



**Universidade de Brasília – UnB**

**Instituto de Química – IQ**

**Sophya de Andrade Dias**

**Polímero ativo obtido com o óleo essencial da *Lavandula dentata* L. encapsulado em PMMA**

**Monografia de Graduação**

**Brasília – DF**

**2/2019**



**Universidade De Brasília – UnB**

**Instituto De Química – IQ**

**Sophya de Andrade Dias**

**Polímero ativo obtido com o óleo essencial da *Lavandula dentata* L. encapsulado em PMMA**

Trabalho de Conclusão de curso apresentado à Universidade de Brasília, como parte das exigências do programa de graduação em Química Tecnológica para obtenção do título de Bacharel.

**Orientadora: Maria José Araújo Sales**

**2/2019**

“A utopia está lá no horizonte. Me aproximo dois passos, ela se afasta dois passos. Caminho dez passos e o horizonte corre dez passos. Por mais que eu caminhe, jamais alcançarei. Para que serve a utopia? Serve para isso: para que eu não deixe de caminhar.”

Eduardo Galeano

## **Agradecimentos**

Agradeço à minha família pelo incentivo, apoio e oportunidade de realizar a graduação fora da minha cidade natal, como também agradeço aos amigos e namorado por todo o suporte e lealdade.

Gratifico formidavelmente à minha orientadora Dra. Maria José A Sales por sua maiúscula contribuição para realização deste trabalho, além da seriedade, parceria e experiência, cometendo a mim o desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço admiravelmente aos professores Dr. Fabrício Machado e Dr. Marley Garcia pelo acolhimento, ensinamentos e cooperação fundamentais para a conclusão deste ciclo.

Agradeço aos alunos do Instituto Federal de Brasília, orientados pelo Dr. Marley, Tiago e Myerson por todo auxílio, disponibilidade e amizade cedidos a mim no decorrer deste período, assim como ao pessoal do Laboratório de Desenvolvimento de Processos Químicos, coordenados pelo Dr. Fabrício.

## Sumário

1. Introdução.....	1
2. Revisão Bibliográfica .....	3
2.1. Óleos Essenciais (OEs) .....	3
2.2. <i>Lavandula dentata</i> L.....	3
2.2.1. Extração da Espécie Vegetal.....	4
2.3. Ecologia Bacteriana .....	5
2.3.1. Classificação das Bactérias.....	5
2.3.2. <i>Escherichia coli</i> (E. coli).....	6
2.3.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (P. aeruginosa).....	6
2.3.4. <i>Staphylococcus aureus</i> (S. aureus).....	6
2.4. Polímeros .....	7
2.5. Reações de Polimerização.....	7
2.5.1. Polimerização em Suspensão .....	7
2.5.2. Polimerização em Miniemulsão .....	8
3. Metodologia Experimental .....	9
3.1. Extração do OE .....	9
3.2. Caracterização do OE .....	9
3.3. Teste de Atividade Microbiana.....	10
3.3.1. Antibiograma.....	10
3.3.2. Concentração Inibitória Mínima (MIC) .....	12
3.4. Síntese dos Polímeros .....	13
3.4.1. Polimerização em suspensão.....	13

3.4.2. Polimerização em miniemulsão .....	14
3.5. Caracterizações Poliméricas .....	15
4. Resultados e Discussão .....	16
4.1. Exsicata.....	16
4.2. Rendimento das Extrações .....	16
4.3. Análise de Componentes do OE por GC-MS .....	17
4.4. Análises Microbiológicas .....	19
4.5. Encapsulamento e Caracterização.....	23
5. Considerações Finais .....	27
6. Referências Bibliográficas .....	29
APÊNDICE A – Exsicata .....	36
APÊNDICE B – Identificação dos componentes do OE de <i>Lavandula dentata</i> L. ....	37
APÊNDICE C – Espectros de massa dos componentes majoritários do OE.....	38
APÊNDICE D – Resultados microbiológicos .....	39
APÊNDICE E – Quantidades reacionais para as polimerizações.....	40
APÊNDICE F – Caracterização polimérica .....	41

## Índice de Tabelas

Tabela 1. Dados dos rendimentos das extrações. ....	16
Tabela 2. Resultados da atividade (A) e da inatividade (I) microbiana obtidos pela MIC...22	22
Tabela 3. Temperaturas de transição vítrea das amostras.....	26
Tabela 4. Dados dos picos de GC-MS e identificação dos compostos presentes no OE. .37	37
Tabela 5. Medidas dos halos de inibição para E. coli. ....	39
Tabela 6. Medidas dos halos de inibição para P. aeruginosa.....	39
Tabela 7. Medidas dos halos de inibição para S. aureus.....	39
Tabela 8. Polimerização em suspensão sem OE.....	40
Tabela 9. Polimerização em suspensão com OE.....	40
Tabela 10. Polimerização em miniemulsão sem OE.....	40
Tabela 11. Polimerização em miniemulsão com OE. ....	40
Tabela 12. Resultados de conversão em PMMA. ....	41
Tabela 13. Tamanho de partícula e PDI.....	41
Tabela 14. Dados obtidos das curvas de TGA.....	42

## Índice de Figuras

Figura 1. Estruturas do MMA e do PMMA.....	2
Figura 2. <i>Lavandula dentata</i> L. – Ilustração.....	3
Figura 3. Estrutura química do isopreno.....	4
Figura 4. Aparato experimental da extração.....	9
Figura 5. Ilustração do antibiograma.....	10
Figura 6. Colônias preparadas: (a) <i>E. coli</i> , (b) <i>P. aeruginosa</i> e (c) <i>S. aureus</i> .....	11
Figura 7. Ilustração da placa com 96 poços para o teste de MIC.....	12
Figura 8. Ilustração do aparato experimental para as reações de polimerização.....	14
Figura 9. Cromatograma OE <i>Lavandula dentata</i> L.....	17
Figura 10. Estruturas químicas: (a) eucaliptol, (b) cânfora e (c) fenchona.....	18
Figura 11. Resultados antibiogramas para: (a) <i>E. coli</i> (b) <i>P. aeruginosa</i> e (c) <i>S. aureus</i> ...	19
Figura 12. Imagem da revelação MIC para (a) <i>E.coli</i> , (b) <i>P. aeruginosa</i> e (c) <i>S. aureus</i> ...	21
Figura 13. Curvas TGA para as reações em: (a) suspensão e (b) miniemulsão.....	24
Figura 14. Curvas de DSC para as reações em: (a) suspensão e (b) miniemulsão.....	25
Figura 15. Exsicata <i>Lavandula dentata</i> L.....	36
Figura 16. Espectros de massa: (a) eucaliptol, (b) cânfora e (c) fenchona.....	38



## Símbolos e Nomenclaturas

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária;

BPO – *Benzoyl peroxide* (Peróxido de benzoíla);

CM – Controle de meio;

CMC – Concentração micelar crítica;

CN – Controle negativo;

CP – Controle positivo;

DLS – *Dynamic light scattering* (Espalhamento dinâmico de luz);

DMSO – Dimetilsulfóxido;

DSC – *Differential scanning calorimetry* (Calorimetria exploratória diferencial);

E. coli – *Escherichia coli*;

FID – *Flame ionization detector* (Detector por ionização de chama);

GC-MS – *Gas chromatography mass spectrometry* (Cromatografia Gasosa acoplada a espectrômetro de massa);

IK – Índice de Kovats;

KPS – *Potassium persulfate* (Persulfato de potássio);

MIC – *Minimum inhibitory concentration* (Concentração inibitória mínima);

MMA – Metacrilato de metila;

OE – Óleo essencial;

OEs – Óleos essenciais;

P. aeruginosa – *Pseudomonas aeruginosa*;

PDI – *Polydispersity index* (Índice de polidispersão);

PMMA – Poly(methyl methacrylate) (Poli(metacrilato de metila));

PVA – *Poly(vinyl alcohol)* (Poli (vinil álcool));

rpm – Rotações por minuto;

S. aureus – *Staphylococcus aureus*;

SDS – *Sodium dodecyl sulfate* (Dodecil sulfato de sódio);

T<sub>d</sub> – Decomposition temperature (temperatura de decomposição);

T<sub>R</sub> – Tempo de retenção;

T<sub>g</sub> – *Glass transition temperature* (temperatura de transição vítrea);

TGA – *Thermogravimetric analysis* (Análise termogravimétrica);

UFC – Unidade formadora de colônia.

## Resumo

Dias, Sophya de Andrade. **Polímero ativo obtido com o óleo essencial da *Lavandula dentata* L. encapsulado em PMMA**, Universidade de Brasília, Dezembro de 2019. Orientadora: Maria José Araújo Sales.

Óleos essenciais (OEs) apresentam características físico-químicas de alto valor agregado que lhe conferem resistência frente ação de microrganismos, reduzindo ou inibindo o seu crescimento. A atividade antimicrobiana fornece aos OEs potencial aplicação na indústria, como a de alimentos, atuando como bioconservantes ao aumentar a vida de prateleira e fornecendo maior nível de segurança microbiológica. Uma das dificuldades em usar os OEs é o seu caráter relativamente volátil. Uma solução para isso pode ser dada pelo encapsulamento desses óleos em materiais poliméricos, promovendo a sua proteção e, concomitantemente, sua liberação contínua. Neste trabalho, visou-se o estudo do óleo essencial (OE) de *Lavandula dentata* L. e formas do seu encapsulamento em poli(metacrilato de metila) (PMMA), gerando um polímero ativo antimicrobiano. Foram sintetizadas amostras de PMMA com e sem o OE, a partir de reações de polimerização em suspensão e miniemulsão. O OE foi caracterizado por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (GC-MS); índice de Kovats (IK); antibiogramas e concentração inibitória mínima (MIC). Os materiais obtidos com PMMA foram caracterizados por espalhamento dinâmico de luz (DLS); análise termogravimétrica (TGA) e por calorimetria exploratória diferencial (DSC). Os resultados das análises antimicrobianas do OE sugerem que ele inibe os microrganismos estudados. O encapsulamento do OE em PMMA foi efetivo via polimerização em miniemulsão, obtendo-se um material polimérico mais flexível e com provável atividade antimicrobiana. No caso do OE na polimerização em suspensão, a sua ação foi, provavelmente, apenas como plastificante.

**Palavras-chaves:** Óleo essencial, *Lavandula dentata* L., atividade antimicrobiana, encapsulamento, miniemulsão, PMMA.

## Abstract

Dias, Sophya de Andrade. **Active polymer obtained with *Lavandula dentata* L. essential oil encapsulated in PMMA**, University of Brasilia, December 2019. Adviser: Maria José Araújo Sales.

Essential oils (EOs) have high added value physicochemical characteristics that confer resistance against microorganisms by reducing or inhibiting your growth. The antimicrobial activity provides EOs a great application in the industry, such as in the food industry, acting as natural conservatives by increasing shelf life, providing a higher level of microbiological safety. One of the issues of using EOs is in its impaired applicability due to its relatively volatile character. A solution can be given by encapsulating these oils from polymeric materials, that will promote the protection of the material and concomitantly its continuous release. At this work was aimed the study of *Lavandula dentata* L. EO and forms of its encapsulation in poly(methyl methacrylate) (PMMA), generating an active antimicrobial polymer. PMMA samples with and without oil were generated from suspension and miniemulsion reactions. The EO was characterized by gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS), Kovats index (KI), antibiogram and minimum inhibitory concentration. The materials obtained with PMMA were characterized by dynamic light scattering (DLS); thermogravimetric analysis (TGA) and differential scanning calorimetry (DSC). The obtained results of EO antimicrobial analysis suggest that it inhibits the studied microorganisms. About EO encapsulation, it was successful at PMMA polymerization by miniemulsion, getting a more flexible polymeric material and probably antimicrobial activity. In the case of EO polymerization in suspension, it acts as probably just as plasticizer.

