



JEIMMY ESNEIDER BONIVENTO RODRIGUEZ

**CURATIVOS TIPO MANTA DE POLI ÁCIDO LÁTICO (PLA)
E POLI ÁLCOOL VINÍLICO (PVA) INCORPORADO DE
ÓLEOS ESSENCIAIS COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA
SOBRE *Staphylococcus aureus***

**LAVRAS – MG
2023**

JEIMMY ESNEIDER BONIVENTO RODRIGUEZ

**CURATIVOS TIPO MANTA DE POLI ÁCIDO LÁTICO (PLA) E POLI ÁLCOOL
VINÍLICO (PVA) INCORPORADO DE ÓLEOS ESSENCIAIS COM ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA SOBRE *Staphylococcus aureus***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares, área de concentração em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares, para a obtenção do título de Doutor.

Profa. Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli
Orientadora

Prof. Dr. Juliano Elvis Oliveira
Co-orientador

**LAVRAS – MG
2023**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Rodriguez, Jemmy Esneider Bonivento.

Curativos tipo manta de poli ácido lático (PLA) e poli álcool vinílico (PVA) incorporado de óleos essenciais com atividade antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus* / Jemmy Esneider Bonivento Rodriguez - 2022.

123 p. :il

Orientadora: Roberta Hilsdorf Piccoli

Coorientador: Juliano Elvis Oliveira.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Atuação antimicrobiana de óleos essenciais e suas misturas sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. 2. Curativo tipo manta de poli ácido lático (PLA) incorporado de óleos essenciais com atividade antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus*. 3. Incorporação de misturas de óleos essenciais em manta de poli álcool vinílico (PVA): características e atividade antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus*. I. Título.

JEIMMY ESNEIDER BONIVENTO RODRIGUEZ

CURATIVOS TIPO MANTA DE POLI ÁCIDO LÁTICO (PLA) E POLI ÁLCOOL VINÍLICO (PVA) INCORPORADO DE ÓLEOS ESSENCIAIS COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA SOBRE *Staphylococcus aureus*

POLY LACTIC ACID (PLA) AND POLY ALCOHOL BLANKET DRESSINGS VINYL (PVA) INCORPORATED WITH ESSENTIAL OILS WITH ANTIMICROBIAL ACTIVITY ON *Staphylococcus aureus*

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares, área de concentração em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 31 agosto de 2022.

Dra. Angélica Cristina de Souza	UFLA
Dra. Monique Suela Silva	UFLA
Profa. Dra. Alcilene de Abreu Pereira	IFMG
Prof. Dr. Victor Maximiliano Reis Tebaldi	UGB

Profa. Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli
Orientadora

Prof. Dr. Juliano Elvis Oliveira
Coorientador

**LAVRAS – MG
2023**

*Este trabalho é dedicado
à minha mãe Zaida Leonor Rodriguez Hernandez, minha família Bonivento Betancourt
Rodriguez, a HASHEM, em particular.*

AGRADECIMENTOS

À Jesus Cristo, fonte de toda sabedoria e inteligência, a Ele seja toda glória, louvor, poder e honra, por ter me dado a oportunidade de ver meus sonhos realizados.

À minha família, grandes coparticipantes de minha vida estudantil, a meus pais em especial.

À minha orientadora, Profa. Dra. em Tecnologia de Alimentos Roberta Hilsdorf Piccoli, pela amizade, e sempre disponibilidade de me ensinar durante o curso.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Juliano Elvis Oliveira, por fornecer conhecimentos e conselhos durante o desenvolvimento da pesquisa.

A todos os Professores do Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares (PPGPMAC), pelos ensinamentos e amizade.

Ao Laboratório de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier, Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG. Por seu serviço.

Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural, Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG. Por seu serviço.

À Profa. Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci pela colaboração na parte técnica e científica dos óleos essenciais, para o enriquecimento da pesquisa e sua amizade.

Ao Prof. Dr. Manuel Losada Gavilanes pela colaboração na parte científica das plantas medicinais, para o enriquecimento da pesquisa e sua amizade.

Ao Prof. Dr. José Eduardo Brasil Pereira Pinto pelas orientações e sua amizade.

À Dra. Suzana Reis Evangelista pela colaboração na parte estatística em definir o Planejamento Composto Central Rotacional (DCCR); e sua amizade.

À Dra. Annete de Jesus Boari Lima, Bioquímica, Técnica do Laboratório de Fitoquímica do Horto de Plantas Medicinais DAG/Esal, pela colaboração sempre dispensada e sua amizade.

À Giulia Nayara Duarte; ao Leandro Simão (Dico) e ao Paulo Vitor Ferreira (*in memoria*), funcionários técnicos-administrativos do Horto de Plantas Medicinais, pela colaboração sempre dispensada e sua amizade.

À Eliane Mara Carvalho Alcantara, Técnica do Laboratório de Microbiologia e segurança de alimento do DCA, pela colaboração sempre dispensada e sua amizade.

À engenheira de alimentos Hanna Elisia Araújo de Barros e o engenheiro de materiais Caio Vinicius Lima Natarelli pela colaboração na parte técnica da SBS e pelas valiosas sugestões para o aprimoramento da pesquisa e sua amizade.

Ao Investigador no Instituto de Amêndoas de Moçambique Elídio Zaidine Maurício Zitha pela colaboração na parte estatística, para o enriquecimento da pesquisa e sua amizade.

A estudante em pós-doutorado no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, Dr. Muhammad Siddique Afridi pela colaboração da língua inglesa e sua amizade.

Aos amigos Michelle Carlota Gonçalves e Juliana Junqueira Pinelli, pela ajuda incondicional em tudo o que for necessário para meu excelente desenvolvimento no laboratório da microbiologia e aos colegas e amigos do PPGPMAC e do PPGCA pela amizade e ajudas concedidas durante o curso.

Ao Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares, por ter-me aceite e por disponibilizar todos os equipamentos necessários para cursar o nível de Doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro e concessão de bolsa de estudo para cursar o Doutorado.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

Staphylococcus aureus é uma bactéria comensal do corpo dos seres humanos e animais, frequentemente associado a processos infecciosos, causando a formação de feridas persistentes. Sabe-se que essas feridas são de difícil cicatrização, esse fato se deve a presença de *S. aureus* em forma de biofilme, dificultando-se sua erradicação utilizando-se os antibióticos comercialmente disponíveis. Com isso, alternativas são sugeridas, como o uso de óleos essenciais para o controle desse patógeno. Objetivou-se elaborar curativos tipo manta de poli ácido láctico (PLA) e poli álcool vinílico (PVA) incorporados de óleos essenciais visando o controle das cepas de *Staphylococcus aureus*, agente associado a feridas humanas persistentes. Neste trabalho foram utilizadas as 3 cepas de *S. aureus* (GL 8702, GL 8548 e GL 5674) sendo a atividade inibitória dos óleos essenciais de hortelã do campo (*Mentha arvensis* L.), ylang ylang (*Cananga odorata* (Lam.) Hook. f. & Thomson), gerânio do Egito (*Pelargonium graveolens* L'Hér.), estragão (*Artemisia dracuncululus*), canela (*Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl), lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill.), capim limão (brasil) (*Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) W. Watson) e alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia* DC.) avaliadas inicialmente. Dentre esses óleos os de lavanda, canela, capim limão, gerânio e hortelã do campo foram selecionados para continuidade do trabalho, pois apresentaram maior atividade inibitória sobre as cepas de *S. aureus*. As concentrações mínimas bactericidas (CMB) desses óleos foram determinadas utilizando-se a técnica de microdiluição, com adaptações, onde as CBM do óleo de canela foram 0,5; 0,25 e 0,25% (v/v), respectivamente, para as cepas GL 8702; GL 8548 e GL 5674, para os óleos essenciais de hortelã do campo, lavanda e capim limão as CMB foram iguais a 2% e para o óleo de gerânio a CBM foi de 5% para todas as cepas. Utilizando-se o Planejamento Composto Central Rotacional (DCCR) foram definidos 45 ensaios contendo diferentes misturas com diferentes concentrações dos óleos essenciais baseando-se nas CMB obtidas de cada um. Todas as misturas de óleos essenciais geradas pelo DCCR apresentaram ação bactericida das cepas de *S. aureus*. Dessa forma, foram selecionados três ensaios para a elaboração das mantas de PLA e PVA, um contendo a menor concentração de misturas de óleo (6,4%), outro com 12,9% e o um com a maior concentração de misturas de óleos (14,6%) testados. Ambas as mantas foram obtidas empregando-se a técnica de fiação por sopro (SBS) e adicionadas de mistura de óleos essenciais. Não houve diferença significativa da atividade antimicrobiana entre as mantas de PLA contendo 12,9 e 14,6% de óleos essenciais, sendo a redução observada de cerca de 2,42 Log UFC/mL das cepas de *S. aureus*. Observou-se o mesmo comportamento dos microrganismos para as mantas de PVA, cerca de 1,8 Log UFC/mL de *S. aureus*. Os espectros de FTIR das duas mantas mostram que há picos característicos dos óleos essenciais contidos nos tratamentos, indicando que houve boa interação entre os grupos funcionais dos polímeros com os óleos. Conclui-se que a manta fiada por sopro adicionada de óleos essenciais têm grande potencial para ser utilizada como curativo antimicrobiano para auxílio no tratamento de feridas.

Palavras-chave: Antimicrobianos naturais. Cicatrização de feridas. Biopolímeros, Óleos voláteis.

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is a commensal bacterium found in the body of humans and animals, often associated with infectious processes, causing the formation of persistent wounds. It is known that these wounds are difficult to heal, this fact is due to the presence of *S. aureus* in the form of a biofilm, making its eradication difficult using commercially available antibiotics. Therefore, alternatives are suggested, such as the use of essential oils to control this pathogen. The objective of this work was to develop blanket-type dressings made of polylactic acid (PLA) and polyvinyl alcohol (PVA) incorporated with essential oils, aiming at controlling strains of *S. aureus*, an agent associated with persistent human wounds. Three strains of *S. aureus* (GL 8702, GL 8548 and GL 5674) were used, with the inhibitory activity of the essential oils of field mint (*Mentha arvensis* L.), ylang ylang (*Cananga odorata* (Lam.) Hook. f. & Thomson), Egyptian geranium (*Pelargonium graveolens* L'Hér.), tarragon (*Artemisia dracuncululus*), cinnamon (*Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl), lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.), lemon grass (Brazil) (*Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) W. Watson) and wild rosemary (*Baccharis dracunculifolia* DC.) were initially evaluated. From initial screening, lavender, cinnamon, lemongrass, geranium and field mint showed significance inhibitory activity against the strains of *S. aureus* and were selected for further research activities. The minimum bactericidal concentrations (MBC) of the oils were determined using the microdilution technique, with adaptations, where the MBC of cinnamon oil were 0.5; 0.25 and 0.25% (v/v), respectively, for GL 8702 strains; GL 8548 and GL 5674, for the essential oils of field mint, lavender and lemongrass the CMB were equal to 2% and for the geranium oil the CBM was 5% for all strains. Using the Rotational Central Composite Design (DCCR), 45 tests were defined containing different mixtures with different concentrations of essential oils based on the AMC obtained from each one. All mixtures of essential oils generated by the DCCR showed bactericidal activities against the strains of *S. aureus*, with no growth in plaques being observed for all assays. Thus, three trials were selected for the preparation of PLA and PVA blankets, one containing the lowest concentration of oil mixtures (6.4%), another with 12.9% and the one with the highest concentration of oil mixtures (14.6%) and evaluated. Both blankets were obtained using the blow spinning technique (SBS) and added a mixture of essential oils. There was no significant difference in antimicrobial activity between PLA blankets containing 12.9 and 14.6% essential oils, with an observed reduction of approximately 2.42 Log CFU/mL of *S. aureus* strains. The same behavior of microorganisms was observed for PVA blankets, around 1.8 Log CFU/mL *S. aureus*. The FTIR spectra of the two blankets show that there are characteristic peaks of the essential oils contained in the treatments, indicating that there was a good interaction between the functional groups of the polymers and the oils. It is concluded that the blow-spun blanket added with essential oils has great potential to be used as an antimicrobial dressing to aid in the treatment of wounds.

Keywords: Natural antimicrobials. Wound healing. Biopolymers. Volatile oils.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1 - Ciclo de vida do Biofilme.....	20
Figura 2 - Ciclo biossintético dos metabólitos secundários em plantas	25
Figura 3 - Mecanismos de ação dos óleos essenciais sobre células microbianas empregando-se vários sistemas de entrega	27
Figura 4 - Esquema de síntese de poli (ácido lático) (PLA) - Policondensação e polimerização por abertura de anel.....	32
Figura 5 - Representação esquemática da sequência de reação usada na produção industrial de PVA	35
Figura 6 - Representação esquemática do aparelho de fiação por sopro de solução (SBS) usado para produção de fibra.....	38

CAPÍTULO 2

Figura 1 - Ilustração do experimento de avaliação da capacidade das cepas de <i>S. aureus</i> em formar biofilmes nas superfícies dos poços das microplacas de poliestireno	66
Figura 2 - Ilustração dos resultados obtidos nos experimentos de otimização da ação antimicrobiana dos óleos essenciais	68

CAPÍTULO 3

Figura 1 - Sistema de fiação por sopro de solução (SBS) utilizado para a produção de nanofibras	84
Figura 2 - Avaliação da ação inibitória das mantas de PLA contendo a combinação de óleos essenciais dos tratamentos A; B e C	87
Figura 3 - Ilustração da avaliação da ação inibitória da manta de PLA contendo a combinação dos óleos essenciais do tratamento C (técnica de submersão)	88
Figura 4 - Ilustração do experimento da avaliação da ação inibitória da manta de contendo a combinação de óleos essenciais dos tratamentos B e C.....	88
Figura 5 - Micrografias das mantas de PLA.....	90
Figura 6 - Distribuição dos diâmetros das mantas de PLA	91
Figura 7 - Espectros de FTIR das mantas de PLA	92

Figura 8 - Espectros de FTIR das mantas elaboradas com as misturas de óleos essenciais nas concentrações finais de: A (6,4%), B (12,9%) e C (14,6%).....	94
Figura 9 - Espectros de FTIR dos óleos essenciais puros utilizados na elaboração da manta de PLA.....	94

CAPÍTULO 4

Figura 1 - Ilustração da avaliação da ação inibitória da manta PVA contendo a combinação de óleos essenciais do ensaio 32 (técnica de submersão).....	111
Figura 2 - Ilustração do experimento da avaliação da ação inibitória da manta de PVA contendo a combinação de óleos essenciais dos ensaios 31 e 32	112
Figura 3 - Micrografias das mantas de PVA	113
Figura 4 - Distribuição dos diâmetros das mantas de PVA.....	114
Figura 5 - Espectros de FTIR das mantas de PVA.....	115
Figura 6 - Espectros de FTIR das combinações dos óleos essenciais dos ensaios 31 e 32..	116
Figura 7 - Espectros de FTIR dos diferentes óleos essenciais utilizados para a produção da manta de PVA.....	116

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Variáveis com seus correspondentes valores máximos e mínimos dos óleos essenciais na avaliação da atividade antimicrobiana sobre as cepas de <i>S. aureus</i>	60
Tabela 2 - Variáveis codificadas utilizadas ensaios gerados no DCCR para descrição das combinações dos óleos essenciais (Continua)	60
Tabela 3 - Diâmetros dos halos de inibição de cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> promovidos pelos óleos essenciais.	64
Tabela 4 - Composição química dos três componentes principais dos óleos essenciais empregados na avaliação da concentração mínima bactericida	65
Tabela 5 - Avaliação da capacidade de formação das cepas de <i>S. aureus in vitro</i>	65
Tabela 6 - Concentração dos óleos essenciais de lavanda, canela, capim limão, gerânio do Egito e hortelã do campo (Continua).....	66

CAPÍTULO 3

Tabela 1 - Concentração dos óleos essenciais em cada mistura utilizada em cada curativo de PLA	83
Tabela 2 - Diâmetro das mantas de PLA contendo a combinação de óleos essenciais dos tratamentos A; B e C calculados ao 15% em relação ao peso do polímero.....	90

CAPÍTULO 4

Tabela 1 - Avaliação da ação inibitória da manta de PVA contendo a combinação de óleos essenciais do ensaio 32 para a cepa GL 8702 (técnica de submersão).....	112
Tabela 2 - Diâmetro das mantas de PVA contendo a combinação de óleos essenciais dos ensaios 31 e 32; calculados ao 12% (m/v).....	114

SUMÁRIO

1	CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	17
2.1.1	Importância de <i>Staphylococcus aureus</i> em feridas	18
2.1.2	<i>Staphylococcus aureus</i> e sua capacidade em formar biofilmes	19
2.1.3	Multirresistência a antibióticos	20
2.2	Feridas e seu processo de cura	21
2.3	Características botânicas das plantas pesquisadas	22
2.4	Óleos essenciais	24
2.4.1	Fatores que influenciam na composição química dos óleos essenciais	25
2.4.2	Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais	26
2.5	Aromaterapia	29
2.5.1	Aromaterapia no auxílio do tratamento de feridas	30
2.6	Biopolímeros	31
2.6.1	Poli ácido láctico (PLA)	32
2.6.2	Poli álcool vinílico (PVA)	34
2.6.3	Nanofibras	35
2.6.3.1	Obtenção de nanofibras: Fiação por sopro de solução (SBS)	37
	REFERÊNCIAS	39
	CAPÍTULO 2 - ATUAÇÃO ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS E SUAS MISTURAS SOBRE CEPAS DE <i>Staphylococcus aureus</i>	53
1	INTRODUÇÃO	55
2	MATERIAL E MÉTODOS	57
2.1	Obtenção dos óleos essenciais	57
2.2	Microrganismo, manutenção, padronização e obtenção do inóculo	57
2.3	Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais	58
2.4	Análises químicas dos óleos essenciais	58
2.5	Determinação da Concentração Bactericida Mínima	59
2.6	Otimização da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: sinergismo por misturas	59
2.7	Análise estatística	62
3	RESULTADOS	63
3.1	Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais	63
3.2	Determinação da Concentração Bactericida Mínima	63
3.3	Análises químicas dos óleos essenciais	65
3.4	Avaliação da capacidade de formação de biofilme <i>in vitro</i> das cepas de <i>S. aureus</i> em microplaca	65
3.5	Otimização da ação antimicrobiana dos óleos essenciais	66
4	DISCUSSÃO	69
5	CONCLUSÃO	73
	REFERÊNCIAS	74
	CAPÍTULO 3 - CURATIVO TIPO MANTA DE POLI ÁCIDO LÁCTICO (PLA) INCORPORADO DE ÓLEOS ESSENCIAIS COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA SOBRE <i>Staphylococcus aureus</i>	79
1	INTRODUÇÃO	81
2	MATERIAL E MÉTODOS	83

2.1	Óleos essenciais	83
2.2	Produção da manta de poli ácido láctico (PLA) com óleos essenciais	83
2.2.1	Fiação por sopro de solução	84
2.3	Atividade antimicrobiana da manta de PLA sobre <i>S. aureus</i>	85
2.4	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	85
2.5	Caracterização por Espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR).....	85
2.6	Análise estatística	86
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
3.1	Ação antimicrobiana da manta de PLA fiada com óleos essenciais sobre <i>S. aureus</i>	87
3.2	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	89
3.3	Caracterização por espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR).....	92
4	CONCLUSÃO	97
	REFERÊNCIAS	98
	CAPÍTULO 4 - INCORPORAÇÃO DE MISTURAS DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM MANTA DE POLI ÁLCOOL VINÍLICO (PVA): CARACTERÍSTICAS E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA SOBRE <i>Staphylococcus aureus</i>	103
1	INTRODUÇÃO	105
2	MATERIAL E MÉTODOS	107
2.1	Óleos essenciais	107
2.2	Produção da manta de poli álcool vinílico (PVA) com óleos essenciais.....	107
2.2.1	Sistema de fiação por sopro de solução (SBS)	107
2.3	Atividade antimicrobiana do filme de PVA sobre <i>S. aureus</i>	108
2.4	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	109
2.5	Caracterização por Espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR).....	109
2.6	Análise estatística	110
3	DISCUSSÃO DE RESULTADOS	111
3.1	Ação antimicrobiana da manta de PVA fiada com óleos essenciais sobre <i>S. aureus</i>	111
3.2	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	113
3.3	Caracterização por espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR).....	115
4	CONCLUSÃO	119
	REFERÊNCIAS	120

CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL

Os cocos gram-positivos formam um grupo heterogêneo de aproximadamente 16 gêneros de microrganismos que colonizam os seres humanos. Dentre eles, encontra-se *Staphylococcus aureus*. O nome do microrganismo é proveniente da palavra grega, tendo analogia a sua estrutura semelhante a “cacho de uvas”. A bactéria *S. aureus* é encontrada na pele e mucosa dos seres humanos, bem como de outros mamíferos e aves (RIEDEL *et al.*, 2020). Embora faça parte da microbiota comensal dos seres humanos *Staphylococcus* pode causar infecções cutâneas, infecções oportunistas, doenças das vias urinárias e até doenças potencialmente fatais (RIEDEL *et al.*, 2020). Especificamente, ao acessar tecidos lesionados, muitas vezes pode causar processo grave de infecção (DOS SANTOS *et al.*, 2007) levando a formação de feridas persistentes.

As feridas são caracterizadas pelo rompimento do processo normal de regeneração da pele, sendo a regeneração um dos fatores relevantes para o impedimento da colonização bacteriana (gram positivas e negativas), o que leva ao processo de cicatrização complicado e retardado (ALVES D. *et al.*, 2018; DOMINGUES; CARVALHO; KAIZER, 2018).

A presença de *S. aureus* em feridas é bem conhecida, encontrada na forma de biofilme, podendo levar à formação de feridas crônicas, de difícil cicatrização (BECKER; DIAS; MACEDO, 2018; CHEW *et al.*, 2018). No Brasil, as feridas representam problemas de saúde pública, devido ao grande número de doentes com alterações na integridade da pele. Também deve ser ressaltado que além do problema de saúde pública, gera ônus e interfere na qualidade de vida da população afetada (BARROS *et al.*, 2016).

Um dos fatores que contribuem para a dificuldade de erradicação de *S. aureus* das feridas é sua capacidade em apresentar resistência a várias classes de antibióticos comumente empregados na medicina, sendo muitas vezes multirresistentes (ALVES D. *et al.*, 2018; BECKER; DIAS; MACEDO, 2018; CHANDRA *et al.*, 2018; LIMA *et al.*, 2015; TROMBETTA *et al.*, 2018) e de formar biofilmes sobre o tecido danificado.

A multirresistência bacteriana se apresenta tão crítica, que em 2019 foi divulgado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) um relatório solicitando o controle severo do uso dos antibióticos, tanto em seres humanos quanto na agroindústria. Segundo a OMS, as doenças causadas por bactérias resistentes a drogas poderão causar 10 milhões de mortes até o ano de 2050 (WORLD ORGANIZATION HEALTH - WHO, 2019).

Diante desse cenário, o panorama mundial demonstra a tendência do uso das terapias complementares, tanto nos países ocidentais desenvolvidos como nos países pobres e em

desenvolvimento e, sobretudo, por estar sendo estimulado pela própria Organização Mundial de Saúde (TOVEY; CHATWIN; AHMAD, 2005). A procura por essas terapias vem de encontro ao fato de poderem ser utilizadas juntamente à medicação tradicional, como os antibióticos. Dentre elas, destaca-se a aromaterapia, ou terapia dos óleos essenciais, que no Brasil faz parte das Práticas Integrativas e Complementares utilizada no Sistema Único de Saúde (SUS), como parte da Política Nacional (BRASIL, 2018).

Com o apoio do SUS, legislado pela Portaria nº 971, as técnicas que envolvem terapias complementares ou alternativas podem atender a todos os estados e municípios. A aromaterapia, ou terapia dos aromas ou aromatologia, é uma terapia holística, que se baseia no tratamento das diferentes doenças pela inalação ou uso tópico de óleos essenciais ou suas misturas, em concentrações adequadas (GNATTA; DORNELLAS; SILVA, 2011).

Os óleos essenciais têm se mostrado eficientes no controle de vários microrganismos, apresentando atividade bactericida, fungicida, antiviral, dentre outros. Na literatura encontram-se diversos trabalhos mostrando a atividade antimicrobiana de diferentes óleos essenciais sobre ampla gama de microrganismos inclusive sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (NAJAT *et al.*, 2016). Em estudo com o óleo de *Baccharis dracunculifolia* DC esse apresentou atividade bacteriostática e bactericida, principalmente sobre *S. aureus*, *Bacillus cereus* e *P. aeruginosa*, também apresentou ação fungistática e fungicida (CAZELLA *et al.*, 2019). Estudos realizados por Firmino *et al.* (2018) demonstraram atividade bacteriostática e bactericida em relação a *S. aureus* e *S. epidermidis* utilizando óleos essenciais contendo cinamaldeído. Também estudos de Lutz *et al.* (2008) óleos essenciais de artemisia tiveram efeitos inibitórios sobre o crescimento de bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*. Igualmente, pesquisa realizada por Upadhyay *et al.* (2021) óleos essenciais de *Cananga odorata* demonstraram ser antifúngico sobre *Aspergillus flavus*. Também estudos de Souza *et al.* (2018) óleos essenciais *Lavandula angustifolia* Miller apresenta potencial antimicrobiano como controle do biofilme dental e outras desordens bucais. Também estudos de Boukhatem; Kameli; Saidi, (2013) óleos essenciais de *Pelargonium graveolens* L. exibiu um efeito antibacteriano promissor contra bactérias Gram positivas mais do que bactérias Gram negativas.

Os óleos essenciais, que são produtos naturais obtidos a partir de plantas, contêm compostos orgânicos voláteis que podem ser obtidos de várias partes da planta, como flores, frutos, sementes, caules e raízes (BAKKALI *et al.*, 2008). Esses óleos demonstraram atividades antioxidantes, inseticidas, antivirais, antibacterianas, antifúngicas e antibiofilme (BURT,

2004). Devido às suas várias atividades biológicas podem ser utilizadas em conjunto com outras medidas para otimizar os tratamentos de doenças diversas dos seres humanos (FIRMINO *et al.*, 2018).

Com base no exposto acima, o presente estudo teve como objetivo avaliar a otimização da atividade antimicrobiana, contendo diferentes concentrações desses óleos essenciais que apresentaram melhores resultados da concentração bactericida mínima (CBM), para controle das cepas de *Staphylococcus aureus*, agente associado a feridas humanas persistentes.

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 *Staphylococcus aureus*

A espécie mais importante do gênero *Staphylococcus* é a *Staphylococcus aureus* (BHUNIA, 2018, MURRAY, ROSENTHAL; PFALLER, 2009; TRABULSI; ALTERTHUM, 2015). Na área da saúde tornou-se muito conhecida por ser uma das espécies de maior importância no quadro das infecções hospitalares e comunitárias (DOS SANTOS *et al.*, 2007). Eles são habitantes naturais de seres humanos e animais como bovino (agente etiológico da mastite), muitas vezes, afetando vários organismos (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015).

Staphylococcus aureus pertence à família *Staphylococcaceae*, apresenta-se na forma de cocos gram-positivo (1 µm de diâmetro) em arranjo de cacho de uva (estafilo).

As cepas de *S. aureus* crescem em meios comuns, caldo ou ágar simples, pH = 7, à temperatura ótima de 37°C. As colônias formadas em placa, após 18-24 horas de incubação, apresentam-se arredondadas, lisas e brilhantes. A coloração dessas colônias varia desde o acinzentado até o amarelo-ouro, em que a pigmentação aumenta com o tempo de incubação prolongado, não chegando a ser formada nos casos de crescimento em condições anaeróbicas, ou na cultura em caldo (DOS SANTOS *et al.*, 2007, p.414).

Eles são imóveis e produzem colônias amarelas douradas. *S. aureus* é um microrganismo catalase positiva, aeróbio facultativo e cresce abundantemente sob condições aeróbicas. Em condições aeróbicas também produz acetoina como o produto final do metabolismo da glicose. Ele fermenta manitol, coagula o plasma de coelho, produzem muitas substâncias extracelulares e é sensível para lisostafina, uma glicilglicina endopeptidase que cliva especificamente as pontes cruzadas de pentaglicina encontradas no peptidoglicano estafilocócico (WU *et al.*, 2003). É tolerante ao sal (10-15%) e relativamente resistente à secagem e calor (BHUNIA, 2018).

O *Staphylococcus aureus* pode produzir várias substâncias capsulares como toxinas e também enzimas extracelulares denominados fatores de virulência. O Quadro 1 apresenta em detalhes o papel desempenhado os tais fatores (medeiam a adesão das bactérias à célula hospedeira, que promovem dano e disseminação dos tecidos, protegem as bactérias do sistema imunológico do hospedeiro) na patogênese, utilizando a classificação padrão (ZENDEJAS-MANZO; AVALOS-FLORES; SOTO-PADILLA, 2014; TRABULSI; ALTERTHUM, 2015).

Quadro 1 - Fatores relacionados na patogênese de *Staphylococcus aureus*.

Componentes superficiais	Toxinas e enzimas extracelulares
1. Polissacarídeo capsular	Toxinas com atividade sobre membranas <ul style="list-style-type: none"> • Hemolisinas α, β, γ, σ • Leucocidina
2. Polissacarídeo extracelular	Toxinas com atividade de superantígenos <ul style="list-style-type: none"> • Enterotoxinas, A-E y G-J • Toxina da síndrome do choque tóxico 1, TSST-1 • Toxinas epidermolíticas o exfoliativas, A y B
3. Proteínas superficiais <ul style="list-style-type: none"> • Proteínas de união a colágeno, Cna • Proteínas de união a fibronectina, FnBPA, FnBpB • Proteínas de união a fibrinógeno, ClfA y ClfB • Proteína A, Spa 	Enzimas extracelulares <ul style="list-style-type: none"> • Estafiloquinase • Coagulase • Hialuronidase • Lipase • Protease • DNase termoestável e termonuclease • Catalase

Fonte: Zendejas-Manzo; Avalos-Flores; Soto-Padilla, 2014; Trabulsi; Alterthum, 2015.

1.1.1 Importância de *Staphylococcus aureus* em feridas

Staphylococcus aureus é uma das espécies microbianas mais virulentas e conhecidas desse gênero, frequentemente relacionada a doenças em seres humanos e animais como bovinos, porcos, aves; faz parte da microbiota, habitando as membranas mucosas e a pele. Quando as defesas do sistema imunológico estão baixas, o indivíduo pode ser acometido por doenças que envolvem mucosas e/ou pele, tais como: foliculite, furunculose, conjuntivite, abscessos profundos, osteomielite, meningite, pneumonia (ZENDEJAS-MANZO; AVALOS-FLORES; SOTO-PADILLA, 2014; TRABULSI; ALTERTHUM, 2015; ZHANG *et al.*, 2018).

Há fatores relevantes que envolvem infecções causadas por *S. aureus*, como aqueles que envolvem resposta imunológica (síndrome de Wiskott-Aldrich; síndrome de Chediak-Higashi), defeitos na opsonização por anticorpos (agamaglobulinemia primária), defeitos na fagocitose (doença granulomatosa crônica), lesões de pele (queimaduras), presença de corpos estranhos (suturas ou próteses), algumas doenças crônicas (diabetes mellitus) e uso de antibióticos, após a invasão do epitélio, *S. aureus* utiliza diversas estratégias para permitir a sua sobrevivência e proliferação no organismo hospedeiro. Dentre essas estratégias encontra-se a inibição das respostas imunes humoral e celular. (DOS SANTOS *et al.*, 2007; ZENDEJAS-MANZO; AVALOS-FLORES; SOTO-PADILLA, 2014).

As feridas são definidas como ruptura de qualquer tecido ou integridade celular (CHAUDHARI *et al.*, 2016). As feridas também podem ser classificadas de acordo com seu nível de dano ou lesão e ainda com espessura parcial ou total. No primeiro caso, a derme apresenta-se incompleta, e sua reparação se dá pela re-epitelização dos anexos epiteliais. Já as feridas de espessura total (derme completa), necessitam da formação de novo tecido, o tecido de granulação (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003; PRESTES *et al.* 2012).

As feridas crônicas apresentam diversas origens, dentre elas, doenças tais como diabetes mellitus, infecções renais, presença de corpos estranhos, desnutrição e estado de hospitalização ou imunossupressão do corpo, pacientes cirúrgicos e de idade avançada com comprometimento no processo normal de cicatrização (CARVALHO *et al.*, 2022; CHETTER, I. *et al.*, 2020; DOMINGUES; CARVALHO; KAIZER, 2018). As infecções cutâneas mais citadas nas publicações científicas são causadas principalmente por: *Staphylococcus aureus* (39,28%), *Escherichia coli* (30,35%), *Pseudomonas aeruginosa* (19,64%), *Staphylococcus epidermidis* (17,85%), *Klebsiella spp.* (12,50%), *Enterobacter spp.* (10,71%), *Morganella morganii* (8,92%) e *Bacteroides spp.* (7,14%) (MACHADO, 2020).

A fixação de *S. aureus* a implantes médicos e ao tecido hospedeiro, bem como o estabelecimento do biofilme maduro desempenham papel importante na persistência de infecções crônicas (LISTER; HORSWILL 2014). Sendo tanto *S. aureus* e *S. epidermidis* os principais microrganismos associados a infecções crônicas devido à formação de biofilme (COSTERTON *et al.* 2003 apud BECKER; DIAS; MACEDO, 2018, p. 1).

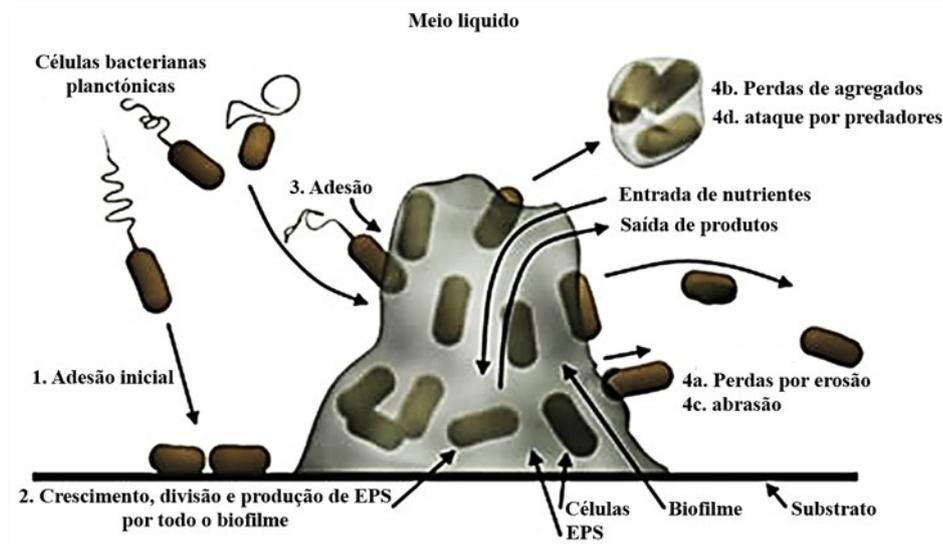
1.1.2 *Staphylococcus aureus* e sua capacidade em formar biofilmes

Staphylococcus aureus pode formar biofilmes que são definidos como sendo comunidades bacterianas submersas em matriz extracelular produzida por aqueles que se somam a uma superfície biótica ou abiótica. Correspondem a comunidades constituídas por células sésseis, mono ou multiespécies, adicionadas a um substrato, embutidas em matriz de polímeros extracelulares (exopolissacarídeos - EPS), cujos microrganismos apresentam fenotipos diferenciados, metabolismo, fisiologia e transcrição genética (DONLAN; COSTERTON, 2002; TRABULSI; ALTERTHUM, 2015)

A formação de biofilmes em superfícies é um fenômeno natural que resulta de processos físicos, químicos e biológicos que ocorrem simultaneamente. A Figura 1 ilustra as diferentes etapas de formação de biofilme sendo: **etapa 1:** acesso de células livres no meio líquido para a

superfície sólida e sua subsequente adesão; **etapa 2:** crescimento e divisão das células aderidas à causa de nutrientes provenientes do líquido circundante, conjuntamente com a produção e excreção de EPS; **etapa 3:** fixação de células bacterianas flutuantes (e outras partículas), contribuindo para a acumulação do biofilme; **etapa 4:** dispersão / liberação de material celular por vários tipos de mecanismos: **a.** erosão superficial (perda de células individuais). **b.** descolamento (“sloughing off”) **c.** abrasão **d.** ataque por predadores. Os mecanismos patogênicos destes microrganismos dependem dos seus fatores adesivos, das enzimas estafilocócicas e das suas defesas contra a imunidade (MENOITA *et al.*, 2012).

Figura 1 - Ciclo de vida do Biofilme



Fonte: Adaptado de MENOITA *et al.* (2012).

1.1.3 Multirresistência a antibióticos

Outro aspecto que dificulta o tratamento de feridas persistentes colonizadas por *S. aureus* é a multirresistência significativa a antibióticos comumente usados no tratamento que a maioria dos isolados de *S. aureus* apresenta (DOS SANTOS *et al.*, 2007; HADDAD *et al.*, 2018; KIM *et al.*, 2018; ROMEO 2008). Togneri *et al.* (2017) realizaram revisão retrospectiva de 12 anos de infecções por *S. aureus*, encontrando 2.125 casos de infecção em pacientes adultos e 361 casos em pacientes pediátricos atendidos no Hospital Interzonal General de Agudos Evita de Lanús; demonstrando que *S. aureus* continua sendo um patógeno associado ao ambiente nosocomial. Além disso, também foi observado pelos autores o aumento nas infecções por *S. aureus* resistente à metilicina.

