



**Desenvolvimento de um Têxtil Multifuncional para o Tratamento da**

Leonor Oliveira da Cunha

UMinho | 2022

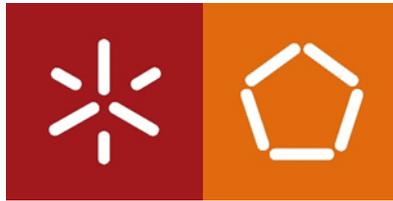


**Universidade do Minho**  
Escola de Engenharia

Leonor Oliveira da Cunha

**Desenvolvimento de um Têxtil Multifuncional para o Tratamento da Candidíase**

outubro 2022



**Universidade do Minho**

Escola de Engenharia

Leonor Oliveira da Cunha

**Desenvolvimento de um Têxtil Multifuncional  
para o Tratamento da Candidíase**

Dissertação de Mestrado

Mestrado em Engenharia Química e Biológica

Trabalho efetuado sob a orientação do(a)

**Doutora Maria Elisa Rodrigues**

outubro 2022

## Agradecimentos

Ao longo dos 5 anos da Licenciatura e Mestrado em Engenharia Química e Biológica, cresci imenso tanto a nível profissional como a nível pessoal com o apoio dos estimados professores e colegas, e também da família e amigos. Aqui ficam os agradecimentos:

Primeiramente, para a pessoa que me acompanhou durante os momentos bons e maus, nas horas de estudo e trabalho, nas gargalhadas e choro compulsivo, a minha colega de curso e melhor amiga, Marta Mendes.

Para a minha família e namorado, que sempre me incentivaram e tranquilizaram.

Não menos importante, para as professoras Maria Elisa Rodrigues e Mariana Henriques e para a doutoranda Liliana Fernandes, por todo apoio ao longo do estágio e a todas as meninas do Laboratório de Microbiologia aplicado à Saúde (LMaS) que me fizeram sentir enquadrada e bem recebida durante os seis meses do meu trabalho.

Por fim, agradeço ainda a todos os colaboradores do Grupo Impetus que tive o prazer de conhecer, sobretudo pela simpatia mostrada.

Um grande obrigada a todos os que se cruzaram e marcaram o meu caminho.

## **DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS**

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.

Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.

### ***Licença concedida aos utilizadores deste trabalho***



**Atribuição  
CC BY**

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

## **DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE**

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração.

Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

*"Don't let anyone ever make you feel like you don't  
deserve what you want."  
-Heath Ledger*

## Resumo

A candidíase vulvovaginal é uma infecção fúngica causada por espécies do género *Candida*, como *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, entre outras. Esta é uma infecção que se traduz, comumente, numa irritação mucocutânea no canal vaginal e vulva, com a possibilidade de corrimento espesso sem odor. O elevado recurso a tratamentos imunossupressores e a toma excessiva de antibióticos tornaram a candidíase vulvovaginal cada vez mais incidente nos últimos anos e, por sua vez, os tratamentos tradicionais com recurso a polienos e azóis tornaram-se menos eficazes contra estas estirpes. Consequentemente, têm surgido novas estratégias terapêuticas incluindo o uso de óleos essenciais, devido às suas capacidades antimicrobianas, baixo custo de produção e baixo impacto ambiental. Assim, o objetivo deste trabalho consiste na produção de uma peça de roupa íntima funcionalizada com ciclodextrinas, capaz de receber e reter óleo essencial em solução, aplicado por *spray*, de forma que ocorra a sua libertação gradual.

O trabalho teve início com a funcionalização da malha com  $\alpha$ -ciclodextrinas e com os amaciadores RPU e Setalan em separado e em mistura, em determinadas concentrações, através da preparação das respetivas soluções e posterior *foulardagem* e ramolagem. Após a funcionalização das malhas, foram aplicadas soluções de dois óleos essenciais distintos: óleo essencial de árvore-do-chá (*Melaleuca alternifolia*) e óleo essencial de orégãos (*Origanum compactum*) na concentração de 25% (v/v) com auxílio de um *spray*, nos respetivos materiais têxteis. Para a determinação qualitativa da atividade antimicrobiana, foram realizados testes do halo utilizando uma estirpe de referência de *C. albicans* (*C. albicans* SC5314).