**Keywords:** Essential oil, *Lavandula dentata* L., antimicrobial activity, encapsulation, miniemulsion, PMMA.

## 1. Introdução

O mercado de produtos naturais toma maior importância no cenário atual, na medida em que grande parcela da sociedade tem evitado o consumo de produtos de alto teor de aditivos, como os conservantes, em razão de políticas ambientais, interesses sociais e conscientização pessoal. Com isso, pesquisas recentes com produtos e formas de processamento menos nocivas ao ambiente e que satisfaçam as necessidades da população têm se destacado.<sup>1,2</sup>

Óleos essenciais (OEs) aparecem de forma instigante e promissora no que compete à implementação de produtos naturais ao dia a dia do corpo social. Eles apresentam interessantes características físico-químicas de alto valor agregado, que respeitam o ambiente e lhes conferem resistência frente à ação de microrganismos, reduzindo ou inibindo seu crescimento.<sup>3,4</sup> Tal atividade antimicrobiana atribuída aos OEs potencial aplicação na indústria alimentícia, por exemplo, atuando como bioconservantes, promovendo preservação ao estender a vida útil do alimento, garantindo e atingindo níveis ótimos de segurança microbiológica.<sup>5</sup>

Em contrapartida, os OEs têm aplicabilidade prejudicada em razão da degradação e evaporação sofrida em virtude do seu caráter relativamente volátil. Uma solução para este problema pode ser dada pelo encapsulamento desses óleos em materiais poliméricos, promovendo a proteção do material e, concomitantemente, sua liberação contínua. Assim, obtém-se um polímero ativo capaz de interagir com produtos e/ou ambiente.<sup>6</sup>

Atualmente, diante do estudo e desenvolvimento de tecnologias, a incorporação de OEs em polímeros representa, como um dos vieses, a interação entre embalagem e produto como forma de preservação de qualidade da matéria acondicionada. Tais embalagens seriam com um polímero ativo, desenvolvidas para interagir de maneira direta e desejável com o produto, oferecendo condições que minimizem alterações químicas, bioquímicas e microbiológicas, de forma a aumentar a vida útil de armazenamento, elevando a segurança e propriedades sensoriais do produto.<sup>7</sup>

O vínculo criado entre o antimicrobiano e o polímero permite o contato direto com o produto, havendo liberação, de forma lenta e gradativa, dos agentes bactericidas e bacteriostáticos para superfícies de produtos ou ambiente em que faz-se necessária a maior atividade antimicrobiana, reagindo química e microbiologicamente.<sup>7</sup>

Este Trabalho de Conclusão de Curso visou obtenção de polímeros ativos, usando o óleo da *Lavandula dentata* L., conhecido popularmente como lavanda e/ou alfazema, buscando gerar um material ativo, biocompatível e antimicrobiano com potencial de desenvolvimento industrial. O metacrilato de metila (MMA) é o monômero precursor do poli(metacrilato de metila) (PMMA), polímero escolhido para o encapsulamento do OE, via polimerização em suspensão e miniemulsão, devido à sua baixa toxicidade e biocompatibilidade, viabilizando sua aplicação ao favorecer princípios de sustentabilidade.

As estruturas químicas do MMA e do PMMA podem ser vistas na Figura 1.

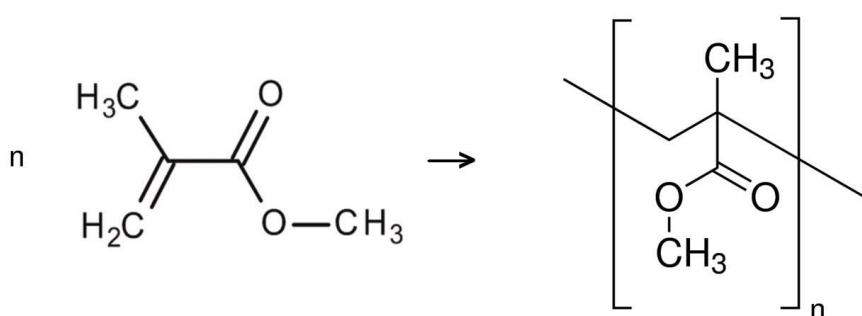


Figura 1. Estruturas do MMA e do PMMA.

Fonte: Sigma Aldrich – Adaptado.<sup>8</sup>

## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1. Óleos Essenciais (OEs)

OEs representam a fração relativamente volátil obtida da extração de plantas, apresentando-se: líquidos; límpidos; raramente coloridos; solúveis em solventes orgânicos, óleos e gorduras; e insolúveis em água. Devido à sua sensibilidade, podem sofrer, facilmente, degradação pela ação de oxigênio, luz e temperaturas moderadas, fomentando o desenvolvimento de mecanismos de proteção contra deterioração que, facilitem o manuseio e aplicação industrial.<sup>5,6,9</sup>

Produzidos por espécies vegetais aromáticas como compostos secundários, os OEs ficam armazenados em células secretoras, cavidades, canais e células da epiderme. Suas propriedades mais conhecidas são a fragrância e suas atividades bactericidas, fungicidas, antivirais e medicinais, havendo potencial na sua utilização como antimicrobianos. Tal aplicação viabiliza-se a partir da análise química de OEs por cromatografia gasosa associada a um espectrômetro de massas, indicando teores importantes de álcoois; fenóis; aldeídos, como eugenol, timol, carvacrol e gerânio; e terpenos (alfa e beta pinenos e limoneno), o que confirma a presença de agentes antissépticos disponíveis para uso contra atividades microbianas.<sup>Erro! Fonte de referência não encontrada.</sup>-13

### 2.2. *Lavandula dentata* L.

Pertencente à família Lamiaceae, a *Lavandula dentata* L. vem sendo aplicada em indústrias de perfumaria, cosméticos, alimentos e terapêutica na forma de OE, movimentando a economia mundial.<sup>Erro! Fonte de referência não encontrada.</sup>



Figura 2. *Lavandula dentata* L. – Ilustração.

Fonte: GRANDI, 2014.<sup>15</sup>

Apresenta-se como subarbustos perenes de 30 cm a 1 m de altura. Possui folhas lineares e estreitas de cor verde-acinzentadas, as flores têm cor púrpura ou lilás, em espigas curtas e de pedúnculo longo, como ilustrada na Figura 2.<sup>15</sup>

A composição principal do OE extraído dessa espécie vegetal aromática integra-se por terpenóides, conhecidos comumente por terpenos. Os terpenos são compostos naturais, abundantes e diversificados, produzidos a partir do metabolismo secundário das plantas. São formados por, no mínimo, uma unidade com cinco carbonos ligados a oito átomos de hidrogênio (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>), numa estrutura denominada isopreno (Figura 3). Classificam-se a partir do tamanho de cadeia: hemiterpenos (uma unidade de isopreno); monoterpenos (duas unidades de isopreno); sesquiterpenos (três unidades de isopreno); diterpenos (quatro unidades de isopreno); triterpenos (seis unidades de isopreno), tetraterpenos ou carotenóides (sete unidades de isopreno) e politerpenos (diversas unidades de isopreno),<sup>16</sup> e apresentam-se, percentualmente, no OE de lavanda como: monoterpenos oxigenados (68,6%) e hidrocarbonados (2,7%); sesquiterpenos oxigenados (2,6%) e hidrocarbonados (2,6%).<sup>17</sup>

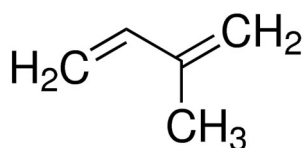


Figura 3. Estrutura química do isopreno.

Fonte: Sigma Aldrich – Adaptado.<sup>8</sup>

### 2.2.1. Extração da Espécie Vegetal

Espécies vegetais diferem-se fenotipicamente e genotipicamente, havendo influência direta na composição química do OE obtido, além de fatores como: clima, fertilização, irrigação e colheita. Por efeito, o rendimento da operação também varia conforme a espécie.<sup>18</sup> As formas de obtenção de OEs mais usuais são de destilação por arraste a vapor, água e vapor ou somente água (hidrodestilação), sendo esta última empregada nesse trabalho.<sup>19</sup>

Baseada na diferença de volatilidade dos compostos presentes na matéria-prima, a hidrodestilação consiste na vaporização das partículas vegetais imersas em água, posta em uma manta de aquecimento para ebulição. Através da pressão imposta ao sistema, a corrente direta do vapor gerado, saturado e superaquecido, permeia o material



vegetal, possibilitando o rompimento dos vasos dos tecidos que armazenam os OEs. A fase vapor contendo vapor de água e o OE fluem para o condensador, gerando formação de duas fases no separador, devido à diferença de densidade entre o óleo e água.<sup>18-Erro!</sup>

Fonte de referência não encontrada.

Portanto, a destilação ocorre em função do aumento de pressão de vapor da mistura óleo-água com temperatura de operação um pouco menor que 100°C, havendo separação sem prejuízo aos componentes orgânicos voláteis presentes nos OEs, devido à sua baixa pressão de vapor e com ponto de ebulição superior ao da água.<sup>18-Erro!</sup> Fonte de referência não encontrada.

### **2.3. Ecologia Bacteriana**

Bactérias são constituídas por uma única célula, classificadas como organismos unicelulares e procariontes, por não apresentarem o núcleo celular definido e nem organelas. Elas variam quanto ao tamanho e as formas que apresentam: cocos (esféricas), bacilos (cilíndricas) e espiraladas (espiral); podem viver com ou sem a presença de oxigênio e fazem parte da microbiota do humano, beneficiando o organismo (comensais) ou prejudicando-o, como o caso das patogênicas e oportunistas, podendo ser nocivas frente a um quadro de diminuição da imunidade.<sup>23,24</sup>

Os chamados agentes antimicrobianos atuam no controle do crescimento bacteriano, podendo eliminá-lo ou impedi-lo, recebendo a classificação, respectiva, de bactericidas e bacteriostáticos. A limitação no crescimento ocorre devido à interferência na produção de proteína e replicação do DNA pela ação bacteriostática. A bactericida afeta diretamente na divisão celular, inativando-a ao haver forte ligação entre o agente microbiano e o alvo celular.<sup>23,24</sup>

#### **2.3.1. Classificação das Bactérias**

Baseando-se na capacidade de fixação de um corante específico em suas paredes celulares, o violeta cristal, na técnica de coloração de Gram, as bactérias podem ser divididas em dois grandes grupos: Gram-negativas (resultam em coloração vermelha) e Gram-positivas (coram em roxo). O diferencial encontra-se na parede celular de cada tipo de microrganismo, que confere forma e resistência à célula.<sup>23,24</sup>

Em Gram-positivas, a parede celular é constituída, em sua maioria, por uma espessa camada de peptídeoglicano. A grande fração de cocos relevantes clinicamente, a exemplo de *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus* e *Enterococcus*, são Gram-

positivas. As Gram-negativas possuem, além da camada de peptidoglicano (mais estreita), uma membrana externa, composta por lipoproteínas, fosfolipídios, proteínas e lipopolissacarídeos, o que a torna mais complexa. A maioria dos bacilos de importância clínica, como *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Salmonella* são Gram-negativas.<sup>23,24</sup>

### **2.3.2. *Escherichia coli* (E. coli)**

A *Escherichia coli* é classificada como um bacilo Gram-negativo comum a microbiota do trato intestinal humano e animal, neste caso, não patogênica e representa um importante papel fisiológico para funcionamento do organismo. Entretanto, alguns tipos de E. Coli são consideradas deletérias, diferenciadas por fatores de virulência, podendo causar infecções no sistema urinário, digestivo, pulmonar, nervoso (meningites) e infecções generalizadas.<sup>24,25</sup>

### **2.3.3. *Pseudomonas aeruginosa* (P. aeruginosa)**

Essa bactéria constitui um dos principais problemáticos e oportunistas bacilos Gram-negativos patogênicos causadores de doenças, principalmente em pacientes imunodeprimidos submetidos a longos períodos de hospitalização. É altamente versátil por ser aeróbica e ainda assim suportar baixas concentrações de oxigênio, baixos níveis de nutrientes e faixas de temperatura de 4 °C a 42 °C. A P. aeruginosa pode causar pneumonia, infecções do trato urinário e bacteremia (presença de bactérias na corrente sanguínea), apresentando alta mortalidade em pacientes que possuem fibrose cística, uma vez que gera danos nos pulmões e insuficiência respiratória. É uma bactéria de difícil erradicação, devido à sua alta resistência intrínseca e adquirida a muitos antibióticos.<sup>26,27</sup>

### **2.3.4. *Staphylococcus aureus* (S. aureus)**

A S. aureus é uma bactéria de morfologia esférica e de cocos Gram-positivos. Encontrada comumente na pele, fossas nasais, garganta e intestino de humanos, pode gerar implicações simples como espinhas, furúnculos, celulites e até infecções graves, por exemplo, pneumonia, meningite e endocardite. As doenças provocadas por esse microrganismo decorrem da invasão e alojamento em tecidos comprometidos por algum trauma ou cirurgia, encontrado no ambiente de circulação do ser humano, sendo este o seu principal hospedeiro.<sup>28</sup>