Haddad *et al.* (2018) encontraram isolados de *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) produtores de biofilme com prevalências elevadas de alguns genes MSCRAMMs (genes *fnbA* e *fnbB*; que contribuem para a primeira etapa da formação do biofilme).

Jain *et al.* (2019) estudaram 174 pacientes com feridas pós-operatórias de implante ortopédico infeccionadas, sendo a bactéria com maior taxa de isolamento *S. aureus* (79 isolados) dos quais 50 apresentaram multirresistência frequente a eritromicina, clindamicina, gentamicina, cefuroxima, amoxiclav e ciprofoxacina.

A observação do aumento do número de isolados de bactérias como *S. aureus* multirresistentes aos antibióticos comercialmente utilizados, levou a Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2014, publica seu primeiro relatório global sobre resistência bacteriana – Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance – onde a OMS comenta que a resistência aos antibióticos oferece elevada ameaça à saúde pública.

A análise de dados de 114 países sinalizou a situação alarmante frente à resistência bacteriana em todas as regiões do mundo. “Estamos no rumo da ‘era pós-antibiótico’, em que pessoas morrem de infecções simples que são tratáveis há décadas”, concluiu Keiji Fukuda, diretor-geral assistente da OMS para Segurança da Saúde, na introdução do relatório (AGUIAR, 2.015).

A multirresistência bacteriana se apresenta tão crítica que em 29 de abril de 2019 a Organização Mundial da Saúde (OMS) divulgou um relatório solicitando o severo controle do uso dos antibióticos tanto em seres humanos quanto na agroindústria. Segundo a OMS as doenças causadas por bactérias resistentes a drogas podem causar 10 milhões de mortes a cada ano até 2050, com danos catastróficos a economia, forçando até 2030, até 24 milhões de pessoas à pobreza extrema (WORLD ORGANIZATION HEALTH - WHO, 2019).

1.2 Feridas e seu processo de cura

O processo normal de cicatrização de feridas envolve sequências metabólicas bem coordenadas que abrange ampla gama de eventos, como hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação da matriz extracelular (MEC). As quatro fases da cicatrização envolvem interações entre diferentes tipos de células, fatores bioativos e um fundo de suporte, geralmente a MEC nativa secretada pelas células. Este processo de cicatrização normal é anulado devido a diversas condições, sendo uma delas a proliferação de microrganismos (CLARK; GHOSH; TONNESEN, 2007).

O processo de cicatrização começa com hemostasia e inflamação. Esta etapa envolve o recrutamento de plaquetas sanguíneas e células imunes para controlar a perda de sangue e eliminar patógenos (RODRIGUES *et al.*, 2019). As células imunes inicialmente recrutadas desempenham um papel fundamental na secreção de quimiocinas e fatores de crescimento, atraindo células e assim promovendo o processo de cicatrização para a próxima fase proliferativa (CRUVINEL *et al.*, 2010). A fase proliferativa envolve muitos eventos, como crescimento do tecido de granulação (formação da MEC temporal), angiogênese (formação de vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes) e remodelação epitelial (formação epidérmica da pele), levando à contração da ferida. Essa fase é regulada por ativação cruzada entre diferentes células, principalmente macrófagos, fibroblastos, células endoteliais e queratinócitos. O estágio final constitui na remodelação onde a matriz previamente formada se transforma lentamente formando pele funcional ou calo semi/não funcional. (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

1.3 Características botânicas das plantas pesquisadas

Mentha arvensis L. (da família Lamiaceae), popularmente conhecida como “menta-japonesa”, “vique”, “hortelã-do-brasil” e “mentol”, é uma planta herbácea, estolonífera, semi-perene, de caule quadrangular, com folhas pilosas, simples, ovaladas, com margens serrilhadas e filotaxia oposta. Cresce até 60 cm (raramente até 100 cm); as flores são púrpuras pálidas (ocasionalmente brancas ou rosas). É uma espécie de menta nativa das regiões temperadas da Europa ocidental e central, da Ásia, leste do Himalaia e leste da Sibéria. (AMARO *et al.*, 2013; ANON, 1988; LAWRENCE, 1993 apud NAJAT *et al.*, 2016, p. 908).

Cymbopogon flexuosus (Nees ex Steud) W. Watson (da família Poaceae = Gramineae) (Sin. *Andropogon flexuosus* Nees), popularmente conhecida como “capim-limão”, é uma gramínea que forma touceiras de até 1,5 m de altura, com folhagem verde-escura e altamente produtora de sementes, é nativa da Índia, Sri Lanka, Burma e Tailândia, Burma, é amplamente distribuída no Himalaia, regiões da Índia, prefere principalmente clima tropical e subtropical, cresce bem a uma temperatura entre 10°C a 33°C, necessita de muita luz solar no plantio para o desenvolvimento e produção de óleo essencial. É sensível ao frio e não suporta geada. (BHATNAGAR *et al.*, 2020).

Lavandula angustifolia Mill. (da família Lamiaceae) (Sin. *Lavandula vulgaris* Lam.), conhecida popularmente como “lavanda”, “lavanda-verdadeira” e “alfazema”, apresenta hábito arbustivo, densamente ramificado, de 60-70 cm de altura, com folhas lineares verdes de 2 – 2,6

cm, e são aromáticas; apresenta pequenas flores azuis (5 a 8 mm de comprimento e 3 a 4 mm de diâmetro). A espécie é nativa do continente europeu, ocorrendo com bastante frequência em Portugal, no nordeste da Espanha, nas Ilhas Canárias, no norte da Itália, no sul da França, e no norte e oeste da África. (NOGUEIRA; LOURENÇO, 2007; LORENZI 2013; SOUZA *et al.*, 2018 apud ALVES B. 2018, p.6).

Baccharis dracunculifolia DC. (da família Asteraceae = Compositae) (Sin. *Baccharis bracteata* Hook. & Arn.), conhecida popularmente como “vassourinha”; “vassourinha-do campo” e “alecrim-do campo” é uma espécie arbustiva, ramificada e perene que pode chegar a 2,0 m de altura, com folhas lanceoladas, com inflorescências masculinas e femininas em plantas separadas, e apresenta cipselas de 1 a 1,5 mm de comprimento. É nativa da América do Sul, sendo encontrada principalmente em países como Argentina, Paraguai, Uruguai e Bolívia e Brasil, e foi considerada uma planta invasora de pastagens e erradicada de muitas regiões em função disto; no Brasil é nativa no bioma Cerrado brasileiro, Mata Atlântica e Pampas, sendo amplamente distribuída nos estados de São Paulo e Minas Gerais. Atualmente, sabe-se que é por meio da coleta de resina desta planta pelas abelhas é que elas produzem a própolis verde. (ALENCAR *et al.*, 2005; BARROSO, 1976 apud OLIVEIRA; BASTOS, 1998, p. 432; BARROSO, 1976; BORGES; FORZZA, 2008; PARK *et al.*, 2004 e SFORCIN *et al.*, 2012 apud CAZELLA *et al.*, 2019, P. 1, 2).

Pelargonium graveolens L’Hér. (da família Geraniaceae) (Sin. *Pelargonium intermedium* Kunth.), conhecida popularmente como “geranium”, “malva-cheirosa”, “malva-rosa”, é cultivada na Ilha da Reunião, Madagascar, Egito (tipo norte-africano) e China, e mais recentemente na Índia, conhecido como geranium; é de tamanho arbustivo, cujos caules, folhas e pecíolos são cobertos por pêlos glandulares. O talo é grosso e ramificado desde a base. As folhas podem ser opostas ou alternadas, simples ou composta, ligeiramente lobulada ou com arestas serrilhadas, peciolada, com cerdas glandulares, e geralmente com estípulas na base. A superfície da lâmina é curva, de modo que a água desliza em direção ao pecíolo desta. A cor desta depende da variedade, podendo apresentar faixas de cores diferentes (preto, marrom, avermelhado, amarelo, etc.). (GOMES; MATA; RODRIGUES, 2004 apud ÇEBI 2021, p. 811; INFOAGRO SYSTEMS, 1997 apud AGEXPORT GUATEMALA 2021, p. 7).

Cinnamomum cassia (L.) J. Presl. (da família Lauraceae) (Sin. *Laurus cassia* L.), popularmente conhecida como “cássia”, “canela-aromática”, “canela-chinesa”; apresenta hábito arbóreo que cresce até 10 m de altura, com folhas coriáceas de ápice acuminado e filotaxia alterna; as flores são brancas, pequenas e unissexuais ou bissexuais, geralmente em panículas axilares; os frutos são pequenos, carnosos, com cerca de 1 centímetro de

comprimento, de coloração arroxeadada quando maduros. É originária do sudeste da China e da Indochina, mas na atualidade é amplamente cultivada no sudeste da Ásia (Índia, Indonésia, Laos, Malásia, Taiwan, Tailândia e Vietname); (CHARRI 2017 apud VEGA; NAVARRO, 2021, P. 7; RAVINDRAN; NIRMAL; SHYLAIA, 2004 apud YAN-QUN *et al.*, 2013, p. 92; ZANARDO 2015 apud SILVA 2019, p. 20).

Cananga odorata (Lam.) Hook. f. & Thomson (da família Annonaceae), conhecida popularmente como 'ylang-ylang', é originária do continente asiático, tornou-se conhecida pelas populações da Malásia, Indonésia, ilhas Comoro, Nossi Be e Madagascar, é uma árvore tropical perenifólia de crescimento rápido, considerada de porte médio, que pode atingir 15 metros de altura, evidenciando longos ramos caídos. (MANNER; ELEVITCH, 2006; SAEDI; CRAWFORD, 2006; GOODRICH, 2012 apud TAN *et al.*, 2015, p. 1, 2; UPADHYAY *et al.*, 2021).

Artemisia dracunculus L. (família Asteraceae = Compositae) (Sin. *Artemisia aromática* A. Nelson), conhecida popularmente como “estragão” (o estragão, também, é conhecido como “erva-dragão”), é uma herbácea perene que normalmente atinge de 60 a 150 cm de altura, de folhas pequenas e estreitas. Ela é encontrada naturalmente em vastas áreas do Hemisfério Norte: do leste da Europa ao centro e ao leste da Ásia até o oeste da América do Norte. (AGLAROVA; ZILFIKAROV; SEVERTSEVA, 2008 apud EKIERT *et al.*, 2021, p. 2; BOCEK 1984 apud BUCAY; HAIAT; PEÑALOZA, 2017, p. 130; HABER; CLEMENTE, 2013; HAYAT *et al.*, 2009 apud HUSSAIN 2020, p. 2; PELARTI *et al.*, 2021).

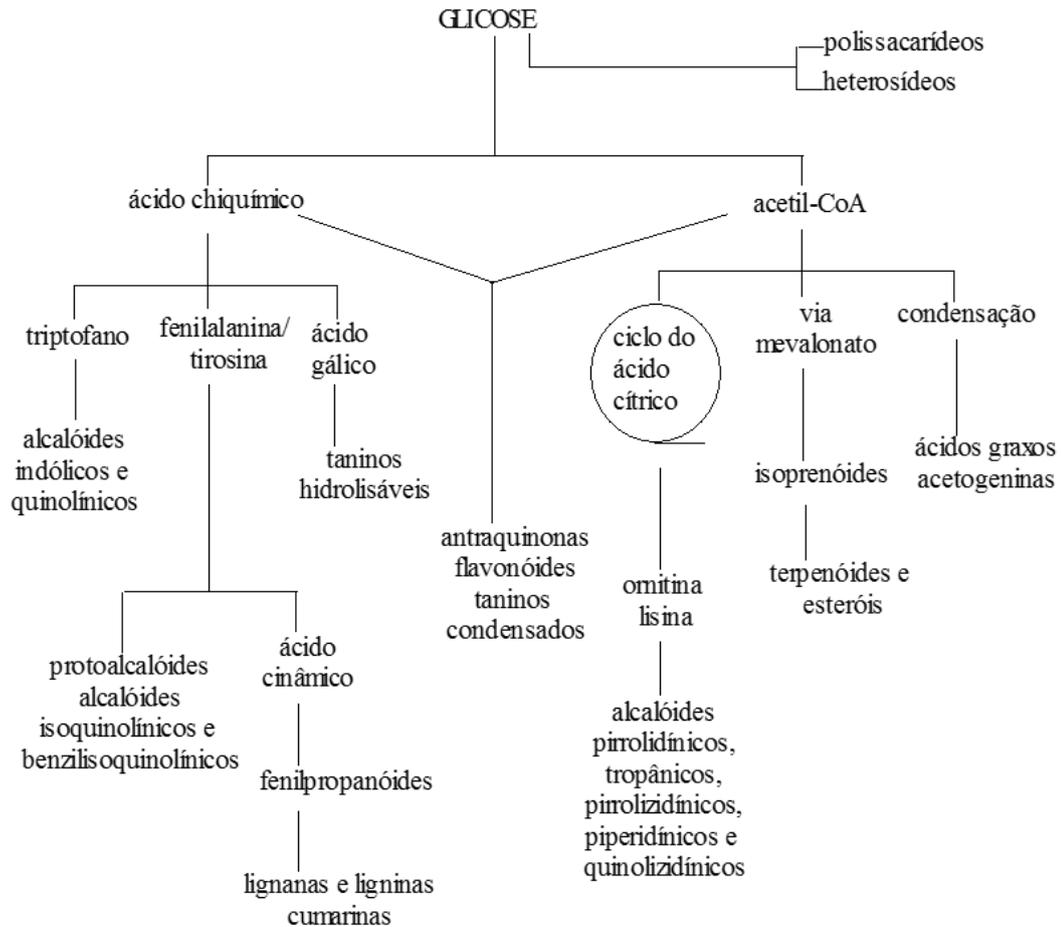
1.4 Óleos essenciais

Óleos essenciais, óleos voláteis, essências ou óleos etéreos são misturas de substâncias odoríferas, líquidas, voláteis de diferentes classificações químicas, de natureza lipofílica, geralmente ácidos, com densidade menor que a da água, reagindo principalmente com a luz, umidade, oxigênio e metais, (SIMÕES *et al.*; 2007). Segundo a International Organization for Standardization - ISO (1997) apud Busato *et al.* (2014, p. 1575), os óleos essenciais são produtos obtidos de partes de plantas através de destilação por arraste a vapor, bem como os produtos obtidos por processamento mecânico dos pericarpos dos frutos cítricos.

Os óleos essenciais também são caracterizados como misturas de diferentes classes de metabólitos secundários, sendo, os principais, os monoterpenos, sesquiterpenos, flavonoides e fenilpropanoides. Conforme mostra a Figura 2, a biossíntese dos óleos essenciais pode ocorrer pela via do ácido chiquímico (fenilpropanoides), do ácido mevalônico (terpenos), pela via do

ácido cítrico (sesquiterpenos) ou por via mista do ácido cítrico e do ácido gálico (flavonoides). Estes metabólitos são produzidos e armazenados em idioblastos, cavidades, canais e tricomas glandulares na maioria das plantas que produzem óleo essencial e em canais oleíferos em plantas da família Apiaceae (SAITO; SCRAMIM, 2000; SIMÕES *et al.*; 2007).

Figura 2 - Ciclo biossintético dos metabólitos secundários em plantas



Fonte: Adaptado de SIMÕES *et al.* (2010).

1.4.1 Fatores que influenciam na composição química dos óleos essenciais

Os fatores que influenciam na composição química dos óleos essenciais são genéticos, ambientais e técnicos. Os genéticos são aqueles que regulam e mantêm as características próprias de cada espécie, em relação a diversos aspectos, entre eles a síntese de metabólitos, conhecido como variabilidade química e para identificar cada uma delas recebe o nome de quimiotipo, refere-se a plantas botanicamente idênticas, mas, que diferem quimicamente entre si. Por exemplo, *Lippia alba* que é a erva-cidreira a qual tem quimiotipo 1:29 componentes,

quimiotipo 2:26 componentes, quimiotipo 3:42 componentes (SILVA *et al.*, 2006; TAVARES *et al.*, 2005).

Os quimiotipos são influenciados pelos fatores ambientais que são a adaptação às mais diversas condições ambientais (sazonalidade, ritmo circadiano e ontogenia, época do ano, luz, disponibilidade hídrica, altitude e latitude). As plantas que ocorrem ao longo de um gradiente ambiental variam sua constituição genética e atividade fisiológica, condicionadas pelo processo de seleção natural, embora pertencendo à mesma espécie, por exemplo, crescimento, desenvolvimento e germinação desuniforme, diferenças morfológicas causadas pela variabilidade genética, densidade de tricomas glandulares e produção de óleo essencial em *Mentha* spp. (BRANT, 2009; CREUX; HARMER, 2019; DESCHAMPS, 2006; ESMAEILI; KARAMI; MAGGI, 2018; FARHAT; SOTOMAYOR; JORDÁN, 2019; FLAMINI *et al.*, 2013; GHORBANPOUR; VARMA, 2017; LEE; DING, 2016; MCCLUNG, 2006; SALEM *et al.*, 2018; YOSR *et al.*, 2013 apud FRANCISCO 2020, p. 86, 91, 92; OLIVEIRA, 1997 apud SILVA 2005, p. 12; PAULETTI, 2005).

Os fatores técnicos são voltados ao gerenciamento de pessoas, ou seja, relacionam-se com as pessoas encarregadas com a produção (nutrição, irrigação, espaçamento, época de plantio), colheita (época, horário, altura de corte) e pós-colheita (secagem, tipo de extração, armazenamento) (COSTA *et al.*, 2008).

1.4.2 Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais

Há diversas aplicações para os óleos essenciais, tais como antifúngico, antibacteriano, inseticida e inibidores da acetilcolinesterase, entre outras. O uso de óleos essenciais em sistemas biológicos deve ser criterioso pois estes podem apresentar toxicidade elevada, causando reações cutâneas, irritação, sensibilização e fotossensibilidade ou agir sobre o sistema nervoso central com efeitos convulsivantes ou psicotrópicos (OLIVEIRA *et al.*, 2010; SIMÕES *et al.*, 2010 apud MATOS DOS, 2013, p. 7.)

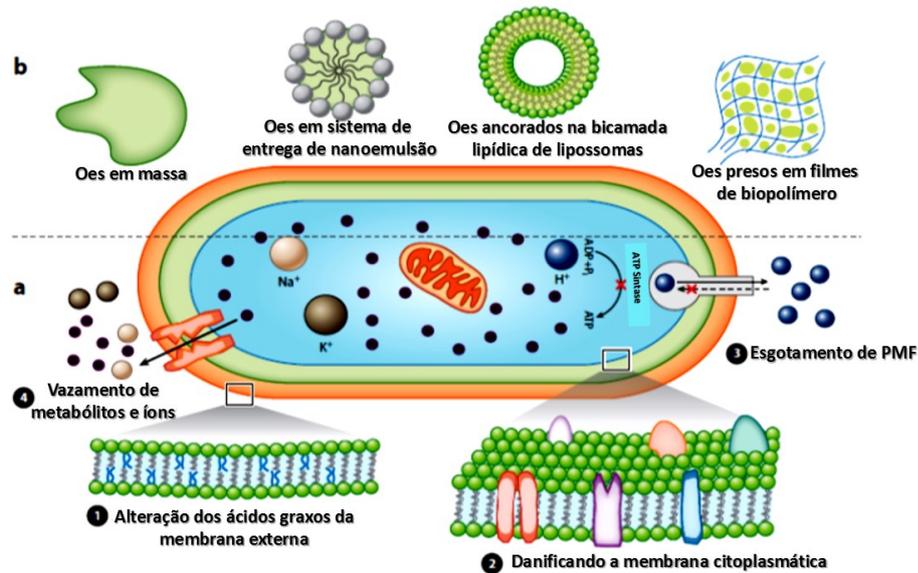
Dentre muitas espécies de plantas aromáticas, a espécie *Lippia alba* é citada por Silva *et al.* (2006) como uma das plantas medicinais mais utilizadas na população brasileira. Estudos etnobotânicos citam-na como erva-cidreira, usada em tratamentos gastrointestinais e sedativos. De acordo com Atti-Serafini *et al.* (2002), tais propriedades se devem a seus óleos essenciais.

Almeida *et al.* (2012) ressaltam os efeitos antifúngicos dos óleos essenciais de canela (*C. cassia*) e palmarosa (*C. martinii*) em cepas de *Candida albicans* isoladas de pacientes HIV positivos. Bakkali *et al.* (2008) corroboram com os autores supracitados em relação aos efeitos

antimicrobianos dos óleos essenciais. Em seu trabalho, os autores caracterizam os compostos voláteis dos óleos essenciais e ressaltam suas propriedades antissépticas, virucida e fungicida, além de efeitos analgésicos e anti-inflamatório.

O mecanismo de ação de óleos essenciais (Figura 3) e de seus componentes majoritários depende de sua composição química, e a atividade antimicrobiana não é atribuída a somente um mecanismo e, sim, a uma cascata de reações envolvendo toda a célula bacteriana (BURT, 2004; CALO *et al.*, 2015; AYALA-ZAVALA; GONZÁLEZ-AGUILAR; TORO-SÁNCHEZ, 2009).

Figura 3 - Mecanismos de ação dos óleos essenciais sobre células microbianas empregando-se vários sistemas de entrega



Legenda: (a) Mecanismos comuns propostos de ação e locais-alvo de óleos essenciais (OEs) ou sistemas de entrega de EO em células bacterianas: 1. Alteração do ácido graxo da membrana externa; 2. Danos na membrana citoplasmática; 3. Depleção da força próton-motriz (PMF); e 4. Vazamento de metabólitos e íons. (b) OEs a granel e diferentes tipos de sistemas de entrega de OE, incluindo nanoemulsão, lipossomas e filmes de biopolímeros.

Fonte: Adaptado de Rao; Chen; McClements (2019).

Óleos essenciais são compostos tipicamente lipofílicos e, por isso, são capazes de passar pela parede celular e se acumular na membrana citoplasmática bacteriana, causando aumento de sua permeabilidade por danificar a estrutura de diferentes camadas de polissacarídeos, ácidos graxos e fosfolipídeos (BAKKALI *et al.*, 2008).

De acordo com Hammer e Carson (2011), a difusão passiva da molécula do óleo essencial, por meio da parede celular de bactérias gram-positivas e fungos ou membrana externa de bactérias gram-negativas, é a interação inicial entre os componentes dos óleos essenciais e a

célula microbiana. La Storia *et al.* (2011) demonstraram também que pode ocorrer interação de constituintes dos óleos essenciais com a membrana externa de bactérias gram-negativas.

O aumento da fluidez da membrana parece estar entre os primeiros efeitos antimicrobianos causados pelo tratamento dos microrganismos com óleos essenciais HAMMER; CARSON, 2011. A membrana citoplasmática representa uma barreira eficaz entre o citoplasma e o ambiente externo. A absorção e secreção dos metabólitos e íons essenciais para todas as atividades que acontecem na célula microbiana, ocorrem através da membrana citoplasmática (FORSYTHE, 2013). Turina *et al.* (2006) enfatiza que o efeito de íons específicos sobre a membrana plasmática tem forte efeito sobre a força próton motriz e atividade global de células microbianas, como transporte de solutos e processo de regulação do metabolismo.

A expansão e o aumento da fluidez da membrana citoplasmática podem levar à quebra da integridade celular, com consequente perda de pequenos componentes intracelulares, como hidrogênio, potássio e sódio. A perda destes íons está associada ao decréscimo do potencial de membrana, pH intracelular e *pool* de ATP, causado pelo dano ao gradiente de íons que ocorre entre o interior e o exterior da célula. Concentrações elevadas de óleos essenciais ou longos tempos de exposição, podem acarretar danos maiores à membrana citoplasmática, ocasionando perda de macromoléculas, como DNA e proteínas, estritamente relacionada à morte celular (HAMMER; CARSON, 2011).

Além disso, a destruição da parede celular e da membrana citoplasmática, danos nas proteínas de membrana, a liberação de conteúdo celular, a coagulação do citoplasma, a depleção da força próton motiva, a inativação de enzimas essenciais e a perturbação da funcionalidade do material genético são também, mecanismos de ação dos óleos essenciais (BURT, 2004; AYALA-ZAVALA; GONZÁLEZ-AGUILAR; TORO-SÁNCHEZ, 2009).

A atividade antibacteriana dos óleos essenciais é uma característica importante destes compostos que já foi relatada, *in vitro*, em inúmeros trabalhos (BURT, 2004; OUSSALAH *et al.*, 2006; SOUZA *et al.*, 2016; TRAJANO *et al.*, 2009). Dessa forma, estudos vêm sendo realizados sobre o emprego de óleos essenciais no controle de microrganismos em alimentos (DIAS *et al.*, 2015; HAMMER; CARSON, 2011; OLIVEIRA; BRUGNERA; PICCOLI, 2013; VALERIANO *et al.*, 2012) e as demais aplicações na área da saúde (ALMEIDA *et al.*, 2012; BAKKALI *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2006).

1.5 Aromaterapia

A aromaterapia é uma terapia holística que trata tanto do corpo quanto da mente e espírito do ser humano. Também conhecida como aromatologia ou terapia dos aromas é utilizada desde a antiguidade, com seu uso descrito na Mesopotâmia, pelos hebreus, egípcios, gregos, chineses e indianos (RAPHAEL, 2002).

A aromaterapia moderna teve início com Rene-Maurice Gattefosse (1881-1950), químico francês, que acidentalmente mergulhou seu braço queimado em um recipiente contendo óleo essencial de lavanda, e assim promoveu rapidamente o alívio da dor e a cicatrização de seu ferimento (TISSERAND; JÜNEMANN, 1999; ALBANO, 2010).

Em 1938, o médico Godissart, em Los Angeles, começou suas atividades na área da aromaterapia clínica tratando úlceras faciais, câncer de pele, gangrena e outras formas de infecção cutânea com formulações à base de óleos essenciais (BRITO *et al.*, 2014). Também, o Ministério da Saúde, Portaria N° 702, de 21 de março de 2018 (BRASIL, 2018), junto com o SUS aprovou a aromaterapia como tratamento auxiliar na saúde. A aromaterapia é uma prática terapêutica alterna que consiste no uso intencional de concentrados voláteis extraídos de vegetais - os óleos essenciais (OE) - a fim de promover ou melhorar a saúde, o bem-estar e a higiene (GNATTA *et al.*, 2016).

Na década de 1930, a França e a Inglaterra passaram a adotar e pesquisar o uso terapêutico os óleos essenciais, sendo considerada prática integrante da aromatologia - ciência que estuda os óleos essenciais e as matérias aromáticas quanto ao seu uso terapêutico em áreas diversas como na psicologia, cosmética, perfumaria, veterinária, agronomia, marketing e outros segmentos (BRASIL, 2018).

No Brasil, a aromaterapia é reconhecida como uma prática integrativa e complementar com amplo uso individual e/ou coletivo, podendo ser associada a outras práticas como talassoterapia (utilização do clima marinho e de banhos de mar para o tratamento de doenças) e naturopatia (medicina natural), e considerada uma possibilidade de intervenção que potencializa os resultados do tratamento adotado. Como prática multiprofissional, tem sido adotada por diversos profissionais da saúde como enfermeiros, psicólogos, fisioterapeutas, médicos, veterinários, terapeutas holísticos, naturistas, dentre outros, e empregada nos diferentes setores da área para auxiliar de modo complementar a estabelecer o reequilíbrio físico e/ou emocional do indivíduo (BRASIL, 2018).

Somados todos os fatos apresentados, a aromaterapia pode contribuir com o Sistema Único de Saúde, agregando benefícios ao paciente, ao ambiente hospitalar e colaborando com

a economia de gastos da instituição pública por utilizar matéria-prima de custo relativamente baixo, principalmente quando analisada comparativamente às grandes vantagens que ela pode proporcionar.

1.5.1 Aromaterapia no auxílio do tratamento de feridas

Os principais métodos usados em aromaterapia são a inalação, o banho aromático e a aplicação (ANDREI, 2005). Quando o contato é cutâneo, os OE permeiam a barreira da pele devido a suas moléculas pequenas e de baixo peso molecular, sendo absorvidas através da pele e caindo na circulação sanguínea, que os transporta para os tecidos e órgãos do corpo. Quando um OE é inalado, suas moléculas são absorvidas pelas narinas e entram em contato com os nervos olfativos os quais têm uma ligação direta com o sistema nervoso central e levam o estímulo ao sistema límbico (GNATTA *et al.*, 2014).

Os princípios ativos dos OE apresentam efetivo papel no processo de cicatrização de feridas (NASCIMENTO *et al.*, 2022). Stea; Beraudi; De Pasquale, (2014) em revisão sistemática cita vários trabalhos que sugerem a utilização dos OE como substância alternativa aos quimioterápicos comercialmente disponíveis para o tratamento de feridas cirúrgicas bem como feridas crônicas. Costa *et al.* (2019) após revisão sistemática sugerem que os componentes majoritários de óleos essenciais timol e carvacrol tem possível aplicação no tratamento de feridas. Os autores relatam que ambos os componentes majoritários foram capazes de atuar nas três fases da cicatrização das feridas. Na primeira fase, mostraram efeito modulador das citocinas inflamatórias, estresse oxidativo e poder antimicrobiano. Na segunda, promoveram re-epitelização, angiogênese e desenvolvimento de tecido de granulação e na terceira fase, melhoram a deposição de colágeno e modulam o crescimento de fibroblastos e queratinócitos.

Outro óleo de grande importância na aromaterapia é o de lavanda (*Lavandula angustifolia*). Esse óleo é dito ter grande poder no auxílio da cicatrização de feridas, ser ansiolítico, dentre outras aplicações. Estudos realizados por vários pesquisadores tanto utilizando ensaios clínicos em humanos quanto em animais e testes *in vitro*, relatam que a utilização de óleo de lavanda reduziu o tempo de cicatrização de feridas bem como aumentaram a síntese do colágeno, além disso promoveu o aumento de proteínas envolvidas no processo de remodelação de tecidos (SAMUELSON *et al.*, 2020). O óleo resina de copaíba (*Copaifera reticulata* Ducke) uma das espécies de *Copaifera* mais abundante na Amazônia, também tem sido utilizado em estudos para redução de processos inflamatórios em feridas. Esse apresentou

elevada capacidade na redução de células inflamatórias em estudos realizados com ratos, sendo seu efeito similar ao da dexametasona, anti-inflamatório normalmente utilizado nos tratamentos convencionais (TEIXEIRA *et al.*, 2017).

Dentre os vários óleos essenciais utilizados na aromaterapia os tratamentos com OE de espécies dos gêneros *Lavandula*, *Croton*, *Blumea*, *Eucalyptus*, *Pinus*, *Cymbopogon*, *Eucalyptus*, *Cedrus*, *Abies*, *Rosmarinus*, *Origanum*, *Salvia* e *Plectranthus*, têm mostrado resultados positivos em feridas induzidas em roedores. Todos esses OE são compostos principalmente por monoterpenóides – timol, 1,8-cineol, linalol – ou monoterpenos, como limoneno ou pinenos. Feridas experimentais em roedores mostraram taxa de fechamento mais rápida, melhor deposição de colágeno e/ou maior proliferação de fibroblastos (PÉREZ-RECALDE; ARIAS; HERMIDA, 2018).

Já com advento da nanotecnologia e a disseminação da utilização de biopolímeros nas mais diversas áreas da ciência, estudos começaram a ser realizados com a incorporação de óleos essenciais e seus componentes majoritários em biopolímeros, buscando melhores resultados para o auxílio na cura de feridas persistentes.

1.6 Biopolímeros

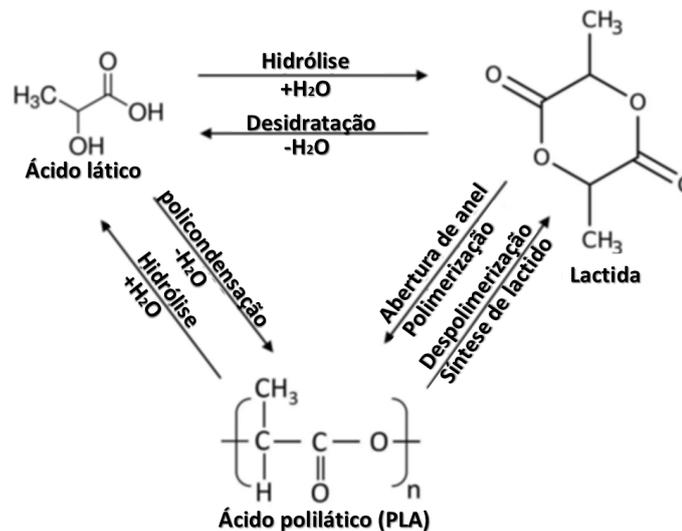
Os biopolímeros podem ser classificados de acordo com a origem de seu monômero natural ou sintético. Atualmente, o mercado tende a utilizar os biopolímeros naturais, uma vez que são de relativamente rápida degradação, não promovendo a poluição ambiental causada pelos plásticos derivados de petróleo. Os biopolímeros naturais são obtidos a partir de substâncias naturais de fontes renováveis e de relativamente rápida degradação por microrganismos, sendo obtido a partir de cana-de-açúcar, amido de milho, quitina, celulose, dentre outros, ou serem sintetizados por microrganismos, especialmente pelas bactérias (BRITO *et al.*, 2011).

Vários biopolímeros têm sido usados em grande volume e outros apresentam grande potencial para utilização na indústria de alimentos e de fármacos. Dentre eles pode-se citar o poli ácido láctico (PLA) um biopolímero natural e o poli álcool vinílico (PVA) um biopolímero sintético.

1.6.1 Poli ácido láctico (PLA)

O PLA é polímero de origem biológica (derivado de produtos agrícolas, disponíveis comercialmente) (SANUSI *et al.*, 2020); um poliéster alifático termoplástico; pode ser sintetizado de duas maneiras: Polimerização por abertura de anel (ROP) de lactídeo (LA) (ou seja, dímero cíclico de LA), e policondensação direta da AL (Figura 4); LA existe em dois estereoisômeros opticamente ativos por causa de seus dois centros quirais: D-lactídeo (DLA) e L-lactídeo (LLA). Por isso o monômero de PLA é enantiomérico, possuindo isômeros D e L. A razão de unidades de D-lactato para L-lactato no PLA é denominada pureza óptica de PLA. O tipo dos enantiômeros de lactídeo e a quiralidade diferente nas cadeias de PLA determinam as propriedades finais do PLA, em vez de seu peso molecular (PUCHALSKI *et al.*, 2019, LO RE *et al.*, 2014 apud SANUSI *et al.*, 2020, p. 3); é semicristalino, tendo propriedades mecânicas adequadas para aplicação de curto prazo, utilizado como embalagem de alimentos. (LO RE *et al.*, 2014 apud SANUSI *et al.*, 2020, p. 3).

Figura 4 - Esquema de síntese de poli (ácido láctico) (PLA) - Policondensação e polimerização por abertura de anel



Fonte: Adaptado de Fukushima; Kimura (2006).

O PLA apresenta propriedades que são comparáveis com os polímeros derivados de petróleo convencionais; mas apresenta fragilidade, baixa tenacidade, propriedades de barreira de gás/vapor pobres, baixa estabilidade térmica e retardamento de chamas, e propriedades dielétricas pobres (ARJMANDI *et al.*, 2015; HAPUARACHCHI; PEIJS, 2010; BADIA *et al.*, 2017 apud SANUSI *et al.*, 2020, p. 2). Embora seja semi-cristalino, muitas vezes torna-se

amorfo após ser processado, devido à sua cristalização extremamente lenta e taxa de resfriamento rápido; nas técnicas de processamento convencionais, torna-se inerentemente quebradiço (PARK; LEE; KIM, 2013; WEI *et al.*, 2014 apud SANUSI *et al.*, 2020, p. 3).

Sendo o PLA reforçado como nanocompósitos de polímeros é utilizado em engenharia de alta tecnologia, medicina regenerativa e engenharia de tecidos, agricultura, dispositivos elétricos e eletrônicos, automotivo, aeronáutico, aeroespacial, emergentes de manufatura aditiva, construção civil (SANUSI *et al.*, 2020).

O PLA é uma alternativa como polímero biodegradável, degradabilidade, biocompatíveis (SANUSI *et al.*, 2020; EQUIPE ECYCLE, 2010). Sua biodegradação pode durar de alguns meses a 2 anos (HASSAN; KOYAMA. 2020; WANG; SUN; SEIB, 2001 apud SANUSI *et al.*, 2020, p. 12).

Uma alternativa industrial a esta prática convencional de degradação de resíduos sólidos é a compostagem, ou seja, biodegradação aeróbia (STLOUKAL *et al.*, 2015; SONG *et al.*, 2009 apud SANUSI *et al.*, 2020, p. 12) a compostagem de PLA envolve degradação primária e mineralização subsequente. Na degradação primária, as ligações éster são hidroliticamente clivada em fragmentos de menor massa molecular, que podem ser assimilados por microrganismos em H₂O, CO₂ e biomassa devido aos processos metabólicos envolvidos (STLOUKAL *et al.*, 2015 apud SANUSI *et al.*, 2020, p. 12).

As características ecológicas do PLA, em termos de renovabilidade, reciclabilidade, não toxicidade e compostabilidade, o tornam muito promissor na perspectiva de aplicações de química verde, enquanto sua citocompatibilidade e a biocompatibilidade de seus produtos de degradação o tornam atraente como material para aplicações biomédicas e de entrega de medicamentos (VAN DE VELDE; KIEKENS, 2002 apud por SCAFFARO; MAIO; NOSTRO, 2020, p. 2).

Embora sua biodegradabilidade seja extremamente lenta em condições ácidas e fisiológicas, a possibilidade de degradá-lo rapidamente em ambientes alcalinos, juntamente com sua compostabilidade e reciclabilidade (depois de ser esterilizado corretamente de toda contaminação biológica), oferecem ampla variedade de cenários para seu descarte pós-consumo, atendendo assim aos requisitos ecológicos (SCAFFARO *et al.*, 2019c apud por SCAFFARO; MAIO; NOSTRO, 2020, p. 2; OLIVEIRA *et al.* 2011).

