion Tester	James H.Heal & Co Lto. Halifax England
Banho Ultrassons PreSET SW3H	SonoSwiss
Viscosímetro Brookfield DVE RV	Brookfield Engineering

4 Métodos

4.1 Soluções preparadas

- Tampão acetato pH 4.5: foi preparada uma solução de ácido acético glacial em água destilada (0,1 M), à qual foi adicionada uma solução de hidróxido de sódio 1 M até a solução alcançar um pH de 4,5.
- Alginato 2%: o alginato foi pesado num gobelé e foi adicionada água destilada por forma a ter-se uma concentração de alginato de 2% (m/v). A mistura foi aquecida a ~50 °C, sob agitação, até dissolução total do alginato.
- Alginato 2% com corante alimentar: à solução de alginato 2% previamente preparada, foi adicionado o corante alimentar, em quantidade a perfazer 2% (v/v). A solução foi sujeita a agitação por uns minutos até uniformidade de cor.
- CaCl₂ 5%: o CaCl₂ foi pesado num gobelé e foi adicionado tampão acetato pH 4,5 por forma a ter-se uma concentração de CaCl₂ de 5% (m/v). A mistura foi colocada sob agitação até total dissolução do CaCl₂.
- CaCl₂ 1%: o CaCl₂ foi pesado num gobelé e foi adicionado tampão acetato pH 4,5 por forma a ter-se uma concentração de CaCl₂ de 1% (m/v). A mistura foi colocada sob agitação até total dissolução do CaCl₂.
- Alginato com corante Remazol: o alginato foi pesado num gobelé e foi adicionada água destilada por forma a ter-se a concentração desejada de alginato [1% (m/v), 2% (m/v), 4% (m/v)]. A mistura foi aquecida a ~50 °C, sob agitação, até dissolução total do alginato. A esta solução adicionou-se 1% (m/v) de corante Remazol Vermelho RGB e colocou-se novamente sob agitação até uniformização da solução.

4.2 Microencapsulação

A primeira abordagem foi a preparação de microcápsulas com um polímero adequado, através do método da extrusão, da gelificação iónica, e por spray. Foi utilizado um corante alimentar para melhor visualizar todo o processo.

4.2.1 Cápsulas de alginato com seringa:

A solução de alginato 2% com corante alimentar foi colocada numa seringa com uma agulha 21G com bisel regular. Esta solução foi adicionada, gota a gota, à solução de CaCl₂ 5% (m/v) sob agitação mínima. Após 15 minutos, as cápsulas obtidas foram lavadas na solução de CaCl₂ 1% e foram filtradas e colocadas na câmara de secagem (figura 5) a 40° C por cerca de 24h.



Figura 5. Câmara de secagem e aquecimento B53

4.2.2 Cápsulas de alginato em banho de ultrassons:

A microencapsulação foi efetuada por meio de gelificação iônica através da utilização de um banho de ultrassons, com o objetivo de produzir cápsulas de menor dimensão. O banho de ultrassons consiste num gerador de alta frequência que produz cerca de 35.000 oscilações por segundo, que geram ressonância ao serem transferidas para a solução de limpeza. Durante este processo, desenvolvem-se pequenas bolhas de vácuo que rebentam devido à pressão ou sucção em microssegundos. Assim, os pulsos gerados por este processo podem resultar em limpeza profunda de partículas, homogeneização, dispersão ou desgaseificação da solução em questão.

Resumidamente, a solução de alginato 2% com corante alimentar amarelo foi colocada numa seringa com agulha 25G, e foi adicionada gota a gota, por 15 minutos, à solução de CaCl_2 5%, posicionada dentro do banho de ultrassons. Este procedimento foi repetido, usando os diferentes modos de funcionamento do banho de ultrassons: Sweep, Boost e Degas (desde o inferior ao superior, respetivamente).

4.2.3 Cápsulas de alginato com spray:

Numa tentativa de diminuir o tamanho final das cápsulas, procedeu-se à criação de microcápsulas de alginato através da utilização de um spray. Para este método a solução de alginato 2% com corante alimentar foi colocada num frasco com pulverizador spray, e pulverizou-se esta sobre a solução de CaCl_2 5% sob agitação, e após 15 minutos, lavaram-se as cápsulas na solução de CaCl_2 1% e filtraram-se.

4.3 Impregnação direta

A impregnação direta foi aplicada em vários ensaios. As amostras foram submetidas a uma impregnação por meio de pressão controlada exercida pelos rolos de Foulard. Para este método, a malha foi recortada em pequenas amostras, com dimensões de 6 x 6 cm, ou 9 x 6 cm no caso do teste Martindale.

Resumidamente, a amostra têxtil foi imersa durante cerca de um minuto na solução aquosa de alginato e Remazol. Seguidamente, fez-se passar a amostra têxtil entre os rolos do Foulard, com

pressões de 0,2 bar e 0,4 bar, a uma velocidade de 2,2 m/min. Para calcular o pick-up, a amostra de malha foi pesada antes e após a impregnação, e o pick-up foi calculado usando a seguinte fórmula:

$$\text{pick-up (\%)} = \frac{(\text{peso húmido} - \text{peso seco})}{\text{peso seco}} \times 100$$

Figura 6. Fórmula do pick-up calculado

Na tabela 3 encontra-se um resumo das condições usadas nos ensaios de impregnação.

Tabela 3. Condições utilizadas nos ensaios de impregnação em amostras de alginato 1%, 2% e 4% e Remazol

Pressão exercida e velocidade utilizada.	0,2 bar a 2,2 m/min	0,4 bar a 2,2 m/min
Amostras	Alginato 1% (0,8g) em 80mL de água destilada + Remazol Vermelho RGB (0,8g) impregnado numa malha 6x6 cm	Alginato 1% (0,8g) em 80mL de água destilada + Remazol Vermelho RGB (0,8g) impregnado numa malha 6x6 cm
	Alginato 2% (1,6g) em 80mL de água destilada + Remazol Vermelho RGB (0,8g) impregnado numa malha 6x6 cm	Alginato 2% (1,6g) em 80mL de água destilada + Remazol Vermelho RGB (0,8g) impregnado numa malha 6x6 cm
	Alginato 4% (3,2g) em 80mL de água destilada + Remazol Vermelho RGB (0,8g) impregnado numa malha 6x6 cm	Alginato 4% (3,2g) em 80mL de água destilada + Remazol Vermelho RGB (0,8g) impregnado numa malha 6x6 cm

De seguida, foram impregnadas amostras de solução aquosa de alginato 1% com Remazol RGB similares às apresentadas anteriormente nas pressões de 0,2 bar, 0,4 bar, 0,6 bar e 0,8 bar, todas a 2,2 m/min.

4.3.1 Gelificação após impregnação

As amostras impregnadas a uma pressão de 0,2 bar foram usadas para posterior gelificação. Para tal, foi aplicado um spray contendo a solução de CaCl₂ 5% ou a solução de CaCl₂ 1%.

4.4 Emulsão de alginato e óleo de melaleuca

Uma emulsão de alginato e OEM foi criada por mistura de uma solução de alginato 1% (m/v) em água, óleo de melaleuca, e emulsificantes (Tween 80 e/ou Span 80), na proporção 89:10:1. Estes valores foram fixados inicialmente por forma a averiguar somente o efeito da alteração dos surfactantes

na emulsão. Através do HLB de óleo de melaleuca (Orafidiya et al, 2002) foi calculada a quantidade ótima de cada surfactante a usar para uma melhor emulsão. Com estes dados, foram criadas várias amostras iniciais com diferentes percentagens dos respetivos componentes. A tabela 4 inclui as várias amostras preparadas, considerando possíveis diferentes HLB do óleo de melaleuca, de acordo com a literatura.

Tabela 4. Composição emulsões de alginato e óleo de melaleuca. As percentagens de adição de cada componente das emulsões são percentagens mássicas (m/m)

Amostra	HLB Óleo de Melaleuca	Ordem do Adição dos Componentes
G	10	1º: 89% Alginato (1% p/v) 2º: 0,533% Tween 80 3º: 0,467% Span 80 4º: 10% Óleo de melaleuca
H	8	1º: 0,346% Tween 80 2º: 0,654% Span 80 3º: 10% Óleo de melaleuca 4º: 89% Alginato (1% p/v)
I	8	1º: 1% Span 80 2º: 10% Óleo de melaleuca 3º: 89% Alginato (1% p/v)
J	8	1º: 0,346% Tween 80 2º: 0,654% Span 80 3º: 10% Óleo de melaleuca 4º: 89% Alginato (1% p/v) 5º: Agitado a mais de 40°C durante 15 minutos, placa de aquecimento: M6.1
K	8	1º: 0,346% Tween 80 2º: 0,654% Span 80 3º: 10% Óleo de melaleuca 4º: 89% Alginato (1% p/v) 5º: Agitado a 40°C durante 15 minutos, com uma placa de aquecimento: M21

Após encontrar o rácio ótimo entre os agentes emulsificantes Tween 80 e Span 80, foram preparadas emulsões com essa proporção de surfactantes, mas variando a proporção óleo de melaleuca / alginato, de acordo com o apresentado na Tabela 5.

Tabela 5. Otimização da proporção OEM e Alginato em emulsões. As percentagens de adição de cada componente das emulsões são percentagens mássicas (m/m)

Amostra	HLB Óleo de Melaleuca	Ordem do Adição dos Componentes
A	8	1º: 0,346% p/p Tween 80 2º: 0,654% p/p Span 80 3º: 5% p/p Óleo de melaleuca 4º: 94% p/p Alginato (1% p/v)
B	8	1º: 0,346% p/p Tween 80 2º: 0,654% p/p Span 80 3º: 15% p/p Óleo de melaleuca 4º: 84% p/p Alginato (1% p/v)
C	8	1º: 0,346% p/p Tween 80 2º: 0,654% p/p Span 80 3º: 20% p/p Óleo de melaleuca 4º: 79% p/p Alginato (1% p/v)
D	8	1º: 0,346% p/p Tween 80 2º: 0,654% p/p Span 80 3º: 25% p/p Óleo de melaleuca 4º: 74% p/p Alginato (1% p/v)
E	8	1º: 0,346% p/p Tween 80 2º: 0,654% p/p Span 80 3º: 30% p/p Óleo de melaleuca 4º: 69% p/p Alginato (1% p/v)

4.5 Teste de Viscosidade da solução de alginato

Para a solução de alginato 4% com Remazol vermelho RGB 1%, mediu-se a viscosidade à temperatura ambiente, usando um copo de 600 mL, o spindle s06, com uma velocidade de rotação de 100 rpm.

Para a solução de alginato 2% com Remazol vermelho RGB 1%, mediu-se a viscosidade à temperatura ambiente, usando um copo de 600 mL, o spindle s03, com uma velocidade de rotação de 100 rpm.