## 2.4. Polímeros

A palavra polímero advém do grego *poli* (muitos) e *mero* (unidade de repetição). Classifica-se polímero como uma macromolécula de elevada massa molar, acima de dez mil gramas por mol ou, composta por, no mínimo, setecentos e cinquenta unidades de repetição, denominadas meros, ligadas por ligações covalentes, representando o grau de polimerização.<sup>29</sup>

O material de partida para formação de um polímero atende-se como monômero, disposto este de apenas um mero. A unidade de repetição da macromolécula equivale ou aproxima-se, usualmente, ao material de início e o polímero pode apresentar uma forma linear e/ou ramificada, podendo gerar estruturas tridimensionais. Estruturas que apresentam somente um tipo de mero recebem o nome de homopolímeros e, as com dois ou mais meros, copolímeros.<sup>30</sup>

## 2.5. Reações de Polimerização

A obtenção de polímeros acontece através do arranjo de monômeros e mecanismos de reação, respondendo por polimerizações em etapas (mediante grupos funcionais) e em cadeia (poliadição), a exemplo de reações por catalisadores Ziegler-Natta, iônicos ou via radicais livres, por uso de iniciadores organossolúveis ou hidrossolúveis, sendo esta última a adotada neste trabalho.<sup>31,32</sup>

### 2.5.1. Polimerização em Suspensão

A polimerização em suspensão clássica trata-se de um sistema que possui a fase orgânica composta por um ou mais monômeros insolúveis em água e um iniciador organossolúvel. Estes são dispersos na fase aquosa contínua, devido à ação de agentes de suspensão (estabilizantes) em conjunto com agitação, essencial para manter o monômero em forma de gotas de, tipicamente, 20 a 500 µm. O uso de estabilizantes é fundamentado de maneira a estabilizar o sistema, prevenindo a coalescência das gotas orgânicas suspensas na fase aquosa.<sup>31</sup>

As gotas do monômero são convertidas gradativamente durante a reação, passando de uma mistura líquida com mobilidade para uma de elevada viscosidade e, a posteriori, para a partícula de polímero rígida. A conversão atingida pode chegar a 100%, ou seja, todo o monômero transformado em polímero.<sup>31</sup>

### **2.5.2. Polimerização em Miniemulsão**

O princípio da polimerização em miniemulsão consiste na formação de pequenas gotas estáveis do monômero, pré-disperso em uma faixa de 50-500 nm, para então iniciar-se a reação. Tais gotas são formadas pela dispersão de um sistema contendo a fase monomérica (orgânica), contínua (aquosa), surfactante e o co-estabilizador, havendo necessidade de homogeneização como forma de cisalhamento para gerar-se o tamanho desejado das gotas a serem polimerizadas.<sup>33,34</sup>

O uso do co-estabilizador é feito de modo a retardar a degradação difusional, gerada pela alta energia de agitação, e a sua combinação com um surfactante promove a estabilização do sistema a partir da escolha e quantidade de tensoativo adequadas. Estas devem respeitar a concentração micelar crítica (CMC) de modo a não gerar formação de micelas, estabilizando o sistema ao minimizar a coalescência por colisão das gotas monoméricas.<sup>33,34</sup>

### 3. Metodologia Experimental

#### 3.1. Extração do OE

A extração do OE foi feita via hidrodestilação, usando-se um destilador do tipo Clevenger adaptado, mostrado na Figura 4, no Instituto Federal de Brasília – Campus Gama, assim como as análises microbiológicas. O sistema extrator compõe-se, basicamente, por: manta de aquecimento, condensador e separador.

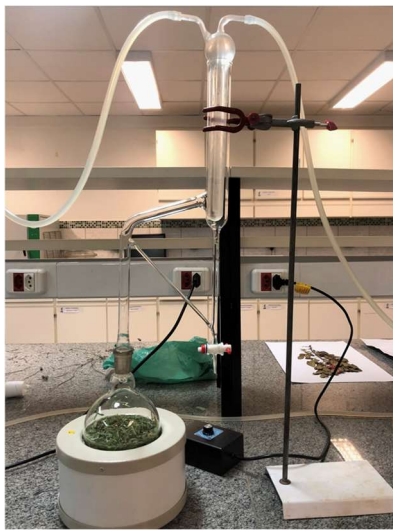


Figura 4. Aparato experimental da extração.

Fonte: Autor.

Foram realizadas extrações, partindo do material vegetal previamente lavado com água corrente, colocado em balão volumétrico de fundo redondo com capacidade de 1000 mL, somado a 500 mL de água destilada sob extração com aquecimento contínuo a 98 °C por 120 min, contados após a ebulição da água.

Decorrido esse período, o OE obtido foi coletado, armazenado em recipiente de vidro escuro para dificultar a entrada de luz, mantido a -20 °C e somente exposto às condições ambientes para análise da atividade microbiana, análise química e produção do polímero para seu encapsulamento.

#### 3.2. Caracterização do OE

A análise química do OE foi realizada na Central de Cromatografia e Espectrometria de Massas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, usando um Cromatógrafo Gasoso acoplado a um Espectrômetro de Massa (GC-MS), Shimadzu QP-2010 com detector seletivo de massas do tipo de ionização de chama

(FID) e analisador quadrupolo, ideal para caracterização rápida de amostras de misturas orgânicas complexas.

As condições experimentais empregadas foram: coluna EN5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm); variação de temperatura da coluna na faixa de 60 a 240 °C, sendo acrescidos 3 °C a cada minuto e arraste com gás hélio, sob fluxo intenso de 1,5 mL min<sup>-1</sup>, de modo a fornecer maior sensibilidade e capacidade de fluxo da coluna. Os resultados gerados foram processados por meio de um *software*, que permite detecção simultânea da interface com as bibliotecas de espectros de massa Wiley7, FFNSCI3 e NIST08.

### 3.3. Teste de Atividade Microbiana

#### 3.3.1. Antibiograma

O antibiograma consiste em um teste qualitativo de avaliação da sensibilidade de microrganismos frente ao antimicrobiano.<sup>35</sup> A fim de investigar a atividade do OE, foram usados três tipos de bactérias: *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*, realizando inserção de discos impregnados de antibiótico para o controle positivo (CP) (grupo para comparação que utiliza o tratamento convencional)<sup>36</sup> e de OE a ser testado em ágar com meio de cultura Mueller Hinton e contendo os microrganismos, gerando três placas, uma para cada bactéria, como ilustrado na Figura 5.

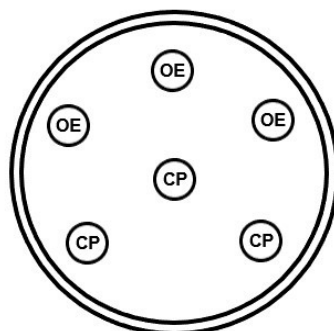


Figura 5. Ilustração do antibiograma.

Fonte: Autor.

Para a primeira etapa, fez-se a preparação do meio de cultura a partir do meio sólido Mueller Hinton de acordo com as instruções do fabricante: adição do surfactante e emulsificante Tween 80, também conhecido como Polisorbato 80 (0,8%), sob agitação e aquecimento, para melhor dissolução. Sequencialmente, placas de Petri com a solução preparada anteriormente, foram submetidas à esterilização em autoclave por 15 min, com posterior adição de 25 mL do meio em cada placa usada, solidificação à temperatura

ambiente e exposição à luz ultravioleta para eliminar possíveis contaminantes. Ao final dessa etapa, as três cepas de bactérias em solução foram transferidas, uma para cada placa estéril com o meio, espalhadas e deixadas em incubação, por 18 a 24 h, a 37 °C em estufa, para crescimento de novas colônias, mostradas na Figura 6.

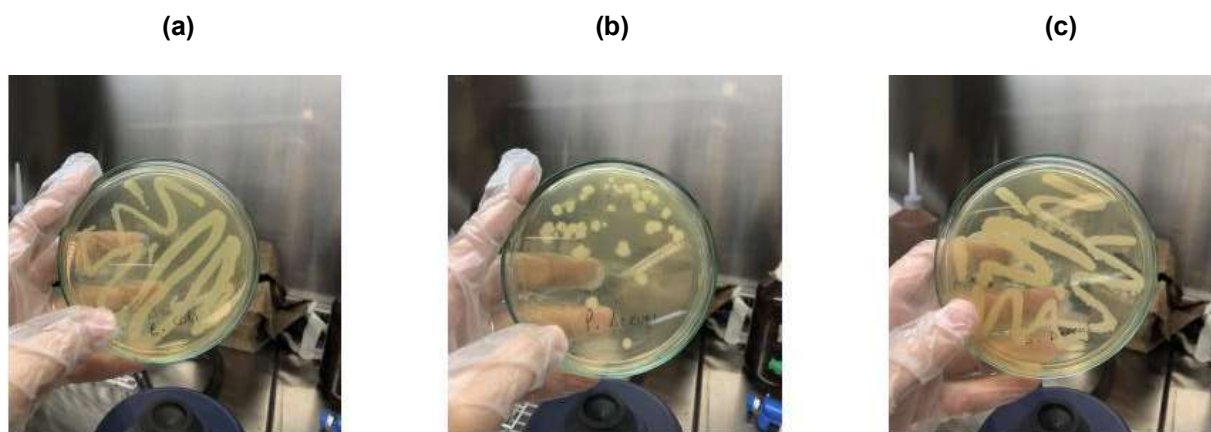


Figura 6. Colônias preparadas: (a) *E. coli*, (b) *P. aeruginosa* e (c) *S. aureus*.

Fonte: Autor

A segunda etapa foi compreendida pela preparação do inóculo a ser usado nas placas do antibiograma. Partindo das culturas jovens confeccionadas, usou-se um cotonete estéril, conhecido como *swab*, para transferir uma colônia de cada bactéria para os respectivos tubos com rosca contendo 9 mL de soro fisiológico 0,85% esterilizado, homogeneizados em um Agitador Vortex (NI 1059 – Agitador de Tubos Vortex – 0 a 2500 rpm).

Foi feita a padronização desta solução com o auxílio do padrão 0,5 de McFarland para comparar, qualitativamente, a turvação e suspensão de microrganismos, verificando se a solução do inóculo estava adequada ou com quantidade superior ou inferior de microrganismos. Sendo pertinentes ao padrão, assume-se a concentração da solução igual a  $10^8$  unidades formadoras de colônia (UFC), transferindo-se 100  $\mu$ L de cada solução de inóculo padronizada para as correspondentes placas com meio esterilizado, espalhando com auxílio de pérolas de vidro. Foram formados três antibiogramas a partir da inserção dos discos do antibiótico Gentamicina e discos de papel embebidos com 10  $\mu$ L de OE, em triplicata, incubados por 18 a 24 h, a 37 °C em estufa.

Decorrido o tempo necessário, verificou-se o resultado se houve ou não formação de halos de inibição do crescimento bacteriano ao redor de cada disco, podendo classificar a bactéria como sensível ou resistente à ação do OE estudado.

### 3.3.2. Concentração Inibitória Mínima (MIC)

A análise quantitativa consiste na obtenção da menor concentração do OE capaz de impedir o crescimento de microrganismos, baseando-se na diluição seriada do mesmo, ou seja, a diminuição progressiva da sua quantidade no meio contendo o micróbio.

O procedimento aproxima-se do descrito anteriormente, havendo inicialmente: separação de materiais e preparação dos meios e placas para esterilização em autoclave, procedendo-se com a replicação de novas placas de colônias de bactérias, de acordo com o previamente executado. Para esse teste, usou-se outro meio de cultura, chamado também de caldo, por apresentar-se líquido à temperatura ambiente e a ele foi adicionado uma solução de dimetilsulfóxido (DMSO) 5% v/v para solubilização das amostras.

A posteriori, avançou-se para o teste de concentração inibitória mínima (MIC) em si, dispondo da placa de 96 poços, como estampada na Figura 7.

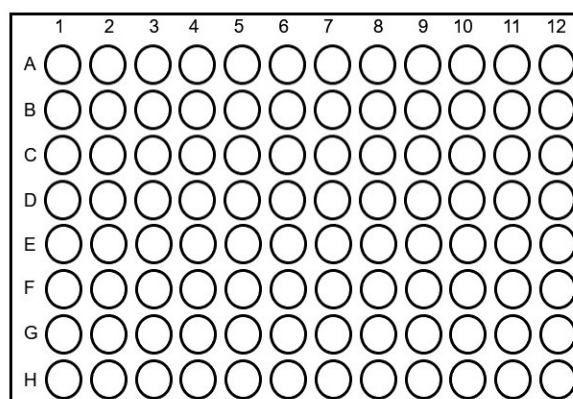


Figura 7. Ilustração da placa com 96 poços para o teste de MIC.