1.6.2 Poli álcool vinílico (PVA)

O Poli álcool vinílico (PVA) reticulado é um polímero sintético, hidrofílico que apresenta boa capacidade de formação de filmes; boa estabilidade química, térmica, mecânica, permeabilidade à água, potencial anti-incrustante, baixa pressão operacional, é biocompatível, sendo alternativa como polímero biodegradável porque até o momento tem sido observada sua degradação por microrganismo como *Fusarium lini*, espécies de *Pseudomonas*, *Brevibacterium incertum*, *Alcaligenes* e *Bacillus* (BAKER *et al.*, 2012; BOLTO *et al.*, 2009; NORD 1936; SUZUKI *et al.*, 1973; SAKAI; HAMADA; WATANABE, 1986; WATANABE *et al.*, 1975 apud CHIELLINI *et al.*, 2003, p. 971, 977; FARIA; VERCELHEZE; MALI, 2012).

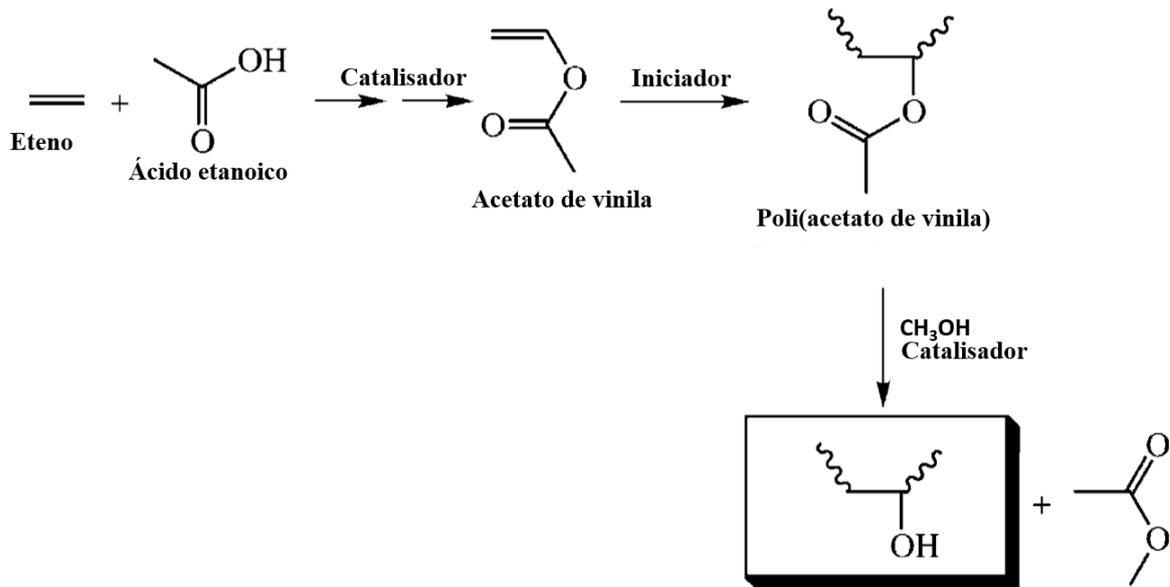
O PVA não é produzido por polimerização direta do monômero correspondente, já que o álcool vinílico tende a se converter espontaneamente na forma de enol de acetaldeído (HAY; LYON, 1967 apud CHIELLINI *et al.*, 2003, p. 969).

O PVA é obtido a partir do homopolímero parental poli (acetato de vinil) (PVAc) (CHIELLINI *et al.*, 2003) a partir de sua polimerização (Figura 5) que ocorre através de um mecanismo de radicais livres do vinil acetato, geralmente em solução alcoólica (metanol, etanol) (MARTEN; ZVANUT, 1992 apud CHIELLINI *et al.*, 2003, p. 969). O PVA é produzido em escala industrial pela hidrólise (metanólise) de PVAc, muitas vezes em reator, realizadas em batelada ou em processos contínuos (CHIELLINI *et al.*, 2003).

O peso molecular do PVAc é geralmente controlado pelo estabelecimento da residência apropriada (tempo no reator de polimerização), alimentação de acetato de vinila taxa, quantidade de solvente (metanol), concentração do radical iniciador e temperatura de polimerização. O grau de hidrólise do PVA também é controlado por tempo de residência, concentração do catalisador (base) e temperatura da reação (CHIELLINI *et al.*, 2003).

O PVA é utilizado para aplicações de tratamento de água na forma de membranas, produção de embalagens biodegradáveis (BOLTO *et al.*, 2009), também para alguns dos usos médicos mais comuns são em lentes de contato gelatinosas, colírios, partículas de embolização, barreiras de adesão tecidual e como cartilagem e meniscos artificiais (BAKER *et al.*, 2012, p. 1451).

Figura 5 - Representação esquemática da sequência de reação usada na produção industrial de PVA



Fonte: Adaptado Chiellini *et al.*, 2003.

1.6.3 Nanofibras

O conceito de nanotecnologia vem sendo aprimorado de acordo com os avanços da ciência, por isso, ainda não há um conceito internacional consensual para o termo. Na área da saúde, a *European Medicines Agency* define nanotecnologia como o uso de pequenas estruturas, aquelas menores de 1.000 nanômetros de diâmetro que são projetadas para apresentar propriedades específicas. Particularmente na área de nanotecnologia farmacêutica e de nanomedicina, os esforços em pesquisa e desenvolvimento visam, principalmente, desenvolver nanomedicamentos que ofereçam vantagens em relação aos seus homólogos, principalmente pelas características adquiridas devido ao tamanho reduzido e elevada área superficial (DIMER *et al.*, 2013, p.1520).

A definição de “nano-objetos” é resguardada a partir dos seguintes parâmetros:

- As dimensões de nano compreendem o intervalo entre 1 e 100 nm;
- Objetos nano são materiais com pelo menos uma de suas dimensões no domínio nano.

Dentre os nano-objetos, se encontram frequentemente: as nanopartículas, nanoplacas e as nanofibras (unidimensionais, com diâmetros menores que 100 nm) (RODRIGUES *et al.*, 2022).

As nanofibras são compostas de polímeros e utilizadas no processo de nanotecnologia (RODRIGUES *et al.*, 2022). Permitem alta relação área/volume, alto desempenho de propriedades mecânicas e alta capacidade de funcionalização da superfície (PATAQUIVA; COBA, 2018). Diversos são os polímeros utilizados, entretanto, os biopolímeros têm se destacado uma vez que os biopolímeros, não são apenas agentes emulsionantes, mas também conferem às emulsões algumas características desejadas, tais como força eletrostática, repulsão estérica e reologia, capacidade e de carga e resposta ao estresse ambiental (AHMED *et al.*, 2016; BRETAS; D'AVILA, 2005; CHEN; REMONDETTO; SUBIRADE, 2006).

Nas últimas décadas, várias formulações tópicas de barreiras para feridas, como filmes, hidrogéis, emulsões e nano/microfibras, têm sido exploradas, sendo as fibras embebidas em substâncias antimicrobianas candidatas potenciais para cicatrização de feridas, pois apresentam boa barreira devido à grande área superficial específica (para funcionalização da superfície), grande porosidade ~60-90% (para oxipermeabilidade), nanoporosidade reticulada (para inibição de o microrganismo) e são obtidas por métodos avançados de eletrofiação, o que facilita a liberação sustentada do antimicrobiano. As feridas possuem temperatura de 37°C e pH de 7,4, o que desencadeiam a liberação da droga e a degradação das nano/microfibras simultaneamente. A nano/microfibra incorporada ao antimicrobiano ao outras substâncias, consiste em matriz com excelente biocompatibilidade, taxa de biodegradação apreciável (por exemplo, nanofibra de quitina - degradação de 20% em 15 dias) e um antibiótico superior, propriedade antimicrobiana, além de medicamentos que promovem a vasodilatação, aumentando a permeabilidade vascular levando ao movimento rápido de leucócitos para o tecido afetado, reduzindo assim o tempo de cicatrização (AMBEKAR; KANDASUBRAMANIAN, 2019).

Quando esse princípio ativo, que já tem apresentado evidências de capacidade fitoterápica, é associado a membranas contendo nanofibras poliméricas torna-se um novo curativo biodegradável que deixa de agredir a natureza ao ser descartado e também evita a superexposição a medicamentos sintéticos (MACHADO, 2020, p. 30);

Em blendas com biopolímeros, vários óleos essenciais combinados com quitosana, alginato, gelatina ou colágeno, foram elaborados formando filmes ativos ou nanofibras, com atividades antioxidante, anti-inflamatória ou antimicrobiana (GALINDO *et al.*, 2019).

1.6.3.1 Obtenção de nanofibras: Fiação por sopro de solução (SBS)

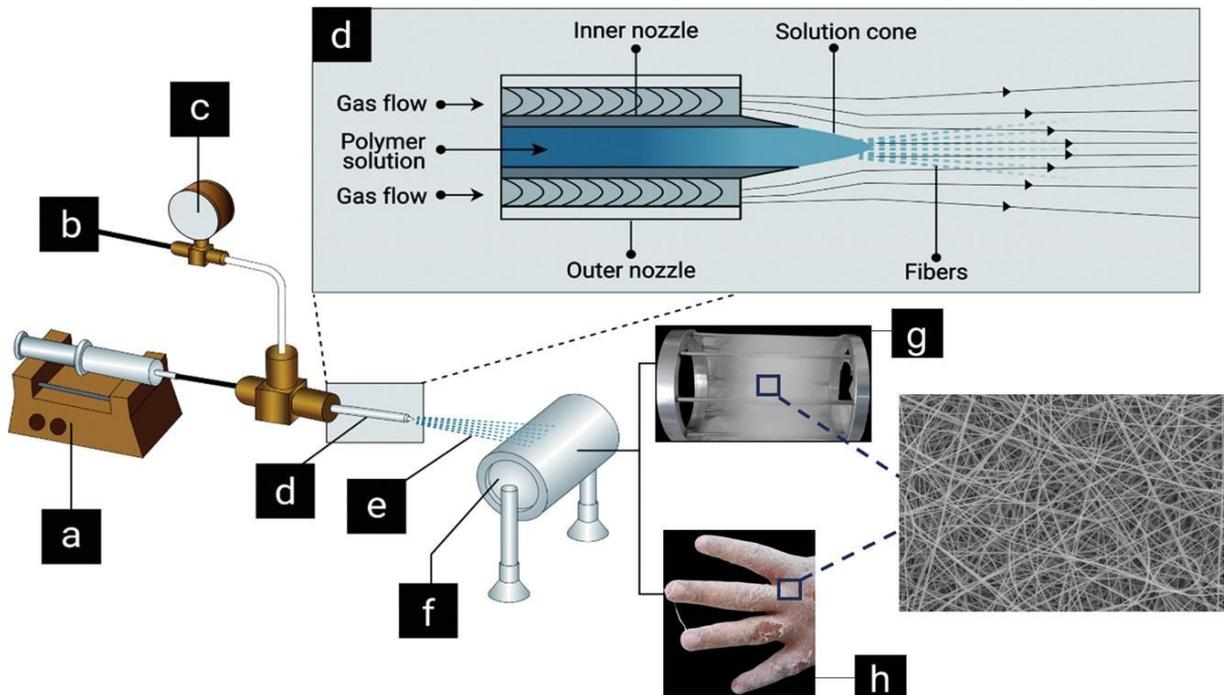
Entre os métodos de fiação que estão sendo utilizados para a produção de micro e nanofibras para aplicações biomédicas se encontra a técnica *Solution Blow Spinning* (SBS) ou fiação por sopro em solução por ser de baixo custo (DARISTOTLE *et al.*, 2016) que foi desenvolvida por Medeiros *et al.* (2009) como alternativa à técnica electrospinning para a produção de fibras poliméricas.

SBS depende de certo arranjo de bicos nos quais a solução polimérica é extrusada por bocal interno, enquanto um gás (ar, nitrogênio, argônio, etc.) pressurizado flui ao redor da solução polimérica criando fibras que são depositadas na direção do fluxo do gás do bocal externo (Figura 6) (DOS SANTOS *et al.*, 2020).

Este processo faz uso do princípio de Bernoulli onde as variações de pressão são convertidas em energia cinética, ou seja, como a alta pressão fluxo de gás sai do bocal externo, a pressão cai rapidamente aumentando a energia cinética do fluxo e resultando no aumento da velocidade do gás. Esse aumento promove uma queda na pressão no centro do jato, criando uma força motriz responsável pela aceleração da solução polimérica. O gás em alta velocidade também induz o cisalhamento no gás/interface de solução que é responsável por deformar a solução polimérica saindo do bocal interno em um formato cônico. Quando a tensão superficial é superada por essas forças, fluxos finos de solução de polímero (normalmente 10-20 μm , mas varia de acordo com a volatilidade do solvente), são lançados em direção ao coletor. Durante o voo, o solvente evapora rapidamente formando fibras poliméricas que se acumulam no coletor. As fibras poliméricas são depositadas sem secagem, resfriamento ou lavagem necessários, e podem ser coletadas em praticamente qualquer alvo, como a pele humana por exemplo (MEDEIROS *et al.*, 2009).

A configuração convencional para a SBS consiste em bicos concêntricos, uma fonte de gás comprimido como ar, nitrogênio, ar sintético, oxigênio ou argônio, um sistema de coleta de fibras e uma bomba de infusão para controlar a taxa de ejeção do polímero, conforme ilustrado esquematicamente na Figura 6 (DOS SANTOS *et al.*, 2020).

Figura 6 - Representação esquemática do aparelho de fiação por sopro de solução (SBS) usado para produção de fibra



Legenda: (a) Bomba de infusão; (b) gás pressurizado; (c) Medidor de pressão; (d) bocal; (e) nanofibras poliméricas saindo do bocal e sendo direcionadas para o coletor (f); (g) tapete de nanofibras depositado no coletor, (h) esteira de nanofibras depositada *in situ*. Em (d) também é exibida uma vista em corte transversal ampliada do bocal, exibindo o interior (pelo qual a solução de polímero flui) e os bocais externos (por onde o ar pressurizado flui), bem como o cone de solução e as fibras.

Fonte: Adaptado de Dos Santos *et al.* (2020).

As características dos solventes têm que ser capazes de dissolver polímeros em concentrações adequadas e apresentar volatilidade adequada para permitir a formação de fibras e evitar entupimento da agulha (XUE *et al.*, 2019 apud DOS SANTOS *et al.*, 2020, p. 45675). Solventes orgânicos, incluindo ácido fórmico, acetona, clorofórmio, diclorometano, álcoois, dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO), hexafluoroisopropanol (HFIP), tetrahydrofurano (THF) e trifluoroetanol, entre outros, são comumente usados para eletrofiação (BHARDWAJ; KUNDU. 2010; LUO; NANGREJO; EDIRISINGHE, 2010; LUO; STRIDE; EDIRISINGHE, 2012 apud DOS SANTOS *et al.*, 2020, p. 45675). Alguns polímeros requerem uma mistura de diferentes solventes para obter soluções adequadas para eletrofiação (DOS SANTOS *et al.*, 2018 apud por DOS SANTOS *et al.*, 2020); estudos mostraram que o SBS da acetona diretamente nas células não afetou a viabilidade (SANUSI *et al.*, 2020).

REFERÊNCIAS

- AGEXPORT GUATEMALA. Guia de cultivos: geranio, *Pelargonium graveolens*. **Union Europea**. 2021.
- AGLAROVA, A. M.; ZILFIKAROV, I. N.; SEVERTSEVA, O. V. Biological characteristics and useful properties of tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) (review). **Pharm. Chem. J.** v. 42, n. 2, p. 81–86, 2008. DOI:10.1007/s11094-008-0064-3.
- AGUIAR, O. V. Controle dos antimicrobianos. **CRF/SE**. 2.015. <https://crfse.org.br/noticia/imprimir/462/vanilda-oliveira-aguiar-controle-dos-antimicrobianos>.
- AHMED, J. et al. Antimicrobial, rheological, and thermal properties of plasticized polylactide films incorporated with essential oils to inhibit *Staphylococcus aureus* and *Campylobacter jejuni*. **J Food Sci.** v. 81, n. 2, p. E419-429, 2016.
- ALBANO, N. M. Rosemary variation within Aromatherapy texts. **Acta Scientiarum Language and Culture.** v. 32, n. 2, p. 255-261, 2010. <https://www.redalyc.org/pdf/3074/307426644008.pdf>
- ALENCAR, SEVERINO et al. Chemical composition of *Baccharis dracunculifolia*, the botanical source of propolis from the states of São Paulo and Minas Gerais, Brazil. **J. Ciência Rural.** v. 35, p. 909-915, 2005.
- ALMEIDA, L.F.D. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais frente a amostras clínicas de *Candida albicans* isoladas de pacientes HIV positivos. **Rev. Bras. Pl. Med: Botucatu.** v. 14, n. 4, p. 649-655, 2012.
- ALVES, B. **Óleo essencial de Lavanda (*Lavandula angustifolia*) no tratamento da ansiedade.** Monografia de TCC (Bacharelado em Química). Universidade Federal de São João del-Rei. 2018.
- ALVES, D. R. et al. Development of a High-Throughput ex-Vivo Burn Wound Model Using Porcine Skin, and Its Application to Evaluate New Approaches to Control Wound Infection. **Front. Cell. Infect. Microbiol.** v. 8, 196 p, 2018. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00196.
- AMARO, H. T. R. et al. Tipos de estacas e substratos na propagação vegetativa da menta (*Mentha arvensis* L.). **Rev. Bras. Pl. Med. Campinas.** v. 15, n. 3, p. 313-318, 2013.
- AMBEKAR, R. S.; KANDASUBRAMANIAN, B. Advancements in nanofibers for wound dressing: A review. **European Polymer Journal.** v. 117, p. 304-336, 2019.
- ANDREI, P.; COMUNE, A. P. D. Aromaterapia e suas aplicações. **Centro Universitário S. Camilo.** v. 11, n. 4, p. 57-68, 2005.
- ANON. The Wealth of India, Raw Materials. **CSIR.** New Delhi. 1988.
- ARJMANDI, R. et al. Partial replacement effect of montmorillonite with cellulose nanowhiskers on polylactic acid nanocomposites. **Int. J. Biol. Macromol.** v. 81, p. 91-99, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.07.062>.

ATTI-SERAFINI, L. et al. Variation in essential oil yield and composition of *Lippia alba* (Mill). N.E.Br grow in southern Brazil. **Rev. Bras. Pl. Med.** v. 4, n. 2, p. 72-74, 2002.

AYALA-ZAVALA J. F.; GONZÁLEZ-AGUILAR G. A.; TORO-SÁNCHEZ L. del. Enhancing Safety and Aroma Appealing of Fresh-Cut Fruits and Vegetables Using the Antimicrobial and Aromatic Power of Essential Oils. **Journal of Food Science.** v. 74, n. 7, 2009. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2009.01294.x.

BADIA, J. D. et al. Effect of sisal and hydrothermal ageing on the dielectric behaviour of polylactide/sisal biocomposites. **Compos Sci Technol.** n. 149, p. 1-10, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2017.05.026>.

BAKER, M. I. et al. A review of polyvinyl alcohol and its uses in cartilage and orthopedic applications. **J Biomed Mater Res Part B.** v. 100B, p. 1451–1457, 2012.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils: a review. **Food Chem Toxicol.** v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008. DOI: 10.1016/j.fct.2007.09.106.

BALBINO, C. A.; PEREIRA, M. L.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **RBCF.** v. 41, n. 1, 2005.

BARROS, M. P. L. et al. Caracterização de feridas crônicas de um grupo de pacientes acompanhados no domicílio. **R. Interd.** v. 9, n. 3, p. 1-11, 2016. ISSN 2317-5079.

BARROSO, G. M. Compositae – subtribo baccharidinae hoffmann: estudo das espécies ocorrentes no Brasil. **Rodriguésia.** v. 28, p. 1–273, 1976.

BECKER, A. P.; DIAS, C. A. G.; MACEDO, A. J. Biofilm formation in clinical isolates of *S. aureus* is associated with presence of device and dissemination of infection. **JCDR.** v. 12, n. 6, p. 27 – 30, 2018.

BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. Electrospinning: A Fascinating Fiber Fabrication Technique. **Biotechnol. Adv.** v. 28, n. 3, p. 325–347, 2010.

BHATNAGAR, A. et al. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil of *Cymbopogon flexuosus*. **Journal of Applied and Natural Science.** v. 12, n. 1, p. 25-29, 2020. DOI:10.31018/jans.v12i1.2207.

BHUNIA, A. K. **Foodborne microbial pathogens: mechanisms and pathogenesis.** 2. ed. Springer. Food Science Text Series. 290 p, 2018.

BOCEK, B. R. Ethnobotany of Costanoan Indians, California, Based on Collections by John P. Harrington. **Economic Botany.** v. 38, n. 2, p. 240-255, 1984.

BOLTO, B. et al. Crosslinked poly(vinyl alcohol) membranes. **Progress in Polymer Science.** v. 34, p. 969–981, 2009.

BORGES, R. A. X.; FORZZA, R. C. A tribo Astereae (Asteraceae) no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. **Bol. Bot.** v. 26, p. 131–154, 2008. DOI: 10.11606/issn.2316-9052.v26i2p131-154.

BOUKHATEM, M. N.; KAMELI, A.; SAIDI, F. Essential oil of Algerian rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*): Chemical composition and antimicrobial activity against food spoilage pathogens. **Food Control**. v. 34, p. 208 – 213, 2013.

BRANT, R. S. et al. Teor do óleo essencial de cidrão (*Aloysia triphylla* (L' Hérít) Britton Verbenaceae) em função da variação sazonal. **Rev. Bras. Pl. Med.** v. 33, n. spe, p. 2065-2068, 2009.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Altera a Portaria de Consolidação nº 2/GM/MS, de 28 de setembro de 2017, para incluir novas práticas na Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares - PNPIC. 2018.

https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2018/prt0702_22_03_2018.html.

BRETAS, R. E. S; D'ÁVILA, M. A. **Reologia de Polímeros Fundidos**. 2. ed. São Carlos: EdUFSCar. 131 p, 2005.

BRITO, A. M. G. et al. "Aromatherapy: From genesis to today." **Rev. Bras. Pl. Med.** v. 15, n. 4 suppl. 1, p. 789-793, 2014.

BRITO, G. F. et al. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**. v. 6, n. 2, p. 27-139, 2011.

BUCAY, J. W.; HAIAT, S. W.; PEÑALOZA, F. R. Los productos herbolarios, la coagulación sanguínea y la cirugía otorrinolaringológica. **An Orl Mex**. v. 62, n. 2, p. 115-142, 2017.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. **Int J Food Microbiol**. v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022.

BUSATO, N. V. et al. Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor. Modeling strategies for essential oil extraction by hydrodistillation and steam distillation. **Ciência Rural. Santa Maria**. v. 44, n. 9, p. 1574-1582, 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20121330>.

CALO, J. R. et al. Essential oils as antimicrobials in food systems: a review. **Food Control. Oxford**. v. 54, n. 3, p. 111-119, 2015.

CARVALHO, P. B. M. et al. Crenças em saúde de pessoas com diabetes mellitus e feridas complexas. **Rev Enferm Atenção Saúde**. v. 11, n. 2, 2022. DOI: <https://doi.org/10.18554/reas.v11i2.5353>.

CAZELLA, L. N. et al. Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (*Asteraceae*) Aerial Parts at Flowering Period. **Front. Plant Sci**. v. 10, n. 27, 2019. DOI: 10.3389/fpls.2019.00027.

ÇEBI, N. Chemical Fingerprinting of the Geranium (*Pelargonium graveolens*) Essential Oil by Using FTIR, Raman and GC-MS Techniques. **European Journal of Science and Technology**. v. 25, p. 810-814, 2021.

CHANDRA, J. L. L. et al. In vitro and in vivo activity of a novel catheter lock solution against bacterial and fungal biofilms. **J. Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 62, 2018. DOI: 10.1128/AAC.00722-18.

CHARRI, K. **Actividad del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* “Canela” frente a biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* inducidas *in vitro* sobre lentes de contacto blandos.** Tesis (profissional Químico Farmacéutico) - Universidad Nacional mayor de San Marcos. Lima, Perú. 2017. Disponível em: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/6729/Charri_mk.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

CHAUDHARI, A. A. et al. Future Prospects for Scaffolding Methods and Biomaterials in Skin Tissue Engineering: A Review. **Int J Mol Sci.** v. 17, n. 12, 1974 p, 2016. DOI:10.3390/ijms17121974.

CHEN, L.; REMONDETTO, G. E.; SUBIRADE, M. Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems. **Trends in Food Science & Technology.** v. 17, n. 5, p. 272–283, 2006. DOI:10.1016/j.tifs.2005.12.011.

CHETTER, I. et al. The epidemiology, management and impact of surgical wounds healing by secondary intention: a research programme including the SWHSI feasibility RCT. **NIHR Journals Library.** 2020. DOI:10.3310/pgfar08070.

CHEW, S. C. et al. Matrix Polysaccharides and SiaD Diguanylate Cyclase Alter Community Structure and Competitiveness of *Pseudomonas aeruginosa* during Dual-Species Biofilm Development with *Staphylococcus aureus*. **ASM J.** v. 9, n. 6, 2018. <https://doi.org/10.1128/mBio.00585-18>.

CHIELLINI, E. et al. Biodegradation of poly (vinyl alcohol) based materials. **Prog. Polym. Sci.** v. 28, p. 963–1014, 2003.

CLARK, A. F. R; GHOSH, K.; TONNESEN, G. M. Tissue engineering for cutaneous wounds. *J Invest Dermatol.* **Journal of Investigative Dermatology,** v. 127, n. 5, p. 1018-1029, 2007.

COSTA, Da N. A. et al. Recomendações técnicas para a produção de manga. **ES: Incaper.** Doc. 155, 56 p, 2008. ISSN 1519-2059.

COSTA, M. F. et al. Effects of Carvacrol, Thymol and essential oils containing such monoterpenes on wound healing: a systematic review. **Journal of Pharmacy and Pharmacology.** v. 71, p. 141–155, 2019. <https://doi.org/10.1111/jph.13054>.

COSTERTON, W. et al. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. **J Clin Invest.** v. 112, n. 10, p. 1466-1477, 2003. DOI: 10.1172/JCI20365.

CREUX, N.; HARMER, S. Circadian Rhythms in Plants. **Cold Spring Harbor perspectives in Biology.** v. 11, n. 9, a034611 p, 2019.

CRUVINEL, W. de M. et al. Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Rev Bras Reumatol.** v. 50, n. 4, p. 434–461, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0482-50042010000400008>.

DARISTOTLE, L. J. et al. A Review of the Fundamental Principles and Applications of Solution Blow Spinning. **ACS applied materials & interfaces.** v. 8, n. 51, p. 34951-34963, 2016. DOI:10.1021/acsami.6b12994.

- DESCHAMPS, C. et al. Densidade de tricomas glandulares e produção de óleo essencial em *Mentha arvensis* L., *Mentha x piperita* L. e *Mentha cf. aquatica* L. **Ciência e Natura. UFSM.** v. 28, n. 1, p. 23 – 34, 2006.
- DIAS, N. A. A. et al. Antimicrobial activity of essential oils on *Clostridium perfringens* type a inoculated in mortadella. **Journal of Food Safety: Westport.** v. 35, p. 466-472, 2015.
- DIMER, A. F. et al. Impactos da nanotecnologia na saúde: produção de medicamentos. **Quim. Nova.** v. 36, n. 10, p. 1520-1526, 2013.
- DOMINGUES, R. E. A.; CARVALHO, F. M. R.; KAIZER, O. U. A. Cross-cultural adaptation of a wound assessment instrument. Original article. **Cogitare Enferm.** v. 23, n. 3, 2018.
- DONLAN, R. M.; COSTERTON, J. W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Clin Microbiol Rev.** v. 15, n. 2, p. 167-193, 2002. DOI:10.1128/CMR.15.2.167-193.2002.
- DOS SANTOS et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância Hospitalar. **J Bras Patol Med Lab.** v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.
- DOS SANTOS, D. M. et al. Nanostructured Electrospun Nonwovens of Poly (ϵ -Caprolactone)/Quaternized Chitosan for Potential Biomedical Applications. **Carbohydr. Polym.** n. 186, p. 110–121, 2018.
- DOS SANTOS, D.M. et al. Advances in Functional Polymer Nanofibers: From Spinning Fabrication Techniques to Recent Biomedical Applications. **ACS Applied Materials & Interfaces.** v. 12, n. 41, p. 45673–45701, 2020. DOI: 10.1021/acsami.0c12410.
- EKIERT, H. et al. *Artemisia dracunculus* (Tarragon): A Review of Its Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology. **Front. Pharmacol.** v. 12, n. 653993, 2021. DOI: 10.3389/fphar.2021.653993.
- EQUIPE ECYCLE. O plástico PLA é biodegradável, reciclável, biocompatível, compostável e bioabsorvível, mas apenas em condições ideais. **eCycle.** 2010. <https://www.ecycle.com.br/pla/>.
- ESMAEILI, H.; KARAMI, A.; MAGGI, F. Essential oil composition, total phenolic and flavonoids contents, and antioxidant activity of *Oliveria decumbens* Vent. (Apiaceae) at different phenological Stages. **Journal of Cleaner Production.** v. 198, p. 91-95, 2018.
- FARHAT, M. B.; SOTOMAYOR, J. A.; JORDÁN, M. *Salvia verbenaca* L. essential oil: Variation of yield and composition according to collection site and phenophase. **Biochemical Systematics and Ecology.** v. 82, p. 35-43, 2019.
- FARIA, DE O. F.; VERCELHEZE, A. E. S.; MALI, S. Propriedades físicas de filmes biodegradáveis à base de amido de mandioca, álcool polivinílico e montmorilonita. **Quim. Nova.** v. 35, n. 3, p. 487-492, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000300009>.
- FIRMINO, F. D. et al. Antibacterial and Antibiofilm Activities of *Cinnamomum Sp.* Essential Oil and Cinnamaldehyde: Antimicrobial Activities. **Scientific World Journal: Hindawi.** 9 p, 2018. DOI:10.1155/2018/7405736.

FLAMINI, G. et al. Effect of Growth Stage on Essential-Oil Yield and Composition of *Daucus sahariensis*. **Chemistry & biodiversity**. v. 10, n. 11, p. 2014-2020, 2013.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed. 607 p, 2013.

FRANCISCO, De O. A. L. **Avanços científicos, tecnológicos e de inovação na botânica**. ed. Atena. 2020. DOI: 10.22533/at.ed.851201402.

FUKUSHIMA, K.; KIMURA, Y. Stereocomplexed polylactides (Neo-PLA) as high-performance bio-based polymers: their formation, properties, and application. **Polym Int**. v. 55, n. 6, p. 626-642, 2006. <https://doi.org/10.1002/pi.2010>.

GALINDO, M. V. et al. Filmes Biodegradáveis de Gelatina e Quitosana com Adição de Óleos Essenciais na Conservação de Presunto Embalado a Vácuo. In book: **Tópicos em Ciências e Tecnologia de Alimentos: Resultados de Pesquisas Acadêmicas**. v. 4, p. 221-258, 2019. DOI:10.5151/9788580393538-09.

GHORBANPOUR, M.; VARMA, A. Medicinal Plants and Environmental Challenges. **Springer**. 2017.

GNATTA, J. R. et al. Aromatherapy and nursing: historical and theoretical conception. **Rev Esc Enferm USP**. v. 50, n. 1, p. 130-136, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0080-623420160000100017>.

GNATTA, J. R. et al. Aromatherapy with ylang ylang for anxiety and self-esteem: A pilot study. **Revista da Escola de Enfermagem**. v. 48, n. 3, p. 492-499, 2014.

GNATTA, J.R.; DORNELLAS, E. V.; SILVA, M. J. P. O uso da aromaterapia no alívio da ansiedade. Artigo original. **Acta Paul Enferm**. v. 24, n. 2, p. 257-63, 2011.

GOMES, P.B.; MATA, V.G.; RODRIGUES, A.E. Characterization of Portuguese-grown geranium oil (*pelargonium sp.*). **J. Essent. Oil Res**. v. 16, p. 490-495, 2004.

GOODRICH, K. R. Floral scent in Annonaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**. v. 169, n. 1, p. 262-279, 2012.

HABER, L. L.; CLEMENTE, F. M. V. T. **Plantas aromáticas e condimentares: uso aplicado na horticultura**. 1. ed. Brasília: Embrapa. p. 168, 2013.

HADDAD, O. et al. Comparative study of virulence factors among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. **BMC Infectious Diseases**. v. 18, 2018. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3457-2>.

HAMMER, K. A.; CARSON, C. F. Antibacterial and antifungal activities of essential oils. ed. THORMAR, H. **Lipids and essential oils as antimicrobial agents**. West Sussex: John Wiley & Sons. p. 255-306, 2011.

HAPUARACHCHI T. D.; PEIJS T. Multiwalled carbon nanotubes and sepiolite nanoclays as flame retardants for polylactide and its natural fibre reinforced composites. **Compos Part A Appl Sci Manuf**. v. 41, n. 8, p. 954-963, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2010.03.004>.

HASSAN, M. M.; KOYAMA, K. Thermomechanical and viscoelastic properties of green composites of PLA using chitin micro-particles as fillers. **J Polym Res.** v. 27, n. 2, 27 p, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10965-019-1991-2>.

HAY, J. M.; LYON, D. Vinyl alcohol: a stable gas phase species. **Nature.** v. 216, n. p. 790–1, 1967.

HAYAT, M. Q. et al. Ethnobotany of the genus *Artemisia* L. (Asteraceae) in Pakistan. **Ethnobotany Research & Applications.** v. 7, p. 147–162, 2009.

HUSSAIN, A. The Genus *Artemisia* (Asteraceae): A Review on its Ethnomedicinal Prominence and Taxonomy with Emphasis on Foliar Anatomy, Morphology, and Molecular Phylogeny. **Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences.** v. 57, n. 1, p. 1-28, 2020.

INFOAGRO SYSTEMS, S.L. El cultivo del geranio. Citado 16 Abr 2021. **Artículos técnicos.** 1997. Disponível em: https://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_del_geranio.asp.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Aromatic natural raw materials – Vocabulary.** Genebra. 14 p, 1997. ISO 9235:1997.

JAIN, S. et al. Characterization of the clonal profile of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients with early post-operative orthopedic implant based infections. **Ann Clin Microbiol Antimicrob.** v. 18, n. 8, 2019. <https://doi.org/10.1186/s12941-019-0307-z>.

KIM, Y. G. et al. Herring Oil and Omega Fatty Acids Inhibit *Staphylococcus aureus* Biofilm Formation and Virulence. **Front Microbiol.** v. 9, n. 1241, 2018. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01241.

LA STORIA, A. et al. Atomic force microscopy analysis shows surface structure changes in carvacrol-treated bacterial cells. **Research in Microbiology.** v. 162, n. 2, p. 164-172, 2011.

LAWRENCE, B.M. A planting scheme to evaluate new aromatic plants for the flavor and fragrance industries. **John Wiley.** ed. J. Janick and J.E. Simon. New Crops: New York. p. 620-627, 1993.

LEE, Y.L.; DING, P. Production of essential oil in plants: ontogeny, secretory structures and seasonal variations. **Pertanika Journal of Scholarly Research Reviews.** v. 2, n. 1, 2016.

LIMA, P. M. F. et al. *Staphylococcus aureus* e as infecções hospitalares – revisão de literatura. **Uningá review.** v. 21, n. 1, p. 32-39, 2015.

LISTER, J. L.; HORSWILL, A. R. *Staphylococcus aureus* biofilms: recent developments in biofilm dispersal. **Front Cell Infect Microbiol.** v. 4, 178 p, 2014.

LO RE, G. et al. Stereocomplexed PLA nanocomposites: from in situ polymerization to materials properties. **Eur Polym J.** v. 54, n. 1, p. 138-150, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2014.03.004>.

LORENZI, H. **Plantas para jardim no Brasil: herbáceas, arbustivas e trepadeiras.** Instituto Plantarum. 3. ed, p. 1120, 2013.

LUO, C. J.; NANGREJO, M.; EDIRISINGHE, M. A. N. Method of Selecting Solvents for Polymer Electrospinning. **Polymer**. v. 51, n. 7, p. 1654–1662, 2010.

LUO, C. J.; STRIDE, E.; EDIRISINGHE, M. Mapping the Influence of Solubility and Dielectric Constant on Electrospinning Polycaprolactone Solutions. **Macromolecules**. v. 45, n. 11, p. 4669–4680, 2012.

LUTZ, L. D. et al. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. **Phytochemistry**. v. 69, p. 1732–1738, 2008.

MACHADO, P. A. P. **Produção de membrana composta por poli (álcool vinílico) associada à nerolidol e avaliação de sua capacidade antimicrobiana**. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo. 2020.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. **An bras Dermatol**: Rio de Janeiro. v. 78, n. 4, p. 393-410, 2003.

MANNER, H. I.; ELEVITCH, C. R. *Cananga odorata* (ylang-ylang), Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. **Agroforestry trees of life, trees for life**. 2006.

MARTEN, F. L.; ZVANUT, C. W. **Polyvinyl alcohol development**. Chichester: Wiley. In: Finch CA. editor. chapters 2 and 3. 1992.

MATOS DOS, S. S. **Considerações sobre a inserção do tema "Contribuições da biossegurança na graduação em estética e cosmetologia" na disciplina de aromaterapia, com vistas à integridade do usuário**. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Ensino em Biociências e Saúde) -Instituto Oswaldo Cruz. Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. 56 p, 2013.