4.6 Espectros UV-Vis

Medição da absorção: os espectros foram traçados num espectrofotómetro de duplo feixe UV-2600i (Shimadzu), utilizando cuvets de poliestireno ou de quartzo com um percurso ótico de 1 cm. Os espectros da absorbância em função do comprimento de onda foram lidos entre 200 e 400 nm e com uma resolução de 1 nm. De modo a encontrar a concentração ideal de alginato, foram preparadas amostras de controlo com alginato, água destilada e corante alimentar. Para além das amostras

referidas anteriormente, foram preparadas amostras de controlo com OEM, Tween 80 e Span 80, de modo a analisar o efeito do OEM na absorbância das mesmas, e assim facilitar a visualização deste efeito nas amostras finais. Nestas últimas amostras, o OEM foi diluído em acetona duas vezes. Assim, foram medidas as seguintes soluções:

- Alginato 1% (m/v) em água destilada com 1% (m/v) Remazol Vermelho RGB;
- Alginato 2% (m/v) em água destilada com 1% (m/v) Remazol Vermelho RGB;
- Alginato 4% (m/v) em água destilada com 1% (m/v) Remazol Vermelho RGB;
- Alginato 1% (m/v) em água destilada;
- Emulsão de 0,346% Tween 80, 0,654% Span 80, 10% (m/m) OEM, 89% (m/m) alginato 1%, diluída 50x;
- Emulsão de 0,346% Tween 80, 0,654% Span 80, 99% alginato 1%, diluída 8x;
- Emulsão de 0,346% Tween 80, 0,654% Span 80 em água destilada, diluída 8x;
- Emulsão de 0,346% Tween 80, 0,654% Span 80; 10% (m/m) OEM em água destilada, diluída 20x.

Medição de transmitância: os espectros foram traçados num espectrofotómetro de duplo feixe UV-2600i (Shimadzu), com uma esfera integradora acoplada (ISR-2600Plus), utilizando cuvetes de quartzo com um percurso ótico de 1 cm. Os espectros da transmitância em função do comprimento de onda foram lidos entre 220 nm e 1400 nm e com uma resolução de 1 nm. Foram medidas as seguintes soluções: alginato 1% (m/v) em água destilada com 1% (m/v) Remazol Vermelho RGB, alginato 2% (m/v) em água destilada com 1% (m/v) Remazol Vermelho RGB; alginato 4% (m/v) em água destilada com 1% (m/v) Remazol Vermelho RGB. Após aquisição dos espectros, a seguinte fórmula foi aplicada para converter em espectros de absorção:

$$Abs = 2 - \log T (\%)$$

Figura 7. Expressão utilizada para o cálculo da absorbância

4.7 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

Os espectros de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram adquiridos no Centro de Nanotecnologia e Materiais Técnicos, Funcionais e Inteligentes (CeNTI) num espectrofotómetro Spectrum 100 FTIR (PerkinElmer®). Os valores de transmitância foram lidos entre 4000 e 650 cm^{-1} , com uma resolução de 8 cm^{-1} e um intervalo de dados de 1 cm^{-1} . Antes da medição, todas as amostras foram secas na câmara de secagem e aquecimento a 40°C durante 3 minutos.

4.7.1 Efeito do pH na libertação recorrendo à pressão exercida por um peso:

Para esta análise, foram preparadas 6 amostras têxteis impregnadas, por Foulard, com uma emulsão de 0,346% Tween 80, 0,654% Span 80 e 30% (m/m) OEM em alginato 1%, sob uma pressão

de 1 bar a uma velocidade dos rolos de 2,2 m/min. De seguida, as amostras têxteis foram colocadas em caixas de petri, 3 com o lado de argola para baixo, e 3 com o lado sem argola para baixo. Posteriormente, as amostras foram submersas com tampões fosfato de diferentes pHs (6, 7,5 e 8,7) e pressionadas com um peso durante 2 minutos. Estes tampões foram preparados com diferentes percentagens de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ para alcançar o pH pretendido. O peso exercia uma pressão de 159,531 Pa, calculada pela fórmula apresentada na figura 8.

$$\begin{aligned} \text{Massa} &= 92,5280\text{g} \\ \text{Diâmetro} &= 5,4\text{cm} \\ \text{Altura} &= 0,7\text{cm} \\ \\ P &= (m \cdot g) / A \\ P &= 159,531\text{Pa} \end{aligned}$$

Figura 8. Cálculo da pressão exercida pelo peso

- **A:** lado com argola e pH 6
- **B:** lado com argola e pH 7,5
- **C:** lado com argola e pH 8,7
- **D:** lado liso e pH 6
- **E:** lado liso e pH 7,5
- **F:** lado liso e pH 8,7

Este mesmo ensaio foi posteriormente repetido com a aplicação da pressão com a duração de 1 minuto e 2 minutos com as mesmas amostras, e com a alteração do pH mais alto de 8,7 para 8,9.

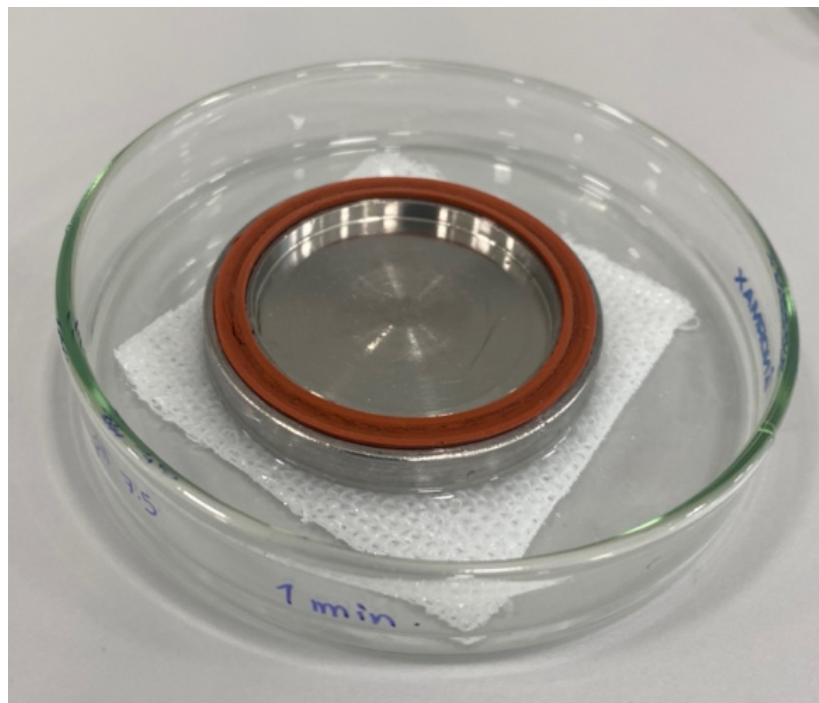


Figura 9. Execução do teste da aplicação de um peso

4.7.2 Efeito do pH na liberação recorrendo ao procedimento Martindale:

Uma variante do teste Martindale foi usada para simular a transferência dos aditivos impregnados no material de penso para ferida durante um processo de desbridamento. Para esta análise, foram preparadas amostras têxteis impregnadas, por Foulard, com uma emulsão de 0,346% Tween 80, 0,654% Span 80 e 30% (m/m) OEM em alginato 1%, sob uma pressão de 1 bar a uma velocidade dos rolos de 2,2 m/min. Nas mesmas condições, amostras de uma malha jersey 100% CO foram também impregnadas com as diferentes soluções tampão fosfato (pH 6, 7,5 e 8,7) anteriormente mencionadas. É de notar que o valor de pH 8,7 variou entre 8,7, 8,9 e 9 ao repetir a sua preparação para subseqüentes ensaios.

De seguida, a malha têxtil impregnada com o tampão foi colocada no suporte inferior do equipamento, enquanto a malha impregnada com a emulsão de alginato e OEM foi colocada na parte superior (simulando, assim, o material de penso a passar sobre uma ferida com diferentes pHs). Neste procedimento foi aplicada uma pressão de 550,84 Pa aos materiais testados, e o teste (ciclos de abrasão) foi realizado por 1 minuto e 2 minutos com amostras nas mesmas condições. Estes testes de abrasão foram novamente realizados nos dois lados da malha.



Figura 10. Execução do procedimento de Martindale

5 Resultados e discussão

5.1 Microcápsulas de alginato

As cápsulas obtidas formaram uma estrutura resistente e apesar de ocorrer uma diminuição do seu tamanho no método do spray, estas apresentavam formas muito irregulares, o que impossibilitava o processo de impregnação das mesmas (Figura 9). De acordo com estudos existentes, a forma irregular das microcápsulas é um resultado pouco comum no processo de microencapsulação, dado que a utilização do spray tem demonstrado resultados de microcápsulas de forma esférica (Hashim et al, 2023; Da Silva Júnior et al, 2023). Contudo, como o sistema de spray aqui usado foi um pouco arcaico, esta baixa uniformidade não foi inesperada.

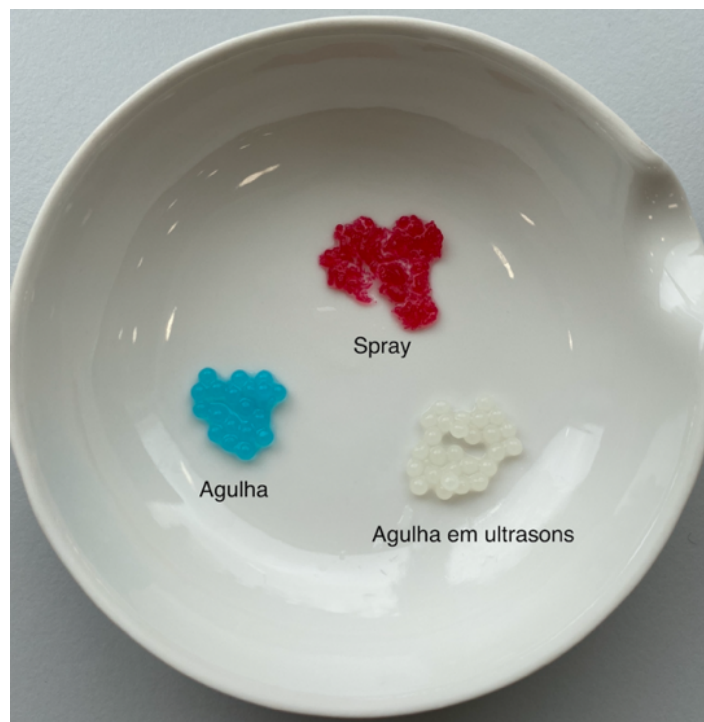


Figura 11. Microcápsulas de alginato

As figuras abaixo apresentam as microcápsulas obtidas sob o microscópio.