Fonte: Autor.

Os poços para análise foram divididos e identificados: as colunas de 1 a 9 foram usadas para a diluição seriada; 10, 11 e 12 para, respectivamente, controles negativo (apenas meio e inóculo), positivo (apenas meio e óleo) e controle do meio. Cada linha nomeada por letras representa um tipo de bactéria e suas devidas replicatas. Como foram analisadas três bactérias, fez-se necessário o uso de duas placas para inclusão da triplicata de cada microrganismo.

A primeira replicata feita foi para E. coli, adotando a linha descrita como “A”. Foram adicionados ao primeiro poço 250 µL do meio, denominado caldo de Mueller Hinton; do



segundo poço até o décimo primeiro, somam-se 140 µL do meio e, na décima segunda, 150 µL de controle do meio.

O OE foi adicionado ao controle positivo (A11) e no primeiro poço (A1) com as seguintes quantidades, em ordem: 10 µL e 30 µL. A maior dosagem adicionada em A1 foi devido à diluição seriada. Para isso, efetuou-se a homogeneização deste primeiro poço contendo óleo e meio, e 140 µL deste poço foram transferidos para o seguinte (A2), prosseguindo da mesma forma até o poço 9, equalizando bem entre uma cavidade e outra.

A última adição feita foi a de 10 µL do inóculo de *E. coli* nos poços, com exceção dos de controle positivo e controle do meio. Para as outras replicatas desta bactéria, da *P. aeruginosa* e da *S. aureus* a mesma metodologia foi seguida, usando o inóculo respectivo de cada microrganismo.

A placa preenchida foi agitada por 5 min, usando agitador de microplaca, e incubada a 37 °C, por 18-24 h. Após a incubação, os poços foram analisados visualmente para verificar o crescimento das bactérias, apresentado a partir da turbidez e, adicionou-se o corante revelador Resazurina, levemente fluorescente, para obtenção dos resultados concebidos através da coloração.

### **3.4. Síntese dos Polímeros**

Foram feitas sínteses com e sem OE para cada processo de polimerização, diferenciando os reagentes utilizados, porém dispondo do mesmo volume reacional de 10 mL.

#### **3.4.1. Polimerização em suspensão**

Os reagentes utilizados foram: água destilada; poli(vinil álcool) (PVA) Denka Poval, com grau de hidrólise de 80%; MMA 99% da Sigma-Aldrich e peróxido de benzoíla (BPO) 75% da Sigma-Aldrich.

O meio reacional foi preparado com as duas fases simultaneamente. A fase aquosa foi montada com PVA e água destilada compondo 70% do meio reacional. Já, a fase orgânica foi disposta com MMA (monômero – 30% do meio) e BPO (iniciador); para reação com o OE, o mesmo foi incorporado nesta fase, compondo 5% do meio.

A solução foi homogeneizada e a reação foi realizada em ampola submetida a um banho de óleo a 85 °C por 270 min, sob agitação magnética.

### 3.4.2. Polimerização em miniemulsão

Os reagentes utilizados foram: água destilada; dodecil sulfato de sódio (SDS) 90% da Reagen; MMA 99% da Sigma-Aldrich; persulfato de potássio (KPS) 99% da Sigma-Aldrich e crodamol GTCC da Alpha Química.

As duas fases foram preparadas separadamente. A fase aquosa foi montada com KPS (iniciador), SDS e água destilada, compondo 80% do meio reacional. A fase orgânica foi disposta com MMA (monômero – 20% do meio) e crodamol; para a reação com o OE, o mesmo foi incorporado nesta fase, representando 5% do meio.

As fases foram homogeneizadas separadamente, combinadas e submetidas a um sistema ultrassônico de alta energia para geração de nanogotas. A reação foi realizada em ampola, colocada em banho de óleo, 85 °C, 180 min, sob agitação. Nas duas reações de polimerização, o aparato experimental usado foi o mesmo (Figura 8).



Figura 8. Ilustração do aparato experimental para as reações de polimerização.

Fonte: Autor.

Após as sínteses, foram recolhidas alíquotas e a elas adicionou-se hidroquinona, para cessar a reação. Em seguida, foram colocadas em estufa a 50 °C, para secagem, obtendo-se os dados de conversão e o produto sólido, usado nas caracterizações de análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). As terminologias adotadas para as amostras sintetizadas foram as seguintes:

- PMMASSOE - PMMA em suspensão sem OE;
- PMMA SCOE - PMMA em suspensão com OE;
- PMMA MSOE - PMMA em miniemulsão sem OE;
- PMMA MCOE - PMMA em miniemulsão com OE.

### 3.5. Caracterizações Poliméricas

As caracterizações foram realizadas para as quatro amostras sintetizadas: PMMASSOE, PMMASCOE, PMMAMSOE e PMMAMCOE.

A medida do tamanho de partícula foi feita a partir do espalhamento de luz dinâmico (DLS), com o equipamento da linha *Zetasizer – Malvern Panalytical*, realizado no Laboratório de Tecnologia de Medicamentos, Alimentos e Cosméticos (LTMAC) da Universidade de Brasília.

As amostras foram preparadas com alíquotas de 0,05 mL, diluídas a um fator de 40 para geração de uma solução límpida, garantindo a passagem de luz pela cubeta, preenchida com 1 mL, inserida no equipamento. A aquisição dos dados foi feita a partir do programa *Zetasizer*, dando informações de tamanho médio de partícula e índice de polidispersividade (PDI), após triplicatas de 15 varreduras cada.

A análise de decomposição térmica foi feita por meio da TGA, para serem obtidos os dados da variação de massa da amostra com incremento de temperatura, ou seja, a sua decomposição, em atmosfera inerte. O equipamento usado foi o DTG-60H – Shimadzu, disponível na Central Analítica do Instituto de Química, sob as condições: massa da amostra de aproximadamente 6 mg, taxa de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , fluxo de  $50\text{ mL min}^{-1}$  de gás nitrogênio; faixa de temperatura de  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $600\text{ }^{\circ}\text{C}$  e amostra sólida acondicionada em cadinho de platina, assim como a referência.

No que compete acerca da identificação de mudanças ocorridas sem variação de massa, fez-se uso da DSC, a fim de investigar e comparar as transições termodinâmicas, a exemplo da temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) das amostras sem e com o OE. Essa análise também foi feita na Central Analítica do Instituto de Química, em um DSC-60 – Shimadzu, que permite a realização das análises com controle de atmosfera e resfriamento da amostra com nitrogênio líquido, para eliminar a sua memória térmica. As condições adotadas na análise foram: cerca de 5 mg de massa da amostra, acondicionada em cadinho de alumínio hermeticamente fechado; fluxo de gás hélio de  $30\text{ mL min}^{-1}$ ; purga de  $100\text{ mL min}^{-1}$  de nitrogênio gasoso, durante a etapa de resfriamento; taxa de aquecimento e resfriamento igual a  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , variando de  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1. Exsicata

A partir da busca e escolha de uma espécie vegetal aromática, para classificar e utilizar, fez-se o depósito da exsicata em herbário credenciado, de maneira a certificar e etiquetar a planta tratada. Para isso, a mesma foi dessecada e prensada por 3 dias com posterior colagem, fixação e tombamento no herbário UB sob número Brahm's (*Botanical Research and Herbarium Management System*) 242168 (APÊNDICE A – Exsicata)

### 4.2. Rendimento das Extrações

O rendimento em massa baseou-se na quantidade em gramas de matéria-prima e do OE obtido. Encontram-se presentes na Tabela 1 os dados gerados para cada extração realizada, baseados na Equação (1).

$$\text{Rendimento} = \left( \frac{\text{Massa OE}}{\text{Massa Material vegetal}} \right) \cdot 100\% \quad (1)$$

**Tabela 1.** Dados dos rendimentos das extrações.

Extração	Matéria prima vegetal (g)	OE (g)	Rendimento (%)
1	26,5127	0,3041	1,15
2	35,8599	0,4433	1,24
3	35,9854	0,4537	1,26
4	50,6353	0,4144	0,82
5	50,7506	0,4195	0,83

O rendimento mostrou-se baixo, porém a porcentagem de OE presente em matérias-primas vegetais é realmente desprezível. Para fins de comparação, por exemplo, o rendimento máximo da extração de óleos cítricos, como o de laranja, é de 0,4%, ou seja, para cada tonelada de fruta processada são obtidos 4 kg de OE.<sup>37</sup> Portanto, faz-se necessário o uso de grande quantidade de materiais de partida para obtenção de quantidade satisfatória de OE, tornando-o um produto de alto valor agregado e de baixa conversão.

Existem fatores que exercem influência direta na produção e variabilidade desses metabólitos como: luz; temperatura; nutrição do solo e água, que podem ser controlados, visando adoção em processo industrial, para que a disponibilidade desses monoterpenos

seja melhorada. Tratando-se desses fatores, tem-se que valores extremos de temperatura reduzem a produção, enquanto que pequenas variações diárias promovem o estímulo; o solo tem maior importância no crescimento, desenvolvimento, quantidade de matéria vegetal e OE – um solo alcalino e de suprimento de nitrogênio e fósforo representa estimulação e conseqüentemente aumento do rendimento; a disponibilidade de água também afeta a produção de OE, porém têm-se resultados diferentes conforme a espécie vegetal. Há plantas irrigadas que desenvolvem maior quantidade de monoterpenos, quando comparadas às não irrigadas, porém outros vegetais produzem uma quantidade de OE elevada em função de um longo período de seca.<sup>38,39</sup>

Desta forma, cada planta deve ser estudada, submetendo-a a diferentes fatores, visando à otimização dos resultados para aplicação no mercado, diminuindo o custo e a demanda de matéria-prima.

### 4.3. Análise de Componentes do OE por GC-MS

A análise dos componentes a partir do GC-MS forneceu o cromatograma mostrado na Figura 9, disposto de todos os picos detectados (44) com suas respectivas áreas e tempo de retenção ( $R_T$ ) de cada componente na coluna cromatográfica, o que atesta a mistura complexa que forma o OE.

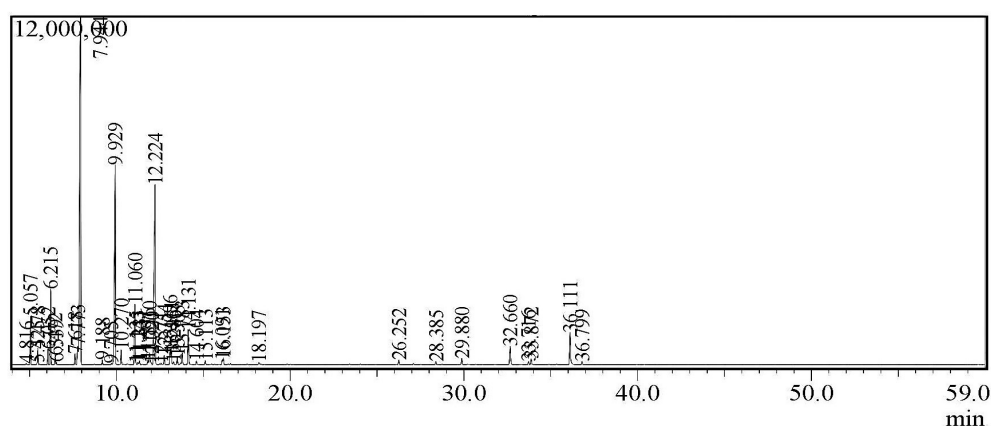


Figura 9. Cromatograma OE *Lavandula dentata* L.

Fonte: Autor

As substâncias químicas orgânicas presentes no cromatograma foram identificadas pelo espectrômetro de massas e conferidas com a literatura, a partir do cálculo do índice de retenção de Kovats (IK) que, converte tempos de retenção em

constantes independentes do sistema, a partir da Equação 2, baseado na normalização dos tempos de retenção do componente e os do padrão de eluição.

$$IK = 100n + 100\left(\frac{\log a - \log t_n}{\log t_{n+1} - \log t_n}\right) \quad (2)$$

Em que: “n” representa o número de carbonos do padrão menos retido; “log t<sub>a</sub>” o tempo de retenção da substância; “log t<sub>n</sub>” o tempo de retenção do padrão menos retido e “log t<sub>n+1</sub>” o tempo de retenção do padrão mais retido.