McCLUNG, C. R. Plant circadian rhythms. **Plant Cell**. v. 18, n. 4, p. 792-803, 2006. DOI: 10.1105/tpc.106.040980.

MEDEIROS, E. S. et al. Solution blow spinning: A new method to produce micro-and nanofibers from polymer solutions. **Journal of applied polymer science**. v. 113, n. 4, p. 2322-2330, 2009.

MENOITA, E. et al. Biofilms: Knowing the Entity. **Journal of Aging & Innovation**, v. 1, n. 2, p. 23-32, 2012.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia médica**. 9ª ed. Elsevier. 2009.

NAJAT, B. et al. In Vitro Antibacterial Activity and Chemical Composition of Essential Oil of *Mentha arvensis* Linn. Leaves. **TEOP**. v. 19, n. 4, p. 907-915, 2016.

NASCIMENTO, A. S. Essential oils for healing and/or preventing infection of surgical wounds: a systematic review. **Revista da Escola de Enfermagem da U S P**. v. 56, 2022. DOI:10.1590/1980-220X-REEUSP-2021-0442en.

NOGUEIRA, M. T. D.; LOURENÇO, J. A. A.; **Óleos essenciais: A normalização e a sua importância no âmbito do regulamento reach**. Instituto Nacional de Engenharia, Tecnologia e Inovação; Lisboa, Portugal. 2007.

NORD, F. F. Dehydrogenation activity of *Fusarium lini* B. **Naturwiss.** v. 24, n. 763, 1936.

OLIVEIRA, E. J. et al. Nano and Submicrometric Fibers of Poly (D, L-Lactide) Obtained by Solution Blow Spinning: Process and Solution Variables. **Journal of Applied Polymer Science.** v. 122, n. 5, p. 3396-3405, 2011. <https://doi.org/10.1002/app.34410>.

OLIVEIRA, J. E. Z. **Variabilidade isozimática e do teor de óleo essencial em acessos de *Bidens pilosa* L.** Dissertação (Mestrado em genética e melhoramento). Viçosa-MG:UFV. 72 p, 1997.

OLIVEIRA, M. M. M. D. et al. Disinfectant action of *Cymbopogon* sp. essential oils in different phases of biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on stainless steel surface. **Food Control.** v. 21, n. 4, 2010.

OLIVEIRA, M. M. M. de; BRUGNERA, D. F.; PICCOLI, R. H. Essential oils of thyme and Rosemary in the control of *Listeria monocytogenes* in raw beef. **Brazilian Journal of Microbiology.** v. 44, n. 4, p. 1181-1188, 2013.

OLIVEIRA, V. C.; BASTOS, E. M. Aspectos morfo-anatômicos da folha de *Baccharis dracunculifolia* DC. (asteraceae) visando a identificação da origem botânica da própolis. **Acta bot. bras.** v. 12, n. 3, p. 431-439, 1998.

OUSSALAH, M. et al. Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. **Meat Science, Barking.** v. 73, n. 2, p. 236-244, 2006.

PARK S. H.; LEE S.G.; KIM S.H. Isothermal crystallization behavior and mechanical properties of polylactide/carbon nanotube nanocomposites. **Compos Part A Appl Sci Manuf.** v. 46, n. 1, p. 11-18, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2012.10.011>.

PARK, Y. K. et al. Chemical constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the main botanical origin of Southeastern Brazilian propolis. **J. Agric. Food Chem.** v. 52, p. 1100–3, 2004.

PATAQUIVA, M. A.; COBA, D. S. Producción de nanofibras poliméricas mediante el proceso de electrospinning y su uso potencial. **Mutis.** v. 8, n. 1, p. 17-33, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.21789/22561498.1375>.

PAULETTI, F. G. **influência ambiental e de parâmetros agronômicos na produção de poejo (*Cunila galioides* Benth.).** Tese (Doutor em fitotecnia, área de concentração Horticultura). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre (RS). Brasil. 2005.

PELARTI, S. M. et al. Antibacterial, anti-biofilm and anti-quorum sensing activities of *Artemisia dracunculus* essential oil (EO): a study against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *Staphylococcus aureus*. **Archives of Microbiology.** v. 203, p. 1529–1537, 2021. DOI:10.1007/s00203-020-02138-w.

PÉREZ-RECALDE, M.; ARIAS, R. I. E.; HERMIDA, B. É. Could essential oils enhance biopolymers performance for wound healing? A systematic review. **Phytomedicine**. v. 38, p. 57-65, 2018.

PRESTES, M. A. et al. Wound healing using ionic silver dressing and noncrystalline silver dressing in rats. **Acta Cir. Bras.** v. 27, n. 11, p. 761-767, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502012001100004>.

PUCHALSKI, M. et al. Influence of various climatic conditions on the structural changes of semicrystalline PLA spun-bonded mulching nonwovens. **Polymers (Basel)**. v. 11, n. 559, 2019. <https://doi.org/10.3390/polym11030559>.

RAO, J.; CHEN, B.; MCCLEMENTS, D. J. Improving the Efficacy of Essential Oils as Antimicrobials in Foods: Mechanisms of Action. **Annu. Rev. Food Sci. Technol.** v. 10, p. 365-387, 2019. DOI: 10.1146/annurev-food-032818-121727.

RAPHAEL, A. D'. Handbook of Complementary and Alternative Therapies in Mental Health. **Aromatherapy. Cap.4**, p. 71-92, 2002.

RAVINDRAN, P.N.; NIRMAL, B. K.; SHYLAIA, M. *Cinnamon and Cassia (The Genus Cinnamomum)*. **The Chemical Rubber Company Press**. Boca Raton: USA. p. 1–379, 2004.

RIEDEL, S. et al. **Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick & Adelberg**. 28^a ed. Ed. Mcgraw-Hill. 874 p, 2020.

RODRIGUES, B. V. M. et al. **Nanotecnologia aplicada a polímeros**. São Paulo: Blucher. cap. 6, p. 197 – 231, 2022. ISBN 978-65-5550-252-7.

RODRIGUES, M. et al. Wound healing: a cellular perspective. **Physiol. Rev.** v. 99, p. 665-706, 2019.

ROMEO, T. **Bacterial biofilms. Current topics in microbiology and immunology**. Springer. v. 322, 2008. DOI:10.1007/978-3-540-75418-3.

SAEDI, N.; CRAWFORD, G. H. Botanical briefs: ylang-ylang oil—extracts from the tree *Cananga odorata*. **Cutis**. v. 77, n. 3, p. 149–150, 2006.

SAITO, M. L.; SCRAMIM, S. Plantas aromáticas e seu uso na agricultura. **Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente**. 46 p, 2000.

SAKAI, K.; HAMADA, N.; WATANABE, Y. Studies on the poly (vinyl alcohol)-degrading enzyme. Part VI. Degradation mechanism of poly (vinyl alcohol) by successive reactions of secondary alcohol oxidase and b-diketone hydrolase from *Pseudomonas sp.* **Agric Biol Chem**. v. 50, p. 989–96, 1986.

SALEM, N. et al. Variation in chemical composition of *Eucalyptus globulus* essential oil under phenological stages and evidence synergism with antimicrobial standards. **Industrial crops and products**. v. 124, p. 115-125, 2018.

SAMUELSON, R. et al. The effects of *lavender* essential oil on wound healing: A review of the current evidence. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 26, n. 8, p. 680-690, 2020.

SANUSI, O. M. et al. Effect of rigid nanoparticles and preparation techniques on the performances of poly (lactic acid) nanocomposites: A review. **Polymers for Advanced Technologies**. v. 32, n. 2, p. 444-460, 2020. DOI: 10.1002/pat.5104.

SCAFFARO, R. et al. Degradation and recycling of films based on biodegradable polymers: a short review. **Polymers (Basel)**. n. 11, 2019c. <https://doi.org/10.3390/polym11040651>.

SCAFFARO, R.; MAIO, A.; NOSTRO, A. Poly (lactic acid) /carvacrol-based materials: preparation, physicochemical properties, and antimicrobial activity. Mini Review. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 2020. DOI:10.1007/s00253-019-10337-9.

SFORCIN, J. M. et al. *Baccharis dracunculifolia*: Uma das Principais Fontes Vegetais da Própolis Brasileira. São Paulo: **UNESP**. 2012.

SILVA, A. A. **Formulação de fungicida agroecológico a partir dos óleos essenciais e seus componentes para controle da antracnose do feijoeiro**. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Viçosa - Campus Rio Paranaíba. 2019.

SILVA, DA F. **Avaliação do teor e da composição química do óleo essencial de plantas medicinais submetidas a processos de secagem e armazenamento**. Tese (Doutor em Engenharia Agrícola, na área de concentração em Tecnologia Pós Colheita) Universidade Estadual De Campinas – S.P. 2005.

SILVA, N.A. et al. Caracterização química do óleo essencial da erva cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.) cultivada em Ilhéus na Bahia. **Rev. Bras. Pl. Med: Botucatu**. v. 8, n. 3, p. 52-55, 2006.

SIMÕES, C. M. O et al. **Farmacognosia: Da planta ao Medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Florianópolis. 2010.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. UFGRS. Porto Alegre, p. 1102, 2007.

SONG, J. H. et al. Biodegradable and compostable alternatives to conventional plastics. **Philos Trans R Soc B Biol Sci**. v. 364, n. 1526, p. 2127-2139, 2009. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0289>.

SOUZA, A. A. et al. Composição química e concentração mínima bactericida de dezesseis óleos essenciais sobre *Escherichia coli* enterotoxigênica. **Rev. Bras. Pl. Med: Campinas**. v. 18, n. 1, p. 105-112, 2016.

SOUZA, E. R. L de. et al. *Lavandula angustifolia* Miller e sua utilização na Odontologia: uma breve revisão. **Arch Health Invest**. v. 7, n. 12, p. 539-545, 2018. <http://dx.doi.org/10.21270/archi.v7i12.3125>.

STEA, S.; BERAUDI, A.; DE PASQUALE, D. Essential oils for complementary treatment of surgical patients: state of the art. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. v. 2014, 2014.

STLOUKAL, P. et al. Kinetics and mechanism of the biodegradation of PLA/clay nanocomposites during thermophilic phase of composting process. **Waste Manage**. n. 42, p. 31-40, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.04.006>.

SUZUKI, T. et al. Some characteristics of *Pseudomonas* O-3 which utilizes polyvinyl alcohol. **Agric Biol Chem.** v. 37, 747–56 p. 1973.

TAN, L. T. et al. Traditional Uses, Phytochemistry, and Bioactivities of *Cananga odorata* (*Ylang-Ylang*). **Evid Based Complement Alternat Med.** v. 2015, n. 896314, 2015. DOI: 10.1155/2015/896314.

TAVARES, E. S. et al. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Rev. bras. Farmacogn.** v. 15, n. 1, p. 1-5, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2005000100002>.

TEIXEIRA, B. F. et al. Copaiba oil-resin (*Copaifera reticulata* Ducke) modulates the inflammation in a model of injury to rats' tongues. **BMC complementary and alternative medicine.** v. 17, n. 1, p. 1-8, 2017.

TISSERAND, M.; JÜNEMANN, M. **A magia e o poder da lavanda: seus segredos e aplicações.** São Paulo: Madras. 1999.

TOGNERI, A. M. et al. Estudio de las infecciones por *Staphylococcus aureus* en un hospital general de agudos (2002-2013). **Rev Argent Microbiol.** v. 49, n. 1, p. 24 – 31, 2017.

TOVEY, P.; CHATWIN, J.; AHMAD, S. Toward an understanding of decision making on complementary and alternative medicine use in poorer countries: the case of cancer care in Pakistan. **Integr Cancer Ther.** v. 4, n. 3, p. 236-41, 2005. DOI:10.1177/1534735405278641.

TRABULSI, R. L.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia.** 6. ed. São Paulo: Atheneu. 2015. ISBN 9788538806776.

TRAJANO, V. N. et al. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos: Campinas.** v. 29, n. 3, p. 542-545, 2009.

TROMBETTA R. P. et al. A high throughput screening approach to repurpose FDA-approved drugs for bactericidal applications against *Staphylococcus aureus* small-colony variants. **msphere.** v. 3, n. 5, 2018. DOI: 10.1128/mSphere.00422-18.

TURINA, A. V. et al. Natural terpenes: self-assembly and membrane partitioning. **Biophys Chem.** v. 122, n. 2, p. 101-113, 2006. DOI: 10.1016/j.bpc.2006.02.007.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS. Biblioteca Universitária. **Manual de normalização e estrutura de trabalhos acadêmicos: TCCs, monografias, dissertações e teses.** 3. ed. rev., atual. e ampl. Lavras, 2020. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/11017>. Acesso em: 08/10/2021.

UPADHYAY, N. et al. Assessment of nanoencapsulated *Cananga odorata* essential oil in chitosan nanopolymer as a green approach to boost the antifungal, antioxidant and in situ efficacy. **Int J Biol Macromol.** v. 171, p. 480-490, 2021. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2021.01.024.

VALERIANO, C. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Rev. Bras. Pl. Med: Botucatu.** v. 14, n. 1, p. 57-67, 2012.

VAN DE VELDE, K.; KIEKENS, P. Biopolymers: overview of several properties and consequences on their applications. **Polym Test**. n. 21, p. 433–442, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0142-9418\(01\)00107-6](https://doi.org/10.1016/S0142-9418(01)00107-6).

VEGA, E. P. S.; NAVARRO P. L. C. **Actividad antifúngica del aceite esencial de la corteza de *Cinnamomum aromaticum* “canela cassia” frente a *Candida albicans* ATCC 10231, in vitro**. Tesis (profesional de Químico Farmacéutico) – Universidad Roosevelt. Huancayo – Perú. 2021.

WANG, H.; SUN, X.; SEIB, P. Strengthening blends of poly (lactic acid) and starch with methylenediphenyl diisocyanate. **J Appl Polym Sci**. v. 82, n. 7, p. 1761-1767, 2001. <https://doi.org/10.1002/app.2018>.

WATANABE, Y. Et al. Formation of hydrogen peroxide by a polyvinyl alcohol degrading enzyme. **Agric Biol Chem**. v. 39, p. 2447–8, 1975.

WEI, X. et al. Greatly accelerated crystallization of poly(lactic acid): cooperative effect of stereocomplex crystallites and polyethylene glycol. **Colloid Polym Sci**. v. 292, n. 1, p. 163-172, 2014. <https://doi.org/10.1007/s00396-013-3067-x>.

WORLD ORGANIZATION HEALTH (WHO) **New report calls for urgent action to avert antimicrobial resistance crisis**. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/detail/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis>. Acessado em: 27 de maio de 2019.

WU, J. A. et al. Lysostaphin Disrupts *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* Biofilms on Artificial Surfaces. **Antimicrob Agents Chemother**. v. 47, n. 11, p. 3407–3414, 2003. DOI: 10.1128/AAC.47.11.3407-3414. 2003.

XUE, J. et al. Electrospinning and Electrospun Nanofibers: Methods, Materials, and Applications. **Chem. Rev**. v. 119, n. 8, p. 5298–5415, 2019.

YAN-QUN, L. et al. Variations in essential oil yields and compositions of *Cinnamomum cassia* leaves at different developmental stages. **Industrial Crops and Products**. n. 47, p. 92–101, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.02.031>.

YOSR, Z. et al. Changes in essential oil composition and phenolic fraction in *Rosmarinus officinalis* L. var. typicus Batt. organs during growth and incidence on the antioxidant activity. **Industrial Crops and Products**. v. 43, p. 412-419, 2013.

ZANARDO, V. P. S. **Eficácia da ingestão de canela (*Cinnamomum sp*) na síndrome metabólica e seus componentes em idosos**. Dissertação (Doutorado em Gerontologia Biomédica) - Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2015.

ZENDEJAS-MANZO, G. S.; AVALOS-FLORES, H.; SOTO-PADILLA, M. Y. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. Universidad de la Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo, México. Artículo de Revisión. **Rev. Biomed**. v. 25, n. 3, p. 129-143, 2014. DOI: <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v25i3.42>.

ZHANG, Y. et al. Association Between agr Type, Virulence Factors, Biofilm Formation and Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus* Isolates From Pork Production. **Front. Microbiol.** v. 9, 1876 p, 2018. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01876.

CAPÍTULO 2 - ATUAÇÃO ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS E SUAS MISTURAS SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus*

RESUMO

Staphylococcus aureus é uma bactéria proeminente comumente implicada na patogênese de condições infecciosas em feridas humanas. A formação de biofilmes no tecido afetado é um mecanismo comum pelo qual bactérias frequentemente contribuem para o desenvolvimento de feridas crônicas. O manejo do *S. aureus* está se tornando cada vez mais desafiador devido à sua capacidade de desenvolver resistência a vários medicamentos. O objetivo deste estudo foi avaliar as propriedades antimicrobianas de óleos essenciais derivados de hortelã do campo (*Mentha arvensis* L.), gerânio egípcio (*Pelargonium graveolens* L'Hér.), canela (*Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl), lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill.) e capim-limão (Brasil) (*Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) W. Watson) com base nos princípios da Aromaterapia. Objetivou-se identificar óleos essenciais que apresentam atividade antimicrobiana significativa contra *S. aureus* e investigar ainda os potenciais efeitos sinérgicos entre esses óleos contra *S. aureus*. A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais foi avaliada contra três cepas de *S. aureus*, nomeadamente GL 8702, GL 8548 e GL 5674. Os óleos de lavanda, canela, capim-limão, gerânio e hortelã-do-campo foram selecionados para a investigação devido aos seus halos de inibição comparáveis. Esses halos exibiram diâmetros variando de 15,06 a 39,51 mm nas três linhagens. Foram avaliadas as concentrações bactericidas mínimas (CMB) dos óleos e observou-se que o óleo de canela apresentou o menor CMB. Os valores obtidos para as cepas GL 8702, GL 8548 e GL 5674 foram 0,5%, 0,25% e 0,25% (v/v), respectivamente. A concentração de CMB (concentração bactericida mínima) para óleos essenciais de hortelã e lavanda foi de 2%, enquanto a concentração para óleo essencial de gerânio foi determinada como sendo de 5% para todas as cepas. Após a determinação do CMB, foram elaborados um total de 45 testes, cada um contendo quantidades variadas de óleos essenciais. Esses testes foram elaborados utilizando o método de Planejamento Rotacional Composto Central (DCCR). Posteriormente, o efeito bactericida dos óleos essenciais foi avaliado por meio de avaliação *in vitro*. A atividade bactericida de todas as combinações de óleos essenciais testadas foi observada contra os três patógenos sob investigação. Assim, pode-se inferir que os óleos essenciais analisados *in vitro* exibiram efeito sinérgico, funcionando como agentes bactericidas contra as três cepas de *S. aureus*.

Palavras-chave: Bactéria patogênica. Concentração mínima bactericida. Óleos voláteis.

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is a prominent bacterium commonly implicated in the pathogenesis of infectious conditions in human wound sites. The formation of biofilms on the affected tissue is a common mechanism by which this bacterium frequently contributes to the development of chronic wounds. The management of *S. aureus* is becoming progressively challenging due to its ability to develop resistance to numerous medications. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial properties of essential oils derived from field mint (*Mentha arvensis* L.), Egyptian geranium (*Pelargonium graveolens* L'Hér.), cinnamon (*Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl), lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.), and lemongrass (Brazil) (*Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) W. Watson) based on the principles of Aromatherapy. Specifically, the objective was to identify essential oils that exhibit significant antimicrobial activity against *S. aureus* and further investigate potential synergistic effects among these oils against *S. aureus*. The antimicrobial activity of essential oils was assessed against three strains of *S. aureus*, namely GL 8702, GL 8548, and GL 5674. Lavender, cinnamon, lemongrass, geranium, and field mint oils were selected for the investigation due to their comparable inhibition halos. These halos exhibited diameters ranging from 15.06 to 39.51 mm across the three strains. The minimum bactericidal concentrations (CMB) of the oils were assessed, and it was observed that cinnamon oil exhibited the lowest CMB. The values obtained for strains GL 8702, GL 8548, and GL 5674 were 0.5%, 0.25%, and 0.25% (v/v), respectively. The concentration of the CMB (minimum bactericidal concentration) for field mint and lavender essential oils was found to be 2%, whereas the concentration for geranium essential oil was determined to be 5% across all strains. Following the determination of the CMB, a total of 45 tests were prepared, each containing varying quantities of essential oils. These tests were designed using the Central Composite Rotational Planning (DCCR) method. Subsequently, the bactericidal effect of the essential oils was assessed using in vitro evaluation. The bactericidal activity of all tested essential oil combinations was observed against the three pathogens under investigation. Hence, it may be inferred that the essential oils analyzed in vitro exhibited a synergistic effect, functioning as bactericidal agents against the three strains of *S. aureus*.

Keywords: pathogenic bacteria; minimum bactericidal concentration, volatile oils.

1 INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus é uma bactéria pertencente a microbiota dos seres humanos e animais encontrada comumente na pele e nas mucosas. Embora seja comensal, no organismo dos seres humanos e animais, isolados de *S. aureus* podem causar infecções de diferentes graus de gravidade uma vez que tenham acesso ao tecido lesionado formando feridas (LIMA *et al.*, 2015).

As feridas são caracterizadas pelo rompimento do processo normal de regeneração da pele, sendo um dos fatores relevantes para o impedimento da colonização bacteriana, o que leva ao processo de cicatrização complicado e retardado (ALVES D. *et al.*, 2018; DOMINGUES; CARVALHO; KAIZER, 2018). A presença de *S. aureus* em feridas é bem conhecida. Esses podem ser encontrados na forma de biofilme, infeccionando o ferimento, culminando na formação de feridas crônicas. Um dos fatores que contribuem para a dificuldade de erradicação de *S. aureus* das feridas é sua capacidade em apresentar resistência a várias classes de antibióticos comumente empregados na medicina, sendo muitas vezes multirresistente Trombetta *et al.*, (2018). Essa característica é motivo de grande preocupação.

A multirresistência bacteriana se apresenta tão crítica que em 29 de abril de 2019 a Organização Mundial da Saúde (OMS) divulgou um relatório solicitando o severo controle do uso dos antibióticos tanto em seres humanos quanto na agroindústria. Segundo a OMS as doenças causadas por bactérias resistentes a drogas podem causar 10 milhões de mortes a cada ano até 2050 (WORLD ORGANIZATION HEALTH - WHO, 2019). Diante desse cenário, a procura por terapias alternativas que possam ser usadas em conjunto às convencionais têm crescido, principalmente em relação ao uso de antibióticos. Dentre eles destaca-se a Aromaterapia, ou terapia dos óleos essenciais. A aromaterapia, ou terapia dos aromas ou aromatologia, é terapia holística. Essa terapia se baseia no tratamento das diferentes doenças pela inalação ou uso tópico de óleos essenciais ou suas misturas, em concentrações adequadas Raphael (2002). Os óleos essenciais têm se mostrado eficientes no controle de vários microrganismos, apresentando atividade bactericida, fungicida, viricida, antiparasitário, dentre outros (ALMEIDA *et al.*, 2012; DAWOOD *et al.*, 2021; FIRMINO *et al.*, 2018; TROMBETTA *et al.*, 2005). Também apresentam ação antioxidante, cicatrizante, anti-sépticas e anti-inflamatórias (ACEVEDO *et al.*, 2009; GAZIM *et al.*, 2007; SOUSA *et al.*, 2019; VALERIANO *et al.*, 2012).

Devido às suas várias atividades biológicas, os óleos essenciais podem ser utilizados em sinergia com outros tipos de tratamento otimizando a cura de diversas doenças dos seres humanos (GNATTA; DORNELLAS; SILVA, 2011).

A utilização dos óleos essenciais tem sido tão significativa, que em 2018, no Brasil, o Ministério da Saúde, incluiu a sua prática no Sistema Único de Saúde (SUS), como parte da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) (BRASIL, 2018).

Grande destaque se dá aos trabalhos mostrando a elevada atividade antimicrobiana de vários óleos essenciais, principalmente sobre bactérias, especialmente *S. aureus* (MACHADO *et al.*, 2013).

O presente estudo foi realizado com o objetivo de determinar as melhores mistura de óleos essenciais de hortelã do campo (*Mentha arvensis L.*), ylang ylang (*Cananga odorata* (Lam.) Hook.f. & Thomson), gerânio Egito (*Pelargonium graveolens L'Hér.*), estragão (*Artemisia dracuncululus*), canela (*Cinnamomum cassia (L.) J. Presl*), lavanda (*Lavandula angustifolia Mill.*), capim limão (brasil) (*Cymbopogon flexuosus (Nees ex Steud.) W. Watson*), alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia DC.*), com atividade bactericida sobre 3 cepas de *Staphylococcus aureus* (GL 8702, GL 8548, GL 5674).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção dos óleos essenciais

Os óleos essenciais utilizados para a pesquisa foram utilizados por apresentar atividades antimicrobiana segundo outras pesquisas (BOUKHATEM; KAMELI; SAIDI, 2013; CAZELLA *et al.*, 2019; FIRMINO *et al.*, 2018; LUTZ *et al.*, 2008; NAJAT *et al.*, 2016; SOUZA *et al.*, 2018; UPADHYAY *et al.*, 2021), sendo hortelã do campo (*Mentha arvensis* L.), ylang ylang (*Cananga odorata* (Lam.) Hook.f. & Thomson), gerânio do Egito (*Pelargonium graveolens* L'Hér.), estragão (*Artemisia dracuncululus*), canela (*Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl), lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill.), capim limão (brasil) (*Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) W. Watson) e alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia* DC.). Todos adquiridos da empresa Ferquima Indústria e Comércio LTDA/CNPJ 51.699.205/0001-48 (Vargem Grande, São Paulo, SP).

2.2 Microrganismo, manutenção, padronização e obtenção do inóculo

Para a realização da pesquisa, utilizaram-se cepas de *Staphylococcus aureus* (GL 8702, GL 8548, GL 5674), cedidas pela Embrapa Gado de Leite de Juiz de Fora, Minas Gerais. As cepas de *S. aureus*; células vegetativas que são comuns nos rebanhos leiteiros, por serem responsáveis pela mastite (infecção da glândula mamária) no animal (ZAFALON *et al.*, 2007).

As culturas estoque foram armazenadas em meio de congelamento (glicerol: 15 mL; peptona bacteriológica: 0,5 g; extrato de levedura: 0,3 g; NaCl: 0,5 g; água destilada: 100 mL) e congeladas (Cônsul) durante o período de execução do experimento à -18°C.

A reativação das cepas foi realizada inoculando-se 100 µL da cultura estoque em tubos contendo 10 mL de caldo BHI (Brain Heart Infusion Broth; Merck) e incubação (Incubadora Eletrolab®) a 37°C/24 h.

Os inóculos foram padronizados em cerca de 10⁸ UFC/mL elaborando-se a curva de crescimento de cada cepa. Após reativação das cepas, 100 µL das culturas foram transferidas para frascos contendo 500 mL de caldo BHI e incubadas a 37°C. Alíquotas das culturas foram retiradas periodicamente para determinação da absorbância (D.O. 600nm) em espectrofotômetro UV/VIS bel sp 2000. Simultaneamente alíquotas de 100 µL foram plaqueadas em TSA (Agar tripton de soja; Merck) e incubadas a 37°C por 24 h (SOUZA *et al.*, 2016).

2.3 Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais

A atividade antimicrobiana foi avaliada por meio da técnica de disco-difusão (EUCAST, 2019), com modificações. Foram utilizados discos de papel de 3 mm de diâmetro contendo 10 µL de cada óleo essencial puro que foram dispostos em placas de Petri contendo TSA, previamente inoculados com 100 µL das culturas padronizadas das cepas de *S. aureus*. As placas foram incubadas a 37°C por 24 h e os halos de inibição medidos com auxílio de paquímetro digital (Messen). Os óleos essenciais que promoveram a formação dos maiores halos de inibição em relação ao controle foram selecionados para a continuidade do trabalho. O controle foi constituído de cloranfenicol (disco contendo 30 µg; Sigma –Aldrich). O experimento foi realizado em duplicata e três repetições.

2.4 Análises químicas dos óleos essenciais

As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Fitoquímica do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA). As análises foram realizadas em sistema de cromatografia em fase gasosa Agilent® 7890A, operado com sistema de processamento de dados HP GC ChemStation Ver. A.01.14, equipado com injetor/amostrador automático CombiPAL Autosampler System (CTC Analytic AG, Switzerland) e um Detector de Ionização em Chama (DIC).

Os óleos essenciais que promoveram a formação de maior halo de inibição das cepas de *S. aureus* foram preparados diluindo-se cada um deles, em acetato de etila (1%, v/v). O volume de injeção foi de 1,0 µL, no modo *split* a uma razão de injeção de 1:50. Empregou-se coluna capilar de sílica fundida HP-5MS (30 m de comprimento x 250 µm de diâmetro interno x 0,25 µm de espessura do filme) (Califórnia, EUA). Hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL/min. Durante o experimento, as temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 250°C e 280°C, respectivamente. A temperatura inicial do forno foi de 60°C, seguido por uma rampa de temperatura de 3°C/min até 240°C, seguida de uma rampa de 10°C/min até 280°C. As análises foram realizadas em triplicata, e os resultados dos três constituintes de maior teor foram expressos pela média da porcentagem de área relativa dos picos cromatográficos ± o desvio padrão.

As análises por CG/EM foram realizadas em Cromatógrafo Agilent® 7890A acoplado a um detector seletivo de massas Agilent® MSD 5975C (Agilent Technologies, Califórnia, EUA), operado por ionização de impacto eletrônico a 70 eV, em modo varredura, a uma

velocidade de 1,0 scan/s, com intervalo de aquisição de massas de 40-400 m/z . As condições operacionais foram as mesmas empregadas nas análises por CG-DIC.

Os constituintes foram identificados por comparação dos seus índices de retenção relativos à série de n-alcenos (C_8 - C_{20}) (Sigma-Aldrich®, St. Louis, EUA) e por comparação dos espectros de massas do banco de dados da biblioteca NIST/EPA/NHI (NIST, 2008) e de literatura (ADAMS, 2017). Os índices de retenção foram calculados usando a equação proposta por Van den Dool; Kratz (1963) e para as atribuições foram consultados índices de retenção de literaturas (ADAMS, 2017).

2.5 Determinação da Concentração Bactericida Mínima

A determinação da concentração bactericida mínima (CBM) foi realizada empregando-se a técnica de microdiluição empregando-se microplacas de poliéster de 96 cavidades (EUCAST, 2019), com adaptações. Foram avaliadas as concentrações de 10; 5; 2; 1; 0,5; 0,25; 0,125; 0,062; 0,03; e 0.015% (v/v) dos óleos essenciais que exibiram maior atividade antimicrobiana nos testes de disco-difusão.

Alíquotas de 150 μ L das soluções de óleos essenciais foram adicionadas nas cavidades das microplacas contendo 150 μ L de TSB (caldo triptona de soja, Merck) acrescido de 0,5% (v/v) de Tween 80® (Synth), inoculando-se 10 μ L das culturas padronizadas. Em seguida, as microplacas foram incubadas a 37°C por 24 h; após esse período, alíquotas de 10 μ L foram semeadas em TSA e incubadas a 37°C por 24 h.

A CMB foi definida como a menor concentração de antimicrobiano utilizada na cultura onde não se observou formação de colônias em placas, sendo o experimento realizado em triplicata e três repetições.

2.6 Otimização da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: sinergismo por misturas

A otimização da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais foi realizada empregando-se o delineamento composto central rotacional (DCCR) com suas variáveis. Dentre os óleos avaliados, foram escolhidos aqueles que apresentaram melhor atividade antimicrobiana e CBM. A Tabela 1 apresenta cada variável para avaliar a atividade antimicrobiana sobre as cepas de *S. aureus*.

Tabela 1 - Variáveis com seus correspondentes valores máximos e mínimos dos óleos essenciais na avaliação da atividade antimicrobiana sobre as cepas de *S. aureus*

Variáveis		Concentração do óleo essencial (%)		
		-1	0	+1
Lavanda	A	1	3	5
Canela	B	0,1	0,55	1
Capim limão	C	0	2,5	5
Gerânio	D	0	2,5	5
Hortelã do campo	E	0	2,5	5

Fonte: Do autor (2020).

A Tabela 2 apresenta as diferentes proporções de óleos essenciais que foram utilizadas em cada ensaio, para cada experimento, separadamente. A mesma foi gerada no programa Chemoface, versão 1.5, utilizando “Experimental design”, com variáveis -2,37841423; -1; 0; +1 e +2,37841423, que foram calculadas de acordo com a metade da CBM de cada óleo essencial.

Em placas de poliestireno com 96 poços foram adicionados 150 µL de TSB adicionado de 0,5% de Tween 80 e óleos essenciais nas mesmas como de cada ensaio. Em cada poço foram inoculados 10 µL de culturas padronizadas. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Após esse período alíquotas de 10 µL de cada cultura foram transferidas para placas contendo TSA e incubadas a 37°C por 24 horas. Após inoculação, foram verificadas presença ou ausência de crescimento.

Tabela 2 - Variáveis codificadas utilizadas ensaios gerados no DCCR para descrição das combinações dos óleos essenciais (Continua)

Ensaio	Óleos essenciais (%)				
	A	B	C	D	E
1	-1	-1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1	-1	-1
3	-1	1	-1	-1	-1
4	1	1	-1	-1	-1
5	-1	-1	1	-1	-1
6	1	-1	1	-1	-1
7	-1	1	1	-1	-1
8	1	1	1	-1	-1
9	-1	-1	-1	1	-1
10	1	-1	-1	1	-1
11	-1	1	-1	1	-1

Tabela 2 - Variáveis codificadas utilizadas ensaios gerados no DCCR para descrição das combinações dos óleos essenciais (Conclusão)

Ensaio	Óleos essenciais (%)				
	A	B	C	D	E
12	1	1	-1	1	-1
13	-1	-1	1	1	-1
14	1	-1	1	1	-1
15	-1	1	1	1	-1
16	1	1	1	1	-1
17	-1	-1	-1	-1	1
18	1	-1	-1	-1	1
19	-1	1	-1	-1	1
20	1	1	-1	-1	1
21	-1	-1	1	-1	1
22	1	-1	1	-1	1
23	-1	1	1	-1	1
24	1	1	1	-1	1
25	-1	-1	-1	1	1
26	1	-1	-1	1	1
27	-1	1	-1	1	1
28	1	1	-1	1	1
29	-1	-1	1	1	1
30	1	-1	1	1	1
31	-1	1	1	1	1
32	1	1	1	1	1
33	-2,37841423	0	0	0	0
34	2,37841423	0	0	0	0
35	0	-2,37841423	0	0	0
36	0	2,37841423	0	0	0
37	0	0	-2,37841423	0	0
38	0	0	2,37841423	0	0
39	0	0	0	-2,37841423	0
40	0	0	0	2,37841423	0
41	0	0	0	0	-2,37841423
42	0	0	0	0	2,37841423
43	0	0	0	0	0
44	0	0	0	0	0
45	0	0	0	0	0

Fonte: Do autor (2020).

Legenda: * onde as letras A, B, C, D e E representam os óleos essenciais escolhidos comporem a mistura. Avaliação da capacidade de formação de biofilme *in vitro* das cepas de *S. aureus* em microplaca

Os biofilmes de *S. aureus* foram formados nas cavidades das microplacas pela inoculação de alíquotas de 50 µL de cultura padronizada, em 150 µL de TSB com posterior incubação a 37°C 48 h. Após esse período, a cultura foi removida e as cavidades foram lavadas

três vezes com solução salina (0,85%) para remoção das células não aderidas. Foram adicionados 200 µL de solução de cristal violeta (0,01% m/v; para quantificar a formação de biofilme em cada cavidade já lavada e após 10 minutos de contato o cristal violeta foi cuidadosamente retirado sendo as cavidades lavadas três vezes com solução salina (KIM *et al.*, 2018). O controle negativo foi realizado adicionando-se, apenas, 200 µL de TSB nas cavidades.

Os biofilmes, visíveis como anéis corados nas paredes das cavidades, foram desprendidos após secagem das placas ao ar, pela adição de 200 µL de etanol 95% (v/v). Após 10 minutos, os conteúdos das cavidades foram homogeneizados e transferidos para novas cavidades em nova microplaca.

A concentração de cristal violeta na fase líquida foi avaliada medindo-se a absorbância a 600 nm em espectrofotômetro (RCHISTO; infinite M200 PRO) (adaptado de MERRITT; KADOURI; O'TOOLE, 2005). Para determinar a capacidade de formação de biofilme, foi utilizada a seguinte classificação: não formadora de biofilme ($Doa \leq Docn$), moderadamente formadora de biofilme ($2 \times Docn < Doa \leq 4 \times Docn$) e fortemente formadora de biofilme ($4 \times Docn < Doa$). Onde Doa é a densidade ótica do biofilme e Docn é a densidade ótica do controle de crescimento negativo (STEPANOVIĆ *et al.*, 2000). Os valores finais foram obtidos pelas médias aritméticas das absorbâncias lidas, sendo realizadas 10 réplicas.

2.7 Análise estatística

Os resultados da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade, usando o software Sisvar (FERREIRA, 2011).

Para o delineamento composto central rotacional (DCCR) envolvendo cinco fatores diferentes. Os experimentos foram conduzidos de forma aleatória, contendo um total de 45 experimentos (BALUSU *et al.*, 2005; RODRIGUES; LEMMA, 2009).I BRO DE LA PROFESORA REIS

3 RESULTADOS

3.1 Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais

Na Tabela 3 encontram-se os diâmetros dos halos de inibição das cepas de *S. aureus* promovidos pelos óleos essenciais. Os resultados denotam que há comportamento diferenciado significativo da resposta das cepas de *S. aureus* para os diferentes óleos essenciais e não há interação significativa entre cepas e óleos essenciais.