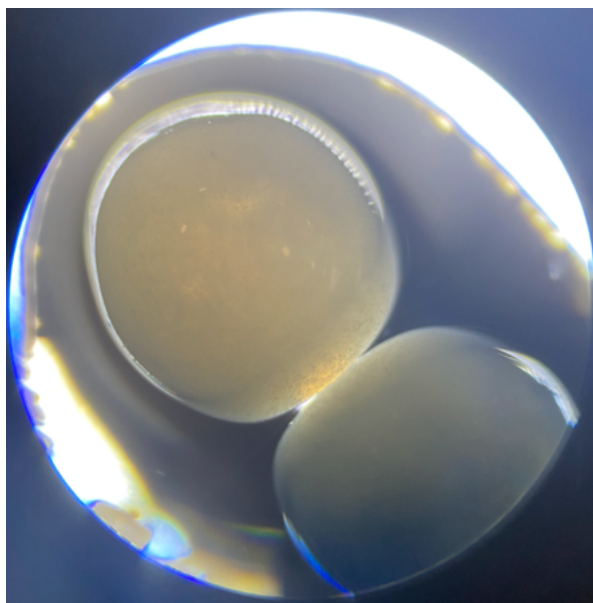


Figura 12. Microcápsulas obtidas com agulha e banho de ultrassons (4x)

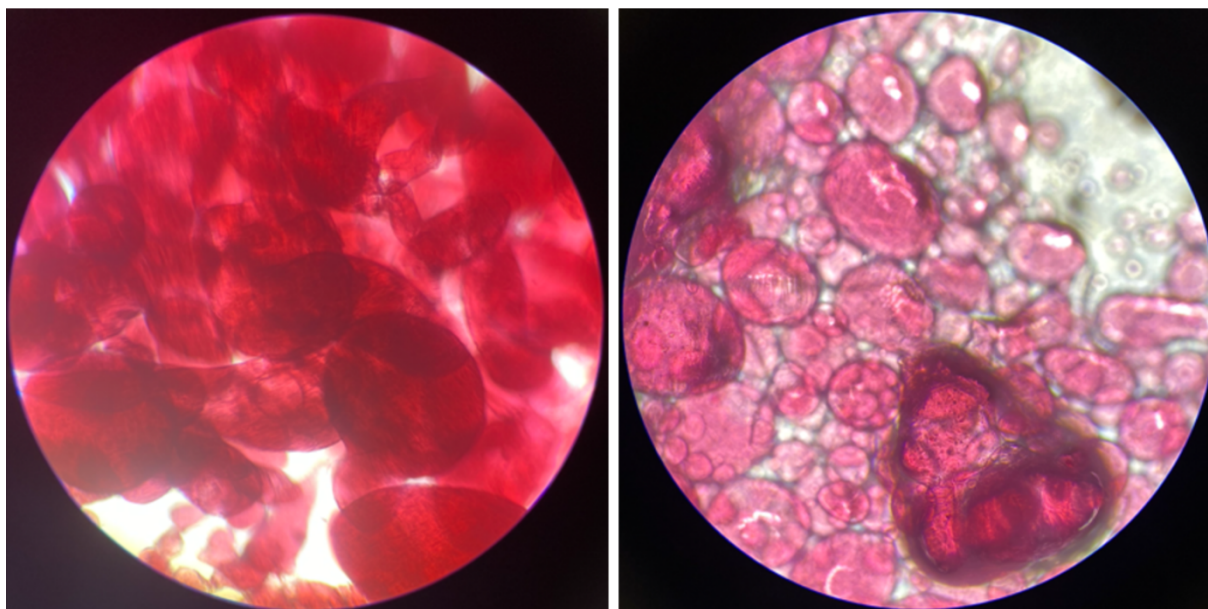


Figura 13. Microcápsulas obtidas por spray (4x e 10x)

Entre os diferentes métodos usados na gelificação iônica, verificou-se que o gotejamento da solução de alginato sobre a solução de cloreto de cálcio é o que origina cápsulas mais uniformes, contudo de maiores dimensões. O uso de ultrassons não produziu alterações nos resultados, enquanto o método de spray originou cápsulas de dimensões mais reduzidas, mas, por ser arcaico, com bastante dispersão de tamanho.

Para além da baixa uniformidade, ponderou-se que a existência de uma película polimérica em torno do princípio ativo iria aumentar o tempo de libertação deste, o que não se pretende num processo de desbridamento. Assim, o método a usar para incorporação do aditivo nos materiais de penso têxteis foi alterado para a impregnação direta, cujos resultados auxiliaram na observação da libertação das emulsões no têxtil.

Apesar disto, a microencapsulação não deixa de ser um método valioso quando se pretende a libertação lenta e controlada de ativos voláteis, pelo que as cápsulas desenvolvidas foram caracterizadas, sendo estes resultados úteis para outros desenvolvimentos no âmbito do projeto TEX4WOUNDS.

5.2 Impregnação direta

5.2.1 Soluções de alginato

Inicialmente foram elaboradas amostras com uma solução aquosa alginato com diferentes percentagens de concentração, com a adição de Remazol RGB vermelho 1%, a 0,2 bar e 0,4 bar de pressão. Neste ensaio foram obtidos os seguintes valores de pick-up nas 6 amostras estudadas, apresentado na tabela 6.

Tabela 6. Pick-up obtido nas amostras preparadas por impregnação, com alginato e corante alimentar

Pressão	Amostras	Peso a seco (g)	Peso após impregnar (g)	Pick-up
0,2 bar	1%	0,81	8,13	904%
	2%	0,79	9,36	1085%
	4%	0,75	9,73	1197%
0,4 bar	1%	0,78	9,31	1094%
	2%	0,77	10,37	1247%
	4%	0,87	12,31	1315%

O *pick-up* observado corresponde à capacidade que um têxtil tem de absorver humidade ou uma determinada solução, tal como um corante ou uma emulsão. Neste caso, podemos verificar que os valores de *pick-up* aumentaram com o aumento de pressão e, também, com o aumento da concentração de alginato.

Após esta análise, as mesmas amostras acima referidas foram testadas apenas a 0,2 bar com a adição de cloreto de cálcio. A tabela 7 apresenta os valores de *pick-up* nas amostras com alginato, corante alimentar e CaCl_2 .

Tabela 7. Pick-up nas amostras com alginato, corante alimentar e CaCl_2

Amostras Alginato + RGB + CaCl_2 5%	Peso a seco (g)	Peso após impregnar (g)	Pick-up
1%	0,91	9,93	991%
2%	0,98	12,58	1184%
4%	1,03	15,43	1398%

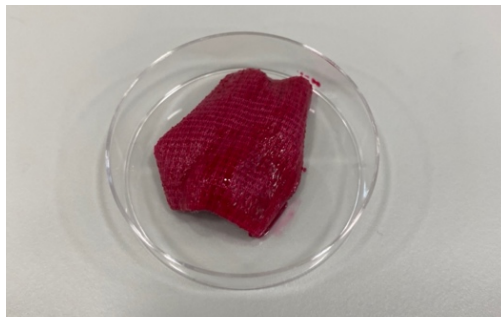


Figura 14. Resultado das amostras impregnadas a 0,2 bar, após gelificação com CaCl_2

Estas amostras de malha F resultaram numa malha rugosa e muito dura. Assim, conclui-se que a percentagem de alginato a 4% não obtém bons resultados com este método.

Através dos resultados obtidos do pick-up anterior, a concentração de alginato 1% foi escolhida. De seguida, foram apenas impregnadas amostras de solução aquosa de alginato 1% com Remazol RGB vermelho 2% nas pressões de 0,2 bar, 0,4 bar, 0,6 bar e 0,8 bar, todas a 2,2 m/min de rotação. O pick-up destas amostras está presente na tabela 8.

Tabela 8. Pick up das amostras de solução aquosa de alginato 1% com corante a várias pressões e 2,2m/min

Amostras	Peso a seco (g)	Peso após impregnar (g)	Pick-up
0,2 bar	0,67	7,41	1006%
0,4 bar	0,84	2,06	145%
0,6 bar	0,64	1,45	127%
0,8 bar	0,88	1,89	115%

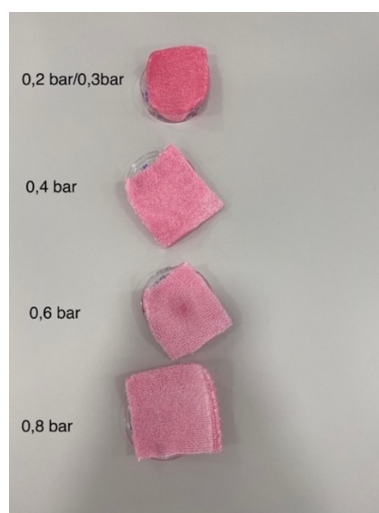


Figura 15. Demonstração resultado nas malhas dos diferentes níveis de pressão aplicados no Foulard

Com esta atividade verificou-se que a pressão mais indicada para o pretendido é 0,3 bar ou 0,4 bar. Foi ainda observado que o rolo de cima não roda quando a pressão é de 0,2 bar e 0,3 bar.

5.2.2 Viscosidade das soluções de alginato

Procedeu-se à análise da viscosidade das soluções aquosas de alginato a 1%, 2% e 4%, com corante. A solução a 4% apresentou uma viscosidade de 3,08 Pa/s (torque 30,8%), a de 2% uma viscosidade de 0,27 Pa/s (torque 27,3%), e a de 1% uma viscosidade abaixo do limite do viscosímetro usado, pois era bastante mais líquida.

5.2.3 Emulsões Alginato e Óleo de Melaleuca

Devido ao método da encapsulação não ter alcançado os resultados pretendidos, foram realizadas emulsões. As emulsões desempenham um papel crucial em diversas áreas da ciência e da indústria, devido à sua capacidade de combinar dois líquidos imiscíveis, como água e óleo, em uma mistura estável. Essa estabilidade é alcançada devido à presença de um agente emulsificante que reduz a tensão superficial entre os líquidos permitindo que a emulsão se forme e se mantenha por um determinado período.

Estas emulsões foram elaboradas inicialmente com valores fixos de alginato e OEM para encontrar valores ótimos dos agentes emulsificantes. Assim, concluiu-se que a emulsão contendo valores ideais de agentes emulsificantes seria a H. Na figura 14 encontramos as emulsões obtidas numa primeira fase, conforme descritas nos métodos acima referidos.

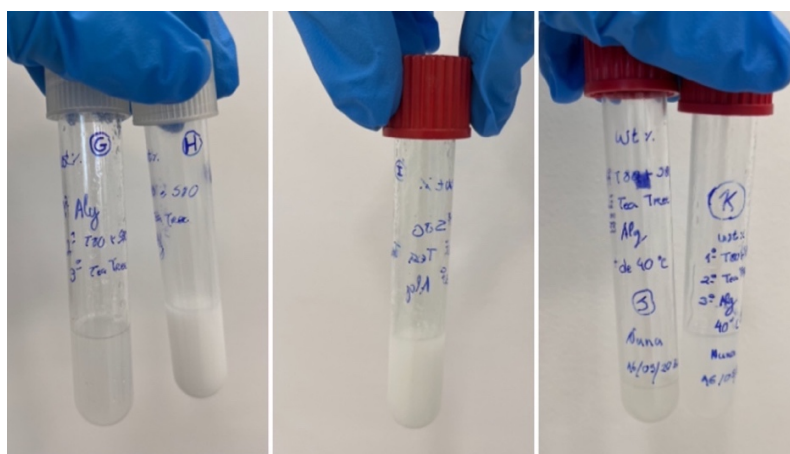


Figura 16. Emulsões de teste com alginato, óleo de melaleuca e agentes emulsificantes

Utilizando a estrutura da emulsão H, foram criadas amostras finais com várias concentrações de OEM e alginato:

- **A:** amostra contendo 1% de Tween 80 + Span 80; **5%** de Tea Tree (2g) e o restante de alginato 1% até completar 40g de massa total da amostra.
- **B:** amostra contendo 1% de Tween 80 + Span 80; **15%** de Tea Tree (6g) e o restante de alginato 1% até completar 40g de massa total da amostra.
- **C:** amostra contendo 1% de Tween 80 + Span 80; **20%** de Tea Tree (8g) e o restante de alginato 1% até completar 40g de massa total da amostra.

- **D:** amostra contendo 1% de Tween 80 + Span 80; **25%** de Tea Tree (10g) e o restante de alginato 1% até completar 40g de massa total da amostra.
- **E:** amostra contendo 1% de Tween 80 + Span 80; **30%** de Tea Tree (12g) e o restante de alginato 1% até completar 40g de massa total da amostra.



Figura 17. Emulsões finais com diferentes concentrações de OEM e alginato

Estas amostras apresentaram os seguintes valores de pick-up após serem submetidas ao mesmo processo descrito anteriormente.