Os dados obtidos para cada componente: pico, área do pico (%), T<sub>R</sub>, IK (calculado e tabelado<sup>40</sup>) e identificação, foram relacionados na Tabela presente no APÊNDICE B – Identificação dos componentes do OE de *Lavandula dentata* L. De tal maneira, pôde-se constatar os constituintes majoritários do OE da Lavanda, que são: eucaliptol (37,56%), cânfora (17,21%) e fenchona (15,94%), com suas respectivas estruturas químicas mostradas na Figura 10 e seus espectros de massa apresentados nas Figuras do APÊNDICE C – Espectros de massa dos componentes majoritários do OE.

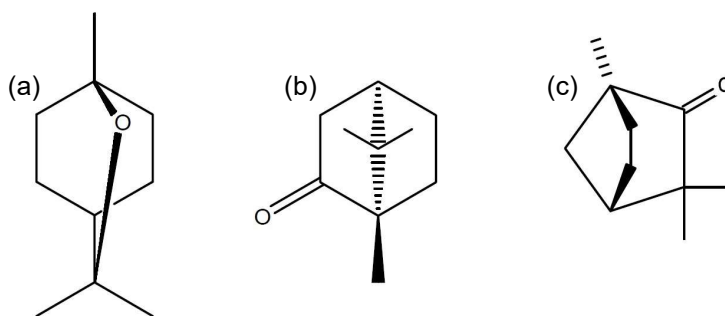


Figura 10. Estruturas químicas: (a) eucaliptol, (b) cânfora e (c) fenchona.

Fonte: ADAMS, 2017.<sup>40</sup>

As atividades e aplicações dos OEs são viabilizadas por sua complexa composição, conferindo-lhes propriedades intrínsecas. O eucaliptol (1,8-cineol) é um éter classificado como um monoterpene de baixa toxicidade associada, empregado comumente como aromatizante, antisséptico e antimicrobiano, em preparações farmacêuticas e cosméticas, devido ao seu caráter anti-inflamatório, antisséptico, rubefaciente (congestão sanguínea no local de aplicação, agindo contra processos inflamatórios), sedativo, analgésico e broncodilatador.<sup>41,42</sup>

Também, um monoterpene, porém com função orgânica cetona, a cânfora tem alto valor de mercado, devido aos seus vastos usos na indústria de medicamentos e

perfumarias. De odor agradável e propriedades antissépticas, analgésicas, expectorantes e cardiotônicas (estimuladora de centros nervosos), pode ser usado para dores reumáticas, resfriados, dores de garganta, hipocondria, histerismo, convulsões, hemorragias uterinas, vermífugo, entre outras patologias. Tem toxicidade protuberante, portanto deve-se ter cuidado na sua manipulação e seguir as doses máximas recomendadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no Brasil.<sup>43-45</sup>

A fenchona possui estrutura e odor semelhantes à cânfora, catalogada também como monoterpeneo de função cetona. Tem seu uso como agente aromatizante em alimentos e perfumaria, anti-inflamatório, analgésico e em atividade antimicrobiana.<sup>46</sup>

De acordo com as características citadas acima, o OE da *Lavandula dentata* L. mostra-se com alto potencial contra microrganismos em função dos seus componentes principais, fomentando análises *in vitro* a serem realizadas para averiguar tal aptidão.

#### 4.4. Análises Microbiológicas

Um antibiograma representa uma análise *in vitro* que, avalia duas variáveis: a droga e o microrganismo, a partir do padrão de resposta de bactérias acerca da sua sensibilidade ou resistência frente aos inibidores de crescimento.<sup>35</sup> A partir da metodologia descrita na seção 3.3.1, os resultados revelados estão na Figura 11.

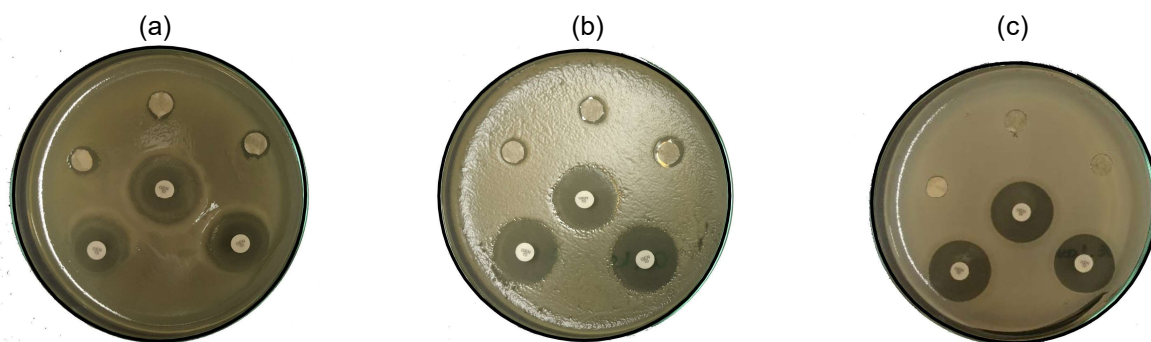


Figura 11. Resultados antibiogramas para: (a) *E. coli* (b) *P. aeruginosa* e (c) *S. aureus*.

Fonte: Autor.

Observando as imagens dos antibiogramas na Figura 11, pode-se perceber, visualmente, se houve ou não formação de halos de inibição de crescimento bacteriano nas placas de Petri com meio Mueller-Hinton. A fim de compreender em qual microrganismo o OE obteve o melhor desempenho, foram realizadas as medidas, com base na diferença de raios, de cada halo gerado nas três placas com o auxílio de um

paquímetro. Todos os dados obtidos com suas respectivas médias e desvios padrões foram inseridos nas Tabelas do APÊNDICE D – Resultados microbiológicos.

A partir da média dos resultados, a bactéria *P. aeruginosa* foi a mais inibida pelo OE, em conjunto com a *E. coli*, porém esta última com menor média de tamanho do halo de inibição. Ambas possuem, portanto, possível sensibilidade, ou seja, alguma infecção ou prevenção relacionada aos agentes isolados, podem ser satisfatoriamente tratadas com a dose recomendada do agente microbiano.<sup>47</sup>

Devido ao ínfimo tamanho do halo de inibição, presume-se que a *S. aureus* mostra-se como resistente, portanto, não sendo inibida pela concentração alcançada de OE de Lavanda.<sup>47</sup>

Comumente, resultados sensíveis no antibiograma têm boas chances de sucesso clínico. Em oposição, como previsível, bactérias resistentes ao OE testado diminuem significativamente a probabilidade de êxito clínico.<sup>47</sup> A resistência bacteriana é um fenômeno que pode ser explicado geneticamente, associado aos genes presentes nos microrganismos que codificam mecanismos bioquímicos, impedindo assim, a ação de drogas.<sup>48-50</sup> Como as bactérias que apresentaram poder inibitório, *P. aeruginosa* e *E. coli*, definem-se como Gram-negativas e a *S. aureus*, que não formou halo de inibição, como Gram-positiva, tal informação leva à indução sobre o poder do OE na contenção de bactérias de apenas um dos grupos, conseguindo permear a membrana externa com algum de seus componentes e, com pouca ou nenhuma produção, por parte do microrganismo, de alguma enzima de inibição do OE. Contraditoriamente, em relação à Gram-positiva, pode ter havido formação de alguma substância com caráter inibitório à droga, ou o antibiograma não foi capaz de alcançar um resultado mais aperfeiçoado. Desta forma, realizou-se a determinação da MIC, para averiguar tais suposições, prosseguindo com as três bactérias para a análise.

A determinação da MIC pelo OE, foi feita pela adição de cada inóculo bacteriano ajustado ao padrão ( $1$  a  $3 \cdot 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>), nos poços 1 a 9, possuindo estes, diferentes concentrações do óleo, representando, respectivamente: 10; 5; 2,5; 1,25; 0,6; 0,3; 0,16; 0,08 e 0,04% v/v. Os resultados obtidos estão expostos na Figura 12.



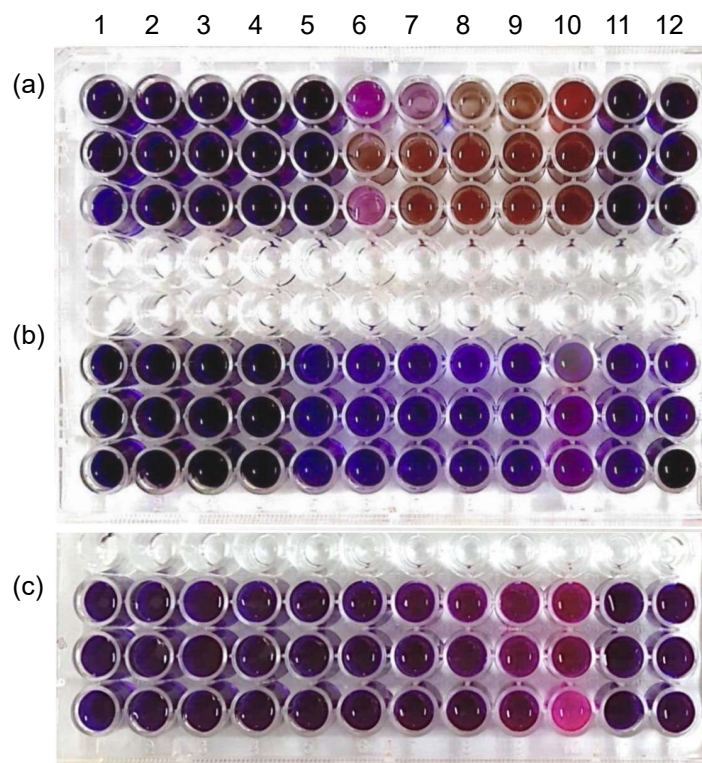


Figura 12. Imagem da revelação MIC para (a) *E. coli*, (b) *P. aeruginosa* e (c) *S. aureus*.

Fonte: Autor.

A solução reveladora adicionada evidencia o crescimento bacteriano, em que a coloração vermelha representa atividade microbiana (A) e a azul, a inatividade (I).<sup>51</sup> O resultado para os controles negativo, positivo e de meio (colunas 10, 11 e 12, respectivamente) ocorreu como o esperado para todas as bactérias: o negativo com cor vermelha, devido à presença de meio de cultura e bactéria, sem agente antimicrobiano; no positivo há somente meio e OE, como a placa foi montada em uma capela de fluxo laminar que permite manipulação segura dos materiais sem contaminação externa, não há presença de micróbios, ocorrendo assim a inatividade representada pela coloração azul; controle de meio com cor azul, seguindo a mesma linha de raciocínio anterior. Atestando-se a atividade bacteriana somente nos poços de controle em que houve adição de inóculo bacteriano.

A leitura dos dados da MIC e as concentrações do OE, associadas a cada poço, podem ser vistas no mapeamento da Figura 12, resultando na Tabela 2.

**Tabela 2.** Resultados da atividade (A) e da inatividade (I) microbiana obtidos pela MIC.

Bactérias		Concentração do OE ( $\mu\text{L mL}^{-1}$ )								Controles			
		100	50	25	12,50	6,25	3,12	1,56	0,78	0,39	CN	CP	CM
E. coli	1	I	I	I	I	I	A	A	A	A	A	I	I
	2	I	I	I	I	I	A	A	A	A	A	I	I
	3	I	I	I	I	I	A	A	A	A	A	I	I
P. aeruginosa	1	I	I	I	I	I	I	I	I	I	A	I	I
	2	I	I	I	I	I	I	I	I	I	A	I	I
	3	I	I	I	I	I	I	I	I	I	A	I	I
S. aureus	1	I	I	I	I	I	I	A	A	A	A	I	I
	2	I	I	I	I	I	I	A	A	A	A	I	I
	3	I	I	I	I	I	I	A	A	A	A	I	I

Tais resultados, baseados na coloração apresentada nos poços, foram satisfatórios, na medida em que, as triplicatas de cada bactéria exibiram a mesma cor e os poços de controle atenderam ao esperado.

A *P. aeruginosa* foi a bactéria melhor inibida pelo OE da *Lavandula dentata* L., havendo inibição até a menor concentração adotada de  $0,39 \mu\text{L mL}^{-1}$ , o que reitera o resultado dado pelo antibiograma do maior halo de inibição, podendo-se considerar essa bactéria como sensível e satisfatoriamente tratada com a dose empregada do agente antimicrobiano.