Houve diferença significativa entre os tratamentos, óleos essenciais e cloranfenicol. Os óleos essenciais de capim limão, canela, lavanda, hortelã e gerânio apresentaram melhor atividade antimicrobiana para as 3 cepas avaliadas, enquanto os óleos de ylang, alecrim e estragão apresentaram menor atividade. Os óleos de hortelã e lavanda apresentaram atividade antimicrobiana similar ao cloranfenicol (controle).

3.2 Determinação da Concentração Bactericida Mínima

Na determinação da concentração bactericida mínima (CBM) dos óleos essenciais, foram selecionados os óleos de canela, hortelã do campo, gerânio do Egito, lavanda e capim limão. Alecrim, estrago e ylan-ylang foram excluídos dos testes posteriores.

As CBM do óleo de canela foram 0,5; 0,25 e 0,25% (v/v), respectivamente, para as cepas GL 8702; GL 8548 e GL 5674. As CBM dos óleos essenciais de hortelã do campo, lavanda e capim limão foram iguais a 2% para todas as cepas. Já para o óleo de gerânio a CBM foi de 5% para todas as cepas.

Tabela 3 - Diâmetros dos halos de inibição de cepas de *Staphylococcus aureus* promovidos pelos óleos essenciais.

<i>S. aureus</i>	Halos de inibição (mm)								
	Alecrim	Canela	Capim limão	Estragão	gerânio	Hortelã	Lavanda	Ylang ylang	Cloranfenicol
GL 8702	8,04 ± 0,66 e	29,59 ± 4,97 b	39,61 ± 5,30 a	8,23 ± 1,53 e	18,24 ± 4,75 d	20,19 ± 4,71 c	20,41 ± 3,45 c	10,47 ± 2,47 e	20,18 ± 2,52 c
GL 8548	8,82 ± 1,81 e	29,67 ± 3,36 b	37,44 ± 6,52 a	8,94 ± 1,52 e	15,06 ± 4,13 d	19,65 ± 5,89 c	19,20 ± 1,81 c	8,67 ± 1,28 e	18,48 ± 2,90 c
GL 5674	8,73 ± 2,05 e	29,53 ± 2,33 b	36,16 ± 6,49 a	8,09 ± 0,53 e	16,10 ± 3,82 d	17,19 ± 5,53 c	23,46 ± 2,11 c	9,15 ± 1,94 e	17,83 ± 3,20 c

Fonte: do autor (2020).

Legenda: Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Letras diferentes indicam diferença estatística na coluna.

3.3 Análises químicas dos óleos essenciais

A Tabela 4 apresenta a composição química principais dos óleos essenciais utilizados para a determinação da concentração mínima bactericida (CBM).

Tabela 4 - Composição química dos três componentes principais dos óleos essenciais empregados na avaliação da concentração mínima bactericida

Óleos essenciais	Canela	Capim limão	Gerânio do Egito	Hortelã	Lavanda
Constituintes químicos principais (Área%±DP)	(E)-cinamaldeído (81,75±,007)	neral (30,63±0,01)	citronelol (36,67±0,02)	mentona (6,68±0,07)	linalol (32,46±0,11)
	(E)- <i>o</i> -metoxi-cinamaldeído (9,14±,05)	geraniol (10,66±0,02)	geraniol (15,32±0,01)	<i>iso</i> -mentona (5,23±0,06)	terpinen-4-ol (4,84±0,01)
	(E)-acetato de cinamila (2,93±0,00)	geranial (42,92±0,01)	formiato de nerila (7,80±0,00)	mentol (76,18±0,39)	acetato de linalila (36,42±0,06)
Área Total (%)	93,82	84,21	59,79	88,09	73,72

Fonte: Do autor (2020).

3.4 Avaliação da capacidade de formação de biofilme *in vitro* das cepas de *S. aureus* em microplaca

Na Tabela 5 encontra-se a classificação das diferentes cepas de estafilococos de acordo com a formação de biofilme.

Tabela 5 - Avaliação da capacidade de formação das cepas de *S. aureus in vitro*

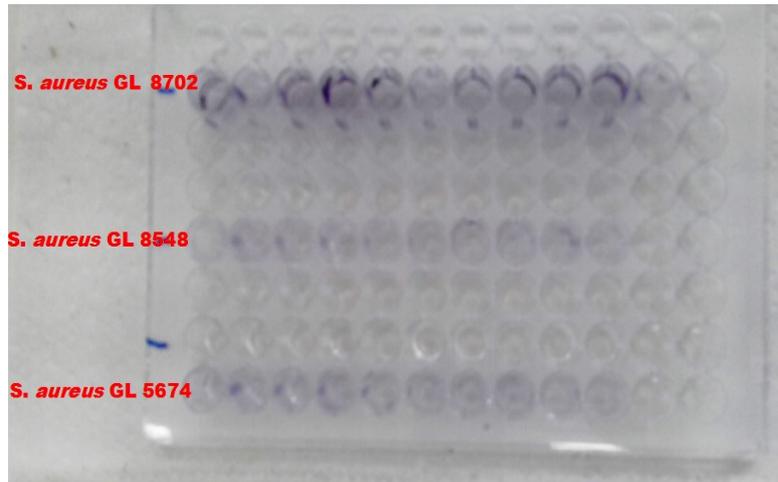
Cepas	Docn	Doa	não formadora de biofilme	moderadamente formadora de biofilme	fortemente formadora de biofilme
GL 8702	0,05	1,76	-	-	+
GL 8548	0,05	0,18	-	+	-
GL 5674	0,05	0,17	-	+	-

Fonte: Do autor (2020).

Legenda: *Docn: densidade óptica do controle de crescimento negativo * Doa: densidade óptica do biofilme.

Os resultados demonstrados na (FIGURA 1) denotam a capacidade diferenciada de formar biofilme de cada cepa, o que corrobora a classificação das mesmas.

Figura 1 - Ilustração do experimento de avaliação da capacidade das cepas de *S. aureus* em formar biofilmes nas superfícies dos poços das microplacas de poliestireno



Fonte: Do autor (2020).

3.5 Otimização da ação antimicrobiana dos óleos essenciais

A Tabela 6 mostra as variáveis codificadas e reais obtidas pelo delineamento composto central rotacional (DCCR) após a determinação das CBM dos óleos essenciais.

Não foi observado crescimento das cepas de *S. aureus* em placas após cultivo em todos os ensaios (FIGURA 2). Sendo assim, houve sinergismo em todas as misturas analisadas; evidenciando-se ação antimicrobiana dos óleos essenciais.

Tabela 6 - Concentração dos óleos essenciais de lavanda, canela, capim limão, gerânio do Egito e hortelã do campo (Continua)

Ens.	Óleos essenciais (%)					Conc. final (%)
	Lavanda	Canela	Capim L.	Gerânio	Hortelã	
1	-1(2,1)	-1(0,1)	-1(1,4)	-1(1,4)	-1(1,4)	6,4
2	1(3,8)	-1(0,1)	-1(1,4)	-1(1,4)	-1(1,4)	8,1
3	-1(2,1)	1(0,3)	-1(1,4)	-1(1,4)	-1(1,4)	6,6
4	1(3,8)	1(0,3)	-1(1,4)	-1(1,4)	-1(1,4)	8,3
5	-1(2,1)	-1(0,1)	1(3,5)	-1(1,4)	-1(1,4)	8,5
6	1(3,8)	-1(0,1)	1(3,5)	-1(1,4)	-1(1,4)	10,2
7	-1(2,1)	1(0,3)	1(3,5)	-1(1,4)	-1(1,4)	8,7
8	1(3,8)	1(0,3)	1(3,5)	-1(1,4)	-1(1,4)	10,4
9	-1(2,1)	-1(0,1)	-1(1,4)	1(3,5)	-1(1,4)	8,5
10	1(3,8)	-1(0,1)	-1(1,4)	1(3,5)	-1(1,4)	10,2
11	-1(2,1)	1(0,3)	-1(1,4)	1(3,5)	-1(1,4)	8,7
12	1(3,8)	1(0,3)	-1(1,4)	1(3,5)	-1(1,4)	10,4
13	-1(2,1)	-1(0,1)	1(3,5)	1(3,5)	-1(1,4)	10,6
14	1(3,8)	-1(0,1)	1(3,5)	1(3,5)	-1(1,4)	12,3

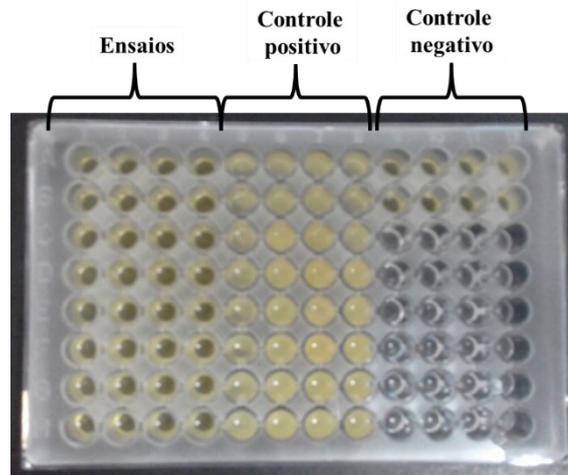
Tabela 6 - Concentração dos óleos essenciais de lavanda, canela, capim limão, gerânio do Egito e hortelã do campo (Conclusão)

Ens.	Óleos essenciais (%)					Conc. final (%)
	Lavanda	Canela	Capim L.	Gerânio	Hortelã	
15	-1(2,1)	1(0,3)	1(3,5)	1(3,5)	-1(1,4)	10,8
16	1(3,8)	1(0,3)	1(3,5)	1(3,5)	-1(1,4)	12,5
17	-1(2,1)	-1(0,1)	-1(1,4)	-1(1,4)	1(3,5)	8,5
18	1(3,8)	-1(0,1)	-1(1,4)	-1(1,4)	1(3,5)	10,2
19	-1(2,1)	1(0,3)	-1(1,4)	-1(1,4)	1(3,5)	8,7
20	1(3,8)	1(0,3)	-1(1,4)	-1(1,4)	1(3,5)	10,4
21	-1(2,1)	-1(0,1)	1(3,5)	-1(1,4)	1(3,5)	10,6
22	1(3,8)	-1(0,1)	1(3,5)	-1(1,4)	1(3,5)	12,3
23	-1(2,1)	1(0,3)	1(3,5)	-1(1,4)	1(3,5)	10,8
24	1(3,8)	1(0,3)	1(3,5)	-1(1,4)	1(3,5)	12,5
25	-1(2,1)	-1(0,1)	-1(1,4)	1(3,5)	1(3,5)	10,6
26	1(3,8)	-1(0,1)	-1(1,4)	1(3,5)	1(3,5)	12,3
27	-1(2,1)	1(0,3)	-1(1,4)	1(3,5)	1(3,5)	10,8
28	1(3,8)	1(0,3)	-1(1,4)	1(3,5)	1(3,5)	12,5
29	-1(2,1)	-1(0,1)	1(3,5)	1(3,5)	1(3,5)	12,7
30	1(3,8)	-1(0,1)	1(3,5)	1(3,5)	1(3,5)	14,4
31	-1(2,1)	1(0,3)	1(3,5)	1(3,5)	1(3,5)	12,9
32	1(3,8)	1(0,3)	1(3,5)	1(3,5)	1(3,5)	14,6
33	-2,37841(1)	0(0,275)	0(2,5)	0(2,5)	0(2,5)	10,15
34	2,37841(5)	0(0,275)	0(2,5)	0(2,5)	0(2,5)	10,15
35	0(3)	-2,37841(0,05)	0(2,5)	0(2,5)	0(2,5)	12,87
36	0(3)	2,37841(0,5)	0(2,5)	0(2,5)	0(2,5)	12,87
37	0(3)	0(0,275)	-2,37841(0)	0(2,5)	0(2,5)	10,65
38	0(3)	0(0,275)	2,37841(5)	0(2,5)	0(2,5)	10,65
39	0(3)	0(0,275)	0(2,5)	-2,37841(0)	0(2,5)	10,65
40	0(3)	0(0,275)	0(2,5)	2,37841(5)	0(2,5)	10,65
41	0(3)	0(0,275)	0(2,5)	0(2,5)	-2,37841(0)	10,65
42	0(3)	0(0,275)	0(2,5)	0(2,5)	2,37841(5)	10,65
43	0(3)	0(0,275)	0(2,5)	0(2,5)	0(2,5)	10,77
44	0(3)	0(0,275)	0(2,5)	0(2,5)	0(2,5)	10,77
45	0(3)	0(0,275)	0(2,5)	0(2,5)	0(2,5)	10,77

Fonte: Do autor (2020).

Legenda: * Entre parêntesis encontram-se as variáveis reais e fora, as codificadas.

Figura 2 - Ilustração dos resultados obtidos nos experimentos de otimização da ação antimicrobiana dos óleos essenciais



Legenda: Microplaca contendo as culturas de *S. aureus* e mistura de óleos. Controle positivo: cultura de *S. aureus* em ausência de óleos essenciais (turbidez) e Controle negativo: apenas meio de cultura.

Fonte: Do autor (2020).

4 DISCUSSÃO

A diferença da sensibilidade entre cepas bacterianas a dado antimicrobiano é conhecida (MILLEZI *et al.*, 2013; RAO; CHEN; McCLEMENTS, 2019) Vários estudos têm avaliado a atividade antimicrobiana de *Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl (FREIRE *et al* 2014), *Mentha arvensis* L. (NAJAT *et al.*, 2016), *Pelargonium graveolens* L'Hér. (BOUKHATEM; KAMELI; SAIDI, 2013), *Artemisia dracuncululus* L. (CHALESHTORI *et al.*, 2014) e *Baccharis dracunculifolia* DC. (TIMBE *et al.*, 2021). Sendo já mostrado que a atividade antimicrobiana de um óleo está diretamente relacionada com seu componente majoritário, embora aqueles minoritários também possam atuar de forma sinérgico ou aditiva, potencializando essa ação (BURT, 2004; SABOIA *et al.*, 2022; SOUZA *et al.*, 2016).

Os compostos majoritários dos óleos essenciais avaliados contra as cepas de *S. aureus* são monoterpenos, terpenoides, sesquiterpenos, fenilpropanoides (Tabela 4), os quais possuem interações diferenciadas com as células bacterianas. Essa grande diversidade de componentes presentes nos óleos essenciais apresenta diversos mecanismos de ação, embora seja de consenso que o principal alvo nas células seja a membrana citoplasmática (NAZZARO *et al.*, 2013). Outros fatores preponderantes sobre a maior ou menor atividade antimicrobiana de determinado óleo essencial são as suas propriedades lipofílicas, solubilidade em água, potência dos grupos funcionais e da mistura de componentes com diferentes propriedades bioquímicas (SABOIA *et al.*, 2022; SOUZA *et al.*, 2016).

A maior atividade antimicrobiana sobre as cepas de *S. aureus* foi observada para os óleos de capim limão, canela, lavanda e hortelã do campo, sendo o de capim limão (39,61 mm) muito superior aos demais citados, e controle, cloranfenicol. (Tabela 3).

Segundo as características físicas e químicas dos compostos do óleo essencial, eles apresentaram diferentes afinidades de ação sobre as bactérias; o composto majoritário de *Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl é E-Cinnamaldeído (E) -3-fenilprop-2-enal) (81,75%) é um fenilpropanoide de acordo com González-Aguilar *et al.* (2011); SOUZA *et al.* (2016). O mecanismo de ação tem sido associado à formação da base de Schiff como proteínas de membrana pela reação com seu grupo carbonila livre, que causa danos à membrana celular. São álcoois terpenicos iso - Mentol (76,18%) em *Mentha arvensis* L.; geraniol (10,66%) em *Pelargonium graveolens* L'Hér.; (linalol (32,46%), terpinen-4-ol (8,84%), acetato de linalol (36,42%) em *Lavandula angustifolia* Mill.

Trombetta *et al.* (2005) e Nazzaro *et al.* (2013) citam que o efeito antimicrobiano pode ser devido a perturbação da fração lipídica das membranas plasmáticas bacterianas, resultando

em alterações em sua permeabilidade e no extravasamento de materiais intracelulares; atravessando assim as membranas celulares, penetrando no interior da célula e interagindo com locais intracelulares críticos, porque suas características físico-químicas (como Lipofilicidade e solubilidade em água), parece ser dependente da composição lipídica e da carga superficial líquida das membranas plasmáticas bacterianas.

Entre os compostos majoritários de *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) W. Watson são Geranial (42,92%) Neral (30,63%) que são aldeídos monoterpênicos. Segundo Souza *et al.* (2016) são estereoisômeros, e sua mistura resulta no citral, principal elemento responsável pelo efeito antimicrobiano, cujo mecanismo de ação envolve o aumento da permeabilidade da membrana plasmática bacteriana por meio de interações hidrofóbicas com a membrana; também está relacionado aos seus grupos funcionais, e o grupo hidroxila do grupo fenólico terpenoides e a presença de elétrons deslocalizados são elementos importantes para sua ação antimicrobiana (BEN *et al.*, 2006; DORMAN; DEANS, 2000; ULTEE; BENNIK; MOEZELAAR, 2002 apud NAZZARO *et al.*, 2013, p. 1454).

A maioria dos constituintes dos óleos essenciais são monoterpenos como são, de acordo com Sikkema; De Bont; Poolman, (1995) o mecanismo de ação dos monoterpenos envolve principalmente efeitos tóxicos na estrutura e função da membrana plasmática bacteriana. Como resultado do seu caráter lipofílico, os monoterpenos irão, de preferência, deslocar-se da fase aquosa para as estruturas da membrana. O que resulta em expansão da membrana, aumento da fluidez e permeabilidade da membrana plasmática bacteriana, desordenando as proteínas embebidas na membrana, inibindo a respiração e alterando o processo de transporte de íons (TROMBETTA *et al.*, 2005).

A atividade antimicrobiana dos fenilpropenos como são também depende do tipo e número de substituições no anel aromático e é semelhante à maioria dos outros óleos essenciais, na cepa microbiana e nas condições em que os óleos essenciais são testados. (PAULI; KUBECZKA, 2010 apud NAZZARO *et al.*, 2013, p. 1456).

A atividade antimicrobiana leva a destruição da parede celular e da membrana citoplasmática, a danos nas proteínas de membrana, a liberação de conteúdo celular, a coagulação do citoplasma, a depleção da força próton motiva, a inativação de enzimas essenciais e a perturbação da funcionalidade do material genético são, também, mecanismos de ação dos óleos essenciais (BURT, 2004; HAMMER; CARSON, 2011; NAZZARO *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2016; TURINA *et al.*, 2006; AYALA-ZAVALA; GONZÁLEZ-AGUILAR; TORO-SÁNCHEZ, 2009).

Vários estudos têm avaliado a atividade antibacteriana de *C. cássia* (FIRMINO *et al.*, 2018; FREIRE *et al.*, 2014), *M. arvensis* (NAJAT *et al.*, 2016), *P. graveolens* (BOUKHATEM; KAMELI; SAIDI, 2013), *A. dracunculus* (CHALESHTORI *et al.*, 2014) e *B. dracunculifolia* (TIMBE *et al.*, 2021).

Segundo Costerton *et al.* (2003); Donlan; Costerton (2002); Firmino *et al.* (2018); Lister; Horswill (2014); Menoita *et al.* (2012); quando *S. aureus* apresenta a forma de biofilme maduro, é considerado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como um dos agentes patogênicos hospitalares e comunitárias nosocomiais (são consequências diretas da atenção médica e são definidas como aquelas que não estão presentes ou no período de incubação no momento em que o paciente chega ao hospital. Ponce de León *et al.*, 1999, p. S6) persistentes em feridas crônicas, apresentando resistência, sendo o principal conhecido como MRSA (*S. aureus* resistente à meticilina) (HADDAD *et al.*, 2018; SHANG *et al.*, 2019; KIM *et al.*, 2018). Por esse motivo, foi verificada a formação de biofilme em cepas de *S. aureus*. E como foi observado, todas as cepas formaram biofilme.

Devido a confirmação de que as cepas de *S. aureus* de células planctônicas foram utilizadas nesta pesquisa possuem a capacidade de formar biofilmes, optou-se pela utilização de maiores concentrações de óleos essenciais e aqueles que apresentaram maior atividade antimicrobiana, utilizando o DCCR. Todas as misturas realizadas, os 45 ensaios do DCCR, apresentaram ação bactericida, mostrando ação potencializada das misturas, pois para o cálculo de cada variável foi utilizada a metade da CBM. Esse efeito pode ser sinérgico ou aditivo pois ambos aumentam a atividade bactericida observada de determinado óleo essencial quando aplicados em conjunto e não individualmente, devido aos seus diferentes metabólitos secundários, sendo principalmente monoterpenos, sesquiterpenos, propanos, propanoides e fenilpropanoides; e as diferentes concentrações utilizadas (HOLLEY; PATEL, 2005).

Os óleos essenciais podem afetar tanto o ambiente externo quanto na membrana plasmática bacteriana, atuando inicialmente na membrana plasmática bacteriana e em diferentes partes simultaneamente, afetando o transporte de solutos e o processo de regulação do metabolismo; desequilibrando os fatores que medeiam sua adesão à célula hospedeira, que promovem dano e disseminação do tecido e protegem as bactérias do sistema imunológico do hospedeiro, que são capsulares, polissacarídeos extracelulares, proteínas de ligação ao colágeno, fibronectina, fibrinogênio, proteína de ligação à laminina três proteínas sdr (sdrC, sdrD e sdrE); terminando em lise e morte celular. Isso ocorre devido aos seus componentes hidrofóbicos e lipofílicos, facilitando sua disseminação por difusão passiva através da bicamada fosfolipídica, aumentando sua permeabilidade, danificando sua estrutura de diferentes camadas

de polissacarídeos, ácidos graxos e fosfolipídeos (BAKKALI *et al.*, 2008; HAMMER; CARSON, 2011; ZENDEJAS-MANZO; AVALOS-FLORES; SOTO-PADILLA, 2014; NAZZARO *et al.*, 2013; TURINA *et al.*, 2006). Vários estudos têm avaliado a atividade de sinergismo por misturas (FIRMINO *et al.*, 2018; VALERIANO *et al.*, 2012).

5 CONCLUSÃO

Esse trabalho mostrou que todas as combinações dos 45 ensaios obtidos do DCCR dos óleos essenciais de canela, hortelã do campo, gerânio, lavanda e capim limão apresentam potencial antimicrobiano e confirmamos a capacidade de *S. aureus* de formar biofilmes que são uma das razões de sua virulência em ser MRSA.

REFERÊNCIAS

- ACEVEDO, M. et al. Composición y capacidad antioxidante in-vitro de aceites esenciales ricos en Timol, Carvacrol, trans-Anetol o Estragol. **Rev. Univ. Ind. Santander.** v. 41, n. 3, p. 287-294, 2009.
- ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 4.1 ed (online). **Illinois: Allured Publishing.** 804 p, 2017.
- ALMEIDA, L.F.D. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais frente a amostras clínicas de *Candida albicans* isoladas de pacientes HIV positivos. **Rev. Bras. Pl. Med: Botucatu.** v. 14, n. 4, p. 649-655, 2012.
- ALVES, D. R. et al. Development of a High-Throughput ex-Vivo Burn Wound Model Using Porcine Skin, and Its Application to Evaluate New Approaches to Control Wound Infection. **Front. Cell. Infect. Microbiol.** v. 8, 196 p, 2018. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00196.
- AYALA-ZAVALA J. F.; GONZÁLEZ-AGUILAR G. A.; TORO-SÁNCHEZ L. del. Enhancing Safety and Aroma Appealing of Fresh-Cut Fruits and Vegetables Using the Antimicrobial and Aromatic Power of Essential Oils. **Journal of Food Science.** v. 74, n. 7, 2009. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2009.01294.x.
- BALUSU et al. Optimization of critical medium components using response surface methodology for ethanol production from cellulosic biomass by *Clostridium thermocellum* SS19. **Process Biochemistry.** v. 40, p. 3025–3030, 2005.
- BEN, A. A. et al. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. **Lett. Appl. Microbiol.** v. 43, p. 149–154, 2006.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. **Int J Food Microbiol.** v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria n. 702. Altera a Portaria de Consolidação nº 2/GM/MS, de 28 de setembro de 2017, para incluir novas práticas na Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares - PNPIC.** 2018. https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2018/prt0702_22_03_2018.html.
- CAZELLA, L. N. et al. Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (*Asteraceae*) Aerial Parts at Flowering Period. **Front. Plant Sci.** v. 10, n. 27, 2019. DOI: 10.3389/fpls.2019.00027.
- COSTERTON, W. et al. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. **J Clin Invest.** v. 112, n. 10, p. 1466-1477, 2003. DOI: 10.1172/JCI20365.
- CHALESHTORI, S. R. et al. Use of Tarragon (*Artemisia dracunculus*) essential oil as a natural preservative in beef Burger. **Ital. J. Food Sci.** v. 26, 2014.

- DAWOOD, M. A. O. et al. Antiparasitic and Antibacterial Functionality of Essential Oils: An Alternative Approach for Sustainable Aquaculture. **Pathogens**. v. 10, 2021. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020185>.
- DOMINGUES, R. E. A.; CARVALHO, F. M. R.; KAIZER, O. U. A. Cross-cultural adaptation of a wound assessment instrument. Original article. **Cogitare Enferm**. v. 23, n. 3, 2018.
- DONLAN, R. M.; COSTERTON, J. W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Clin Microbiol Rev**. v. 15, n. 2, p. 167-193, 2002. DOI:10.1128/CMR.15.2.167-193.2002.
- DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. **J. Appl. Microbiol**. v. 88, 308–316 p. 2000.
- EUCAST. **European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing**. Version 9.0. 2019. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_9.0_Breakpoint_Tables.pdf.
- FERREIRA, F. D. SISVAR: A computer statistical analysis system. **Ciênc. agrotec., Lavras**. v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FIRMINO, F. D. et al. Antibacterial and Antibiofilm Activities of *Cinnamomum Sp.* Essential Oil and Cinnamaldehyde: Antimicrobial Activities. **Scientific World Journal: Hindawi**. 9 p, 2018. DOI:10.1155/2018/7405736.
- FREIRE, I. C. M. et al. Atividade antibacteriana de Óleos Essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. **Rev. Bras. Pl. Med: Campinas**. v. 16, n. 2, p. 372-377, 2014.
- GAZIM, Z. C. et al. Identificação dos constituintes químicos da fração volátil da *Calendula officinalis* produzida no Paraná. **Horticultura Brasileira**. v. 25, 118-121 p. 2007.
- GNATTA, J.R.; DORNELLAS, E. V.; SILVA, M. J. P. O uso da aromaterapia no alívio da ansiedade. Artigo original. **Acta Paul Enferm**. v. 24, n. 2, p. 257-63, 2011.
- GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. et al. Natural antimicrobial compounds to preserve quality and assure safety of fresh horticultural produce. **Natural Antimicrobials in Food Safety and Quality**. p. 277-282, 2011.
- HADDAD, O. et al. Comparative study of virulence factors among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. **BMC Infectious Diseases**. v. 18, 2018. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3457-2>.
- HAMMER, K. A.; CARSON, C. F. Antibacterial and antifungal activities of essential oils. ed. THORMAR, H. **Lipids and essential oils as antimicrobial agents**. West Sussex: John Wiley & Sons. p. 255-306, 2011.
- HOLLEY, R. A.; PATEL, D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microbiology**. v. 22, p. 273–292, 2005.

- KIM, Y. G. et al. Herring Oil and Omega Fatty Acids Inhibit *Staphylococcus aureus* Biofilm Formation and Virulence. **Front Microbiol.** v. 9, n. 1241, 2018. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01241.
- LIMA, P. M. F. et al. *Staphylococcus aureus* e as infecções hospitalares – revisão de literatura. **rev. Uningá review.** v. 21, n. 1, p. 32-39, 2015.
- LUTZ, L. D. et al. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. **Phytochemistry.** v. 69, p. 1732–1738, 2008.
- MACHADO, F. T. et al. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de capim-limão. Boletim de pesquisa e desenvolvimento. **Embrapa Agroindústria Tropical: Fortaleza.** v. 62. ISSN 1679-6543. 2013.
- MENOITA, E. et al. Biofilms: Knowing the Entity. **Journal of Aging & Innovation.** v. 1, n. 2, p. 23-32, 2012.
- MERRITT, J. H.; KADOURI, D. E.; O'TOOLE, G. A. Growing and analyzing static biofilms. **Current protocols in microbiology.** v. Chapter 1, unit 1B.1. 2005. DOI:10.1002/9780471729259.mc01b01s00.
- MILLEZI, A.F. et al. Caracterização e atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas condimentares e medicinais contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Rev. Bras. Pl. Med. Campinas.** v. 15, n. 3, p. 373-379, 2013.
- NAJAT, B. et al. In Vitro Antibacterial Activity and Chemical Composition of Essential Oil of *Mentha arvensis* Linn. Leaves. **TEOP.** v. 19, n. 4, p. 907-915, 2016.
- NAZZARO, F. et al. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. **Pharmaceuticals (Basel).** v. 6, p. 1451-1474, 2013. DOI: 10.3390/ph6121451.
- NIST. **National Institute of Standards and Technology.** PC version 2.0 of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library, software. Gaithersburg: NIST, 2008.
- PAULI, A.; KUBECZKA, K. H. Antimicrobial properties of volatile phenylpropanes. **Nat. Prod. Commun.** v. 5, p. 1387–1394, 2010.
- PONCE, DE L. S. Infecciones nosocomiales: tendencias seculares de un programa de control en México. **Salud pública de México.** v. 41, 1999.
- RAO, J.; CHEN, B.; MCCLEMENTS, D. J. Improving the Efficacy of Essential Oils as Antimicrobials in Foods: Mechanisms of Action. **Annu. Rev. Food Sci. Technol.** v. 10, p. 365-387, 2019. DOI: 10.1146/annurev-food-032818-121727.
- RAPHAEL, A. D'. Handbook of Complementary and Alternative Therapies in Mental Health. **Aromatherapy. Cap.4,** p. 71-92, 2002.
- RODRIGUES, M. I.; LEMMA, A. R. Planejamento de experimentos e otimização de processos. 2 ed. Campinas, SP: **Casa Fraternidade Fé e Amor.** 2009. ISBN:85-98389-03-X.

- SABOIA, Da S. C. et al. Caracterização química e atividade antimicrobiana do óleo essencial e do extrato bruto do capim limão (*Cymbopogon citratus*). **Research, Society and Development**. v. 11, n. 7, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i7.30064>.
- SHANG, F. et al. Effects of stigmata maydis on the methicillin resistant *Staphylococcus aureus* biofilm formation. **Peerj**. 2019. DOI:10.7717/peerj.6461.
- SIKKEMA, J.; DE BONT, J. A. M.; POOLMAN, B. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. **Microbiological reviews**. v. 59, n. 2, p. 201–222, 1995.
- SOUZA, A. A. et al. Composição química e concentração mínima bactericida de dezesseis óleos essenciais sobre *Escherichia coli* enterotoxigênica. **Rev. Bras. Pl. Med: Campinas**. v. 18, n. 1, p. 105-112, 2016.
- SOUSA, C. G. C. et al. Gerenciamento da dor de crianças e adolescentes no período pós-transplante de células-tronco hematopoéticas: revisão integrativa. **Rev. EG**. n. 53. 2019. <https://dx.doi.org/10.6018/global.18.1.302991>
- SOUZA, E. R. L de. et al. *Lavandula angustifolia* Miller e sua utilização na Odontologia: uma breve revisão. **Arch Health Invest**. v. 7, n. 12, p. 539-545, 2018. <http://dx.doi.org/10.21270/archi.v7i12.3125>.
- STEPANOVIĆ, SRDJAN. et al. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. **Journal of microbiological methods**. v. 40. 2000. Do: 10.1016/S0167-7012(00)00122-6.
- TIMBE, P. P. R. et al. Antimicrobial activity of *Baccharis dracunculifolia* DC and its synergistic interaction with nisin against food-related bacteria. **J Food Sci Technol**. v. 58, n. 8, p. 3010-3018, 2021. DOI: 10.1007/s13197-020-04804-9.
- TROMBETTA, D. et al. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 49, n. 6, p. 2474-8, 2005.
- TROMBETTA R. P. et al. A high throughput screening approach to repurpose FDA-approved drugs for bactericidal applications against *Staphylococcus aureus* small-colony variants. **msphere**. v. 3, n. 5, 2018. DOI: 10.1128/mSphere.00422-18.
- TURINA, A. V. et al. Natural terpenes: self-assembly and membrane partitioning. **Biophys Chem**. v. 122, n. 2, p. 101-113, 2006. DOI: 10.1016/j.bpc.2006.02.007.
- ULTEE, A.; BENNIK, M. H.; MOEZELAAR, R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. **Appl. Environ. Microbiol**. v. 68, p. 1561–1568, 2002.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS. Biblioteca Universitária. **Manual de normalização e estrutura de trabalhos acadêmicos: TCCs, monografias, dissertações e teses**. 3. ed. rev., atual. e ampl. Lavras, 2020. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/11017>. Acesso em: 08/10/2021.
- UPADHYAY, N. et al. Assessment of nanoencapsulated *Cananga odorata* essential oil in chitosan nanopolymer as a green approach to boost the antifungal, antioxidant and in situ

efficacy. **Int J Biol Macromol.** v. 171, p. 480-490, 2021.
DOI:10.1016/j.ijbiomac.2021.01.024.

VALERIANO, C. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Rev. Bras. Pl. Med: Botucatu.** v. 14, n. 1, p. 57-67, 2012.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P.D. A Generalization of the Retention Index System Including Linear Temperature Programmed Gas-Liquid Partition Chromatography. **Journal Chromatography A.** v. 11, p. 463-471, 1963.

WORLD ORGANIZATION HEALTH (WHO) **New report calls for urgent action to avert antimicrobial resistance crisis.** Disponível em: <https://www.who.int/news-room/detail/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis>. Acessado em: 27 de maio de 2019.

ZENDEJAS-MANZO, G. S.; AVALOS-FLORES, H.; SOTO-PADILLA, M. Y. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. Universidad de la Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo, México. Artículo de Revisión. **Rev. Biomed.** v. 25, n. 3, p. 129-143, 2014. DOI: <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v25i3.42>.

**CAPÍTULO 3 - CURATIVO TIPO MANTA DE POLI ÁCIDO LÁTICO (PLA)
INCORPORADO DE ÓLEOS ESSENCIAIS COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA
SOBRE *Staphylococcus aureus***

RESUMO

Staphylococcus aureus é uma bactéria comumente encontrada na microbiota de humanos e animais, prevalentemente comprometida na patogênese de feridas persistentes; a formação de biofilme por essa bactéria no tecido lesionado contribui significativamente para o desenvolvimento de feridas crônicas na maioria dos pacientes. A dificuldade do manejo de *Staphylococcus aureus* é um desafio significativo devido à sua resistência inerente aos antibióticos disponíveis no comércio. O trabalho teve como objetivo a fiação de mantas de nanofibras de poli ácido lático (PLA) incorporado de óleos essenciais pela técnica por sopro de solução para avaliação da atividade antimicrobiana sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, agente associado a feridas humanas persistentes. As mantas foram fiadas com três concentrações de misturas dos óleos essenciais de lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill.), canela (*Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl), capim limão (*Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) W. Watson), gerânio do Egito (*Pelargonium graveolens* L'Hér.) hortelã do campo (*Mentha arvensis* L.) em diferentes proporções. Foram utilizadas as concentrações totais de óleos essenciais de 6,4%, tratamento A; 12,9%, tratamento B e 14,6%, tratamento C. A ação antimicrobiana das mantas foi avaliada sobre as cepas de *Staphylococcus aureus* GL 8702; GL 8548 e GL 5674. A avaliação antimicrobiana das mantas mostrou que o valor médio do número de *S. aureus* em meio líquido foi de $9,5 \pm 0,195$ Log UFC/mL para as mantas contendo 12,9% e 14,6% e para as três cepas, onde o valor do controle foi de $11,92 \pm 0,45$ Log UFC/mL, dessa forma a redução foi cerca de 2,42 Log UFC/mL. Através das microscopias de varredura foi observado que o diâmetro médio da manta de PLA pura foi de 255,5 nm, sendo estatisticamente maior aos tratamentos contendo óleos essenciais. O diâmetro das mantas de PLA contendo óleos essenciais não apresentaram diferenças significativas entre si. A maioria das fibras ficou com diâmetros entre 200 e 400 nm, sendo também produzidas fibras com 100 nm, sendo poucas as que ultrapassaram os 400 nm. Os Espectros de FTIR mostraram que houve incorporação dos óleos essenciais, com uma boa interação entre os grupos funcionais do polímero e os compostos dos óleos essenciais. Dessa forma, conclui-se que os óleos essenciais podem ser utilizados na fiação de mantas de PLA por SBS apresentando ação antimicrobiana contra *S. aureus*.

Palavras-chave: Antimicrobianos naturais. Cicatrização de feridas. Biopolímeros. Óleos voláteis.