Tabela 9. Pick-up das amostras finais de OEM e alginato

Amostras	Peso a seco (g)	Peso após impregnar (g)	Pick-up
A	0,76	2,08	174%
B	0,81	1,97	143%
C	0,84	2,17	158%
D	0,77	2,04	165%
E	0,82	2,08	154%



Figura 18. Amostras finais impregnadas na malha F

5.3 Análise dos espectros UV-Vis

O gráfico 1 representa a absorvância do OEM. Este tipo de análise é usado para determinar as características de absorção de uma substância quando exposta à luz UV e visível. O OEM apresenta dois picos principais de absorção, a 314 nm e 335 nm. Estes valores são superiores aos valores presentes na literatura, possivelmente, devido à diluição do OEM realizada com acetona. No estudo de Johnson et al, 2022 é mencionado que o OEM contém mais de 113 componentes. Um pico a 214 nm pode ser largamente atribuído ao terpinen-4-ol e ao γ -Terpineno, os dois principais componentes do OEM. Por sua vez, um pico de 265nm pode ser atribuído ao α -terpinol (Johnson et al, 2023) (Manjula et al, 2021). Podemos, assim, relacionar os valores da literatura com os resultados obtidos.

Depois do pico principal, há uma rápida diminuição na absorvância à medida que o comprimento de onda aumenta para a região visível. A absorvância torna-se quase plana e muito baixa na faixa visível e no início da região do infravermelho próximo, indicando que o OEM tem baixa absorção nessas regiões o que seria expectável, dada a ausência de cor no OEM. Esta análise serve de auxílio à visualização dos espectros das emulsões finais.

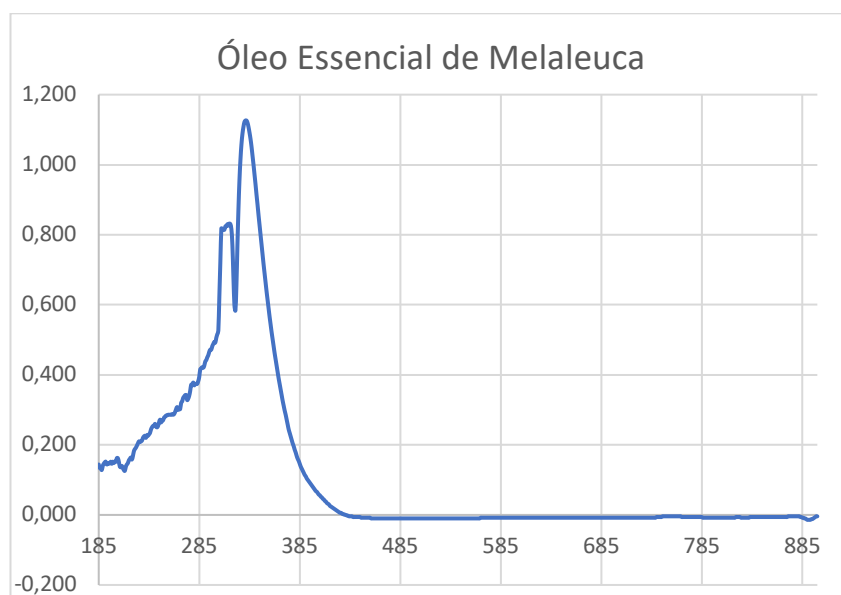


Gráfico 1. Espectro de absorvância do OEM

Como amostras de controlo, foram também preparadas e analisadas soluções de alginato nas diferentes concentrações, estas mesmas soluções contendo Remazol, a solução apenas com Remazol, e estas soluções com cada um dos tampões fosfato, assim como os tampões, para averiguar como o pH afetava os espectros de absorção do alginato e corante. A absorvância destas amostras está representada nos gráficos 2, 3 e 4.

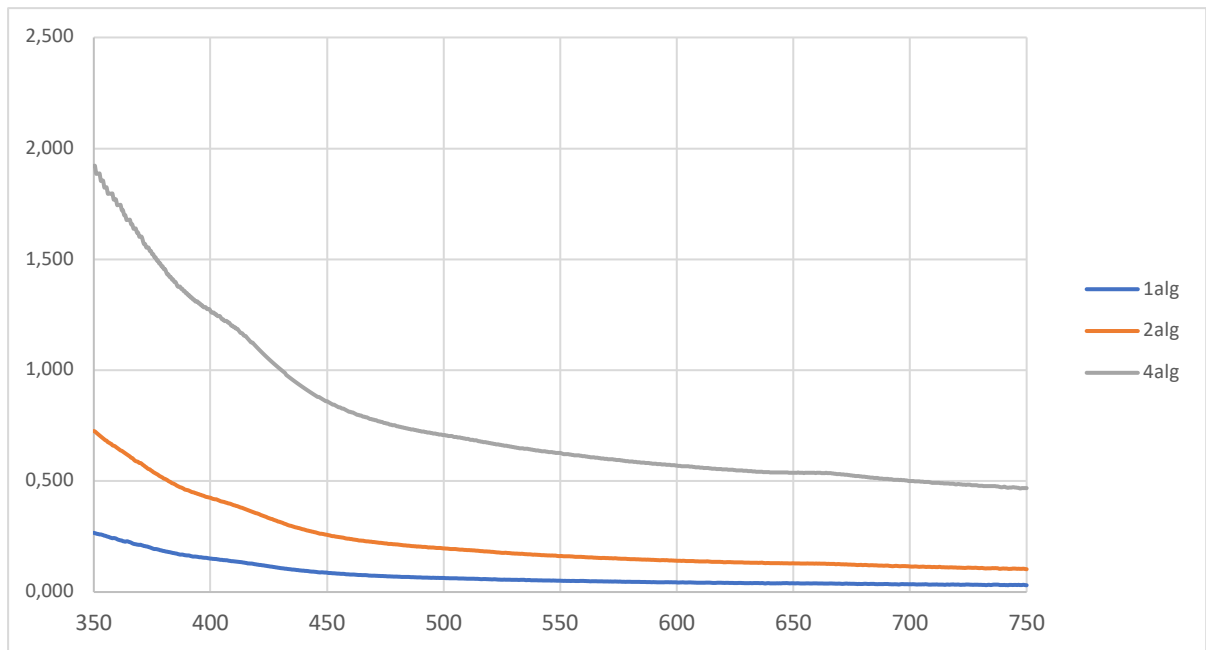


Gráfico 2. Espectros de absorvância das soluções de alginato a 1%, 2% e 4% em água destilada

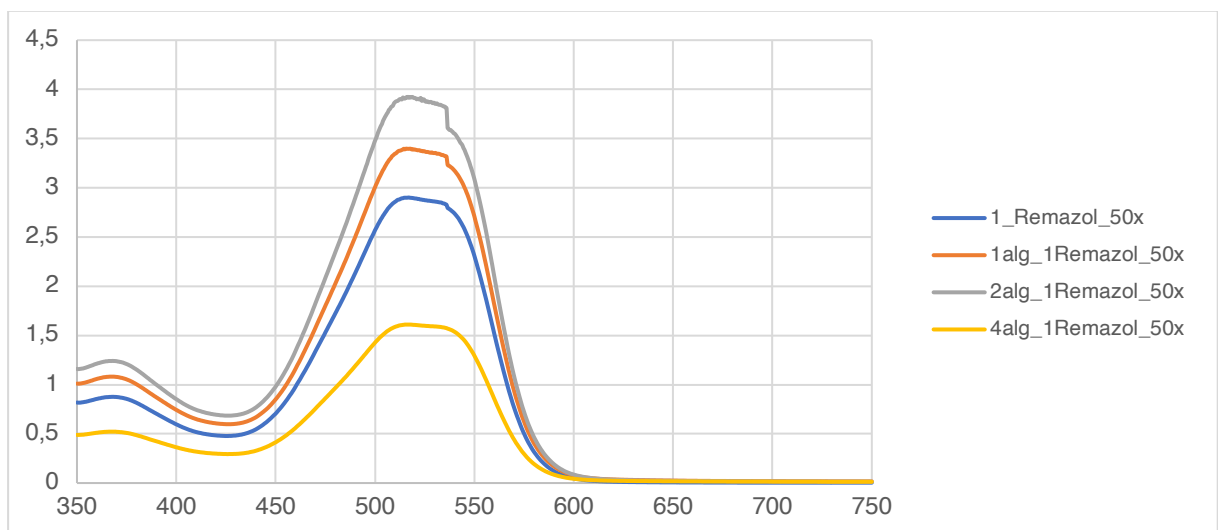


Gráfico 3. Espectros de absorvância das soluções de Remazol 1% em água destilada, e de alginato a 1%, 2% e 4% com Remazol a 1% em água destilada, diluídas 50x

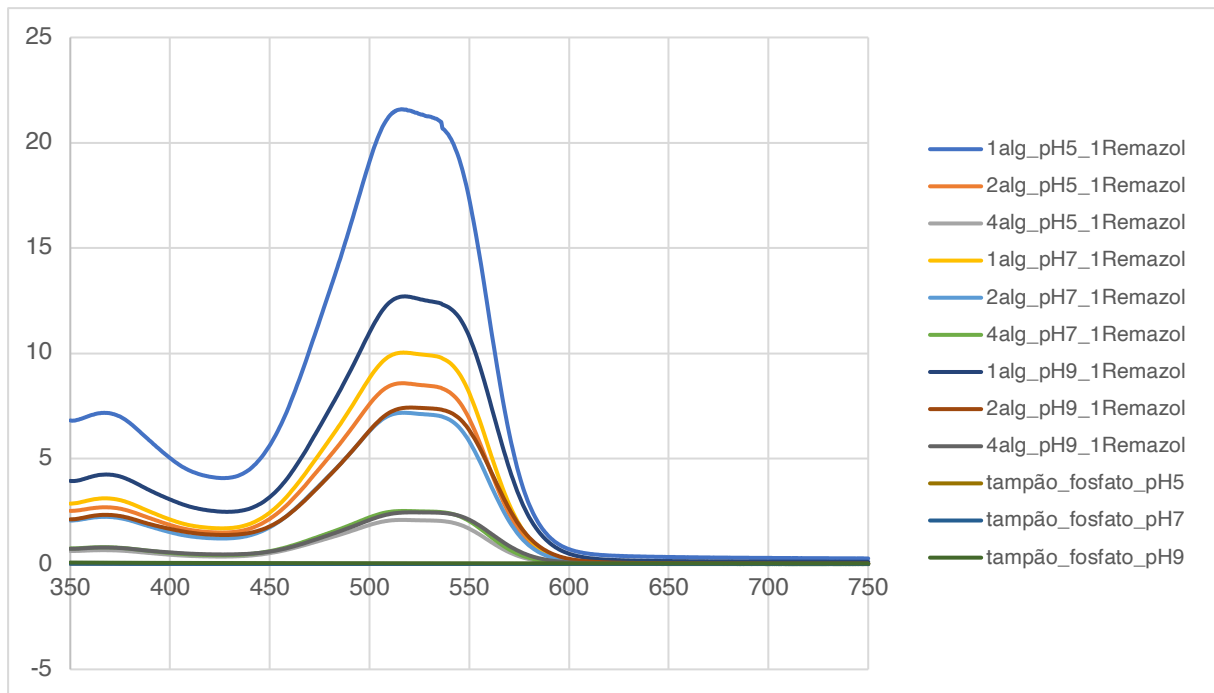


Gráfico 4. Espectros de absorvância das soluções de alginato a 1%, 2% e 4% com Remazol, em tampão fosfato pH 5, 7 e 9, e destes tampões

Sabendo que as amostras se encontravam todas nas mesmas condições com a mesma quantidade de Remazol e apenas com a variação da percentagem de alginato, foram obtidas as seguintes observações. A partir destes resultados foi observado que a absorvância das soluções de alginato 1% é superior com pH 5, sendo que a absorvância com pH 9 é superior à com pH 7. Deste modo, conclui-se que há uma maior libertação com pH 5 e que quando a amostra se encontra em contacto com o tampão de pH 7, a sua libertação é menor.