Os outros microrganismos testados entraram em conflito no que compete aos resultados do antibiograma e da MIC. A bactéria *S. aureus* foi a que apresentou menor halo de inibição com média igual a  $0,16 \text{ mm}$ , enquanto a *E. coli* teve média superior de  $1,02 \text{ mm}$ , porém a concentração mínima de OE para inibi-la foi maior do que a da *S. aureus*, com valores iguais a, respectivamente,  $6,25$  e  $3,12 \mu\text{L mL}^{-1}$ . Como a análise da MIC é mais aperfeiçoada e o teste de difusão de disco em ágar é um método mais limitado, além de serem qualitativos por depender da boa difusibilidade do antimicrobiano no meio sólido para ter-se resultados confiáveis,<sup>52</sup> pode-se afirmar que o teste MIC representa melhor confiabilidade, uma vez que o óleo foi incorporado em meio de cultura líquido e emulsificado com DMSO 5% v/v de forma a criar apenas uma fase e interagir com o caldo.

#### 4.5. Encapsulamento e Caracterização

Foram realizadas sínteses poliméricas com e sem OE, para fins de comparação e caracterização acerca da esperada modificação ocasionada ao encapsular o OE. As quantidades reais usadas para as reações de polimerização em suspensão e em miniemulsão foram dispostas nas Tabelas do APÊNDICE E – Quantidades reacionais para as polimerizações.

Os resultados da conversão ( $\chi$ ), ou seja, a porcentagem de monômero convertida a polímero foi obtida a partir de uma alíquota retirada ao final de cada reação e seca em estufa, gerando os dados da Tabela do APÊNDICE F – Caracterização polimérica, segundo a Equação 3.

$$\chi (\%) = \frac{M_{\text{Produto seco}}}{M_{\text{Produto líquido}} \cdot \phi_{\text{Fração monomérica}}} \cdot 100(\%) \quad (3)$$

A maior porcentagem obtida foi para o encapsulamento via miniemulsão, comparada aos dados via reação em suspensão. Esse fato pode ser compreendido por uma das dificuldades da polimerização em suspensão que é a dificuldade em evitar a formação de aglomerados na fase orgânica,<sup>31</sup> necessitando de agitação mecânica vigorosa, regular e contínua.

O tamanho de partícula e o PDI foram gerados pela análise DLS, com dados obtidos dispostos no APÊNDICE F – Caracterização polimérica. O tamanho médio de partícula em nanômetros (nm) foi maior para as amostras polimerizadas em suspensão (PMMASSOE – 530,90 nm; PMMASCOE – 287,90 nm), para esse tipo de reação, a faixa típica ocorre de 20 a 500  $\mu\text{m}$ .<sup>31</sup> Além do mais, o princípio da miniemulsão está na polimerização de nanogotas, o que fomenta partículas menores (PMMAMSOE – 67,11 nm; PMMAMCOE – 77,39 nm).

Acredita-se que o OE na suspensão atuou como estabilizante agente plastificante, aumentando a flexibilidade e distensibilidade<sup>29</sup> da amostra PMMASCOE, de modo a diminuir a aglomeração da fase orgânica, por conseguinte, reduzindo seu tamanho de partícula. A miniemulsão respondeu de forma contrária, havendo um aumento de, aproximadamente, 10 nm da amostra sem OE para a com OE, sugerindo seu encapsulamento.

O PDI diz sobre a homogeneidade do tamanho das partículas de uma amostra. Os valores variam na faixa de 0 a 1 e, quanto maior e mais próximo da unidade, tem-se indicativo de polidispersão, ou seja, partículas de tamanhos desiguais. Erro! Fonte de referência não encontrada. Desta forma, pode-se afirmar que as amostras provenientes da reação via miniemulsão possuem cadeias de tamanho mais igualitário, comparado às da reação via suspensão, mas ainda assim o PDI mostra-se baixo: inferior a 0,5 para todas elas.

As análises térmicas dos materiais feitas por meio da TGA e de DSC, forneceram resultados que confirmam a abordagem inicial dada pelo DLS.

As curvas TGA para as reações em suspensão e em miniemulsão foram dispostas na Figura 13.

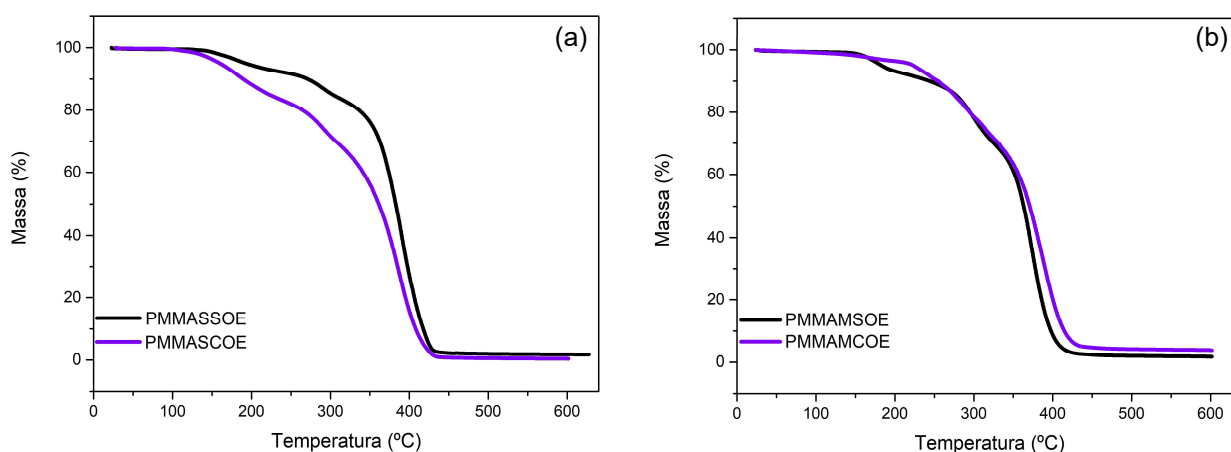


Figura 13. Curvas TGA para as reações em: (a) suspensão e (b) miniemulsão.

Fonte: Autor.

O perfil das curvas de decomposição mostra-se semelhante no que compete à despolimerização do PMMA, processo reverso da polimerização, ocorrida através da cisão de ligações C-C, formando radicais livres e o monômero que originou o polímero.<sup>54</sup> Há três estágios principais de degradação, porém não são completamente separados, notando-se que o segundo e o terceiro se sobrepõem parcialmente.<sup>55</sup> As perdas de massa de todas as amostras com suas devidas temperaturas de início e de decomposição ( $T_d$ ) - obtida pela primeira derivada da curva principal, encontram-se no APÊNDICE F – Caracterização polimérica.

As curvas TGA da reação em suspensão (Figura 13 (a)) apresentam variabilidade na temperatura de perda de massa. Percebe-se, nitidamente, que o material contendo o OE é menos estável termicamente, comparado ao sem OE. Esse fato concorda com o

presumido anteriormente, pela ação do óleo como um plastificante ao alojar-se entre as cadeias poliméricas, distanciando-as e, assim, diminuindo as forças intermoleculares ao aumentar a mobilidade das cadeias.<sup>29</sup> Desta forma, o incremento de temperatura afeta o material contendo OE de maneira mais acentuada. Além disso, outro fator importante está no menor tamanho de partícula da amostra PMMASCOE, que, por consequência, gera maior superfície de contato entre elas, o que facilita a decomposição térmica do material, devido à sua homogeneidade.

O comportamento das curvas TGA dos materiais obtidos pelas reações em miniemulsão (Figura 13(b)) mostra-se contrário ao da suspensão, havendo perfis similares das curvas de ambas as amostras referentes a esse tipo de polimerização. Porém, a amostra PMMAMCOE apresenta uma resistência um pouco maior à perda de massa, podendo ser justificada pela maior área superficial do material, dificultando a sua decomposição, ratificando o encapsulamento positivo do OE.

A caracterização por DSC foi feita para verificar a influência da adição do OE na temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ), que ocorre em polímeros amorfos ou semicristalinos no estado vítreo, apresentando-se rígidos, duros e quebradiços assim como um vidro, que, ao serem submetidos a um aquecimento, em uma determinada faixa de temperatura, ocorre a mudança de conformação das cadeias poliméricas da fase amorfa quando estas ganham mobilidade.<sup>29</sup> A Figura 14 apresenta as curvas DSC dos materiais obtidos pelas reações de polimerização em suspensão e em miniemulsão.

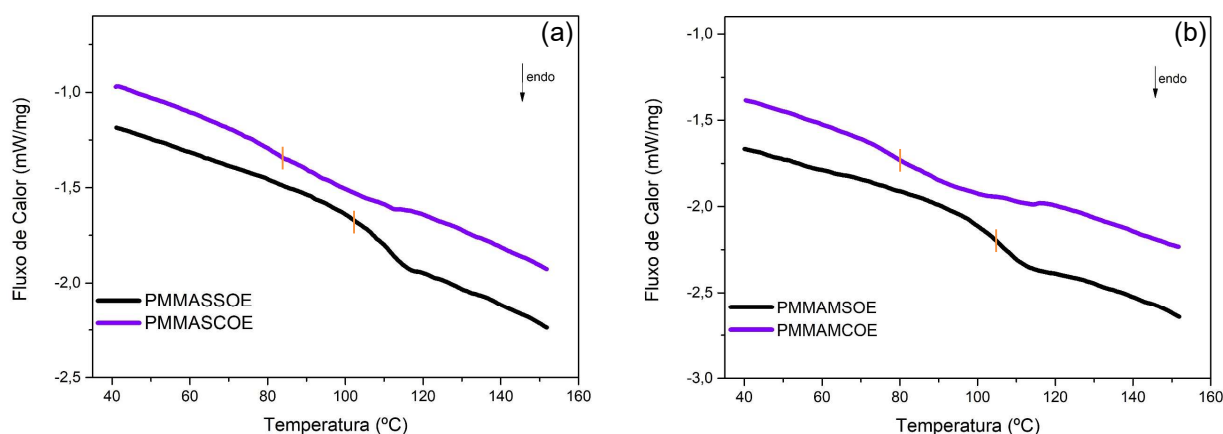


Figura 14. Curvas de DSC para as reações em: (a) suspensão e (b) miniemulsão.

Fonte: Autor.

De acordo com as curvas DSC e com a leitura dos seus dados (Tabela 3) comprova-se que há transição vítrea, caracterizada pela ocorrência de uma transição termodinâmica de segunda ordem, representada pela variação no calor específico ( $C_p$ ), dado em  $J g^{-1} °C^{-1}$ ,<sup>29</sup> e vista pela mudança na linha de base das curvas.

**Tabela 3.** Temperaturas de transição vítrea das amostras.

Amostra	PMMASSOE	PMMASCOE	PMMAMSOE	PMMAMCOE
$T_g$ (°C)	101	83	107	79

Em função dos resultados obtidos por DSC, classificam-se as amostras obtidas como materiais amorfos ou semicristalinos (embora a faixa de temperatura de fusão do PMMA não tenha sido analisada, mas sabe-se que é em torno de  $160 °C$ )<sup>56</sup>. Adicionalmente, percebe-se que houve uma diminuição no valor da  $T_g$  para os materiais contendo o OE. Isso pode ser explicado pelo enfraquecimento das forças intermoleculares com a adição do OE, tanto para o material obtido pela reação em suspensão como em miniemulsão, havendo início de uma relaxação estrutural ao absorver calor, provocando vibração molecular, comportamento do calor específico diferente do padrão e mobilidade da fase amorfa das amostras com OE em uma temperatura menor que a usual para o PMMA, que é próxima a  $105 °C$ .<sup>29,57-59</sup>

## 5. Considerações Finais

O trabalho de conclusão de curso que visou a obtenção de polímero ativo encapsulado com OE de *Lavandula dentata* L., foi desenvolvido por três meses de pesquisa e gerou resultados muito satisfatórios.

Baseado nos resultados das caracterizações: cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas, índice de Kovats, antibiogramas e concentração inibitória mínima, pode-se afirmar que o OE estudado possui potencial contra microrganismos, inibindo tanto bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas, que são as mais incisivas.

Dois tipos de polimerização foram sugeridos e testados de forma a aumentar o ciclo de vida do OE, ou seja, sem perdas por volatilização, visando posterior aplicação no mercado. Houve constatação do encapsulamento no método de polimerização via miniemulsão, fundamentada nas caracterizações: DLS; TGA e DSC, e que a adição do OE na suspensão ajudou em uma de suas dificuldades (aglomeração da fase orgânica), atuando como plastificante.