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is a bacterium that is commonly found in the microbiota of both humans and animals. It is primarily associated with the pathogenesis of persistent wounds. The formation of biofilms by this bacterium in injured tissue is a significant contributing factor to the development of chronic wounds in the majority of patients. Managing *Staphylococcus aureus* is a significant challenge due to its inherent resistance to commonly used antibiotics in the market. The objective of this work was the spinning of polylactic acid (PLA) nanofiber blankets incorporated with essential oils using the solution blowing technique to evaluate the antimicrobial activity on strains of *Staphylococcus aureus*, an agent associated with persistent human wounds. The blankets were spun with three concentrations of mixtures of essential oils of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.), cinnamon (*Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl), lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) W. Watson), Egyptian geranium (*Pelargonium graveolens* L'Hér.), and field mint (*Mentha arvensis* L.), in different proportions. The total concentrations of essential oils of, 6.4%, treatment A; 12.9%, treatment B and 14.6%, treatment C. The antimicrobial action of the blankets was evaluated on the against strains of *Staphylococcus aureus* GL 8702; GL 8548 and GL 5674. The antimicrobial evaluation activities of the blankets showed that the average number of *S. aureus* in liquid medium was 9.5 ± 0.195 Log CFU/mL for the blankets containing 12.9% and 14.6% and for the three strains, where the control value was 11.92 ± 0.45 Log CFU/mL, thus the reduction was about 2.42 Log CFU/mL. Through scanning microscopies, it was observed that the mean diameter of the pure PLA blanket was 255.5 nm, being statistically greater for treatments containing essential oils. The diameter of the PLA blankets containing essential oils did not differ significantly from each other. Most of the fibers had diameters between 200 and 400 nm, and fibers with 100 nm were also produced, with few exceeding 400 nm. The FTIR spectra showed incorporation of essential oils, with a good interaction between the functional groups of the polymer and the compounds of essential oils. Thus, it is concluded that essential oils can be used in the spinning of PLA blankets by blow spinning technique (SBS), presenting antimicrobial action against *S. aureus*.

Keywords: Natural antimicrobials. Wound healing. Biopolymers. Volatile oils.

1 INTRODUÇÃO

Os cocos gram-positivos formam um grupo heterogêneo de aproximadamente 16 gêneros de microrganismos que colonizam os seres humanos. Dentre eles, encontra-se *Staphylococcus aureus*, é encontrada na pele e mucosa dos seres humanos, bem como de outros mamíferos e aves (RIEDEL *et al.*, 2020). Entretanto, ao ter acesso a tecido lesionado, muitas vezes pode causar processo grave de infecção; é encontrada na forma de biofilme, podendo levar à formação de feridas crônicas, de difícil cicatrização (BECKER; DIAS; MACEDO, 2018; CHEW *et al.*, 2018). No Brasil, as feridas representam problemas de saúde pública, devido ao grande número de doentes com alterações na integridade da pele (BARROS *et al.*, 2016).

Um dos fatores que contribuem para a dificuldade de erradicação de *S. aureus* das feridas é sua capacidade em apresentar resistência a várias classes de antibióticos comumente empregados na medicina (CHANDRA *et al.*, 2018; FREIRE *et al.*, 2014; YIN *et al.*, 2019).

Diante desse cenário, dentre elas, destaca-se a aromaterapia, ou terapia dos óleos essenciais. Inclusive, a utilização de óleos essenciais foi incluída como prática no Sistema Único de Saúde (SUS), como parte da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (BRASIL, 2018).

Os óleos essenciais, que são produtos naturais obtidos a partir de plantas, contêm compostos orgânicos voláteis que podem ser obtidos de várias partes da planta, como flores, frutos, sementes, caules e raízes (BAKKALI *et al.*, 2008). Os óleos essenciais têm se mostrado eficientes no controle de vários microrganismos, apresentando atividade bactericida, fungicida, antiviral dentre outros. (BOUKHATEM; KAMELI; SAIDI, 2013; CAZELLA *et al.*, 2019; FIRMINO *et al.*, 2018; LUTZ *et al.*, 2008; NAJAT *et al.*, 2016; SOUZA *et al.*, 2018; UPADHYAY *et al.*, 2021) e atividades antioxidantes, inseticidas, antivirais, antibacterianas, antifúngicas e antibiofilme (BURT, 2004). Devido às suas várias atividades biológicas podem ser utilizadas em conjunto com outras medidas para otimizar os tratamentos de doenças diversas dos seres humanos (FIRMINO *et al.*, 2018).

O tratamento de feridas, inclui tratamentos clínicos e cirúrgicos, sendo o “curativo” o tratamento clínico mais utilizado para auxiliar na reparação tecidual (VOINESKOS *et al.*, 2009). A escolha do tipo de curativo e sua composição podem ser essenciais para a cicatrização e recuperação tissular (SMANIOTTO *et al.*, 2012).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi elaborar um curativo tipo manta de PLA contendo misturas de óleos essenciais e avaliar suas características bem como sua ação antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Óleos essenciais

A partir dos resultados obtidos do DCCR descrito no Capítulo 2 foram selecionadas três concentrações totais de misturas de óleos essenciais: menor, média e elevada, sendo os ensaios 1 (6,4% de óleos essenciais, denominado de tratamento A); 31 (12,9% de óleos essenciais, denominado de tratamento B); 32 (14,6% de óleos essenciais, denominado de tratamento C) mostrados na Tabela 1.

2.2 Produção da manta de poli ácido láctico (PLA) com óleos essenciais

O processo de elaboração da manta de PLA se deu no Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico do Departamento de Física da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

As mantas de nanofibras foram produzidas a partir de uma solução polimérica contendo poli ácido láctico (NatureWorks® 3251D) diluído em clorofórmio (Vetec) na concentração de 12% (p/v). Para cada manta foi preparado 20 mL da solução em béquer que foi mantido fechado para impedir a volatilização do solvente. A solução foi diluída com o auxílio de agitador magnético por aproximadamente 40 minutos (BRETAS; D`AVILA, 2005). Após a completa diluição do PLA, foram adicionadas as combinações dos óleos essenciais de lavanda, canela, capim limão, gerânio e hortelã nas concentrações mostradas na Tabela 1, na proporção de 15% em relação ao peso do polímero utilizado e homogeneizados com auxílio de agitador magnético por 15 min. Cabe ressaltar que a manta controle não foi adicionada de óleos essenciais. Em seguida, a solução polimérica foi transferida para uma seringa de vidro de 20 mL e, conectada ao sistema de fiação por sopro de solução. (BRETAS; D`AVILA, 2005).

Tabela 1 - Concentração dos óleos essenciais em cada mistura utilizada em cada curativo de PLA

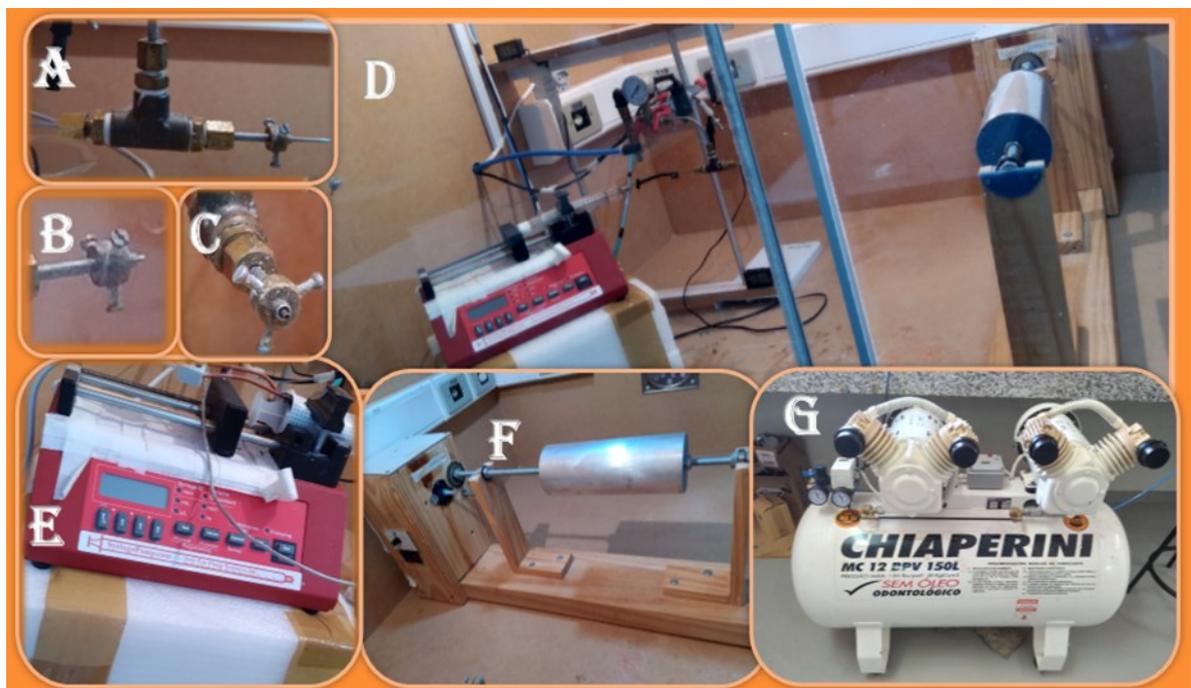
Tratamento	Óleos essenciais (%)				
	Lavanda	Canela	Capim limão	Gerânio	Hortelã
A	2,1	0,1	1,4	4	1,4
B	2,1	0,3	3,5	3,5	3,5
C	3,8	0,3	3,5	3,5	3,5

Fonte: do autor (2021).

2.2.1 Fiação por sopro de solução

O sistema de fiação por sopro de solução (Figura 1) consistiu em bocal concêntrico no qual a solução polimérica foi alimentada pelo bocal interno e o ar pressurizado foi alimentado pelo bocal externo por um compressor (CHIAPERINI MC 12 BPV 150L). A distância de protusão do bocal interno em relação ao externo foi mantida em 4 mm. O controle da taxa de alimentação da solução polimérica foi realizado por uma bomba de seringa (NE - 300; New Era Pump Systems), na qual uma seringa de vidro de 20 mL (Artiglass) contendo a solução polimérica foi acoplada e conectada ao bocal interno. A taxa de injeção da solução polimérica foi de 6 mL.h^{-1} e a pressão do ar utilizada foi de 25 Psi. A pressão do ar foi controlada por um regulador de pressão conectado ao bocal externo. Um coletor, sob rotação, foi colocado a uma distância de 30 cm em relação ao bocal concêntrico (distância de trabalho). As fibras foram depositadas no coletor, recoberto previamente com papel alumínio. (MEDEIROS *et al.*, 2009 com modificações).

Figura 1 - Sistema de fiação por sopro de solução (SBS) utilizado para a produção de nanofibras



Legenda: Aparato usado na fiação por sopro de solução. A: sistema de tubos concêntricos; B: Detalhe da protusão do tubo interno em relação ao externo; C: Detalhe da concentricidade dos tubos interno e externo; D: Sistema de SBS; E: Sistema de injeção da solução polimérica; F: Coletor e G: compressor. Fonte: Do autor (2021).

2.3 Atividade antimicrobiana da manta de PLA sobre *S. aureus*

Foram utilizadas amostras de mantas recém fiadas submetidas ao processo de esterilização a luz UV (360nm) por 5 minutos e sem o processo de esterilização.

A avaliação da ação inibitória das mantas de PLA contendo a combinação de óleos essenciais dos tratamentos A; B e C foram realizadas por duas metodologias, sendo a primeira a técnica de disco-difusão EUCAST (2019) com modificações; foram utilizados os filmes de 1 cm de diâmetro com um peso de 0.050 gramas aproximadamente, contendo os três tratamentos A, B e C sobre as três cepas de *S. aureus*.

Na segunda metodologia empregada (submersão), alíquotas de 20 µL das culturas padronizadas em cerca de 10⁸ UFC/mL das cepas GL 8702; GL 8548 e GL 5674 foram dispensadas em tubos tipo Falcon contendo 5 mL de caldo BHI (caldo infusão cérebro coração) e os filmes com um peso de 0.050 gramas aproximadamente, sendo em seguida, incubados a 37°C por 24 h. Após esse período, as alíquotas de cada tubo foram plaqueadas em TSA (ágar triptona de soja) e ágar Baird Parker e incubadas a 37°C por 24 h.

2.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As análises de Microscopia Eletrônica de Varredura foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural, situado no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG.

As amostras foram realizadas após três meses da confecção das mantas, que foram coladas em stubs de alumínio com o auxílio de fita dupla face de carbono, recobertas com ouro e auxílio de um aparelho evaporador de ouro (BALTEC-050) e analisadas em Microscópio eletrônico de varredura de ultra alta resolução, livre de campo FEG-SEM (Tescan Clara, República Tcheca).

2.5 Caracterização por Espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR)

As análises foram realizadas no laboratório de espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier, situado no Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG.

Para a caracterização dos grupos funcionais dos compostos orgânicos contidos na manta de PLA realizada depois de três meses, contendo a combinação de óleos essenciais dos tratamentos A; B e C e sua interação com os diferentes óleos utilizados na produção das fibras, bem como avaliar a incorporação dos óleos essenciais na matriz polimérica produzida através da fiação por sopro, foram realizadas análises de espectroscopia vibracional no infravermelho empregando um espectrômetro FT-IR Varian 600-IR com transformada de Fourier (FTIR), com acessório GladiATR da Pike Technologies acoplado para medidas por reflectância total atenuada (ATR) a 45° com cristal de seleneto de zinco. A faixa espectral analisada foi de 400 a 4.000 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras (LOPES; FASCIO, 2004).

2.6 Análise estatística

Os resultados dos diâmetros das mantas de PLA contendo a combinação de óleos essenciais dos tratamentos A, B e C calculados ao 15% em relação ao peso do polímero foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade, usando no software Sisvar (FERREIRA, 2011).

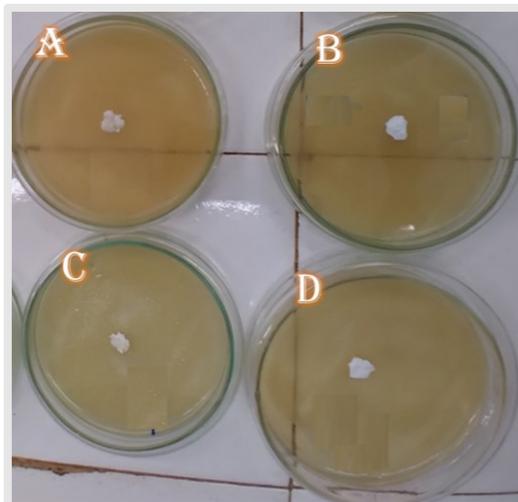
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Ação antimicrobiana da manta de PLA fiada com óleos essenciais sobre *S. aureus*

A Figura 2 ilustra os resultados obtidos da ação inibitória da manta de PLA contendo a combinação dos óleos essenciais dos tratamentos A; B e C contra as cepas de *S. aureus* pela técnica de disco – difusão. Sendo selecionados com menor concentração (6,4%), média concentração (12,9%) e elevada concentração (14,6%). Percebe-se que em todos os ensaios houve crescimento de *S. aureus*. Determinou-se não avaliar mais o tratamento A para os experimentos seguintes.

Esses resultados indicaram inicialmente que as mantas de PLA fiada com óleos essenciais não apresentaram nenhuma ação antimicrobiana contra *S. aureus*; podendo ser devido à técnica de análise empregada; porque as nanofibras só tinham contato sobre um lado de sua superfície com o agar, fazendo que os óleos essenciais encapsulados não fossem liberados adequadamente (WANDERSON DA SILVA, M. *et al.*, 2021).

Figura 2 - Avaliação da ação inibitória das mantas de PLA contendo a combinação de óleos essenciais dos tratamentos A; B e C



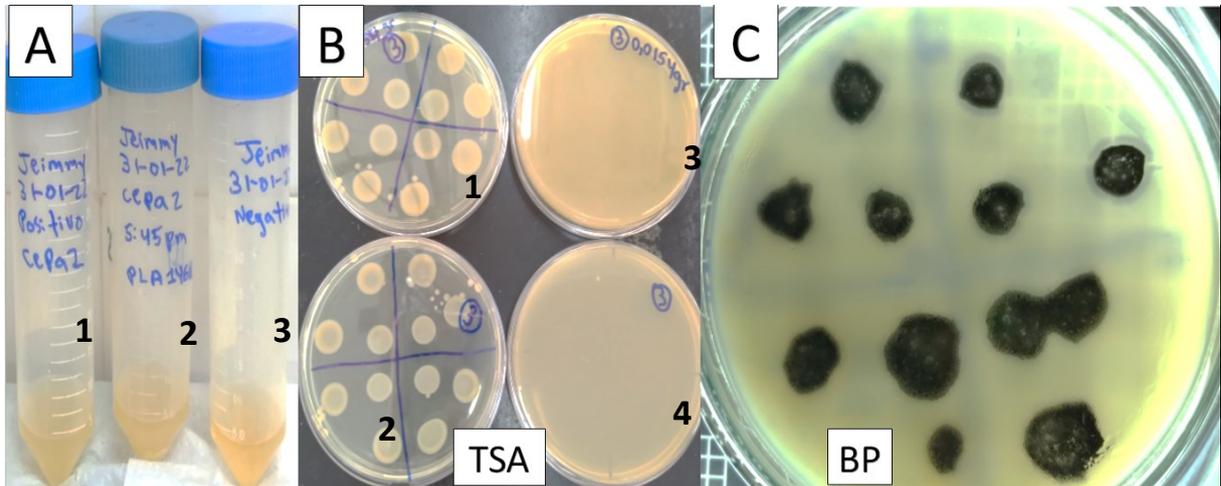
Legenda: A: Placa contendo cultura e manta fiada com mistura de óleos essenciais do tratamento A (6,4% de óleos); B: Placa contendo cultura e manta fiada com mistura de óleos essenciais do tratamento B (12,9% de óleos); C: Placa contendo cultura e manta fiada com mistura de óleos essenciais do tratamento C, (14,6% de óleos) D: Placa contendo cultura e a manta controle.

Fonte: Do autor (2021).

Assim, foi utilizada outra técnica de avaliação da atividade antimicrobiana das mantas, a de submersão. Através da técnica de submersão, na Figura 3 pôde ser observada redução no

crescimento celular dos tratamentos B e C em relação ao controle. O tratamento A, com menor concentração de óleos essenciais não foi efetivo.

Figura 3 - Ilustração da avaliação da ação inibitória da manta de PLA contendo a combinação dos óleos essenciais do tratamento C (técnica de submersão)

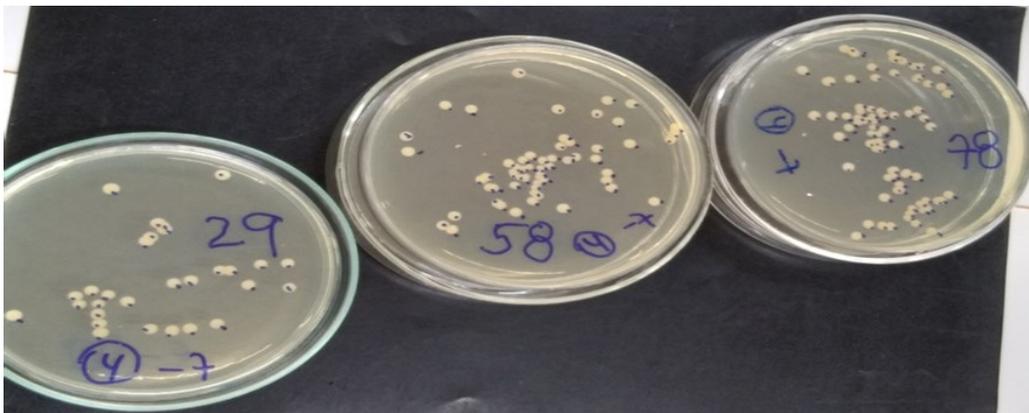


Legenda: Onde A: Tubo tipo Falcon contendo os tratamentos e o controle, onde 1: controle; 2: cultura adicionada de manta fiada com mistura de óleos essenciais do tratamento C (14,6% de óleo); 3: controle negativo (apenas meio de cultura). B: Plaqueamento das culturas dos tubos tipo Falcon onde 1 e 2 correspondem ao plaqueamento de alíquotas do tubo Tipo Falcon de número 2; a placa de n° 3 corresponde ao plaqueamento de alíquota da cultura do controle positivo e placa de n° 4 corresponde ao controle negativo (ausência de crescimento); C: A placa contendo ágar Baird Parker inoculado com *S. aureus*; onde os pontos pretos se observam espaços brancos (ausência da cepa avaliada).

Fonte: Do autor (2021).

A Figura 4 ilustra os resultados obtidos da ação inibitória da manta de PLA contendo óleos essenciais dos tratamentos B e C contra as cepas de *S. aureus* pela técnica de submersão. Os resultados demonstraram a ação antimicrobiana das mantas.

Figura 4 - Ilustração do experimento da avaliação da ação inibitória da manta de contendo a combinação de óleos essenciais dos tratamentos B e C



Fonte: Do autor (2021).

Não houve interação significativa entre os tratamentos e as cepas, nem entre os tratamentos e nem entre as cepas, sendo que o valor médio do número de *S. aureus* em meio líquido foi de $9,5 \pm 0,195$ Log UFC/mL para as mantas contendo 12,9% e 14,6% e para as três cepas. O valor do controle foi de $11,92 \pm 0,45$ Log UFC/mL, dessa forma a redução foi cerca de 2,42 Log UFC/mL. Não foi observada diferença significativa da ação antimicrobiana das mantas após exposição à luz UV, sendo o valor médio obtido de $9,5 \pm 0,765$ Log UFC/mL.

Os resultados demonstram que a técnica empregada foi melhor por contato direto da manta de PLA com as cepas de *S. aureus* avaliadas; por ter facilitado a liberação dos compostos dos óleos essenciais contidos nas nanofibras; projetando a ensaios futuros é uma simulação da ferida com o curativo, porque o corpo segrega substâncias que fazem parte do sistema imunológico para acelerar a cicatrização (MOHAMMAD *et al.*, 2020).

De modo geral, as mantas de PLA apresentaram atividade antimicrobiana contra as cepas de *S. aureus*, demonstrando o desempenho dos combinados dos compostos dos óleos essenciais incorporados na escala nano pela produção das nanofibras e estas como um bom suporte seguem suas características físicas e mecânicas. Outros estudos com PLA utilizaram nanopartículas de prata (AgNP) apresentando propriedades antibacterianas contra *S. haemolyticus*, e *Pseudomonas*. (SANUSI *et al.*, 2020).

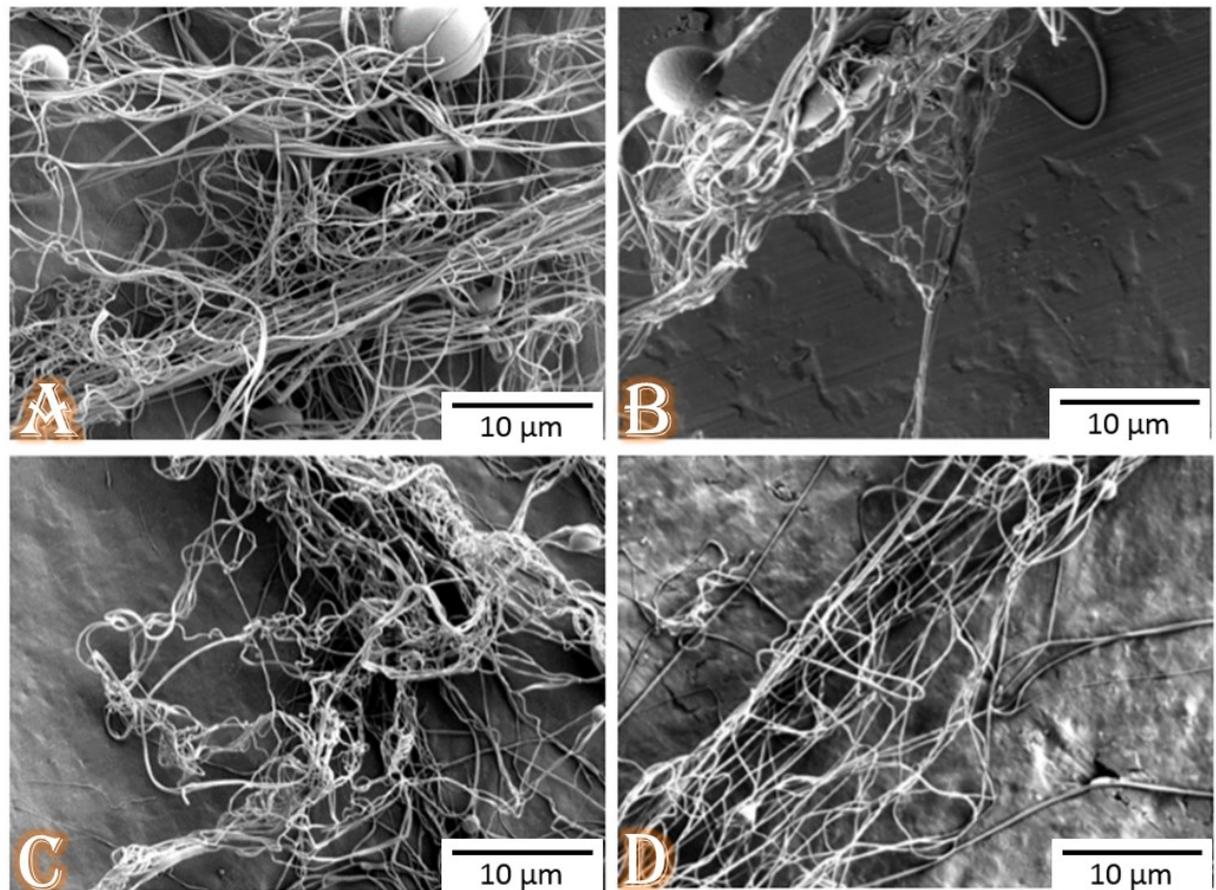
Além disso, a ação antimicrobiana da manta demonstra que os óleos essenciais não foram afetados pelo solvente, como foi encontrado no estudo de Bilbao-Sainz *et al.* (2014) apud Sanusi *et al.* (2020, p. 8); onde a produção das nanofibras de PLA contendo hidroxipropilmetilcelulose e cloridrato de tetraciclina foram fiadas em solução de dois solventes diferentes: clorofórmio/acetona (CA, 80:20 v/v) e 2,2,2-trifluoroetanol (TFE), sendo avaliadas contra *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* apresentaram atividade antimicrobianas.

Estudos realizados por Sanusi *et al.* (2020) e igualmente neste trabalho o PLA puro (sem óleo essencial) não mostrou atividade antimicrobiana dentro do tempo estudado; podendo afirmar que os óleos essenciais em escala nano também apresentam atividade antimicrobiana (PÉREZ-RECALDE; ARIAS; HERMIDA, 2018).

3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Micrografias obtida na magnitude de 10000 x (Figura 5) e a medida do diâmetro das nanofibras (TABELA 2) da manta de PLA correspondentemente por meio do sistema de fiação por sopro de solução (SBS) possibilitaram a observação de fibras em disposição aleatória e com diâmetros variados e a presença de esferas em todos os tratamentos.

Figura 5 - Micrografias das mantas de PLA



Legenda: Onde: (A) Controle; e com óleos essenciais. Tratamento A (B); Tratamento B (C); Tratamento C (D).

Fonte: Do autor (2021).

Tabela 2 - Diâmetro das mantas de PLA contendo a combinação de óleos essenciais dos tratamentos A; B e C calculados ao 15% em relação ao peso do polímero

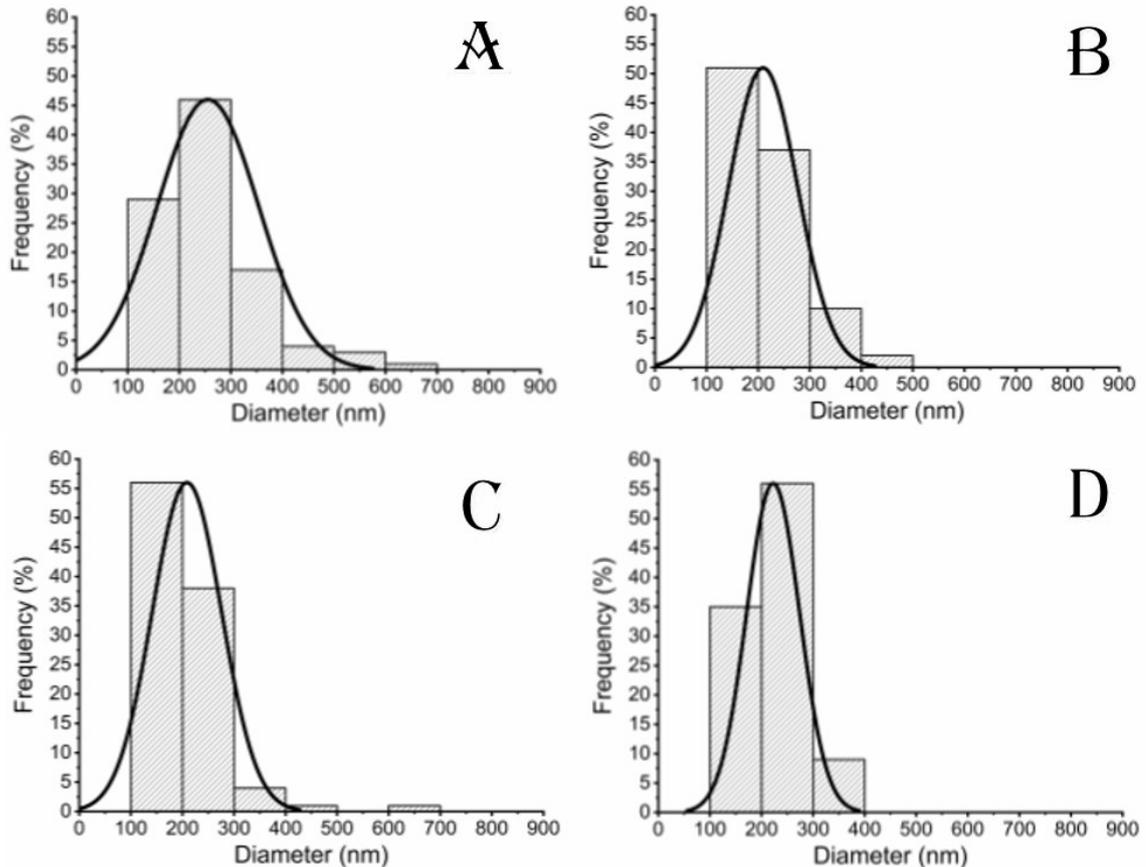
Ensaio	Média dos diâmetros (nm)
A (6,4%)	209,4±66,8 a
B (12,9%)	208,6±56,4 a
C (14,6%)	222,5±51,4 a
Controle	255,5±98,5b

Fonte: Do autor (2021).

O diâmetro médio das mantas de PLA pura foi de 255,5 nm, sendo estatisticamente maior aos tratamentos contendo óleos essenciais. As mantas de PLA não apresentaram diferenças entre elas.

O histograma da Figura 6 permite visualizar que o tamanho das mantas de PLA denotam que a maioria das fibras ficou com diâmetros entre 200 e 400 nm, sendo também produzidas fibras com 100 nm, sendo poucas as que ultrapassaram os 400 nm.

Figura 6 - Distribuição dos diâmetros das mantas de PLA



Legenda: Onde: (A) Controle; e com os tratamentos A (B); B (C) e C (D).
Fonte: Do autor (2021).

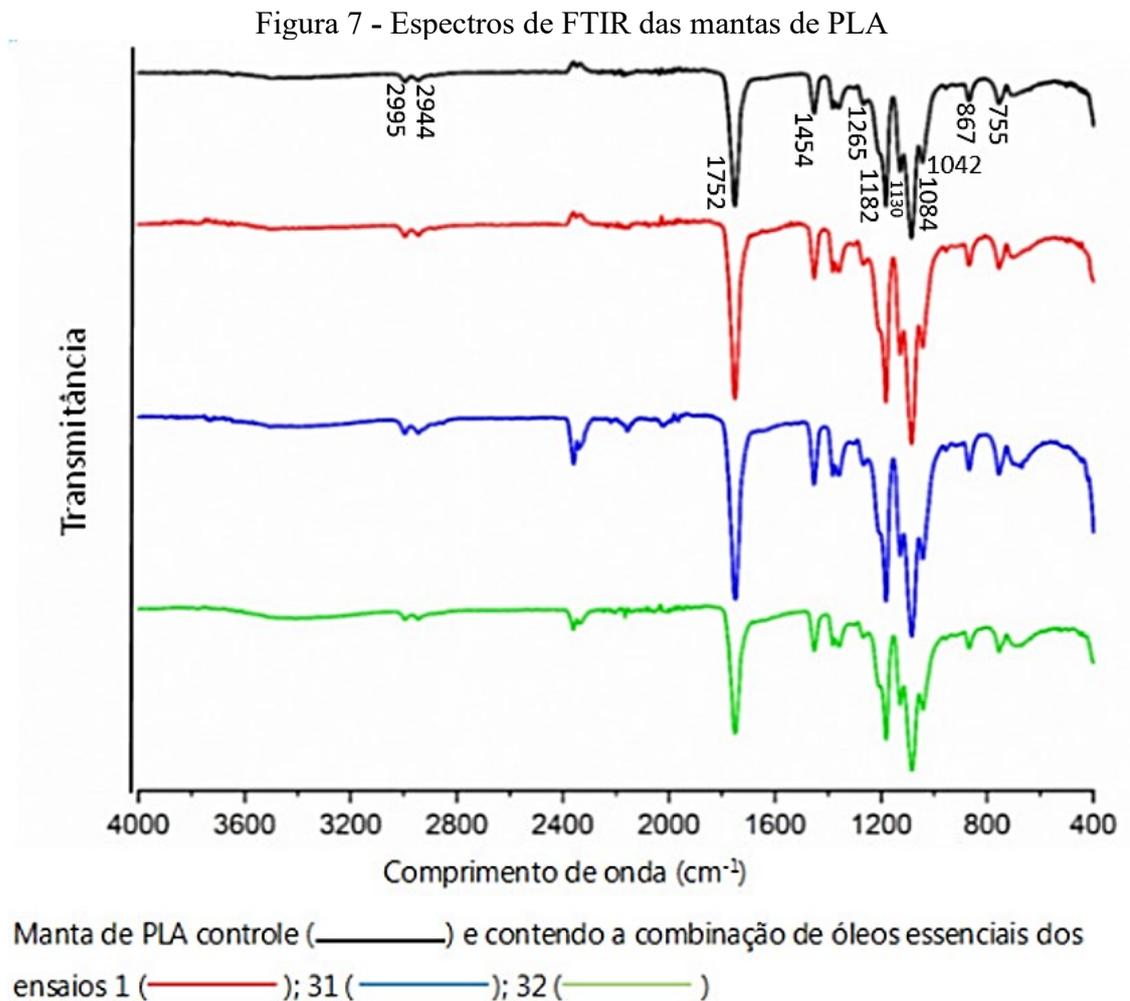
Segundo Oliveira *et al.* (2011) citando a Eling; Gogolewski; Pennings, 1982; Kase; Matsuo, 1965 e Katayama; Nakamura; Amano, 1968 “Em comparação com outros carreadores de drogas, as nanofibras têm eficiência superior de encapsulamento de drogas e estabilidade estrutural”. Os resultados deste estudo são promissores, mostrando que mais estudos devem ser realizados e assim desenvolver um curativo apropriado com bom desempenho e econômico.

A evaporação rápida do solvente é uma forma de garantir que as mantas de PLA não sejam tóxicas, e a solidificação do polímero garante a separação de fases e melhora a compatibilidade do polímero pelo processo SBS (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Os resultados obtidos confirmam que as mantas produzidas apresentaram boas nanofibras tanto em diâmetro

quanto no comprimento; isto permite que as porcentagens utilizadas na incorporação dos óleos essenciais sejam ótimas.

3.3 Caracterização por espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR)

A Figura 7 apresenta os resultados da caracterização pela análise de FTIR da manta de PLA correspondentemente por meio do sistema de fiação por sopro de solução (SBS), observando-se as características próprias do polímero (manta de PLA controle; cor preto) e a presença da combinação dos óleos essenciais dos ensaios A (6,4%vermelho); B (12,9%azul) e C (14,6%verde).



Fonte: Do autor (2022).

O espectro de FTIR de PLA puro (FIGURA 7) mostra a presença dos picos característicos de PLA, onde as bandas a 2995 e 2944 cm^{-1} referem-se ao alongamento assimétrico e simétrico C-H, respectivamente. O alongamento da carbonila ($-\text{C}=\text{O}$) do grupo éster é observado como uma banda intensa a 1752 cm^{-1} e a flexão do grupo $-\text{C}=\text{O}$ é observado em 1265 cm^{-1} . Os picos a 1182, 1130, 1084 e 1042 cm^{-1} são atribuídos ao alongamento C-O. As frequências de deformação simétrica do grupo $-\text{CH}_3$ foram identificadas a 1380 e 1360 cm^{-1} e a deformação assimétrica do grupo $-\text{CH}_3$ foi identificada a 1454 cm^{-1} . A banda a 755 cm^{-1} é atribuída ao estiramento C-C da fase cristalina, enquanto o pico a 867 cm^{-1} é atribuído ao estiramento C-C da fase amorfa do polímero. Conforme mencionado na literatura (AHMED *et al.*, 2016; CHIENG *et al.*, 2013; FU *et al.*, 2018; GRANADOS-HERNANDEZ *et al.*, 2018; IGLESIAS *et al.*, 2019; JOHARI *et al.*, 2016; MARRA; CIMMINO; SILVESTRE, 2017; QIN *et al.*, 2017; YOUNES; COHN, 1988 apud NORBERTO, 2020, p. 48, 49).