Com base nos resultados, a metodologia que revelou maior atividade antimicrobiana foi a utilização da malha funcionalizada com 3% (m/v)  $\alpha$ -ciclodextrinas e com 5% (m/v) Setalan, com 2 borrifos da solução de 25% (v/v) de óleo essencial de orégão em etanol, pois para além de apresentar atividade antimicrobiana após 4 horas de ser borrifada, apresentou ainda atividade após 24 horas da aplicação.

**Palavras-chave:** *Candida albicans*, óleo essencial de orégãos, óleo essencial de árvore-do-chá, atividade antimicrobiana, microcápsulas,  $\alpha$ -ciclodextrinas.

## Abstract

Vulvovaginal candidiasis is a fungal infection caused by species of the genus *Candida*, such as *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, among others. It is an infection that commonly results in a mucocutaneous irritation in the vaginal canal and vulva, with the possibility of a thick, odorless discharge. The excessive use of immunosuppressive treatments and antibiotics have made vulvovaginal candidiasis more and more frequent in recent years and made the traditional treatments, as polyenes and azoles, less effective against these strains. Consequently, new therapeutic strategies have emerged including the use of essential oils, due to their antimicrobial capabilities, low production cost and low environmental impact. Thus, the objective of this work is to produce a functionalized piece of underwear with cyclodextrins, capable of receiving and retaining essential oil in solution, applied using a spray, so that its gradual release occurs.

The study started with the functionalization of the mesh with  $\alpha$ -cyclodextrins and the fabric softeners RPU and Setalan separately and in mixture, in certain concentrations, through the preparation of the respective solutions and subsequent padding and drying. After the functionalization of the fibers, solutions of two different essential oils were applied: tea tree essential oil (*Melaleuca alternifolia*) and oregano essential oil (*Origanum compactum*) at a concentration of 25% (v/v) with a spray, on the respective textile materials. For the qualitative determination of antimicrobial activity, halo tests were performed using a reference strain of *Candida albicans* (*C. albicans* SC5314).

Based on the results, the methodology that showed the greatest antimicrobial activity was the use of a mesh functionalized with 3% (v/v)  $\alpha$ -cyclodextrins with 5% (v/v) Setalan, with 2 sprays of the 25% (v/v) solution of oregano essential oil in ethanol. In addition to showing antimicrobial activity after 4 hours of being sprayed, it also showed activity after 24 hours of use.

**Keywords:** *Candida albicans*, oregano essential oil, tea tree essential oil, antimicrobial activity, microcapsules,  $\alpha$ -cyclodextrins.

## Índice

<b>Agradecimentos</b> .....	<b>ii</b>
<b>Resumo</b> .....	<b>vi</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>vii</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1 Candidíase Vulvovaginal.....	1
1.2 Óleos Essenciais.....	4
1.2.1 Óleo Essencial de Orégão .....	6
1.2.2 Óleo de Árvore-do-chá .....	7
1.3 Funcionalização da Malha.....	8
1.3.1 Métodos de Encapsulamento .....	8
1.3.1.1 Métodos Químicos .....	10
1.3.1.1.1 Emulsão .....	10
1.3.1.1.2 Polimerização .....	11
1.3.1.1.3 Policondensação.....	11
1.3.1.2 Métodos Físico-químicos .....	12
1.3.1.2.1 Coacervação.....	12
1.3.1.2.2 Layer-by-Layer .....	12
1.3.1.2.3 Encapsulamento por Fluidos Supercríticos .....	13
1.3.1.3 Métodos Físico-Mecânicos.....	14
1.3.1.3.1 Coextrusão .....	14
1.3.1.3.2 Spray-Drying .....	15
.....	15
.....	15
1.3.1.3.3 Tecnologia de Leito Fluidizado .....	15
1.4 Ciclodextrinas .....	17
1.5 Têxteis Médicos .....	20
1.6 Métodos de Tratamentos Têxteis.....	20
1.6.1 Esgotamento .....	21
1.6.2 Foulardagem .....	22
1.6.3 Estamparia .....	22
<b>2 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>25</b>
2.1 Material Têxtil e Funcionalização.....	25
2.2 Agentes Antimicrobianos.....	26
2.3 Microrganismo – Condições de Armazenamento e Crescimento .....	26
2.4 Determinação da eficácia dos tratamentos aplicados.....	26
2.5 Teste do halo.....	27
<b>3 RESULTADOS E RESPETIVA DISCUSSÃO</b> .....	<b>28</b>