A manutenção dos grandes centros urbanos vincula-se a perfis de consumo que reiteram a busca por fontes alternativas de desenvolvimento sustentável. O uso de polímeros de origem petroquímica é uma preocupação associada à alta taxa de depleção das reservas de combustíveis fósseis e ao comprometimento ambiental causado por sua difícil degradação, necessitando cada vez mais do investimento em fontes renováveis e biodegradáveis com as mesmas propriedades técnicas, aparência e versatilidade dos materiais existentes a um custo menor ou equivalente.

O polímero produzido neste trabalho possui baixa toxicidade, porém não é biodegradável. O que sugere busca por formas de geração de menores danos ao ambiente, que podem ser causados pelo descarte desse polímero, após execução de suas funcionalidades. Como o PMMA se degrada por despolimerização, gerando o seu monômero, pode-se pensar em uma logística reversa, havendo a restituição dos resíduos sólidos ao setor que o produziu, fazendo com que haja uma reutilização desses monômeros provenientes da degradação do PMMA em novos encapsulamentos, diminuindo o investimento em maiores quantidades de MMA ou até a reciclagem do próprio polímero.

A continuidade do trabalho baseia-se na prospecção por meios de aperfeiçoamento do produto final para adoção no mercado, necessitando de estudos acerca da cinética de liberação ao meio do OE encapsulado, assim como estratégias de viabilidade econômica, pois o OE possui baixo rendimento e alto valor agregado.



## 6. Referências Bibliográficas

- 1 PELISSARI, F.M.; GROSSMANN, M.V.E.; YAMASHITA, F.; PINEDA, E.A.G. Antimicrobial, Mechanical, and Barrier Properties of Cassava Starch-Chitosan Films Incorporated with Oregano Essential Oil, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009.
- 2 BODINI, Renata Barbosa, Desenvolvimento de materiais poliméricos bioativos à base de gelatina e própolis, Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, 2011.
- 3 DORMAN, H. J. D.; DEANS, Stanley G., Antimicrobial Agents from Plants: Antibacterial Activity of Plant Volatile Oils, *Journal of Applied Microbiology*, V. 88, N. 2, 2000.
- 4 NYCHAS, G. J. E., Natural Antimicrobials from Plants. In: *New Methods of Food Preservation*, Springer, Boston, Ma, 1995.
- 5 BURT, Sara, Essential Oils: Their Antibacterial Properties and Potential Applications in Foods – A Review, *International Journal of Food Microbiology*, V. 94, N. 3, 2004.
- 6 MARTÍN, Á., VARONA, S., NAVARRETE, A., & COCERO, M. J. Encapsulation and coprecipitation processes with supercritical fluids: applications with essential oils, *The Open Chemical Engineering Journal*, v. 4, n. 1, 2010.
- 7 MONTES, S. De S.; SANTANA-NETA, L. G.; Cruz, Renato Souza. Óleos Essenciais Em Embalagens Para Alimentos – Revisão De Literatura De 2000 A 2012, *Revista Eletrônica Perspectivas Da Ciência e Tecnologia – ISSN: 1984-5693*, v. 5, n. 1-2, p. 1, 2014.
- 8 Sigma Aldrich. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/united-states.html>>
- 9 EL ASBAHANI, A., MILADI, K., BADRI, W., SALA, M., ADDI, E. A., CASABIANCA, H., ELAISSARI, A. Essential oils: from extraction to encapsulation. *International journal of pharmaceutics*, 483(1-2), 220-243, 2015.
- 10 WOLFFENBUTTEL, Adriana Nunes. Óleos Essenciais. *Informativo Crq-V*, Ano XI, Nº 105, V. 6, 2007.
- 11 BARBOSA, Lidiane Nunes. Propriedade Antimicrobiana de Óleos Essenciais de Plantas Condimentares com Potencial de Uso como Conservante em Carne e Hambúrguer Bovino e Testes de Aceitação. *Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada)*. Botucatu, São Paulo: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2010.

- 12 AQUINO, L.C.L.; SANTOS, G.G.; TRINDADE, R.C.; ALVES, J.A.B.; SANTOS, P.O.; CARVALHO, L.M.; ALVES, P.B.; BLANK, A.F. Atividade Antimicrobiana dos Óleos Essenciais de Erva Cidreira e Manjerição Frente a Bactérias de Carnes Bovinas. *Revista Alimentação e Nutrição*. 21(4), 529-535, 2010.
- 13 SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; MORAES, Beatriz Brombal. Embalagens Ativas e Inteligentes para Frutas e Hortaliças. *Boletim de Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagens*, V. 21, N. 1, P. 2, 2009.
- 14 BOMBARDA, I., DUPUY, N. J. P. D., LE VAN DA, J. P., & GAYDOU, E. M. Comparative chemometric analyses of geographic origins and compositions of lavandin var. Grosso essential oils by mid infrared spectroscopy and gas chromatography. *analytica chimica acta*, 613(1), 31-39, 2008.
- 15 GRANDI, T. S. M. Tratado das Plantas Medicinais: mineiras, nativas e cultivadas. Belo Horizonte: Adequatio Estúdio, 2014.
- 16 LEMOS, Cleide Maria de. Extração do Óleo Fixo do *Syagrus cearensis* Noblick e Atividade Inseticida sobre o *Callosobruchus maculatus* em Feijão Armazenado. Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Trabalho de Conclusão de Curso, 2019.
- 17 DOB, T., DAHMANE, D., TAYEB, B., & CHELGHOUM, C. Chemical composition of the essential oil of *Lavandula dentata* L. from Algeria. *International Journal of Aromatherapy*, 15(2), 110-114, 2005.
- 18 KERROLA, Kaisli; GALAMBOSI, Bertalan; KALLIO, Heikki. Volatile components and odor intensity of four phenotypes of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 42, n. 3, p. 776-781, 1994.
- 19 STEFFENS, Andréia H. Estudo da Composição Química dos Óleos Essenciais Obtidos por Destilação por Arraste a Vapor em Escala Laboratorial e Industrial. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.
- 20 TONGNUANCHAN, Phakawat; BENJAKUL, Soottawat. Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, v. 79, n. 7, p. R1231-R1249, 2014.

- 21 RUBINGER, Mayura Marques Magalhães; BRAATHEN, Per Christian. Ação e Reação: Ideias para Aulas Especiais de Química. Belo Horizonte: RHJ, 2012.
- 22 BUSATO, N. V., SILVEIRA, J. C., DA COSTA, A. O. S., & DA COSTA JUNIOR, E. F. Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor. *Ciência Rural*, 44(9), 1574-1582., 2014.
- 23 VIEIRA, Darlene Ana de Paula; FERNANDES, Nayara Cláudia de A. Queiroz. Microbiologia Geral. 2016.
- 24 FABIANO, Melina Zuzi. Efeito da própolis sobre o crescimento de bacilos gram-negativos móveis coletados em hortifrutigranjeiro. 2011. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de São Carlos: UFSCar, 2012.
- 25 SOUZA, C. D. O., MELO, T. R. B., MELO, C. D. S. B., MENEZES, Ê. M., CARVALHO, A. C. D., & MONTEIRO, L. C. R. Escherichia coli enteropatogênica: uma categoria diarreio gênica versátil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 7(2), 79-91, 2016.
- 26 OCHOA, S. A., LÓPEZ-MONTIEL, F., ESCALONA, G., CRUZ-CÓRDOVA, A., DÁVILA, L. B., LÓPEZ-MARTÍNEZ, B., & XICOHTENCATL-CORTES, J. Características patogénicas de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos, asociadas con la formación de biopelículas. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 70(2), 136-150, 2013.
- 27 GÓMEZ, J., ALCÁNTARA, M., SIMARRO, E., MARTÍNEZ, B., RUIZ, J., GUERRA, B., ... & VALDÉS, M. Bacteriemias por *Pseudomonas aeruginosa*: epidemiología, clínica y tratamiento. Estudio prospectivo de siete años. *Rev Esp Quimioterap*, 15(4), 360-5, 2002.
- 28 dos SANTOS, A. L., SANTOS, D. O., DE FREITAS, C. C., FERREIRA, B. L. A., AFONSO, I. F., RODRIGUES, C. R., & Castro, H. C. (2007). *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 43(6), 413-423.
- 29 CANEVAROLO Jr, Sebastião V. Ciência dos polímeros. Artiliber editora, São Paulo, 2002.
- 30 BILLMEYER Jr, F.W. Textbook of Polymer Science. New York, John Wiley and Sons, 1984.

- 31 PINTO, José Carlos; LIMA, Enrique L.; MACHADO, Fabricio. Uma revisão sobre os processos de polimerização em suspensão. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 17, n. 2, p. 166-179, 2013.
- 32 MENDES, Anderson N. Preparation and cytotoxicity of poly (methyl methacrylate) nanoparticles for drug encapsulation. In: *Macromolecular Symposia*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag, p. 34-40, 2012.
- 33 LANDFESTER, K. Synthesis of colloidal particles in miniemulsions. *Annu. Rev. Mater. Res.*, v. 36, p. 231-279, 2006.
- 34 TIARKS, Franca; LANDFESTER, Katharina; ANTONIETTI, Markus. Preparation of polymeric nanocapsules by miniemulsion polymerization. *Langmuir*, v. 17, n. 3, p. 908-918, 2001.
- 35 VAZ, Eliana Knackfuss. Resistência antimicrobiana: Como Surge e o que Representa para a Suinocultura. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 37, n. Supl 1, p. s147-s150, 2009.
- 36 AMATUZZI, M. L. L., MARIA DO CARMO, C. B., LITVOC, J., & LEME, L. E. G. Linguagem metodológica-Parte 2. *Acta Ortopédica Brasileira*, 14(2), 108-112, 2006.
- 37 SILVA-SANTOS, A., ANTUNES, A. M. S., BIZZO, H. R., & D'AVILA, L. A. A participação da indústria óleo-citrícola na balança comercial brasileira. *Rev. Bras. Plant. Med*, 8, 8-13, 2006.
- 38 LIMA, Helena Regina P.; KAPLAN, Maria Auxiliadora C.; CRUZ, Ana Valéria de M. Influência dos fatores abióticos na produção e variabilidade de terpenóides em plantas. *Floresta e Ambiente*, v. 10, n. 2, p. 71-77, 2012.
- 39 BERNÁTH, J. Production ecology of secondary plant products. In: CRACKER, L. E. & SIMON, J.E. (eds.): *Herbs, Spices and Medicinal Plants. Recent advances in Botany, Horticulture and Pharmacology*. New York: The Haworth Press, Inc., V.1, p. 185-234, 1992.
- 40 ADAMS, Robert P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Carol Stream, IL: Allured publishing corporation, ed. 4.1, 2017.
- 41 LOUCHARD, Bianca Oliveira; ALVES, Ângelo Roncalli; SILVA, Luzia Kalyne Almeida Moreira. Obtenção e Caracterização De Nanopartículas Poliméricas Contendo 1, 8-

Cineol (EUCALIPTOL) pelo Método de Deposição Interfacial de Polímero Pré-formado, 27º Congresso Brasileiro de Cosmetologia, São Paulo 2014.

42 BÔAS, Marcelo Haas Villas. Análise das propriedades químicas, biológicas e antimicrobianas de solventes endodônticos. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2015.

43 ALZUGARAY, Domingos; ALZUGARAY, C. Plantas que curam, 2 vol. Editora três, São Paulo, 1983.

44 LAINETTI, R.; BRITO, NRS. A saúde pelas plantas e ervas medicinais do mundo inteiro. Rio de Janeiro, Tecnoprint, 1980.

45 ALEXANDRE, C. Importância Econômica da Família Lauraceae Lindl. Floresta e Ambiente, v. 8, n. único, p. 195-206, 2012.

46 NUUTINEN, Tarmo. Medicinal properties of terpenes found in Cannabis sativa and Humulus lupulus. European journal of medicinal chemistry, v. 157, p. 198-228, 2018.

47 ROSSI, Flávia; ANDREAZZI, Denise B. Resistência Bacteriana: Interpretando o Antibiograma. 2005.

48 CUSHING R, Jui J, LEVINE DP, CHADZYNSKI L, NOLAN DC, HAYNER NS (CDC). Community Acquired Methicillinresistant Staphylococcus aureus Infections – Michigan. Morbidity and Mortality Weekly Report 30:185-186, 1981.

49 LACEY RW. Genetic Basis, Epidemiology and Future Significance of Antibiotic Resistance in Staphylococcus aureus. A review. Journal of Clinical Pathology 26:899-913, 1973.