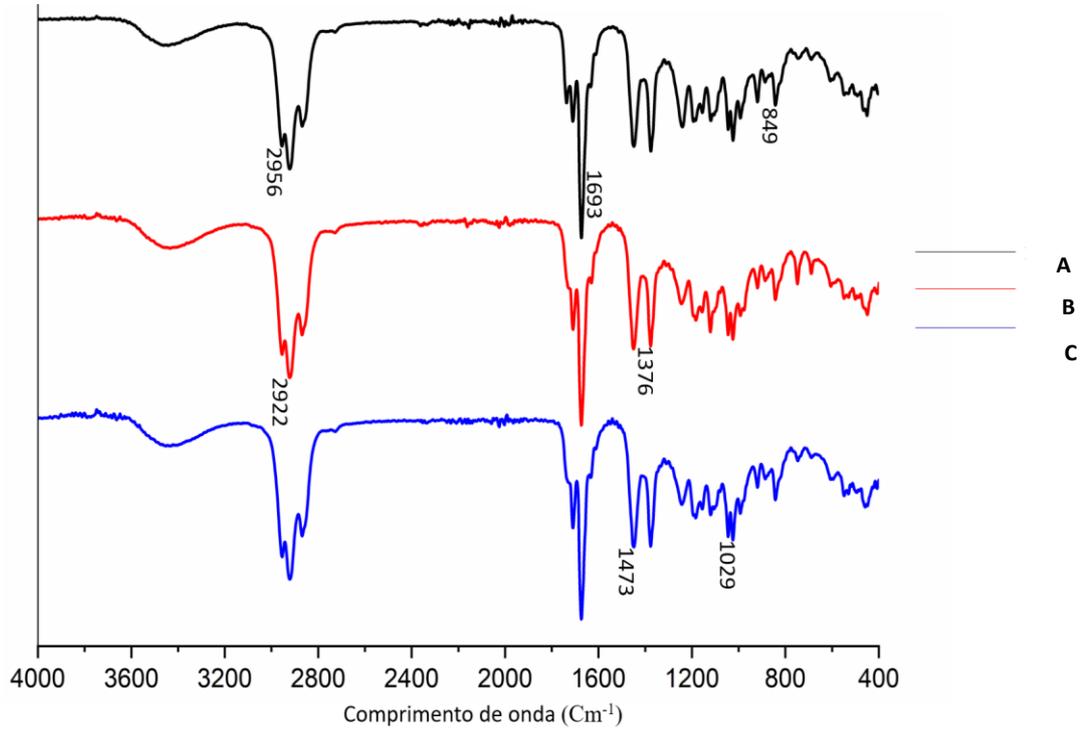
Para que a produção da manta de PLA tivesse as melhores propriedades físicas e químicas na incorporação dos óleos essenciais, tendo uma boa interação entre os grupos funcionais do polímero e os compostos dos óleos essenciais, levaram-se em conta todas as variáveis: taxa de alimentação, pressão do ar, temperatura ambiente da câmara, concentração da solução e o peso molecular do polímero, entre outros, fatores listados como importantes na literatura (MEDEIROS *et al.*, 2009; NORBERTO 2020).

Na Figura 8, encontram-se os Espectros de FTIR dos picos característicos próprios das combinações dos óleos essenciais dos ensaios A (6,4%; preto), B (12,9%; vermelho) e C (14,6%; azul).

Na Figura 9 encontram-se os Espectros de FTIR dos picos característicos próprios de cada óleo essencial incorporado na produção da manta de PLA.

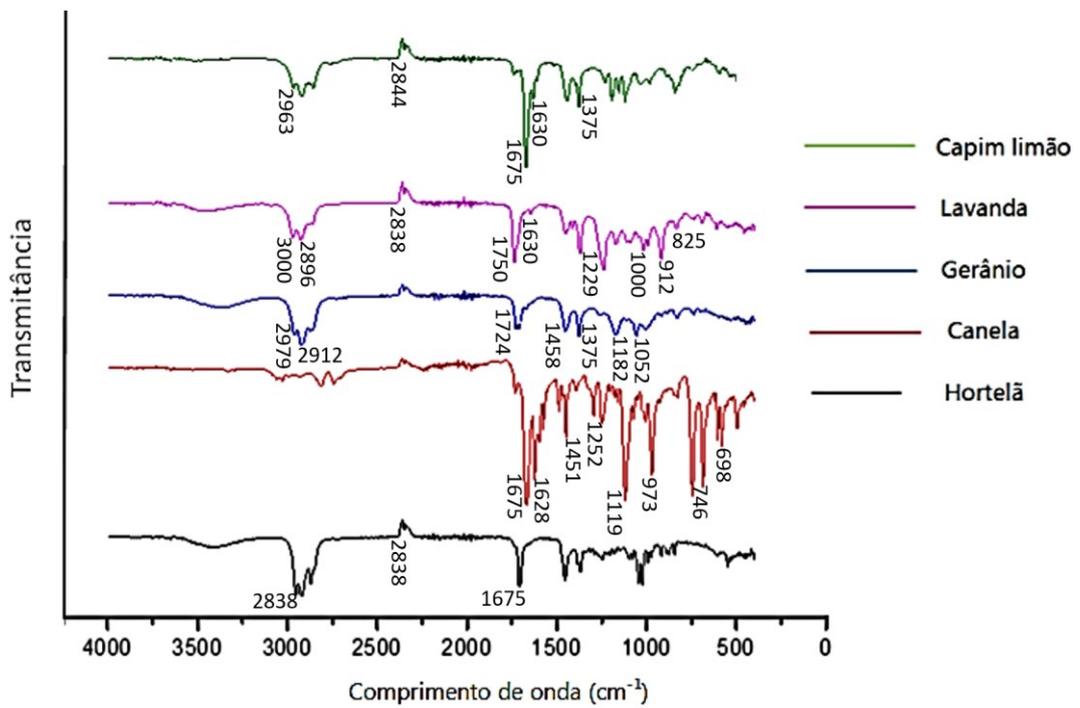
Comparando as duas figuras, observa-se que os espectros da Figura 8 se assemelham aos espectros mostrados na Figura 9, confirmando uma boa interação entre os grupos funcionais do polímero e os compostos dos óleos essenciais; como é o pico 2956, 2922, 1693, 1473, 1376, 849 cm^{-1} os quais são próximos à Figura 8 do PLA puro.

Figura 8 - Espectros de FTIR das mantas elaboradas com as misturas de óleos essenciais nas concentrações finais de: A (6,4%), B (12,9%) e C (14,6%)



Fonte: Do autor (2022).

Figura 9 - Espectros de FTIR dos óleos essenciais puros utilizados na elaboração da manta de PLA



Fonte: Do autor (2022).

O espectro de FTIR do óleo essencial da canela puro (FIGURA 9) mostra a presença dos picos característicos de grupos funcionais; observando-se na faixa entre 1800–600 cm^{-1} os picos 1675 e 1628 cm^{-1} , correspondem à vibração de estiramento de um aldeído carbonílico -C=O e C=C, correspondendo a altos níveis de cinamaldeído e derivados; o pico em 1451 cm^{-1} é característico de uma absorção de vibração de flexão de álcool C=OH; o pico em 1252 cm^{-1} corresponde à vibração de estiramento de um éster de ácido aromático C-O-C; o pico em 1119 cm^{-1} é atribuído às vibrações de estiramento de -C=O e às vibrações de deformação de C=OH; o pico em 973 cm^{-1} é atribuído à vibração de flexão C-H absorção, e os picos em 746 e 689 cm^{-1} são atribuídos à absorção de vibração de C-H do anel de benzeno. Conforme encontrado na literatura (YAN-QUN *et al.*, 2013).

O espectro de FTIR do óleo essencial de lavanda puro (FIGURA 9) mostra a presença dos picos característicos de seus grupos funcionais; o pico de 3000 cm^{-1} corresponde ao alongamento O-H de grupos hidroxila (álcoois, fenóis e ácidos) e também de estiramento N-H em aminas I, II e amidas. Os picos entre 2896 e 2838 cm^{-1} ocorrem devido à vibração C-H (estiramento) de grupos alifáticos. A banda em 1630 cm^{-1} foi atribuída à vibração -C=O de cetonas, aldeídos, quininos e ésteres conjugados ligados. As bandas em 1229, por volta de 1000 e aquele em 912 cm^{-1} são atribuídos ao alongamento de C – O em C – O e H e C – O em ligações C – O e C, respectivamente. Conforme na literatura (SZYMCZYCHA-MADEJA; WELNA; ZYRNICKI, 2013; PELISSARI *et al.*, 2012; POLA *et al.*, 2016; WEN-QIONG; YI-HONG; YING, 2013 apud RASHED *et al.*, 2019, p. 73).

O espectro de FTIR do óleo essencial de gerânio puro (FIGURA 9) mostra a presença dos picos característicos de seus grupos funcionais; observando-se na faixa de 2979-737 cm^{-1} . O pico em 2979 cm^{-1} pode ser devido ao alongamento O-H, vibrações de álcoois. O pico em 2912 cm^{-1} é resultado das vibrações do anel C=C–C de compostos voláteis. As bandas em 1724 cm^{-1} podem ser atribuídas ao estiramento de carbonila (-C=O) vibrações do formiato de nerila. Os picos agudos em 1458 e 1375 cm^{-1} podem corresponder à deformação CH₂ e vibrações de deformação -CH₃ assimétricas dos monoterpênóides. A banda aguda em 1182 cm^{-1} pode ser atribuída ao C-O, vibrações de alongamento. As bandas em 1052 e 825 cm^{-1} podem corresponder às vibrações de metileno e vibrações de flexão fora do plano C-H, respectivamente, conforme citado na literatura Conforme na literatura (CEBI; ARICI; SAGDIC, 2021b; TAYLAN; CEBI; SAGDIC, 2021; AGATONOVIC-KUSTRIN *et al.*, 2020; BERECHET *et al.*, 2015 apud NUR CEBI, 2021, p. 812).

O espectro de FTIR do óleo essencial de hortelã puro (FIGURA 9) mostra a presença dos picos característicos dos grupos funcionais; observando-se os picos 2948 cm^{-1} , 1675 cm^{-1}

e 2838 cm^{-1} respectivamente. No entanto, uma banda de estiramento C-H fortemente ligada e pequeno harmônico devido à banda -C=O . Conforme na literatura (KAUR *et al.*, 2018).

O espectro de FTIR do óleo essencial de capim limão puro (FIGURA 9) mostra a presença dos picos característicos dos grupos funcionais; observando-se uma banda na forma de tripleto, entre 2963 cm^{-1} e 2844 cm^{-1} que pode ser atribuída a grupos metílicos (CH_3), metilênicos (CH_2) e metínicos (C-H), confirmados pelo dubletos próximo a 1675 cm^{-1} , equivalente às deformações angulares do grupo. A banda intensa ocorre entre 1630 e 1375 cm^{-1} , característica da carbonila (-C=O). Conforme na literatura (PRADO, 2019).

As análises FTIR forneceram evidências da presença dos compostos de óleos essenciais na manta de PLA feitas pelo processo SBS; confirmando, uma vez mais, que o polímero utilizado neste estudo é promissor para futuras pesquisas.

De forma geral, as mantas de PLA apresentam o mesmo comportamento em seu espectro quando adicionada de óleos essenciais, ou seja, uma boa miscibilidade entre o polímero e os compostos dos óleos essenciais empregados na produção das mantas, isso assegura a entrega dos compostos dos óleos essenciais durante as análises microbiológicas feitas, sendo, dessa forma, bom suporte para os mesmos.

A vida útil da manta adicionada dos óleos essenciais, avaliada após três meses de armazenamento, foi avaliada utilizando-se as análises de MEV e FTIR e os resultados mostraram que esse polímero mantém os óleos essenciais durante a vida útil dos óleos nesse período de estocagem. Porém, não foram realizadas análises microbiológicas para verificação da atividade antimicrobiana da manta.

4 CONCLUSÃO

Esse trabalho mostrou que a produção do curativo elaborado com a manta fiada com PLA e óleos essenciais de canela, hortelã do campo, gerânio, lavanda e capim limão apresentam potencial antimicrobiano sobre cepas de *S. aureus*. Vale ressaltar que existem poucos relatos na literatura onde a manta de PLA foi fixadas juntamente com óleos essenciais. Dessa forma esse trabalho apresenta caráter inovador.

REFERÊNCIAS

- AHMED, J. et al. Antimicrobial, rheological, and thermal properties of plasticized polylactide films incorporated with essential oils to inhibit *Staphylococcus aureus* and *Campylobacter jejuni*. **J Food Sci.** v. 81, n. 2, p. E419-429, 2016.
- AGATONOVIC-KUSTRIN, S. et al. Essential oil quality and purity evaluation via FT-IR Spectroscopy and pattern recognition techniques. **Appl. Sci.** v. 10, n. 20, 7294 p, 2020.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils: a review. **Food Chem Toxicol.** v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008. DOI: 10.1016/j.fct.2007.09.106.
- BARROS, M. P. L. et al. Caracterização de feridas crônicas de um grupo de pacientes acompanhados no domicílio. **R. Interd.** v. 9, n. 3, p. 1-11, 2016. ISSN 2317-5079.
- BERECHET, M.D. et al. Composition of the essential oil of *Rosa damascena* Mill. cultivated in Romania. **Rev. Chim.** v. 66, p. 1986–1991, 2015.
- BILBAO-SAINZ, C. et al. Solution blow spun poly (lactic acid)/hydroxypropyl methylcellulose nanofibers with antimicrobial properties. **Eur Polym J.** v. 54, n. 1, p. 1-10, 2014. DOI:10.1016/j.eurpolymj.2014.02.004.
- BOUKHATEM, M. N.; KAMELI, A.; SAIDI, F. Essential oil of Algerian rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*): Chemical composition and antimicrobial activity against food spoilage pathogens. **Food Control.** v. 34, p. 208 – 213, 2013.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. **Int J Food Microbiol.** v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Altera a Portaria de Consolidação nº 2/GM/MS, de 28 de setembro de 2017, para incluir novas práticas na Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares - PNPIC.** 2018. https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2018/prt0702_22_03_2018.html.
- BRETAS, R. E. S; D'ÁVILA, M. A. **Reologia de Polímeros Fundidos.** 2. ed. São Carlos: EdUFSCar. 131 p, 2005.
- CAZELLA, L. N. et al. Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) Aerial Parts at Flowering Period. **Front. Plant Sci.** v. 10, n. 27, 2019. DOI: 10.3389/fpls.2019.00027.
- CEBI, N.; ARICI, M.; SAGDIC, O. The famous Turkish rose essential oil: Characterization and authenticity monitoring by FTIR, Raman and GC–MS techniques combined with chemometrics. **Food Chem.** v. 354, n. 129495, 2021b.
- CHANDRA, J. L. L. et al. In vitro and in vivo activity of a novel catheter lock solution against bacterial and fungal biofilms. **J. Antimicrobial Agents and Chemotherapy.** v. 62, 2018. DOI: 10.1128/AAC.00722-18.

- CHEW, S. C. et al. Matrix Polysaccharides and SiaD Diguanylate Cyclase Alter Community Structure and Competitiveness of *Pseudomonas aeruginosa* during Dual-Species Biofilm Development with *Staphylococcus aureus*. **ASM J.** v. 9, n. 6, 2018.
<https://doi.org/10.1128/mBio.00585-18>.
- CHIENG, B. et al. Poly (lactic acid)/poly (ethylene glycol) polymer nanocomposites: effects of graphene nanoplatelets. **Polymers.** v. 6, n. 1, p. 93-104, 2013.
- ELING, B.; GOGOLEWSKI, S.; PENNING, A. J. Biodegradable materials of poly(l-lactic acid): 1. Melt-spun and solution-spun fibres. **Polymer.** v. 23, p. 1587-1593, 1982.
[https://doi.org/10.1016/0032-3861\(82\)90176-8](https://doi.org/10.1016/0032-3861(82)90176-8).
- EUCAST. **European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.** Version 9.0. 2019.
http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_9.0_Breakpoint_Tables.pdf.
- FERREIRA, F. D. SISVAR: A computer statistical analysis system. **Ciênc. agrotec., Lavras.** v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FIRMINO, F. D. et al. Antibacterial and Antibiofilm Activities of *Cinnamomum* Sp. Essential Oil and Cinnamaldehyde: Antimicrobial Activities. **Scientific World Journal: Hindawi.** 9 p, 2018. doi:10.1155/2018/7405736.
- FREIRE, I. C. M. et al. Atividade antibacteriana de Óleos Essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. **Rev. Bras. Pl. Med: Campinas.** v. 16, n. 2, p. 372-377, 2014.
- FU, L. et al. Anisotropic shape memory behaviors of polylactic acid/citric acid–bentonite composite with a gradient filler concentration in thickness direction. **Industrial & Engineering Chemistry Research.** v. 57, n. 18, p. 6265-6274, 2018.
DOI:10.1021/acs.iecr.8b00602.
- GRANADOS-HERNANDEZ, M. V. et al. In vitro and in vivo biological characterization of poly (lactic acid) fiber scaffolds synthesized by air jet spinning. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater.** v. 106, n. 6, p. 2435-2446, 2018.
- IGLESIAS, M. M. L. et al. Design and characterization of PLA bilayer films containing lignin and cellulose nanostructures in combination with umbelliferone as active ingredient. **Front Chem.** v. 7, 157 p, 2019.
- JOHARI, A. P. et al. Influence of different treated cellulose fibers on the mechanical and thermal properties of poly (lactic acid). **ACS Sustainable Chemistry & Engineering.** v. 4, n. 3, p. 1619-1629, 2016. DOI:10.1021/acssuschemeng.5b01563.
- KASE, S.; MATSUO, T. Studies on melt spinning. I. Fundamental equations on the dynamics of melt spinning. **J Polym Sci Part A: Gen Pap.** v. 3, p. 2541-2554, 1965.
- KATAYAMA, K.; NAKAMURA, K.; AMANO, T. Structural formation during melt spinning process. **Kolloid-Z.u.Z.Polymere.** v. 226, p. 125–134, 1968.
<https://doi.org/10.1007/BF02086256>.

KAUR, H. et al. Chemical composition and antifungal activity of essential oils from aerial parts of *Mentha piperita* and *Mentha arvensis*. **Int J Pharmacognosy**. v. 5, n. 12, p. 767-73, 2018. <http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.IJP>.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Quim. Nova**. v. 27, n. 4, p. 670-673, 2004.

LUTZ, L. D. et al. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. **Phytochemistry**. v. 69, p. 1732–1738, 2008.

MARRA, A.; CIMMINO, S.; SILVESTRE, C. et al. Effect of TiO₂ and ZnO on PLA degradation in various media. **Advanced Material Science**. v. 2, n. 2, 2017.

MEDEIROS, E. S. et al. Solution blow spinning: A new method to produce micro-and nanofibers from polymer solutions. **Journal of applied polymer science**. v. 113, n. 4, p. 2322-2330, 2009.

MOHAMMAD, R. F. et al. Accelerated healing by topical administration of *Salvia officinalis* essential oil on *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* infected wound model. **Biomed Pharmacother**. p. 128. 2020. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110120.

NAJAT, B. et al. In Vitro Antibacterial Activity and Chemical Composition of Essential Oil of *Mentha arvensis* Linn. Leaves. **TEOP**. v. 19, n. 4, p. 907-915, 2016.

NORBERTO, F. A. **Desenvolvimento de nanofibras incorporadas com óleos essenciais de cravo-da-índia, tomilho e capim-limão para o controle in vitro de *penicillium digitatum***. Dissertação (Mestrado em Plantas Medicinais Aromáticas e Condimentares) Universidade Federal de Lavras – M.G. 2020.

NUR CEBI. Chemical Fingerprinting of the Geranium (*Pelargonium graveolens*) Essential Oil by Using FTIR, Raman and GC-MS Techniques. **European Journal of Science and Technology**. n. 25, p. 810-814, 2021. DOI: 10.31590/ejosat.969661.

OLIVEIRA, E. J. et al. Nano and Submicrometric Fibers of Poly (D, L-Lactide) Obtained by Solution Blow Spinning: Process and Solution Variables. **Journal of Applied Polymer Science**. v. 122, n. 5, p. 3396-3405, 2011. <https://doi.org/10.1002/app.34410>.

PELISSARI, F. M. et al. Constrained mixture design applied to the development of cassava starch–chitosan blown films. **J. Food Eng.** v. 108, p. 262–267, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.004>.

PÉREZ-RECALDE, M.; ARIAS, R. I. E.; HERMIDA, B. É. Could essential oils enhance biopolymers performance for wound healing? A systematic review. **Phytomedicine**. v. 38, p. 57-65, 2018.

POLA, C.C. et al. Cellulose acetate active films incorporated with orégano (*Origanum vulgare*) essential oil and organophilic montmorillonite clay control the growth of phytopathogenic fungi. **Food Packag. Shelf Life**. v. 9, p. 69–78, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2016.07.001>.

PRADO, G. D. **Estudo do comportamento do titânio recoberto com apatita e dopado com nanopartícula de prata e óleo essencial**. Dissertação (Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais). Universidade Federal de Alfenas campus Poços de Caldas. 2019.

QIN, Y. et al. Development of active packaging film made from poly (lactic acid) incorporated essential oil. **Progress in Organic Coatings**. v.103, p. 76-82, 2017.

RASHED, M. M. A. et al. Techno-functional properties and sustainable application of nanoparticles-based *Lavandula angustifolia* essential oil fabricated using unsaturated lipid-carrier and biodegradable wall material. **Industrial Crops and Products**. v. 136, n. 15, p. 66 – 76, 2019.

RIEDEL, S. et al. **Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick & Adelberg**. 28^a ed. Ed. Mcgraw-Hill. 874 p, 2020.

SANUSI, O. M. et al. Effect of rigid nanoparticles and preparation techniques on the performances of poly (lactic acid) nanocomposites: A review. **Polymers for Advanced Technologies**. v. 32, n. 2, p. 444-460, 2020. DOI: 10.1002/pat.5104.

SMANIOTTO, S. P. H. et al. Sistematização de curativos para o tratamento clínico das feridas. **Rev Bras Cir Plást**. v. 27, n. 4, p. 623-6, 2012.

SOUZA, E. R. L de. et al. *Lavandula angustifolia* Miller e sua utilização na Odontologia: uma breve revisão. **Arch Health Invest**. v. 7, n. 12, p. 539-545, 2018. <http://dx.doi.org/10.21270/archi.v7i12.3125>.

SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; WELNA, M.; ZYRNICKI, W. Multi-Element Analysis, Bioavailability and Fractionation of Herbal Tea Products. **J. Braz. Chem. Soc**. v. 24, n. 5, p. 777-787, 2013. <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20130102>.

TAYLAN, O.; CEBI, N.; SAGDIC, O. Rapid screening of *mentha spicata* essential oil and l-menthol in mentha piperita essential oil by ATR-FTIR spectroscopy coupled with multivariate analyses. **Foods**. v. 10, n. 2, 202 p, 2021.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS. Biblioteca Universitária. **Manual de normalização e estrutura de trabalhos acadêmicos: TCCs, monografias, dissertações e teses**. 3. ed. rev., atual. e ampl. Lavras, 2020. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/11017>. Acesso em: 08/10/2021.

UPADHYAY, N. et al. Assessment of nanoencapsulated *Cananga odorata* essential oil in chitosan nanopolymer as a green approach to boost the antifungal, antioxidant and in situ efficacy. **Int J Biol Macromol**. v. 171, p. 480-490, 2021. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2021.01.024.

VOINESKOS, S. H. et al. Systematic review of skin graft donor-site dressings. **Plastic and Reconstructive Surgery**. v. 124, n. 1, p. 298-306, 2009. DOI: 10.1097/PRS.0b013e3181a8072f.

WANDERSON DA SILVA, M. et al. Lemongrass (*Cymbopogon citratus* DC. Stapf) essential oil microparticles: Development, characterization, and antioxidant potential. **Food Chemistry**. 355 p, 2021.

WEN-QIONG, W.; YI-HONG, B.; YING, C. Characteristics and antioxidant activity of water soluble Maillard reaction products from interactions in a whey protein isolate and sugars system. **Food Chem.** v. 139, p. 355–361, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.072>.

YAN-QUN, L. et al. Variations in essential oil yields and compositions of *Cinnamomum cassia* leaves at different developmental stages. **Industrial Crops and Products.** n. 47, p. 92–101, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.02.031>.

YIN, Q. et al. Butenolide, a Marine-Derived Broad-Spectrum Antibiofilm Agent Against Both Gram-Positive and Gram-Negative Pathogenic Bacteria. **Marine Biotechnology.** n. 21, 88–98 p. 2019. doi: 10.1007/s10126-018-9861-1.

YOUNES, H. & COHN, D. Phase separation in poly (ethylene glycol)/poly (lactic acid) blends. **European Polymer Journal.** v. 24, p. 765–773, 1988.

CAPÍTULO 4 - INCORPORAÇÃO DE MISTURAS DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM MANTA DE POLI ÁLCOOL VINÍLICO (PVA): CARACTERÍSTICAS E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA SOBRE *Staphylococcus aureus*

RESUMO

Staphylococcus aureus é uma das bactérias mais envolvidas em processos infecciosos em feridas em seres humanos e animais. Por serem oportunistas sobre o tecido lesionado, essa bactéria tem a capacidade de formar biofilmes, causando na maioria das vezes feridas persistentes. Por apresentar múltipla resistência a antibióticos, o controle de *S. aureus* se torna cada vez mais difícil. Assim, baseando-se nos princípios da aromaterapia, o trabalho visou obter manta de poli álcool vinílico (PVA) pela técnica de SBS com as misturas dos óleos essenciais de lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill.), canela (*Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl), capim limão (*Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) W. Watson), gerânio do Egito (*Pelargonium graveolens* L'Hér.) hortelã do campo (*Mentha arvensis* L.), apresentando efeitos antimicrobiano sobre as cepas de *S. aureus*, no que concerne com o objetivo proposto em função do controle de infecções persistentes de feridas, apresentando caráter viável e inovador. As mantas fiadas apresentaram-se com em escala nano, lisas e com pouco emaranhados (defeitos) tanto com quanto sem óleos essenciais. Houve ação antimicrobiana sobre *S. aureus*. Entretanto, mais estudos devem ser conduzidos para aumentar essa atividade.

Palavras-chave: Aromaterapia. Antimicrobianos naturais. Patógeno cutâneo. Cicatrização de feridas. Biopolímeros. Óleos voláteis.

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is one of the bacteria mostly involved in infectious processes in wounds in humans and animals. These pathogens are opportunistic thus have the ability to form biofilms, most often causing persistent wounds. Due to its multiple resistance to antibiotics, the control of *S. aureus* becomes increasingly difficult. Thus, based on the principles of aromatherapy, the work aimed to obtain a polyvinyl alcohol (PVA) blanket using the blow spinning technique SBS technique with mixtures of essential oils of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.), cinnamon (*Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl), lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) W. Watson), Egyptian geranium (*Pelargonium graveolens* L'Hér.), and field mint (*Mentha arvensis* L.), presenting antimicrobial effects on the strains of *S. aureus*, with regard to the proposed objective based on the control of persistent wound infections, presenting a viable and innovative character. The spun blankets were on a nano scale, smooth and with little tangles (defects) both with and without essential oils. There were antimicrobial activities on *S. aureus*. However, more studies should be conducted to increase this activity.

Keywords: Aromatherapy. Natural antimicrobials. Skin pathogen. Natural healing. Wound healing. Biopolymers. Volatile oils.

1 INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus é uma bactéria pertencente à microbiota dos seres humanos e animais encontrada comumente na pele e nas mucosas; isolados de *S. aureus* podem causar infecções de diferentes graus de gravidade uma vez que tenham acesso ao tecido lesionado ou ferida (LIMA *et al.*, 2015). Esses podem ser encontrados na forma de biofilme, infeccionando o ferimento, culminando na formação de feridas crônicas (curso prolongado de cura e ameaça de recorrência da lesão (JOAQUIM *et al.*, 2017 apud ARAÚJO *et al.*, 2020, p. 2). Um dos fatores que contribuem para a dificuldade de erradicação de *S. aureus* das feridas é sua capacidade em apresentar resistência a várias classes de antibióticos comumente empregados na medicina, sendo muitas vezes multirresistentes (ALVES D. *et al.*, 2018; BECKER; DIAS; MACEDO, 2018; CHANDRA *et al.*, 2018; LIMA *et al.*, 2015; TROMBETTA *et al.*, 2018).

A multirresistência bacteriana se apresenta tão crítica que recentemente foi divulgado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) divulgou um relatório solicitando o severo controle do uso dos antibióticos tanto em seres humanos quanto na agroindústria. Diante desse cenário, a procura por terapias alternativas, dentre elas destacam-se a Aromaterapia, ou terapia dos óleos essenciais; os óleos essenciais têm se mostrado eficientes no controle de vários microrganismos, apresentando atividade bactericida, fungicida, antiviral, antiparasitário, dentre outros (ALMEIDA *et al.*, 2012; DAWOOD *et al.*, 2021; FIRMINO *et al.*, 2018; TROMBETTA *et al.*, 2005). Também apresentam ação antioxidante, cicatrizante, anti-sépticas e anti-inflamatórias (ACEVEDO *et al.*, 2009; GAZIM *et al.*, 2007; SOUSA *et al.*, 2019; VALERIANO *et al.*, 2012). A utilização dos óleos essenciais tem sido tão significativa, que em 2018, no Brasil, o Ministério da Saúde, incluiu a sua prática no Sistema Único de Saúde (SUS), como parte da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) (BRASIL 2018).

O tratamento de feridas, inclui tratamentos clínicos e cirúrgicos, sendo o “curativo” o tratamento clínico mais utilizado para auxiliar na reparação tecidual (VOINESKOS *et al.*, 2009). A escolha do tipo de curativo e sua composição podem ser essenciais para a cicatrização e recuperação tissular (SMANIOTTO *et al.*, 2012).

O conceito de nanotecnologia vem sendo aprimorado de acordo com os avanços da ciência, por isso ainda não há um conceito internacional consensual para o termo. Na área da saúde, a European Medicines Agency define a nanotecnologia como o uso de pequenas estruturas: menores de 1.000 nanômetros de diâmetro que são projetadas para apresentar propriedades específicas. Particularmente nas áreas de nanotecnologia farmacêutica e de nanomedicina, os esforços em pesquisa e desenvolvimento (P&D) visam principalmente projetar nanomedicamentos para oferecerem vantagens em

relação aos seus homólogos, principalmente devido às características adquiridas devido ao tamanho reduzido e elevada área superficial (DIMER *et al.*, 2013, p.1520).

As nanofibras são compostas de polímeros e utilizadas no processo de nanotecnologia (RODRIGUES *et al.*, 2022). Permitem alta relação área/volume, alto desempenho de propriedades mecânicas e alta capacidade de funcionalização da superfície (PATAQUIVA; COBA, 2018).

Entre os métodos de fiação que estão sendo utilizados para a produção de micro e nanofibras para aplicações biomédicas se encontra a técnica *Solution Blow Spinning* (SBS) ou fiação por sopro em solução por ser de baixo custo (DARISTOTLE *et al.*, 2016) que foi desenvolvida por Medeiros *et al.* (2009) como alternativa à técnica electrospinning para a produção de fibras poliméricas.

Vários são os polímeros que podem ser utilizados para a obtenção de nanofibras, dentre eles destaca-se o Poli álcool vinílico (PVA).

O PVA é um polímero sintético, hidrofílico que apresenta boa capacidade de formação de filmes; boa estabilidade química, térmica, mecânica, permeabilidade à água, potencial anti-incrustante, baixa pressão operacional, é biocompatível, sendo alternativa como polímero biodegradável porque até o momento tem sido observada sua degradação por microrganismo como *Fusarium lini*, espécies de *Pseudomonas*, *Brevibacterium incertum*, *Alcaligenes* e *Bacillus* (BAKER *et al.*, 2012; BOLTO *et al.*, 2009; NORD, 1936; SAKAI; HAMADA; WATANABE *et al.*, 1986; WATANABE, 1975 apud CHIELLINI *et al.*, 2003, p. 971, 977; FARIA; VERCELHEZE; MALI, 2012).

O PVA é obtido a partir do homopolímero parental poli (acetato de vinil) (PVAc) (CHIELLINI *et al.*, 2003) a partir de sua polimerização que ocorre através de um mecanismo de radicais livres do vinil acetato, geralmente em solução alcoólica (metanol, etanol) (MARTEN; ZVANUT, 1992 apud CHIELLINI *et al.*, 2003, p. 969). O PVA é produzido em escala industrial pela hidrólise (metanólise) de PVAc, muitas vezes em reator, realizadas em batelada ou em processos contínuos (CHIELLINI *et al.*, 2003), sendo utilizado para aplicações de tratamento de água na forma de membranas, produção de embalagens biodegradáveis (BOLTO *et al.*, 2009), também para alguns dos usos médicos mais comuns são em lentes de contato gelatinosas, colírios, partículas de embolização, barreiras de adesão tecidual e como cartilagem e menisco artificial (BAKER *et al.*, 2012). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi obter mantas de nanofibras de PVA fiadas com diferentes misturas de óleos essenciais e avaliar sua atividade antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Óleos essenciais

A partir dos resultados obtidos do DCCR descrito no Capítulo 2 foram selecionadas três concentrações totais de misturas de óleos essenciais: menor, média e elevada, sendo os ensaios 1 (6,4%); 31 (12,9%); 32 (14,6%) mostrados na Tabela 6 do Capítulo 2.

2.2 Produção da manta de poli álcool vinílico (PVA) com óleos essenciais

O processo de elaboração das mantas de PVA se deu no Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico do Departamento de Física da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

As emulsões foram realizadas com os ensaios 31 e 32 (CAPÍTULO 2), utilizando-se os resultados gerados pelo DCCR da Tabela 6. Cada uma das emulsões fora misturada em um tubo Falcon, sendo compostas por óleos essenciais até completar um volume de 5 mL de água destilada estéril com Tween 80® a uma concentração de 0,5% (v/v), e em seguida, homogeneizada com o auxílio de agitador tipo vórtex.

As soluções poliméricas foram preparadas contendo poli álcool vinílico (PVA) diluído em água destilada e nas nanoemulsões anteriormente preparadas com a concentração de 12% (m/v). Para cada tipo de nanofibra foram preparados 20 mL da solução em um béquer que foi mantido fechado para impedir a volatilização do solvente. A solução polimérica foi preparada em banho maria à 90°C, e, sob agitação magnética por, aproximadamente, 50 minutos. Após a completa diluição do polímero, a solução foi submetida à análise de reologia, sendo posteriormente transferida para uma seringa de plástico de 20 mL e conectada ao sistema de Solution Blow Spinning (SBS) (BRETAS; D'AVILA, 2005).

2.2.1 Sistema de fiação por sopro de solução (SBS)

As fibras poliméricas de PVA em água (PVA) e emulsões com as diferentes concentrações de óleos essenciais foram produzidas a partir da técnica sistema de fiação por sopro de solução (SBS), utilizando suas respectivas soluções poliméricas e o aparato padrão descrito por Medeiros *et al.* (2009), com algumas modificações.

O sistema de SBS consistiu em um bocal concêntrico no qual a solução polimérica foi alimentada pelo bocal interno e o ar pressurizado foi alimentado pelo bocal externo por um compressor (CHIAPERINI MC 12 BPV 150L), com a utilização de ar pressurizado aquecido e solução polimérica aquecida, ambos com temperatura controlada.

No processo de fixação a distância de protusão do bocal interno em relação ao externo foi de 15 mm. O controle da taxa de alimentação da solução polimérica foi realizado por uma bomba de seringa (NE - 300; New Era Pump Systems), sendo que a taxa de injeção da solução polimérica aplicada foi de 4 mL.h⁻¹ e a pressão do ar foi 70 Psi. A umidade do ambiente foi mantida em 41 ± 1 % e as temperaturas do ambiente, da seringa de plástico contendo a solução polimérica e do ar pressurizado foram 37 ± 1°C, 45 ± 2°C e 40 ± 2°C, respectivamente. Além disso, um coletor fabricado a partir de tela de arame, sob rotação, foi colocado a uma distância de trabalho (WD) de 40 cm em relação ao bocal concêntrico de acordo com Medeiros *et al.* (2009) com modificações.

As fibras produzidas coletadas no coletor pesaram aproximadamente um gramo; foram divididas em duas partes, a primeira foi imediatamente avaliada contra as cepas de *S. aureus* GL 8702, GL 8548 e GL 5674; a segunda foi armazenada em potes herméticos (coletadas em papel de alumínio), sob refrigeração a 8°C e ao abrigo de luz até serem utilizadas nas análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR).

2.3 Atividade antimicrobiana do filme de PVA sobre *S. aureus*

Para a ação inibitória do filme de PVA contendo a combinação de óleos essenciais dos ensaios 31 e 32 foi realizada através da técnica de submersão e visualizados em placas de TSA e Baird Parker (BP); também sendo os filmes de PVA testado simultaneamente submetido por 5 minutos a lâmpada UV com o propósito de ser esterilizado e sem perder sua propriedade antimicrobiana. Se houvesse menor crescimento da cepa, a análise da atividade antimicrobiana seria realizada através da diluição das amostras que por turbidez apresentaram menor crescimento de acordo com o controle positivo.

A técnica de submersão consistiu em alíquotas de 20 µL da cultura padronizada em cerca de 10⁸ UFC/mL das cepas GL 8702; GL 8548 e GL 5674 foram dispensadas respectivamente em cada tubo Falcon contendo 5 mL de caldo BHI e os filmes, sendo em seguida, incubados a 37°C por 24 h. Após esse período, foram acrescentados 5 mL de caldo

BHI aos tubos Falcon e incubados a 37°C por 24 h. Após esse período, foi observada a presença ou ausência de crescimento das cepas de *S. aureus*.

Os resultados foram comparados segundo o controle, e os tubos que não apresentaram turbidez ou menor turbidez, foram semeadas e espalhadas em placas de Petri e incubadas a 37°C por 24 h. Após esse período, foram contadas. Fonte: Do autor (2021).

2.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As análises de Microscopia Eletrônica de Varredura foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural, situado no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG.

As amostras foram realizadas no tempo zero, coladas em stubs de alumínio com o auxílio de uma fita dupla face de carbono, recobertas com ouro e auxílio de um aparelho evaporador de ouro (BALTEC-050) e analisadas em Microscópio eletrônico de varredura de ultra alta resolução, livre de campo FEG-SEM (Tescan Clara, República Tcheca).