Nas amostras com 2% de alginato há uma menor libertação do que nas amostras de alginato 1%, apesar de que as de alginato 2% apresentam maior absorvância. A libertação com esta concentração de alginato foi na mesma superior com pH 5 e a de pH 9 teve mais libertação do que a de pH 7.

As amostras de 4% apresentaram resultados ligeiramente diferentes das outras amostras. A libertação foi maior com pH 7 e 9, pois estes apresentam uma libertação muito semelhante, talvez devido a ser um pH mais básico. Para além destas conclusões, a menor absorvância foi obtida com pH 5. Estes resultados eram os esperados devido ao alginato ter maior afinidade para pHs mais básicos. Apesar dos espectros UV-Vis serem referentes à junção de alginato com Remazol vermelho, com estas observações pode-se concluir que o alginato 1% foi o mais adequado para o pretendido.

Relativamente às amostras das emulsões com OEM, Tween e Span 80, os gráficos 5 e 6 representam os espectros de transmitância e absorbância obtidos. Neste caso, a transmitância foi usada apenas para calcular a absorbância.

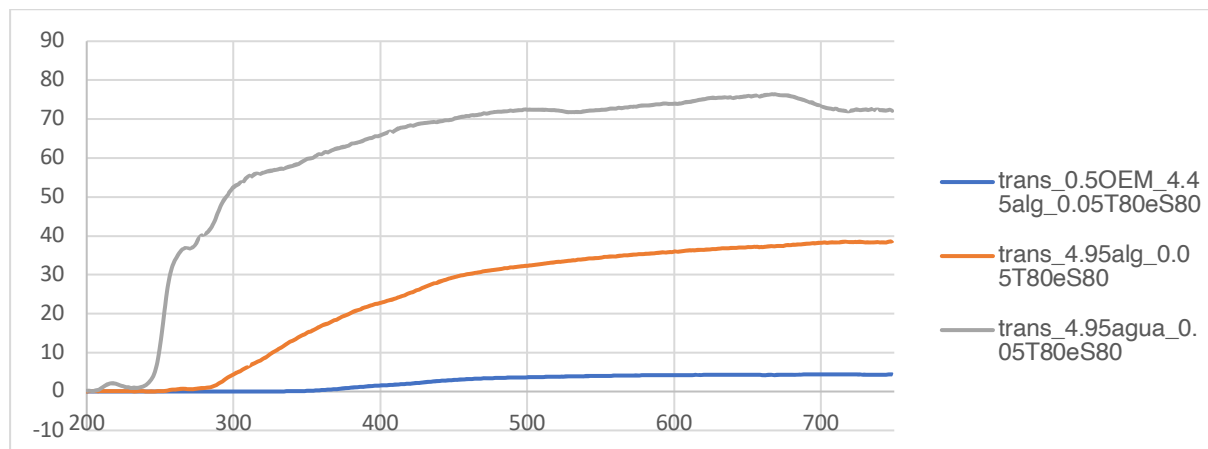


Gráfico 5. Espectros de transmitância de emulsões com OEM, Tween 80 e Span 80

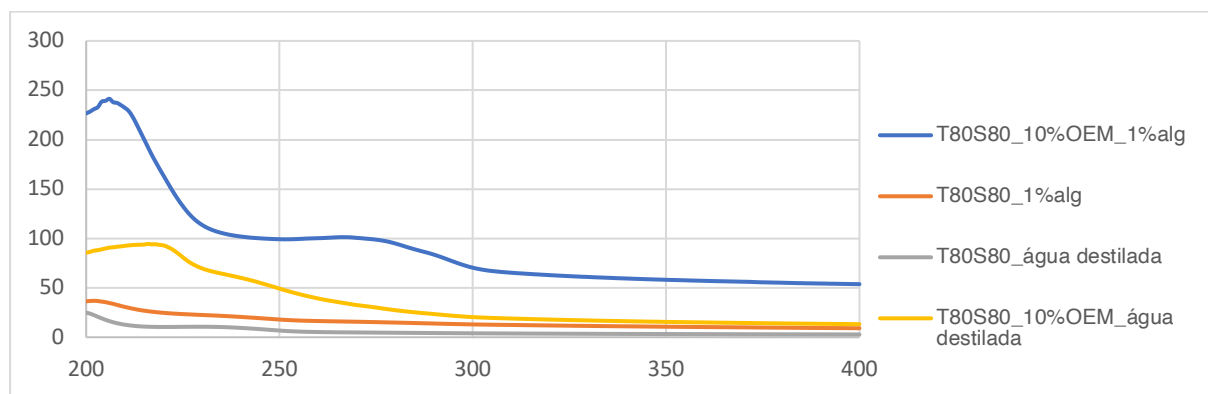


Gráfico 6. Espectros de absorbância de emulsões com OEM, Tween 80 e Span 80

Neste gráfico as curvas de absorbância de quatro diferentes amostras com OEM, Tween 80, e Span 80, foram corrigidas pelo fator de diluição, e obtidas entre 200 e 400 nm. A absorção máxima de todas as amostras ocorre na região entre 200 e 220 nm.

A amostra 1 (surfactantes + OEM + alginato) tem uma absorção significativamente maior em comparação com as outras, devido a esta ter sido calculada diretamente e não através da transmitância.

As amostras 2 e 3 (surfactantes + alginato e só surfactantes) apresentam perfis de absorção semelhantes e mais reduzidos, sugerindo que a presença de alginato ou água destilada não afeta significativamente a absorção quando comparado com o OEM, o que é expectável quando analisamos os espectros de absorção do alginato e do OEM (gráficos 2 e 1).

A amostra 4, que contém OEM, surfactantes e água destilada, mostra uma absorção intermédia entre as outras, possivelmente refletindo a contribuição do óleo de OEM para o perfil de absorção. Concluímos que o OEM, quando presente, aumenta a absorbância na região UV do espectro, e que os agentes emulsificantes (Tween 80 e Span 80) e o alginato, quando usados sem o OEM, apresentam absorbâncias menores.

5.4 Análise FTIR

O gráfico 7 apresenta um espectro de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do OEM puro e das várias amostras têxteis impregnadas com as emulsões contendo OEM (5 a 30%), alginato, e agentes emulsificantes (1%). O FTIR é uma técnica analítica utilizada para obter o espectro de absorção ou emissão de uma substância no infravermelho, proporcionando informações sobre a estrutura química de um determinado material.

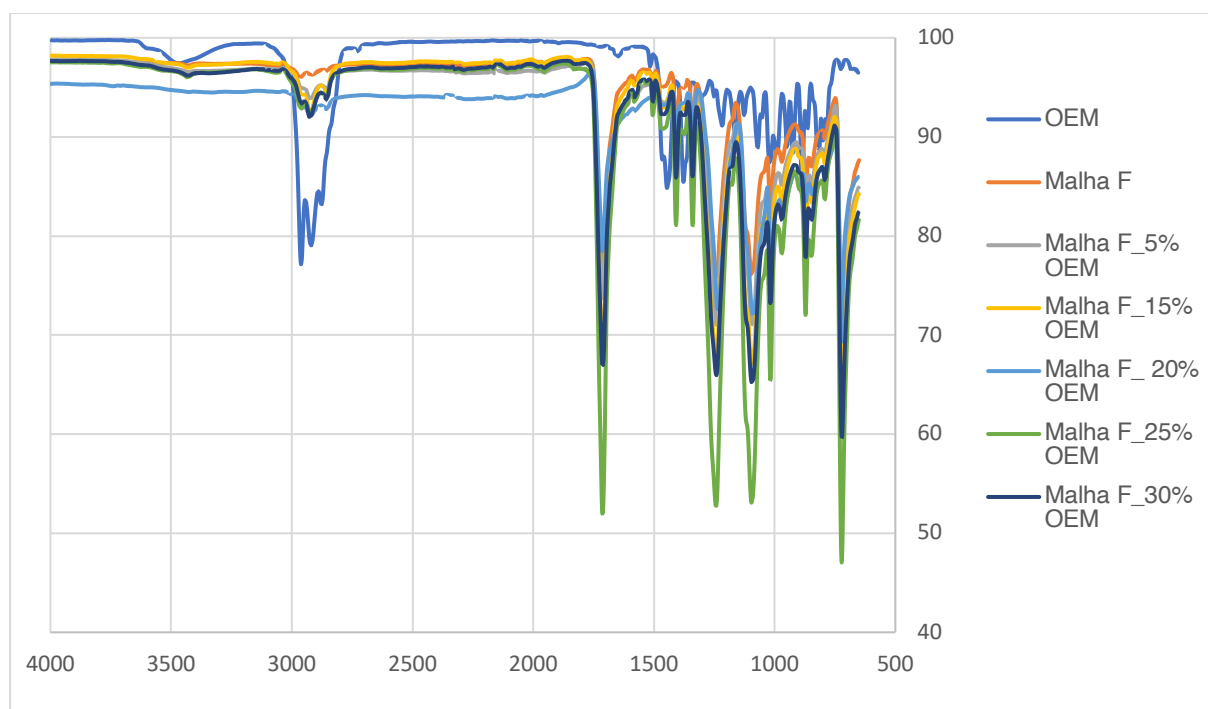


Gráfico 7. Espectro de FTIR do OEM e de amostras têxteis impregnadas com emulsões de OEM, alginato e surfactante

As características principais do espectro FTIR são as bandas de absorção, que correspondem às diferentes ligações químicas e grupos funcionais presentes nas substâncias. Os picos presentes no OEM obtidos pela análise FTIR estão representados na tabela 10. A 3445 cm^{-1} encontram-se as ligações O-H, nos números de onda 2961, 2919 e 2875 cm^{-1} é possível verificar as características dos sesquiterpenos, a 1444 e 1377 cm^{-1} existem as ligações C-H, e a 1638 cm^{-1} encontram-se os carbonilas ($-\text{C}=\text{O}$) e a 995 cm^{-1} é possível verificar a vibração da ligação C-O-C. Estes valores vão de encontro à literatura existente (Flinčec et al, 2022).

Tabela 10. Picos presentes no espectro FTIR do OEM

cm-1	COMPONENTES
3445	Ligações O-H
2961, 2919 e 2875	Característicos dos sesquiterpenos
1444 e 1377	Ligações C-H
1638	Carbonilas ($-\text{C}=\text{O}$)

995	Vibração da ligação C-O-C
886	Olefinas

A análise FTIR foi também usada para analisar apenas as emulsões das amostras finais mencionadas no ponto 4.2.1. Desta forma, obteve-se o gráfico 8.