50 LACEY RW. Antibiotic Resistance in Staphylococcus aureus and Streptococci. British Medical Bulletin 40:77-83, 1984.

51 BONAN, P.R.F.; CACIQUE, A.P.; BOTELHO, B.L.; FARIA, A.K.S.; NOBRE, S.A.M.; PRATA, E.R.B.A. Avaliação do estresse térmico de Candida albicans utilizando microplacas e resazurina como indicador de oxidação. In: Fórum – Desenvolvimento Regional: Compromisso Da Unimontes, 4. Montes Claros: Unimontes, 2010.

52 SEJAS, L. M., SILBERT, S., REIS, A. O., & SADER, H. S. Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 39(1), 27-35, 2003.

53 LACERDA, C. D., ALBUQUERQUE, E., BIANCONI, M. L., & SEVERINO, P. Produção de nanopartículas de quitosana reticulada com tripolifosfato para aplicação biotecnológica. *Semana de Pesquisa da Universidade Tiradentes-SEMPESq*, 2018.

54 DE PAOLI, M. A. Degradação e Estabilização de Polímeros, Chemkeys, Editado por João C. 2008.

55 GAŁKA, Piotr; KOWALONEK, Jolanta; KACZMAREK, Halina. Thermogravimetric analysis of thermal stability of poly (methyl methacrylate) films modified with photoinitiators. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 115, n. 2, p. 1387-1394, 2014.

56 BRYDSON, John Andrew. *Plastics materials*. Elsevier, 1999.

57 JAVAREZ JUNIOR, L., MONTANARI, L., JASINEVICIUS, R. G., & DUDUCH, J. G. Microestruturas replicadas em PMMA aquecido, obtidas em processo de laminação. *Revista Minerva*, 6(2), 197-202, 2009.

58 DA SILVA<sup>1</sup>, Rita Andrade; DE SOUZA, José Ezequiel. Estudo das propriedades elétricas e dielétricas de vidros CaLiBO.

59 BORGNAKKE, Claus; SONNTAG, Richard E. *Fundamentos da termodinâmica*. Editora Blucher, 2018.



## APÊNDICE A – Exsicata



Figura 15. Exsicata *Lavandula dentata* L.

Fonte: Autor.



## APÊNDICE B – Identificação dos componentes do OE de *Lavandula dentata* L.

**Tabela 4.** Dados dos picos de GC-MS e identificação dos compostos presentes no OE.

Pico	TR (min)	IK calculado	IK tabelado	Área do pico (%)	Identificação
1	4,816	926	926	0,04	Triciclano
2	5,057	936	939	1,87	$\alpha$ -Pino
3	5,425	952	952	0,07	$\alpha$ -Fencheno
4	5,478	954	954	0,66	Canfeno
5	6,052	975	975	0,65	Sabineno
6	6,215	981	979	3,38	$\beta$ -Pino
7	6,472	990	990	0,40	Mirceno
8	6,539	992	991	0,11	Cineol <dehidro-1,8->
9	7,618	1028	1024	0,64	Cimeno
10	7,773	1033	1029	1,52	Limoneno
11	7,944	1038	1031	37,56	Eucaliptol
12	9,188	1073	1072	0,24	cis-Óxido de Linalol
13	9,705	1087	1088	0,07	Isoterpineno
14	9,929	1092	1086	15,94	Fenchona
15	10,270	1100	1096	0,81	Linalol
16	11,060	1123	1121	3,74	$\beta$ -Fenchol
17	11,135	1125	-	0,06	Ni*
18	11,243	1128	1133	0,13	1-Terpineol
19	11,331	1130	1126	0,23	$\alpha$ -Canfolenal
20	11,816	1142	1140	0,28	Nopinona
21	11,910	1145	1139	0,93	trans-Pinocarveol
22	12,020	1147	1256	0,11	trans-Sabineno hidratado
23	12,224	1153	1146	17,21	Cânfora
24	12,571	1161	1159	0,07	Cetona Sabina
25	12,754	1165	1164	0,53	Pinocarvona
26	13,096	1173	1166	1,16	$\delta$ -Terpineol
27	13,161	1175	1169	0,65	Borneol
28	13,286	1177	1232	0,18	$\beta$ -Acetato de Fenchol
29	13,503	1182	1177	0,48	Terpinen-4-ol
30	13,783	1188	-	0,80	Ni*
31	14,131	1196	1188	2,45	$\alpha$ -Terpineol
32	14,604	1207	1205	0,20	Verbena
33	15,113	1220	1216	0,23	trans-Carveol
34	16,091	1245	1241	0,31	Cuminaldeído
35	16,153	1246	1243	0,40	Carvona
36	18,197	1292	1290	0,13	Cimen-7-ol <p->
37	26,252	1485	1490	0,30	$\beta$ -Selineno
38	28,385	1539	1507	0,19	(Z)- $\alpha$ -Bisaboleno
39	29,880	1577	1583	0,42	Óxido de Cariofileno
40	32,660	1651	1650	1,43	$\beta$ -Eudesmol
41	33,716	1679	-	0,20	Ni*
42	33,872	1683	1685	0,39	$\alpha$ -Bisabolol
43	36,111	1746	1761	2,60	cis-Lanceol
44	36,799	1765	-	0,21	Ni*

\*Composto não identificado.

## APÊNDICE C – Espectros de massa dos componentes majoritários do OE

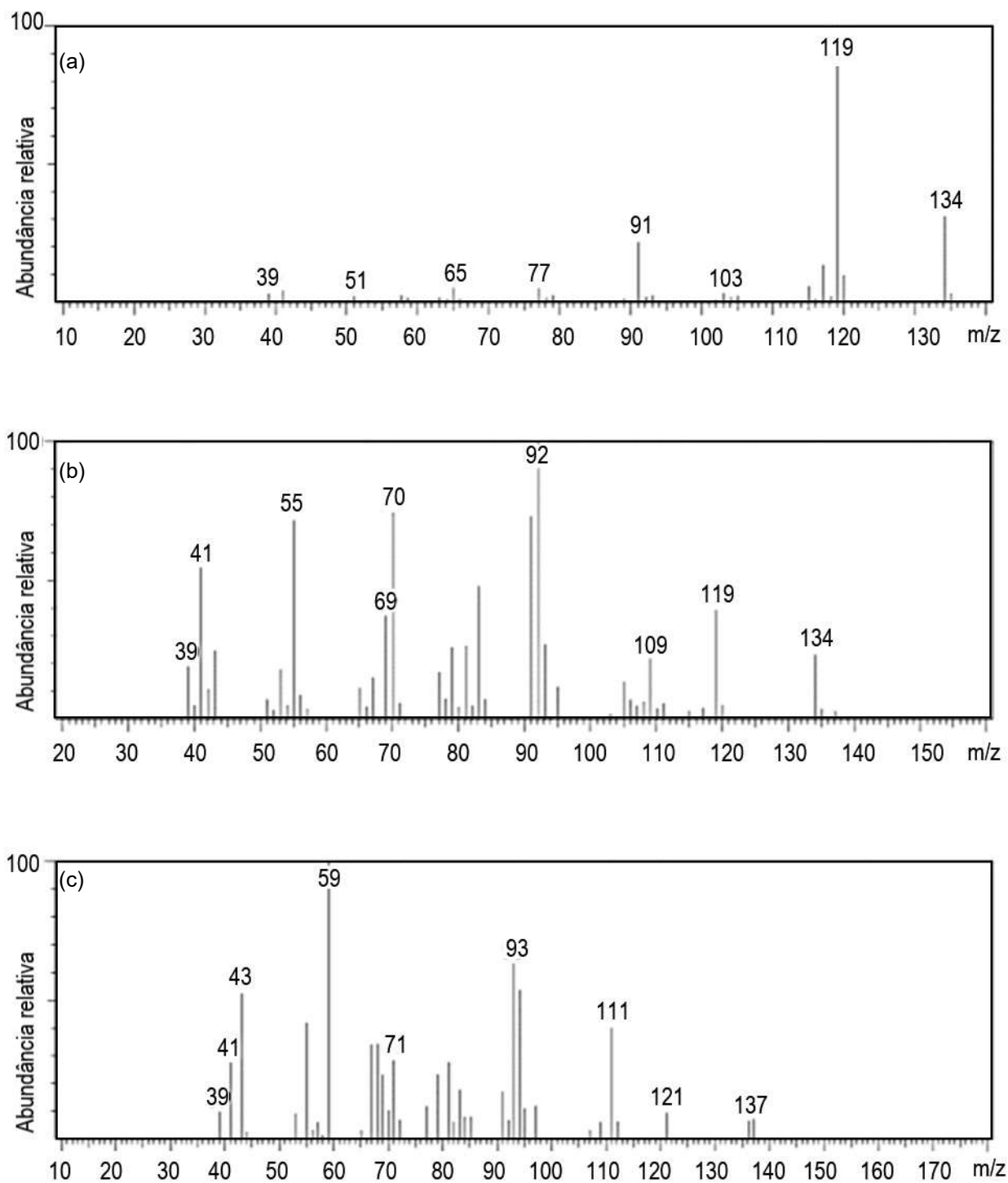


Figura 16. Espectros de massa: (a) eucaliptol, (b) cânfora e (c) fenchona.

Fonte: Autor.

## APÊNDICE D – Resultados microbiológicos

**Tabela 5.** Medidas dos halos de inibição para *E. coli*.

Medição	1	2	3	Média	Desvio padrão
Gentamicina (mm)	6,98	6,59	7,40	6,99	0,41
OE (mm)	1,07	0,79	1,19	1,02	0,21

**Tabela 6.** Medidas dos halos de inibição para *P. aeruginosa*.

Medição	1	2	3	Média	Desvio padrão
Gentamicina (mm)	7,68	7,43	8,10	7,74	0,34
OE (mm)	1,79	1,63	1,44	1,62	0,18

**Tabela 7.** Medidas dos halos de inibição para *S. aureus*.

Medição	1	2	3	Média	Desvio padrão
Gentamicina (mm)	7,00	7,40	7,08	7,16	0,21
OE (mm)	0,35	0,13	0,01	0,16	0,17

## APÊNDICE E – Quantidades reacionais para as polymerizações

**Tabela 8.** Polimerização em suspensão sem OE.

Fase aquosa		Fase orgânica		
Água	PVA	MMA	PBO	
0,7 mL	6,3 mL*	3,0022 g	0,0637 g	

\*0,009 g ml<sup>-1</sup>

**Tabela 9.** Polimerização em suspensão com OE.

Fase aquosa			Fase orgânica	
Água	PVA	MMA	PBO	OE
0,7 mL	6,3 mL*	3,0022 g	0,0637 g	0,4290 g

**Tabela 10.** Polimerização em miniemulsão sem OE.

Fase aquosa			Fase orgânica	
Água	SDS	KPS	MMA	Crodamol
8,0909 g	0,0314 g	0,0443 g	2,0055 g	0,0831 g

**Tabela 11.** Polimerização em miniemulsão com OE.

Fase aquosa			Fase orgânica		
Água	SDS	KPS	MMA	Crodamol	OE
8,1270 g	0,0314 g	0,0403 g	2,0120 g	0,0858 g	0,4922 g

## APÊNDICE F – Caracterização polimérica

**Tabela 12.** Resultados de conversão em PMMA.

Amostra	PMMASOE	PMMASCOE	PMMAMSOE	PMMAMCOE
Tempo de reação (min)	270	270	180	180
Conversão (%)	33,81	27,18	84,06	83,75

**Tabela 13.** Tamanho de partícula e PDI.

Amostra	Replicata	Z (nm)	Z <sub>médio</sub> (nm)	PDI	PDI <sub>médio</sub>
PMMASOE	1	524,5	530,90	0,231	0,262
	2	540,7		0,305	
	3	527,5		0,250	
PMMASCOE	1	291,7	287,90	0,426	0,405
	2	289,0		0,392	
	3	282,8		0,398	
PMMAMSOE	1	66,82	67,11	0,064	0,052
	2	67,44		0,044	
	3	67,07		0,048	
PMMAMCOE	1	76,80	77,39	0,094	0,112
	2	77,36		0,133	
	3	77,75		0,108	

**Tabela 14.** Dados obtidos das curvas de TGA.

Amostra	Início (°C)	T <sub>d</sub> (°C)	Perda de massa (%)
	145	196	7,97
PMMASSOE	271	292	9,99
	363	391	79,03
	169	179	10,77
PMMASCOE	279	252	12,98
	363	387	70,13
	171	179	8,54
PMMAMSOE	275	299	24,74
	358	376	63,68
PMMAMCOE	359	390	90,44