2.5 Caracterização por Espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR)

As análises foram realizadas no laboratório de espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier, situado no Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG.

Para a caracterização dos grupos funcionais dos compostos orgânicos contidos na manta de PVA realizadas no tempo zero, contendo a combinação de óleos essenciais dos ensaios 31 e 32 e sua interação com os diferentes óleos utilizados na produção das fibras, bem como avaliar a incorporação dos óleos essenciais na matriz polimérica produzidas através da fiação por sopro, foram realizadas análises de espectroscopia vibracional no infravermelho empregando um espectrômetro FT-IR Varian 600-IR com transformada de Fourier (FTIR), com acessório GladiATR da Pike Technologies acoplado para medidas por reflectância total atenuada (ATR) a 45° com cristal de seleneto de zinco. A faixa espectral analisada foi de 400 a 4.000 cm⁻¹, resolução de 4 cm⁻¹ e 32 varreduras (LOPES; FASCIO, 2004).

2.6 Análise estatística

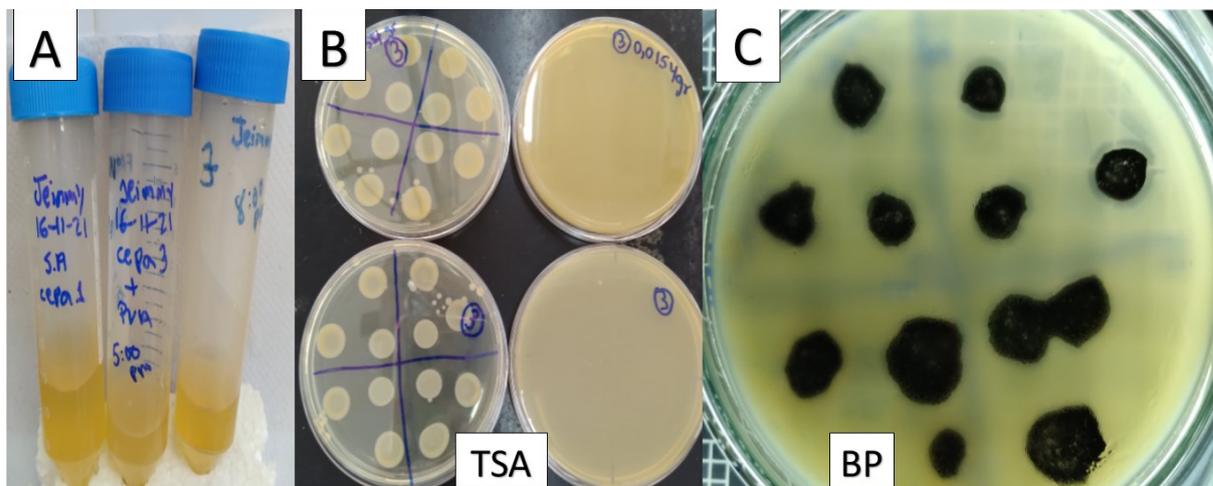
Os resultados dos diâmetros das mantas de PVA contendo a combinação de óleos essenciais dos ensaios 31 e 32; calculados ao 12% (m/v) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade, usando no software Sisvar (FERREIRA, 2011).

3 DISCUSSÃO DE RESULTADOS

3.1 Ação antimicrobiana da manta de PVA fiada com óleos essenciais sobre *S. aureus*

Através da técnica de submersão, pode ser observada uma redução no crescimento celular nos ensaios 31 e 32 em comparação ao controle positivo (FIGURA 1).

Figura 1 - Ilustração da avaliação da ação inibitória da manta PVA contendo a combinação de óleos essenciais do ensaio 32 (técnica de submersão)

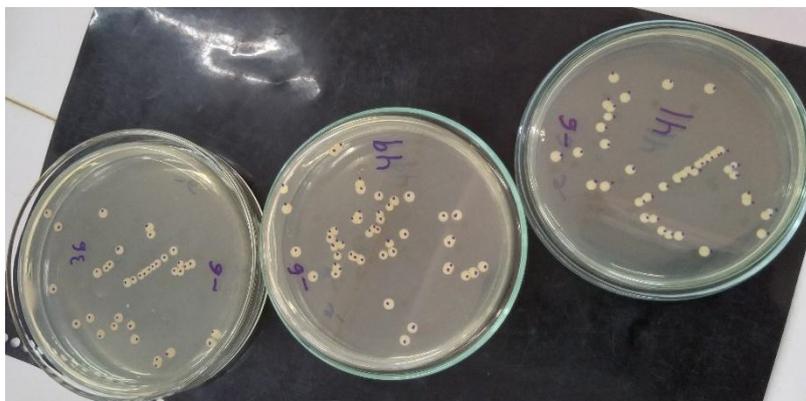


Legenda: Onde A: O tubo Falcon de 150 mL que se encontra à esquerda é o controle positivo (presença do microrganismo); do meio, tem cultura e manta fiada com mistura de óleos essenciais do ensaio 32 (14,6% de óleo) e o seguinte é o controle negativo (ausência do microrganismo); B: São as placas semeadas dos tubos Falcon de 150 mL, onde de esquerda para direita, a primeira e terceira placa corresponde ao tubo do meio. A segunda placa é o controle positivo e a quarta placa é o controle negativo; C: A placa mostra o crescimento da cepa avaliada de *S. aureus*, onde os pontos pretos se observam espaços brancos (ausência da cepa avaliada).

Fonte: Do autor (2021).

A Figura 2 ilustra os resultados obtidos da ação inibitória da manta de PVA contendo óleos essenciais dos ensaios 31 e 32 gerados pelo DCCR da Tabela 6 (CAPÍTULO 2) sobre as cepas de *S. aureus* pela técnica de submersão. Os resultados demonstraram a ação antimicrobiana da manta.

Figura 2 - Ilustração do experimento da avaliação da ação inibitória da manta de PVA contendo a combinação de óleos essenciais dos ensaios 31 e 32



Fonte: Do autor (2021).

Já, a Tabela 1 traz os resultados que apresentaram menor crescimento da cepa na avaliação da ação inibitória da manta de PVA contendo diferentes concentrações de óleos essenciais dos ensaios 31 e 32 segundo a Tabela 6 do DCCR do Capítulo 2.

Tabela 1 - Avaliação da ação inibitória da manta de PVA contendo a combinação de óleos essenciais do ensaio 32 para a cepa GL 8702 (técnica de submersão)

<i>S. aureus</i>	LOG UFC/mL	
	Manta	
	Controle (PVA)	PVA de 14,6% com 0.125 gr
GL 8702	10,2±0,33	8.4±0,595

Fonte: Do autor (2021).

A Figura 2 e Tabela 1 confirmam a diminuição de 1,8 Log UFC/mL para a cepa GL 8702 de *S. aureus*, demonstrando que a técnica empregada foi melhor por contato direto da manta de PVA com as cepas de *S. aureus* avaliadas; por ter facilitado a liberação dos compostos dos óleos essenciais contidos nas nanofibras; projetando a ensaios futuros é uma simulação da ferida com o curativo, porque o corpo segrega substâncias que fazem parte do sistema imunológico para acelerar a cicatrização (MOHAMMAD *et al.*, 2020).

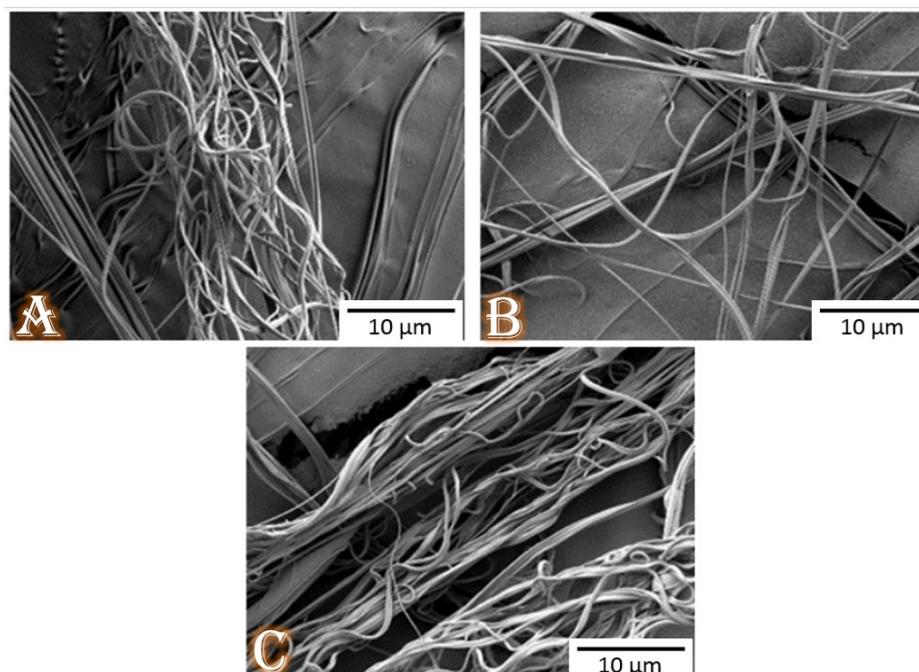
De modo geral, a manta de PVA apresentou atividade antimicrobiana sobre as cepas de *S. aureus*, demonstrando o desempenho dos combinados dos compostos dos óleos essenciais incorporados na escala nano pela produção das nanofibras e estas como um bom suporte seguem suas características físicas e mecânicas.

Além disso, a ação antimicrobiana da manta demonstra que os óleos essenciais não foram afetados pelo solvente com a técnica de SBS, como foi encontrado no estudo de Bilbao-Sainz *et al.* (2014) apud Sanusi *et al.* (2020, p. 8); onde a produção das nanofibras de PLA contendo hidroxipropilmetilcelulose e cloridrato de tetraciclina foram fiadas em solução de dois solventes diferentes: clorofórmio/acetona (CA, 80:20 v/v) e 2,2,2-trifluoroetanol (TFE), sendo avaliadas contra *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* apresentaram atividade antimicrobianas.

3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) facilitou a caracterização da morfologia. Micrografias obtidas na magnitude de 10000 x (Figura 3) e do diâmetro (Tabela 2) da manta de PVA correspondentemente por meio do sistema de fiação por sopro de solução (SBS).

Figura 3 - Micrografias das mantas de PVA



Legenda: Onde: (A) Controle; e com óleos essenciais segundo os resultados gerados pelo DCCR da Tabela 6 (CAPÍTULO 2) dos ensaios: 1 (B); 31 (C).
Fonte: Do autor (2021).

As micrografias acima possibilitaram a observação de fibras em disposição aleatória e com diâmetros variados.

Um dos fatores que influenciou sob a produção da nanofibra de PVA para apresentar boa estrutura sendo lisas e poucos beads (defeito na fibra) (FIGURA 3) observados nas análises MEV, se deve a viscosidade; segundo trabalho realizado por Oliveira *et al.* (2011).

Tabela 2 - Diâmetro das mantas de PVA contendo a combinação de óleos essenciais dos ensaios 31 e 32; calculados ao 12% (m/v)

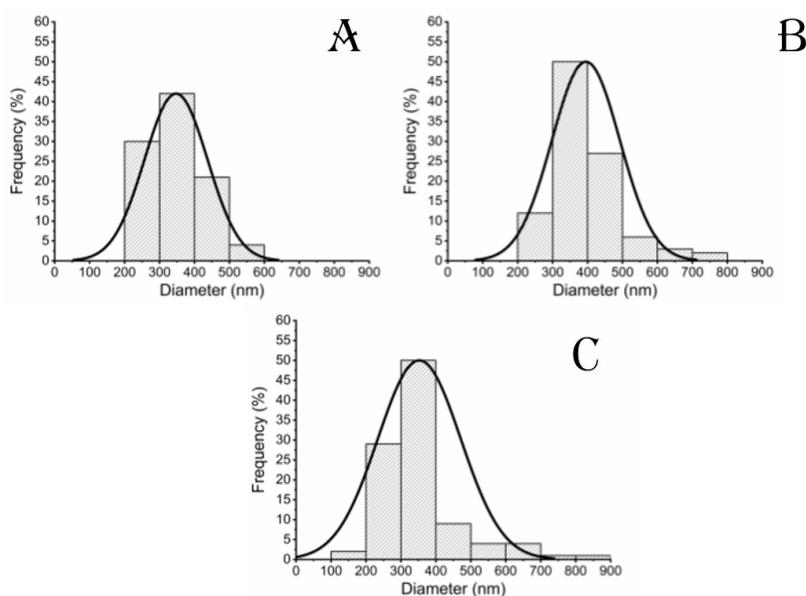
Ensaio	Conc. de óleos (%)	Média dos diâmetros (nm)
B	12,9	395,3±97,2 b
C	14,6	352,5±118,7 a
Controle	0	347,2±90,2 a

Fonte: Do autor (2021).

O diâmetro médio da manta de PVA sem adição de óleos essenciais foi de 347,2 nm, sendo estatisticamente menor que o tratamento B, contendo óleos essenciais, o qual foi significativamente maior que o diâmetro das fibras do tratamento C, sendo esse de diâmetro significativamente semelhante ao controle.

O histograma da Figura 4 permite visualizar o tamanho das mantas de PVA, foi possível constatar que a maioria das fibras ficou com diâmetros entre 200 e 600 nm, sendo também produzidas fibras com 100 nm, sendo poucas as que ultrapassaram os 600 nm.

Figura 4 - Distribuição dos diâmetros das mantas de PVA



Legenda: Onde: (A) Controle; e com óleos essenciais segundo os resultados gerados pelo DCCR da Tabela 6 (CAPÍTULO 2) dos ensaios 31 (B); 32 (C).

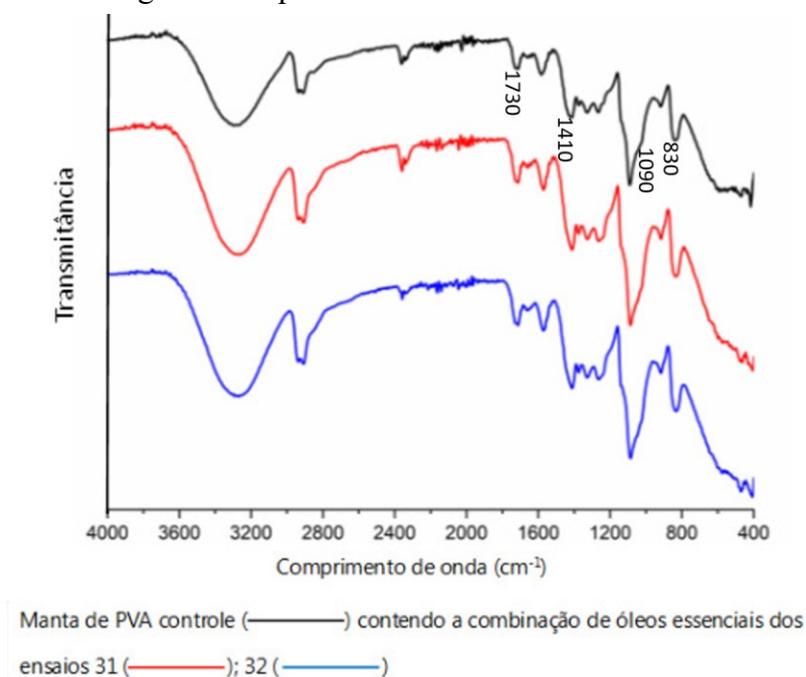
Fonte: Do autor (2021).

Para que a produção da manta de PVA tivesse as melhores propriedades físicas e químicas na incorporação dos óleos essenciais dos ensaios 31 e 32, tendo uma boa interação entre os grupos funcionais do polímero e os compostos dos óleos essenciais, se tiverem em conta todas as variáveis: taxa de alimentação da solução polimérica, pressão do ar, temperatura ambiente da câmara, concentração da solução e o peso molecular do polímero, entre outros. (BRETAS; D'AVILA, 2005).

3.3 Caracterização por espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR)

A Figura 5 apresenta os resultados da caracterização pela análise de FTIR da manta de PVA correspondentemente por meio do sistema de fiação por sopro de solução (SBS), observando-se as características próprias do polímero (manta de PVA controle; cor preto) e a presença da combinação dos óleos essenciais dos ensaios 31(12,9%; vermelho) e 32(14,6%; azul).

Figura 5 - Espectros de FTIR das mantas de PVA.



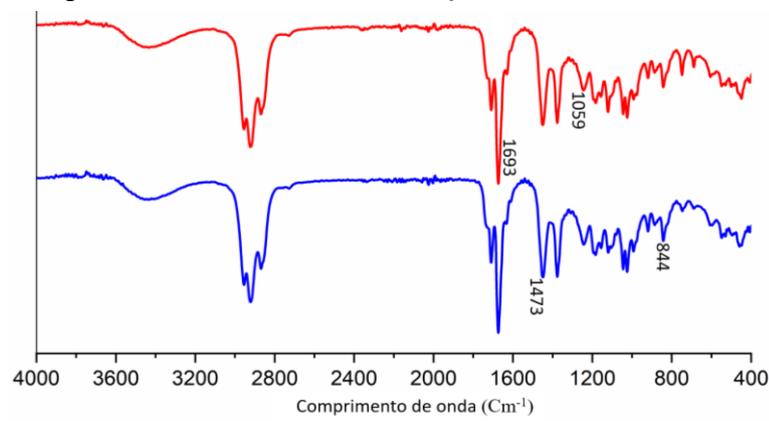
Fonte: Do autor (2022).

O espectro de FTIR de PVA puro mostra a presença dos picos característicos de PVA, encontrando-se na faixa 1730 – 830 cm^{-1} sendo aproximadamente, 1730, 1410, 1090 e 830 cm^{-1} , referentes às vibrações de estiramento de $-\text{C}=\text{O}$, de $\text{C}-\text{O}-\text{C}$, vibrações de dobramento de CH_2

e vibrações de estiramento de C-C, respectivamente. Conforme na literatura (KUMAR *et al.*, 2014; MANSUR *et al.*, 2008).

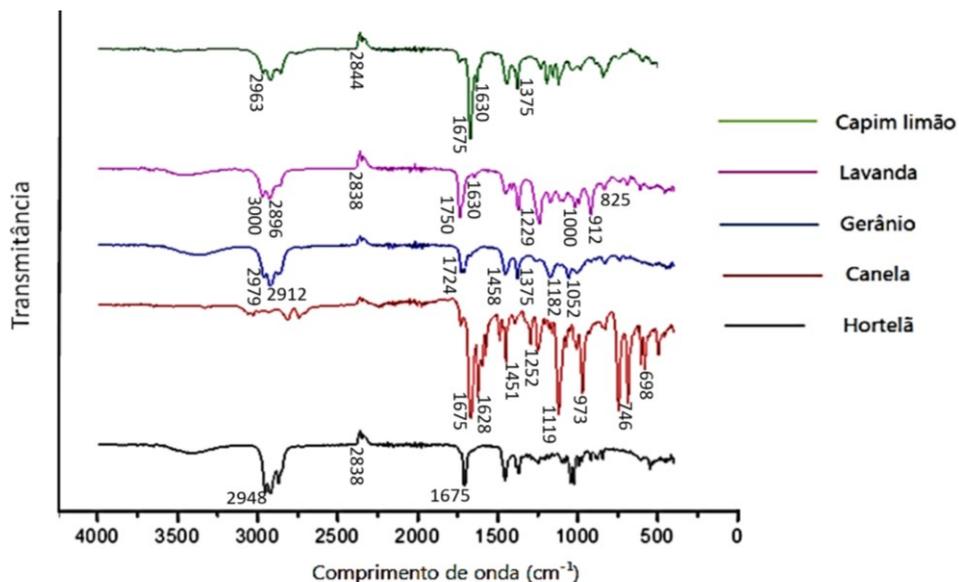
A Figura 6 apresenta os espectros de FTIR dos picos característicos próprios só das combinações dos óleos essenciais dos ensaios 31 (12,9%; vermelho) e 32 (14,6%; azul). Mostrando que os espectros da Figura 5 encaixa com os espectros da Figura 6, confirmando uma boa interação entre os grupos funcionais do polímero e os compostos dos óleos essenciais; como são os picos 1693, 1473, 1059 e 844 cm^{-1} sendo próximos à Figura 5 do PVA puro.

Figura 6 - Espectros de FTIR das combinações dos óleos essenciais dos ensaios 31 e 32



Fonte: Do autor (2022).

Figura 7 - Espectros de FTIR dos diferentes óleos essenciais utilizados para a produção da manta de PVA



Fonte: Do autor (2022).

O espectro de FTIR do óleo essencial da canela puro (Figura 7) mostra a presença dos picos característicos dos grupos funcionais; observando-se na faixa de 1800–600 cm^{-1} os picos 1675 e 1628 cm^{-1} , correspondem à vibração de estiramento de aldeído carbonil -C=O e C=C correspondendo a altos níveis de cinamaldeído e derivados; o pico em 1451 cm^{-1} é característico de absorção de vibração de flexão de álcool C-OH ; o pico em 1252 cm^{-1} corresponde à vibração de estiramento de um éster de ácido aromático C-O-C ; o pico em 1119 cm^{-1} é atribuído a as vibrações de estiramento de C-O e as vibrações de deformação de C-OH ; o pico em 973 cm^{-1} é atribuído à vibração de flexão C-H absorção, e os picos em 746 e 689 cm^{-1} são atribuídos à absorção de vibração de C-H do anel de benzeno. Conforme na literatura (YAN-QUN *et al.*, 2013).

O espectro de FTIR do óleo essencial de lavanda puro (Figura 7) mostra a presença dos picos característicos dos grupos funcionais; o pico de 3000 cm^{-1} correspondeu ao alongamento O-H de grupos hidroxila (álcoois, fenóis e ácidos) e também de estiramento N-H em aminas I, II e amidas. Os picos entre 2896 e 2838 cm^{-1} foram devidos à vibração C-H (estiramento) de grupos alifáticos. A banda em 1630 cm^{-1} foi atribuída à vibração -C=O de cetonas, aldeídos e ésteres conjugados ligados. As bandas em 1229, por volta de 1000, e em 912 cm^{-1} atribuído ao alongamento de C-O em C-O-H e C-O em ligações C-O-C , respectivamente. Conforme na literatura (SZYMCZYCHA-MADEJA; WELNA; ZYRNICKI, 2013; PELISSARI *et al.*, 2012; POLA *et al.*, 2016; WEN-QIONG; YI-HONG; YING, 2013 apud RASHED *et al.*, 2019, p. 73).

O espectro de FTIR do óleo essencial de gerânio puro (Figura 7) mostra a presença dos picos característicos dos grupos funcionais; observando-se na faixa de 2979 - 1052 cm^{-1} . O pico em 2979 cm^{-1} pode ser devido ao alongamento O-H vibrações de álcoois. O pico em 2912 cm^{-1} é resultado das vibrações do anel C=C-C de compostos voláteis. As bandas em 1724 cm^{-1} podem ser atribuídas ao estiramento de carbonila (-C=O) vibrações. Os picos agudos em 1458 e 1375 cm^{-1} podem corresponder à deformação CH_2 e vibrações de deformação -CH_3 assimétricas. A banda aguda em 1182 cm^{-1} pode ser atribuída ao C-O às vibrações de alongamento. A banda em 1052 cm^{-1} pode corresponder às vibrações de metileno e vibrações de flexão fora do plano C-H , respectivamente. Conforme na literatura (CEBI; ARICI; SAGDIC, 2021b; TAYLAN; CEBI; SAGDIC, 2021; AGATONOVIC-KUSTRIN *et al.*, 2020; BERECHET *et al.*, 2015 apud NUR CEBI, 2021, p. 812).

O espectro de FTIR do óleo essencial de hortelã puro (Figura 7) mostra a presença dos picos característicos dos grupos funcionais; observando-se os picos 2948 cm^{-1} , 2838 cm^{-1} e

1675 cm^{-1} respectivamente. No entanto, uma banda de estiramento C-H fortemente ligada e ao alongamento devido à banda -C=O. Conforme na literatura (KAUR *et al.*, 2018).

O espectro de FTIR do óleo essencial de capim limão puro (FIGURA 7) mostra a presença dos picos característicos dos grupos funcionais; observando-se uma banda na forma de tripleto, entre 2963 cm^{-1} e 2844 cm^{-1} que pode ser atribuída a grupos metílicos (-CH₃), metilênicos (CH₂) e metínicos (CH), confirmados pelo dubletos próximo a 1675 cm^{-1} , equivalente às deformações angulares do grupo. A banda intensa ocorre entre 1630 e 1375 cm^{-1} , característica da carbonila (-C=O). Conforme na literatura (PRADO, 2019).

As análises FTIR de PVA forneceram evidências da presença dos compostos de óleos essenciais feitas pelo processo SBS; confirmando uma vez mais que os polímeros utilizados neste estudo são promissores para futuras pesquisas.

Em forma geral a Figura 5 das mantas de PVA apresentam um mesmo comportamento em seu espectro, ou seja, uma boa miscibilidade entre o polímero e os compostos dos óleos essenciais empregados na produção das mantas, isso assegura a entrega dos compostos dos óleos essenciais durante as análises de microbiologia feitas, e assim mesmo indicam que são um bom suporte para os mesmos.

Depois de três meses foram feitas as análises de MEV e FTIR para a manta de PVA (FIGURAS 3 e 5); se pode dizer que este polímero conserva a vida útil dos óleos essenciais na manta.

4 CONCLUSÃO

Esta pesquisa mostrou que a produção do curativo elaborado com a manta fiada com e PVA e óleos essenciais de canela, hortelã do campo, gerânio, lavanda e capim limão apresentam potencial antimicrobiano. Vale ressaltar que existem poucos relatos na literatura onde a manta de PVA foi fixada com óleos essenciais. Dessa forma esse trabalho apresenta caráter inovador.

REFERÊNCIAS

- ACEVEDO, M. et al. Composición y capacidad antioxidante in-vitro de aceites esenciales ricos en Timol, Carvacrol, trans-Anetol o Estragol. **Rev. Univ. Ind. Santander.** v. 41, n. 3, p. 287-294, 2009.
- AGATONOVIC-KUSTRIN, S. et al. Essential oil quality and purity evaluation via FT-IR Spectroscopy and pattern recognition techniques. **Appl. Sci.** v. 10, n. 20, 7294 p, 2020.
- ALMEIDA, L.F.D. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais frente a amostras clínicas de *Candida albicans* isoladas de pacientes HIV positivos. **Rev. Bras. Pl. Med: Botucatu.** v. 14, n. 4, p. 649-655, 2012.
- ALVES, D. R. et al. Development of a High-Throughput ex-Vivo Burn Wound Model Using Porcine Skin, and Its Application to Evaluate New Approaches to Control Wound Infection. **Front. Cell. Infect. Microbiol.** v. 8, 196 p, 2018. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00196.
- ARAÚJO, W. A. et al. Significados de viver com ferida crônica: estudo de metassíntese. **ESTIMA, Braz. J. Enterostomal Ther.** v. 18. p. 2420. 2020. https://doi.org/10.30886/estima.v18.936_PT.
- BAKER, M. I. et al. A review of polyvinyl alcohol and its uses in cartilage and orthopedic applications. **J Biomed Mater Res Part B.** v. 100B, p. 1451–1457, 2012.
- BECKER, A. P.; DIAS, C. A. G.; MACEDO, A. J. Biofilm formation in clinical isolates of *S. Aureus* is associated with presence of device and dissemination of infection. **JCDR.** v.12, n. 6, p. 27 – 30, 2018.
- BERECHET, M.D. et al. Composition of the essential oil of *Rosa damascena* Mill. cultivated in Romania. **Rev. Chim.** v. 66, p. 1986–1991, 2015.
- BILBAO-SAINZ, C. et al. Solution blow spun poly (lactic acid)/hydroxypropyl methylcellulose nanofibers with antimicrobial properties. **Eur Polym J.** v. 54. n. 1. p. 1-10, 2014. DOI:10.1016/j.eurpolymj.2014.02.004.
- BOLTO, B. et al. Crosslinked poly(vinyl alcohol) membranes. **Progress in Polymer Science.** v. 34, p. 969–981, 2009.
- BRASIL. **Ministério da Saúde.** Altera a Portaria de Consolidação nº 2/GM/MS, de 28 de setembro de 2017, para incluir novas práticas na Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares - PNPIC. 2018. https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2018/prt0702_22_03_2018.html.
- BRETAS, R. E. S; D'ÁVILA, M. A. **Reologia de Polímeros Fundidos.** 2. ed. São Carlos: EdUFSCar. 131 p, 2005.
- CEBI, N.; ARICI, M.; SAGDIC, O. The famous Turkish rose essential oil: Characterization and authenticity monitoring by FTIR, Raman and GC–MS techniques combined with chemometrics. **Food Chem.** v. 354, n. 129495, 2021b.

CHANDRA, J. et al. In vitro and in vivo activity of a novel catheter lock solution against bacterial and fungal biofilms. **J. Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 62, 2018. DOI: 10.1128/AAC.00722-18.

CHIELLINI, E. et al. Biodegradation of poly (vinyl alcohol) based materials. **Prog. Polym. Sci.** v. 28, p. 963–1014, 2003.

DARISTOTLE, L. J. et al. A Review of the Fundamental Principles and Applications of Solution Blow Spinning. **ACS applied materials & interfaces**. v. 8, n. 51, p. 34951-34963, 2016. DOI:10.1021/acsami.6b12994.

DAWOOD, M. A. O. et al. Antiparasitic and Antibacterial Functionality of Essential Oils: An Alternative Approach for Sustainable Aquaculture. **Pathogens**. v. 10, 2021. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020185>.

DIMER, A. F. et al. Impactos da nanotecnologia na saúde: produção de medicamentos. **Quim. Nova**. v. 36, n. 10, p. 1520-1526, 2013.

FARIA, DE O. F.; VERCELHEZE, A. E. S.; MALI, S. Propriedades físicas de filmes biodegradáveis à base de amido de mandioca, álcool polivinílico e montmorilonita. **Quim. Nova**. v. 35, n. 3, p. 487-492, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000300009>.

FERREIRA, F. D. SISVAR: A computer statistical analysis system. **Ciênc. agrotec., Lavras**. v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FIRMINO, F. D. et al. Antibacterial and Antibiofilm Activities of *Cinnamomum Sp.* Essential Oil and Cinnamaldehyde: Antimicrobial Activities. **Scientific World Journal: Hindawi**. 9 p, 2018. DOI:10.1155/2018/7405736.

GAZIM, Z. C. et al. Identificação dos constituintes químicos da fração volátil da *Calendula officinalis* produzida no Paraná. **Horticultura Brasileira**. v. 25, 118-121 p. 2007.

JOAQUIM, F. L. et al. Impact of home visits on the functional capacity of patients with venous ulcers. **Rev Bras Enferm**. v. 70, n. 2, p. 287-93, 2017. <https://doi.org/10.1590/0034-7167-2016-0291>.

KAUR, H. et al. Chemical composition and antifungal activity of essential oils from aerial parts of *Mentha piperita* and *Mentha arvensis*. **Int J Pharmacognosy**. v. 5, n. 12, p. 767-73, 2018. <http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.IJP>.

KUMAR et al. 2014. Microstructural and mechanical properties of porous biocomposite scaffolds based on polyvinyl alcohol, nano-hydroxyapatite and cellulose nanocrystals. **Cellulose**. v. 21, p. 3409–3426, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10570-014-0339-7>.

LIMA, P. M. F. et al. *Staphylococcus aureus* e as infecções hospitalares – revisão de literatura. **rev. Uningá review**. v. 21, n. 1, p. 32-39, 2015.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Quim. Nova**. v. 27, n. 4, p. 670-673, 2004.

- MANSUR, H.S. et al. FTIR spectroscopy characterization of poly (vinyl alcohol) hydrogel with different hydrolysis degree and chemically crosslinked with glutaraldehyde. **Mater. Sci. Eng. C**. v. 28, p. 539–548, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2007.10.088>.
- MARTEN, F. L.; ZVANUT, C. W. **Polyvinyl alcohol development**. Chichester: Wiley. In: Finch CA. editor. chapters 2 and 3. 1992.
- MEDEIROS, E. S. et al. Solution blow spinning: A new method to produce micro-and nanofibers from polymer solutions. **Journal of applied polymer science**. v. 113, n. 4, p. 2322-2330, 2009.
- MOHAMMAD, R. F. et al. Accelerated healing by topical administration of *Salvia officinalis* essential oil on *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* infected wound model. **Biomed Pharmacother**. 128 p, 2020. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110120. Epub 2020.
- NORD, F. F. Dehydrogenation activity of *Fusarium lini* B. **Naturwiss**. v. 24, n. 763, 1936.
- NUR CEBI. Chemical Fingerprinting of the Geranium (*Pelargonium graveolens*) Essential Oil by Using FTIR, Raman and GC-MS Techniques. **European Journal of Science and Technology**. n. 25, p. 810-814, 2021. DOI: 10.31590/ejosat.969661.
- OLIVEIRA, E. J. et al. Nano and Submicrometric Fibers of Poly(D,L-Lactide) Obtained by Solution Blow Spinning: Process and Solution Variables. **Journal of Applied Polymer Science**. v. 122, n. 5, p. 3396-3405, 2011. <https://doi.org/10.1002/app.34410>.
- PATAQUIVA, M. A.; COBA, D. S. Producción de nanofibras poliméricas mediante el proceso de electrospinning y su uso potencial. **Mutis**. v. 8, n. 1, p. 17-33, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.21789/22561498.1375>.
- PELLISSARI, F. M. et al. Constrained mixture design applied to the development of cassava starch–chitosan blown films. **J. Food Eng**. v. 108, p. 262–267, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.004>.
- POLA, C.C. et al. Cellulose acetate active films incorporated with orégano (*Origanum vulgare*) essential oil and organophilic montmorillonite clay control the growth of phytopathogenic fungi. **Food Packag. Shelf Life**. v. 9, p. 69–78, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2016.07.001>.
- PRADO, G. D. **Estudo do comportamento do titânio recoberto com apatita e dopado com nanopartícula de prata e óleo essencial**. Dissertação (Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais). Universidade Federal de Alfenas campus Poços de Caldas. 2019.
- RASHED, M. M. A. et al. Techno-functional properties and sustainable application of nanoparticles-based *Lavandula angustifolia* essential oil fabricated using unsaturated lipid-carrier and biodegradable wall material. **Industrial Crops and Products**. v. 136, n. 15, p. 66 – 76, 2019.
- RODRIGUES, B. V. M. et al. **Nanotecnologia aplicada a polímeros**. São Paulo: Blucher. cap. 6, p. 197 – 231, 2022. ISBN 978-65-5550-252-7.
- SAKAI, K.; HAMADA, N.; WATANABE, Y. Studies on the poly (vinyl alcohol)-degrading enzyme. Part VI. Degradation mechanism of poly (vinyl alcohol) by successive reactions of

secondary alcohol oxidase and b-diketone hydrolase from *Pseudomonas* sp. **Agric Biol Chem.** v. 50, p. 989–96, 1986.

SANUSI, O. M. et al. Effect of rigid nanoparticles and preparation techniques on the performances of poly (lactic acid) nanocomposites: A review. **Polymers for Advanced Technologies.** v. 32, n. 2, p. 444-460, 2020. DOI: 10.1002/pat.5104.

SMANIOTTO, S. P. H. et al. Sistematização de curativos para o tratamento clínico das feridas. **Rev Bras Cir Plást.** v. 27, n. 4, p. 623-6, 2012.

SOUSA, C. G. C. et al. Gerenciamento da dor de crianças e adolescentes no período pós-transplante de células-tronco hematopoéticas: revisão integrativa. **Rev. EG.** n. 53. 2019. <https://dx.doi.org/10.6018/eglobal.18.1.302991>.

SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; WELNA, M.; ZYRNICKI, W. Multi-Element Analysis, Bioavailability and Fractionation of Herbal Tea Products. **J. Braz. Chem. Soc.** v. 24, n. 5, p. 777-787, 2013. <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20130102>.

TAYLAN, O.; CEBI, N.; SAGDIC, O. Rapid screening of mentha spicata essential oil and l-menthol in mentha piperita essential oil by ATR-FTIR spectroscopy coupled with multivariate analyses. **Foods.** v. 10, n. 2, 202 p, 2021.

TROMBETTA, D. et al. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy.** v. 49, n. 6, p. 2474-8, 2005.

TROMBETTA R. P. et al. A high throughput screening approach to repurpose FDA-approved drugs for bactericidal applications against *Staphylococcus aureus* small-colony variants. **msphere.** v. 3, n. 5, 2018. DOI: 10.1128/mSphere.00422-18.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS. Biblioteca Universitária. **Manual de normalização e estrutura de trabalhos acadêmicos: TCCs, monografias, dissertações e teses.** 3. ed. rev., atual. e ampl. Lavras, 2020. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/11017>. Acesso em: 08/10/2021.

VALERIANO, C. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Rev. Bras. Pl. Med: Botucatu.** v. 14, n. 1, p. 57-67, 2012.

VOINESKOS, S. H. et al. Systematic review of skin graft donor-site dressings. **Plastic and Reconstructive Surgery.** v. 124, n. 1, p. 298-306, 2009. DOI: 10.1097/PRS.0b013e3181a8072f.

WATANABE, Y. Et al. Formation of hydrogen peroxide by a polyvinyl alcohol degrading enzyme. **Agric Biol Chem.** v. 39, p. 2447–8, 1975.

WEN-QIONG, W.; YI-HONG, B.; YING, C. Characteristics and antioxidant activity of water soluble Maillard reaction products from interactions in a whey protein isolate and sugars system. **Food Chem.** v. 139, p. 355–361, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.072>.

YAN-QUN, L. et al. Variations in essential oil yields and compositions of *Cinnamomum cassia* leaves at different developmental stages. **Industrial Crops and Products.** n. 47, p. 92– 101, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.02.031>.