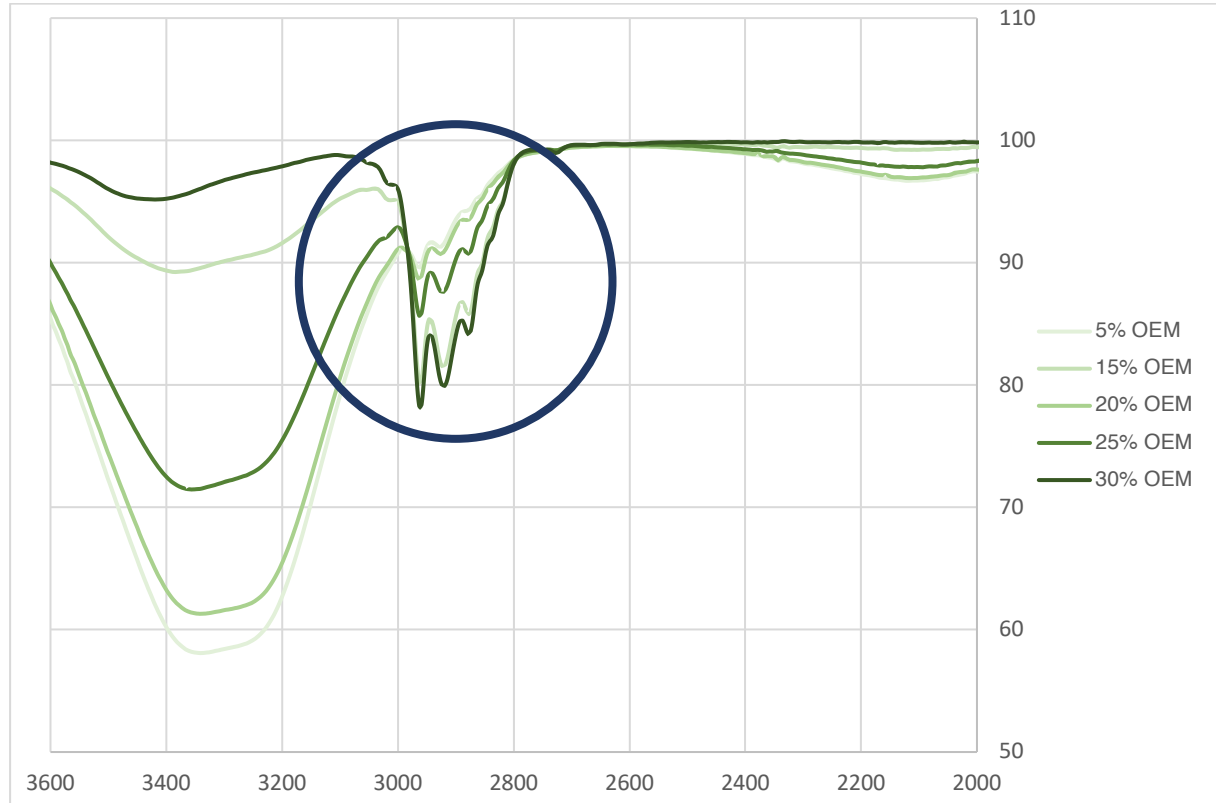


Gráfico 8. Espectro de FTIR das emulsões de OEM, alginato e surfactantes apresentadas na tabela 10

É possível observar uma tendência decrescente das bandas a 3035 cm^{-1} e 2960 cm^{-1} , e crescente das bandas entre 2870 cm^{-1} e 2800 cm^{-1} com o aumento da concentração de OEM.

Com este resultado é possível concluir que a concentração de OEM 30% corresponde à emulsão em que os picos de OEM se sobressaem em relação aos picos de alginato, tornando esta a percentagem ideal.

Comparando este gráfico com o anterior, é possível verificar que em ambas as amostras com OEM 15% é a única em que o pico do óleo não coincide com a percentagem correspondente, pelo que deve ter ocorrido algum erro nesta amostra.

5.4.1 Efeito do pH na libertação recorrendo à pressão exercida por um peso:

O pick-up resultante das amostras pressionadas por um peso é apresentado na tabela 11.

Tabela 11. Pick up das amostras pressionadas por um peso

Amostras	Peso a seco (g)	Peso após impregnar (g)	Pick-up
A	0,71	1,56	120%
B	0,70	1,51	116%
C	0,73	1,52	108%
D	0,70	2,45	250%
E	0,72	1,65	129%
F	0,68	1,49	119%

O gráfico 9 ilustra o resultado de um estudo sobre a libertação de OEM, numa concentração de 30%, com o intuito de averiguar como o pH influencia a taxa de libertação do OEM das malhas impregnadas. A libertação controlada do óleo é essencial para um desbridamento eficaz, sendo que a variação do pH pode afetar a solubilidade e estabilidade do mesmo e a integridade da matriz de alginato.

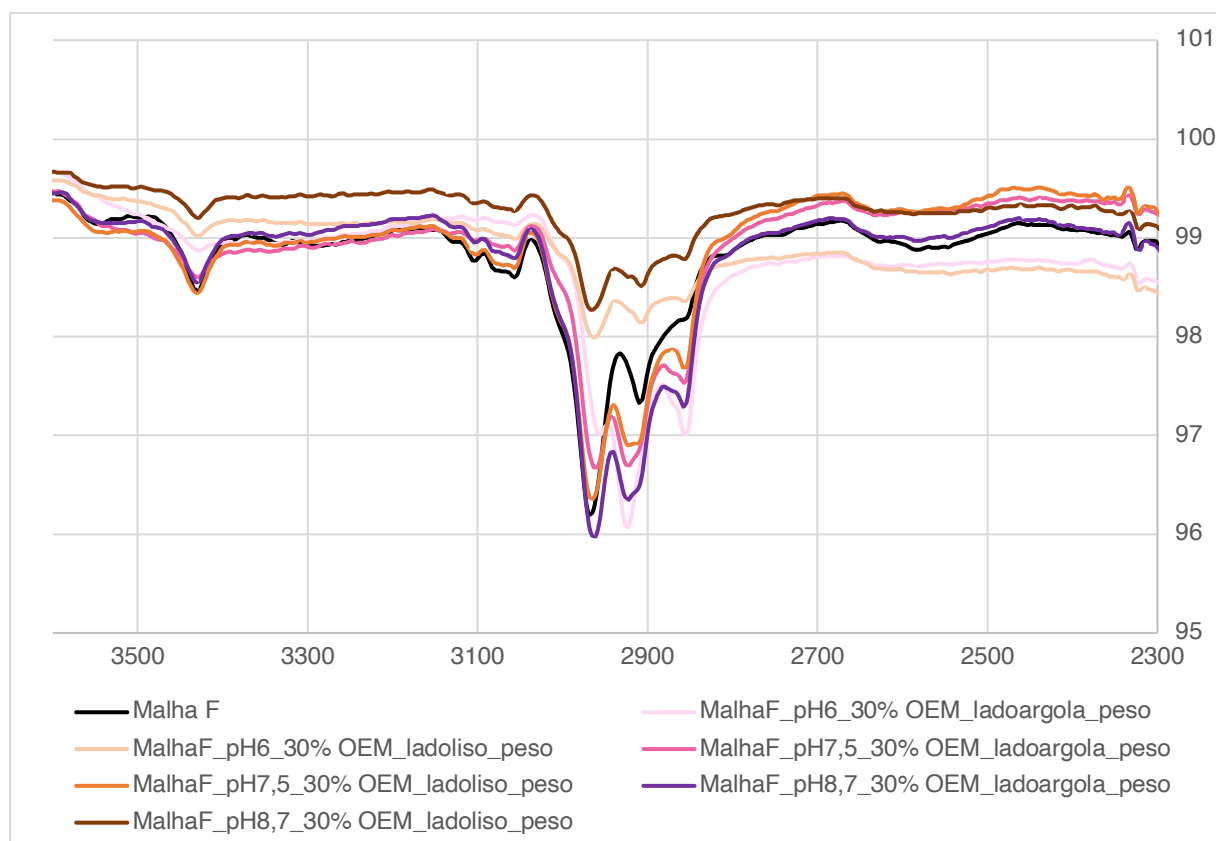


Gráfico 9. Libertação do OEM recorrendo a um peso

Apesar de a análise FTIR não ser um método quantitativo, fez-se um estudo comparativo de intensidade das bandas. Observou-se que entre as malhas submetidas a pH 6, 7,5 e 8,7, a que

aparentemente libertou mais OEM foi a de pH 8,7 quando o lado liso da malha se encontra em contacto direto com o tampão, pelo que este será o pH com maior libertação. Observou-se também que nesta amostra, o tampão ficou esbranquiçado, indicando uma libertação imediata do OEM para este. A menor libertação observou-se a pH 8,7 no lado com argola da malha F, o que sugere que, mais do que o efeito do pH, a estrutura da malha é essencial para o perfil de libertação do OEM.

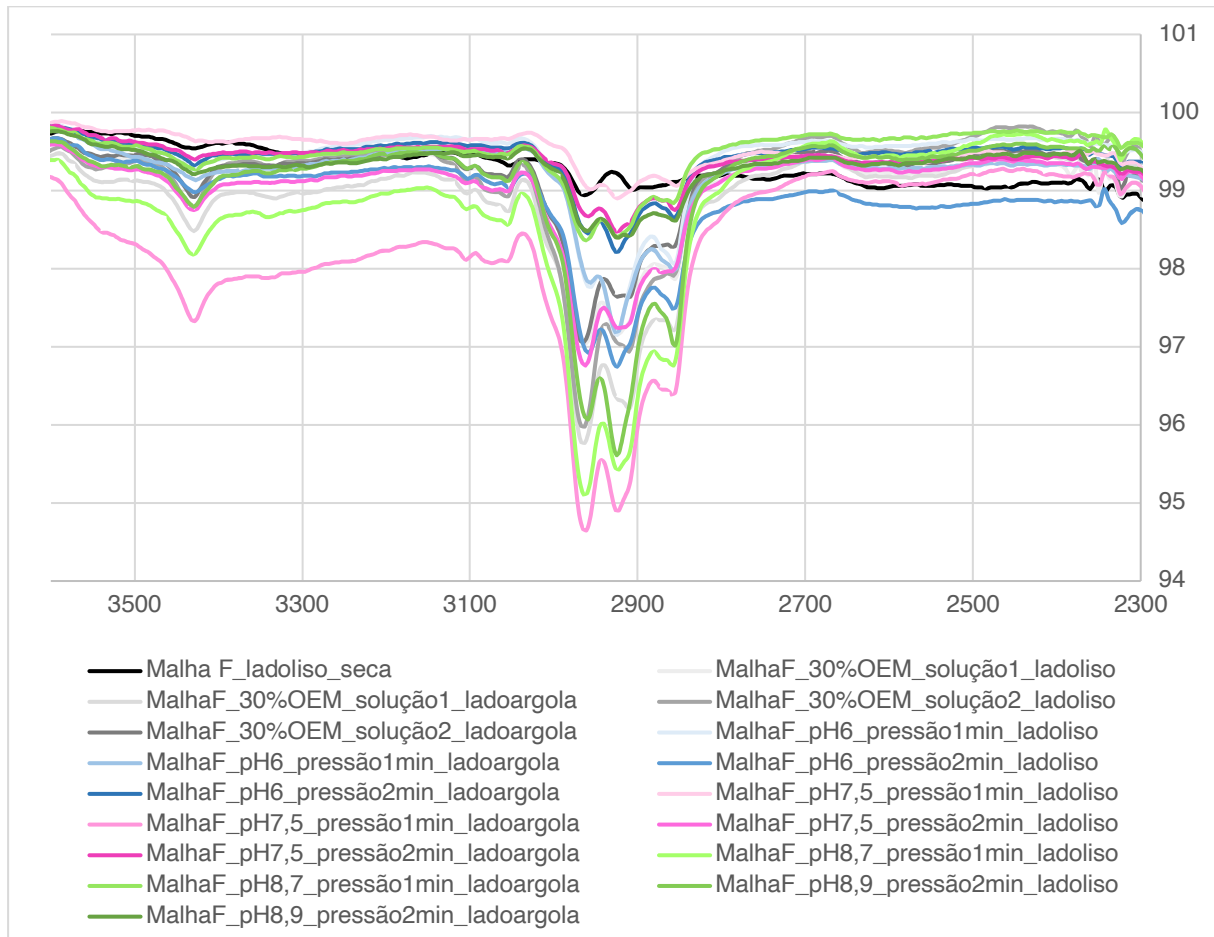


Gráfico 10. Espectro de FTIR das malhas impregnadas com emulsões contendo OEM, alginato e surfactantes, após contacto com soluções tampão fosfato a diferentes pH, sob ação de um peso, durante 1 e 2 minutos

O gráfico 10 detalha um estudo sobre a influência da pressão na libertação das amostras anteriores em intervalos de 1 e 2 minutos sob condições de pH variáveis (6, 7,5 e 8,7), essencial para otimizar curativos para desbridamento de feridas. Neste caso, foi observada uma maior libertação na amostra a pH 7,5 no lado liso da malha quando o teste de pressão durou 1 minuto. Quando o teste de pressão teve duração de 2 minutos a amostra com pH 7,5 no lado liso da malha foi a que libertou menos OEM.

5.4.2 Efeito do pH na libertação recorrendo ao procedimento Martindale:

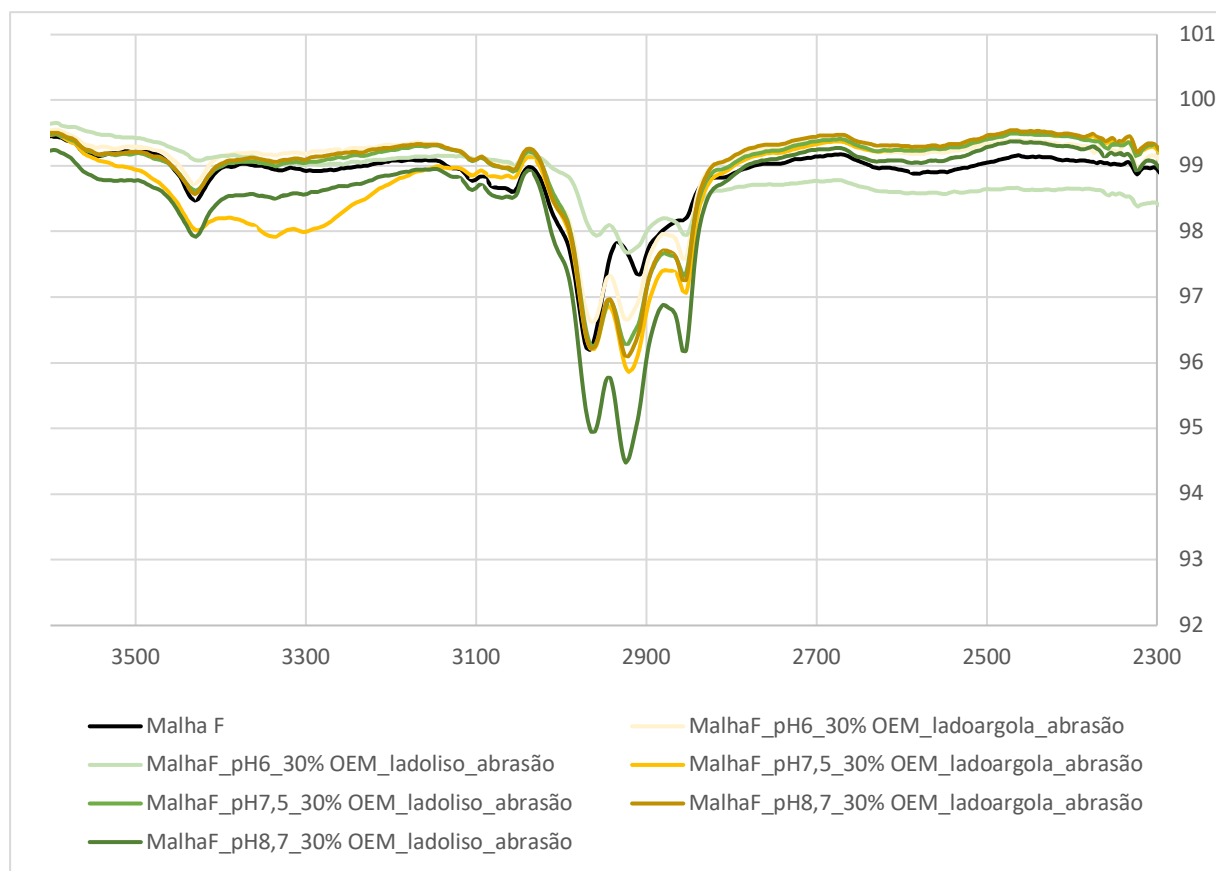


Gráfico 11. Espectro de FTIR das malhas impregnadas com emulsões contendo EOM, alginato e surfactantes, após ciclos de abrasão com malhas impregnadas com soluções tampão fosfato a diferentes pH, durante 3 minutos

O gráfico 11 exibe os resultados do teste de Martindale aplicado para avaliar a libertação de OEM 30% numa matriz de alginato sob diferentes condições de pH (6, 7,5 e 9), imitando o desgaste e a fricção que um curativo enfrentaria ao ser usado sobre uma ferida. Podemos concluir que o comportamento da libertação é inconsistente ao longo do tempo. As oscilações marcadas nos dados sugerem que a libertação do OEM é afetada pela fricção e pelo desgaste, e o ajuste do pH pode ser necessário para otimizar a libertação do óleo em resposta ao desgaste físico imitado pelo teste de Martindale.

Ao analisar as várias amostras, pode-se concluir que a libertação do óleo no lado da malha com argola é muito semelhante nos diferentes pHs e que a maior libertação ocorreu com o lado liso da malha a pH 6. A libertação foi menor com o lado liso a pH 8,7.

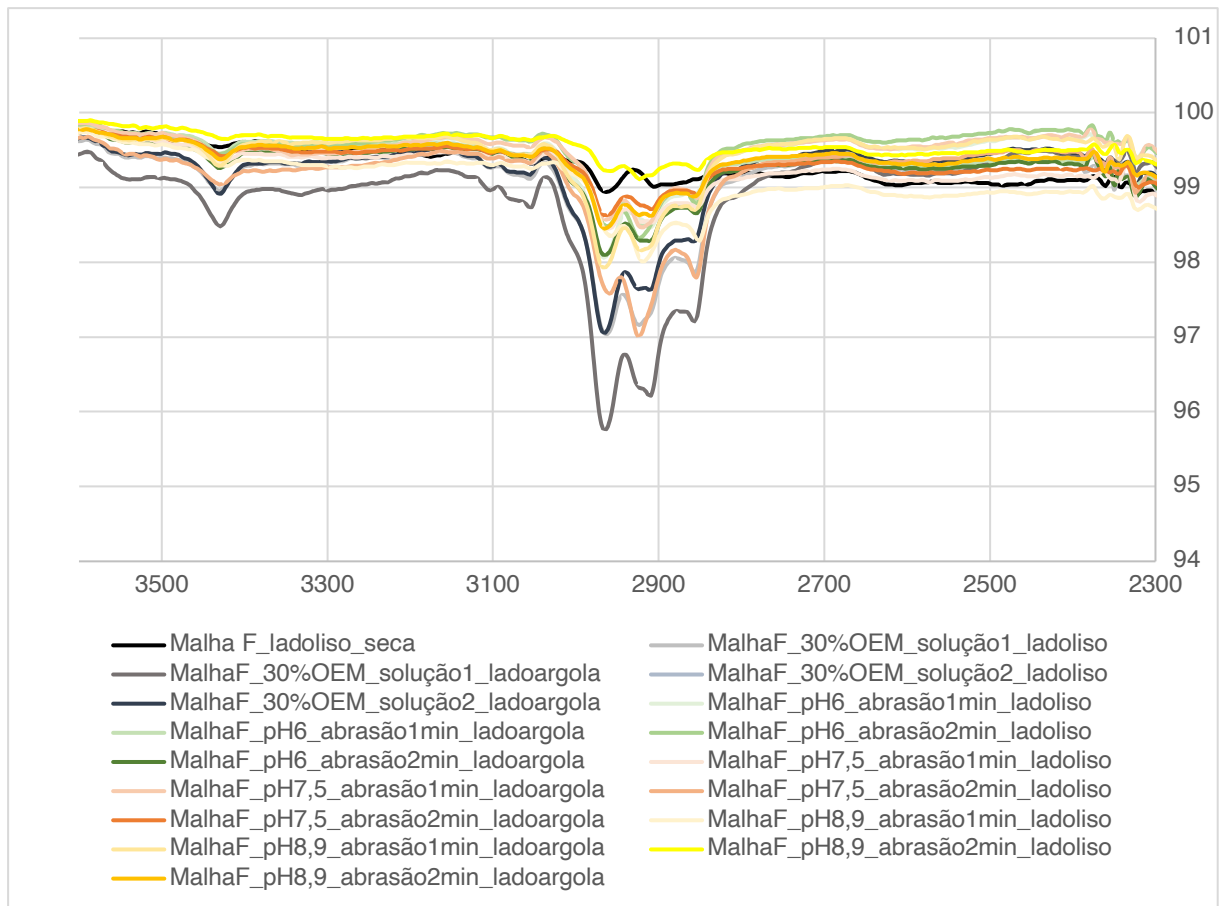


Gráfico 12. Espectro de FTIR das malhas impregnadas com emulsões contendo EOM, alginato e surfactantes, após ciclos de abrasão com malhas impregnadas com soluções tampão fosfato a diferentes pH, durante 1 e 2 minutos.

No caso da repetição deste teste com a duração de 1 e 2 minutos, o pH mais elevado foi alterado para 8,9 (Gráfico 12). Assim, observou-se que ocorreu uma maior libertação a pH 8.9 no lado liso da malha quando o teste de abrasão decorreu durante 2 minutos. A amostra onde ocorreu menor libertação foi a amostra a pH 7.5 no lado liso da malha quando o teste de abrasão decorreu durante 2 minutos.

É de salientar que os pHs foram utilizados nestes estudos como simuladores dos diferentes ambientes durante o processo de cicatrização de uma ferida.

6 Conclusão

Este estudo teve como objetivo a observação do efeito do OEM numa matriz de alginato para o desbridamento de feridas. O processo de cicatrização de feridas é moroso e delicado, e requer cuidados específicos para garantir a recuperação eficaz da pele, especialmente em feridas crônicas.

Partindo do pressuposto que a cicatrização num ambiente húmido é mais vantajosa do que em condições secas, a matriz de alginato desempenhou um papel de extrema importância neste estudo. É importante também mencionar que o OEM foi o selecionado para o desbridamento de uma ferida devido às suas propriedades medicinais, e a sua combinação com a matriz de alginato provou-se adequada para o objetivo em questão.

A análise do pH revelou-se importante pois permitiu imitar a pele humana. Tendo em conta que o pH da pele vitalizada ronda valores de pH 4 a 6, feridas agudas e crônicas rondam os 6,5 a 8,9 valores, é imperativo proporcionar um pH mais ácido no processo de cicatrização de feridas.

Concluiu-se que o alginato 1% seria a concentração ideal para uma matriz de alginato para fins de desbridamento. Verificou-se que o OEM apresenta valores de absorvância elevados. A absorvância máxima para as amostras foi entre 200-220 nm, com padrões de absorvância similares, estabilizando-se após 300 nm. O espectro FTIR confirmou que a amostra com 30% de OEM é ideal, baseado no predomínio dos picos de OEM sobre os do alginato, e permitindo, assim, fazer um melhor seguimento da libertação do OEM.

O pH ótimo para libertação das emulsões foi de 8,7, observando-se libertação imediata, especialmente do lado liso da malha têxtil. O teste de Martindale mostrou que a libertação de OEM é influenciada pela fricção e desgaste, sugerindo que o ajuste de pH é necessário para otimizar a libertação do óleo. A libertação de óleo foi semelhante em diferentes pHs no lado com argola da malha, sendo mais significativa no lado argola em pH 6 e menor no lado liso em pH 8,7 e pH 8,9.

Os dados sugerem que a impregnação direta com 30% de OEM proporcionou uma melhor libertação e o alginato 1% foi eficaz como meio condutor. O pH e a textura da malha têxtil são fatores críticos que influenciam a libertação do OEM. A análise espectroscópica, incluindo UV-Vis e FTIR, foi crucial para entender as interações e estabilidade das emulsões.

7 Trabalhos Futuros

Apesar da microencapsulação não ter proporcionado os resultados pretendidos, este seria um ponto de melhoria a revisar dado que a possibilidade de libertação lenta de um composto com fins medicinais pode apresentar diversas vantagens.

As análises espectroscópicas realizadas podem ser aprofundadas para entender ainda mais as interações químicas entre o OEM e o alginato, o que poderá ajudar a otimizar a formulação da matriz e a sua estabilidade.

Dado que os testes foram efetuados utilizando têxtil como simulador de pele, o passo seguinte seriam ensaios clínicos ou uso em simuladores de pele, para avaliar se a matriz de alginato impregnada com OEM é igualmente eficaz em diferentes contextos clínicos em casos reais ou simulados de feridas agudas e crónicas. Através destes ensaios futuros, seria possível também avaliar a resposta do sistema imunológico na área da ferida, o que pode ser relevante para melhor entender os efeitos imunomoduladores da terapia.

Para além disto, será importante avaliar os efeitos a longo prazo do tratamento com a matriz de alginato impregnada com OEM em termos de cicatrização, prevenção de infeções e bem-estar do paciente.

O desenvolvimento de formulações específicas para desbridamento de diferentes tipos de feridas, tendo em conta o perfil individual de cada uma, será também um estudo interessante a desenvolver.

8 Referências Bibliográficas

Asbahani A., Miladi K., Badri W., Sala M., Addi E., Casabianca H., Mousadik A., Hartmann D., Jilale A., Renaud F., Elaissari A.. 2015. Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics* **483**: 220-243.

Bajpai S. K., Bajpai M., Sharma L. 2012. Copper nanoparticles loaded alginate-impregnated cotton fabric with antibacterial properties. *Journal of Applied Polymer Science* **126**.

Banho ultrassom - Equipamento auxiliar - Retsch.com. (n.d.). Disponível: <https://www.retsch.pt/pt/produtos/assistencia/equipamentos-de-limpeza/>

Bennison L.R., Miller C.N., Summers R.J., Minnis A.M.B., Sussman G. & McGuinness W. 2017. The pH of wounds during healing and infection: a descriptive literature review. *Wound Practice & Research: Journal of the Australian Wound Management Association* **25**: 63-69.

Ching S. H., Bansal N., Bhandari B. 2017. Alginate gel particles—A review of production techniques and physical properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **56**: 1133-1152.

Da Silva Júnior M., Araújo M., Martins A., Dos Santos Lima M., Da Silva F., Converti A., Maciel M. 2023. Microencapsulation by spray-drying and freeze-drying of extract of phenolic compounds obtained from ciriguela peel. *Scientific Reports* **13**: 1-16.

Debrichem – Debx Medical. Disponível: <https://www.debx-medical.com/our-product/>

Estevinho B., Rocha F., Santos L., Alves A. 2013. Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications - A review. *Trends in Food Science and Technology* **31**: 138-155.

Flinčec Grgac S., Tesla T., Čorak I., Žuvela Bošnjak F. 2022. Hydrothermal Synthesis of Chitosan and Tea Tree Oil on Plain and Satin Weave Cotton Fabrics. *Materials* **15**.

Gethin G. 2007. The significance of surface pH in chronic wounds. *Wounds UK* **3**: 52-56.

Giessmann A. 2008. Foulard technology and impregnation or double-side coating without edge coating. *Coating (Coating International)* **41**: 2-5.

Goh C. H., Heng P. W., Chan L. W. 2012. Alginates as a useful natural polymer for microencapsulation and therapeutic applications. *Carbohydrate Polymers* **88**:1-12.

Gokarneshan N. 2018. Recent Breakthroughs in Textile Materials for Wound Care. *Res & Rev Health Care Open Acc J* **2**: 103-106.

Gonzalez, A. C., Medrado A. R., Costa T. F., Andrade Z. A. 2016. Wound healing – A literature review. *An Bras Dermatol.* **91**:614-620.

Gupta B, Agarwal R., Alam M. S. 2010. Textile-based smart wound dressings. *Indian Journal of Fibre and Textile Research* **35**: 175-187.

Gushiken L. F. S., Beserra F. P., Bastos J. K., Jackson C. J., Pellizzon C. H.. 2021. Cutaneous Wound Healing: An Update from Physiopathology to Current Therapies. *Life* **11**: 655.

Haesler E., Carville K. 2021. WHAM evidence summary: effectiveness of tea tree oil in managing chronic wounds . *WCET® Journal* **41**:44-47.

Hashim N., Mohd Norzi M., Mohd Arshad Z., Mohd Azman N., Abdul Mudalip S. 2023. Effect of spray drying parameters on the physicochemical properties and oxidative stability of oil from menhaden (*Brevoortia* spp.) and Asian swamp eel (*Monopterus albus*) oil extract microcapsules. *Food Chemistry Advances* **3**.

Heitzmann W., Fuchs P. C., Schiefer J. L. 2020. Historical perspectives on the development of current standards of care for enzymatic debridement. *Medicina* **56**: 706.

Henry G., Garner W. L.. 2003. Inflammatory mediators in wound healing. *Surgical Clinics of North America* **83**: 483-507.

Hoque M. T., Mahltig B.. 2020. Realisation of polyester fabrics with low transmission for ultraviolet light. *Coloration Technology.* **136**: 346-355.

Hosseini S. M., Hosseini H., Mohammadifar M. A., Mortazavian A. M., Mohammadi A., Khosravi-Darani K., Shojaee-Aliabadi S., Dehghan S., Khaksar R. 2013. Incorporation of essential oil in alginate microparticles by multiple emulsion/ionic gelation process. *International Journal of Biological Macromolecules* **62**: 582-588.

Johnson J., Thani P., Naiker M. 2022. Detection of eucalyptus oil adulteration in Australian tea tree oil using UV–Vis and fluorescence spectroscopy. *Talanta Open* **6**.

Kassem M., Ahmed A., Abdel-Rahman H et al. 2019. Use of Span 80 and Tween 80 for blending gasoline and alcohol in spark ignition engines. *Energy Reports* **5**: 221-230.

Laureano A., Rodrigues A. M. 2011. Cicatrização de Feridas. *Revista da SPDV* **69**: 355-367.

Lee R. L. P., Leung P. H. M., Wong T. K. S. 2014. A randomized controlled trial of topical tea tree preparation for MRSA colonized wounds. *International Journal of Nursing Sciences* **1**: 7-14.

Liu L., Wu F., Ju X. J., Xie R., Wang W., Niu C. N., Chu L. Y. 2013. Preparation of monodisperse calcium alginate microcapsules via internal gelation in microfluidic-generated double emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science* **404**: 85-90.

Madhok B. M., Vowden K., Vowden P. 2013. New techniques for wound debridement. *Int Wound J* **10**: 247-251.

Manjula B., Joshi V., Setty R., Geetha M. 2021. Development and validation of UV spectrophotometric method for estimation of tea tree oil in bulk and cosmeceutical creams. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research* **55**: S285-S292.

Manna B., Nahirniak P., Morrison C. A. 2021. Wound Debridement. Disponível: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29939659/> [data de consulta: 10/01/2023]

Maver T., Hribernik S., Mohan T., Smrke D. M., Maver U., Stana-Kleinschek K. 2015. Functional wound dressing materials with highly tunable drug release properties. *RSC Advances* **5**: 77884-77873.

Moeini A., Pedram P., Makvandi P., Malinconico M., Gomez d'Ayala G. 2020. Wound healing and antimicrobial effect of active secondary metabolites in chitosan-based wound dressings: A review. *Carbohydrate Polymers* **233**.

Ocak B., Gülümser G., Baloğlu E. 2011. Microencapsulation of Melaleuca alternifolia (Tea Tree) Oil by Using Simple Coacervation Method). *Journal of Essential Oil Research* **23**: 58-65.

Orafidiya L., Oladimeji F. 2002. Determination of the required HLB values of some essential oils. *International Journal of Pharmaceutics* **237**: 241-249.

Ozkan G., Franco P., De Marco I., Xiao J., Capanoglu E. 2019. A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks, and applications. *Food Chemistry* **272**: 494-506.

Pedroso-Santana S., Fleitas-Salazar N. 2020. Ionotropic gelation method in the synthesis of nanoparticles/microparticles for biomedical purposes. *Polymer International* **69**: 443-447.

Petrulyte S. 2008. Advanced textile materials and biopolymers in wound management. *Danish Medical Bulletin* **55**: 72-77.

Power G. D. 2019. pH, Exudate Composition and Temperature Measurement in Wounds - A Systematic Review. [Tese]. University of Medicine and Health Sciences: Ireland. 429pp. Disponível: Royal College of Surgeons in Ireland; Review. Royal College of Surgeons in Ireland.

Rabani F., Aziz A., Jai J., Raslan R., Subuki I. 2015. Microencapsulation of Essential Oils Application in Textile: A Review. *Advanced Materials Research* **1113**: 346-351.

Ramsey J. T., Shropshire B. C., Nagy T. R., Chambers K. D., Li Y., Korach K. S. 2020. Essential Oils and Health. *Yale Journal of Biology and Medicine* **93**: 291-305.

Sinzato Y., Sousa Dias N., Cunha F. 2017. An experimental investigation of the interfacial tension between liquid-liquid mixtures in the presence of surfactants. *Experimental Thermal and Fluid Science* **85**: 370-377.

Steed D. L., M.D.. 2004. Debridement. *The American Journal of Surgery* **187**: 71S-74S.

Taha M., Hassan M., Essa S., Tartor Y. 2013. Use of Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) spectroscopy for rapid and accurate identification of Yeasts isolated from human and animals. *International Journal of Veterinary Science and Medicine* **1**: 15-29.

Tarach I., Olewnik-Kruszkowska E., Richert A., Gierszewska M., Rudawska A. 2020. Influence of tea tree essential oil and poly(Ethylene glycol) on antibacterial and physicochemical properties of polylactide-based films. *Materials* **13**.

Varaprasad K., Jayaramudu T., Kanikireddy V., Toro C., Sadiku E. R. 2020. Alginate-based composite materials for wound dressing application: A mini review. *Carbohydrate Polymers* **236**.

Viswanath D. S., Ghosh T. K., Prasad D. H. L., Dutt N. V. K., Rani K. Y. 2006. Viscosity of Liquids: Theory, Estimation, Experiment, and Data. 7^a Edição. Springer, 676pp.

Vu H., Nair A., Tran L., Pal S., Senkowsky J., Hu W., and Tang L. 2020. A Device to Predict Short-Term Healing Outcome of Chronic Wounds. *Advances in Wound Care* **9**: 295-356.

Wang X., Liu X., Deakin C. H. 2008. Physical and mechanical testing of textiles. Fabric Testing, Woodhead Publishing. Pp: 90-124.

West A. J., Annett-Hitchcock K. E.. 2014. A Critical Review of Aroma Therapeutic Applications for Textiles. *Journal of Textile and Apparel, Technology and Management* **9**: 1-13.

Young T. 2019. The role of surfactants in mechanical debridement. *Wounds UK* **15**: 72-74.