3.1 Atividade Inibitória do Agente Antimicrobiano (Óleo Essencial de Orégão) .....	28
3.2 Determinação da eficácia dos tratamentos aplicados.....	30
3.2.1 Óleo Essencial de Orégão .....	30
3.2.2 Óleo de Árvore-de-Chá .....	32
<b>4 CONCLUSÕES .....</b>	<b>34</b>
<b>5 PERSPETIVAS FUTURAS.....</b>	<b>35</b>
Referências .....	36

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> Exemplos de alguns terpenos e compostos fenólicos. Fonte: Lizárraga-Velázquez et al., 2020 .....	5
<b>Figura 2</b> <i>Origanum vulgare</i> (A) e <i>Origanum virens</i> (B), respetivamente. Fonte: Benítez et al., 2017.	6
<b>Figura 3</b> <i>Melaleuca artemifolia</i> . Fonte: Gafner, n.d. ....	7
<b>Figura 4</b> Tipos de arranjos de microcápsulas. Fonte: Tolve et al., 2016.....	9
<b>Figura 5</b> Tipos de encapsulamento de óleo. Fonte: Maes et al., 2019 .....	10
<b>Figura 6</b> Encapsulamento por precipitação. Fonte: Vinogradova et al., 2006.....	11
<b>Figura 7</b> Encapsulamento por polimerização in situ. Fonte: Vinogradova et al., 2006) .....	11
<b>Figura 8</b> Microencapsulamento por RESS. Fonte: Mirzataheria et al., 2014 .....	13
<b>Figura 9</b> Encapsulamento por coextrusão. Fonte: Mirzataheria et al., 2014.....	14
<b>Figura 10</b> Encapsulamento por spray-drying. Fonte: Casanova & Santos, 2016 .....	15
<b>Figura 11</b> Encapsulamento por tecnologia de leito fluidizado por (A) pulverização superior, (B) pulverização inferior, (C) pulverização tangencial e (D) disco giratório. Fonte: Naturwissenschaften, n.d.....	16
<b>Figura 12</b> Estrutura dos diferentes tipos de ciclodextrinas. (Fonte: Rashmi Bhaskara-Amrit et al., 2011) .....	17
<b>Figura 13</b> Estrutura tridimensional das $\beta$ -ciclodextrinas. Fonte: Challa et al., 2005.....	18
<b>Figura 14</b> Foulard industrial. Fonte: <a href="http://www.erbatech.com">www.erbatech.com</a> .....	22
<b>Figura 15</b> Impressora têxtil plana tradicional. Fonte: <a href="http://www.galigrup.com">www.galigrup.com</a> . ....	23
<b>Figura 16</b> Impressora têxtil de rolos. Fonte: <a href="http://www.zimmer-klagenfurt.com">www.zimmer-klagenfurt.com</a> .....	23
<b>Figura 17</b> Esquema das diferentes funcionalizações aplicadas na malha. ....	25
<b>Figura 18</b> Resultados da atividade antimicrobiana por teste do halo da solução de óleo essencial de orégão nas concentrações de 0% (controlo), 2%, 5%, 10% e 25% (v/v), respetivamente, diluído em óleo de amêndoa. ....	28
<b>Figura 19</b> Resultados da atividade antimicrobiana, por teste do halo, da solução de óleo de orégão com óleo de amêndoa (cima) e da solução de óleo de orégão com etanol (baixo) com as concentrações 25%, 50% e 75%, e respetivos controlos, com 0% de óleo essencial de orégão e 100% de óleo de amêndoas e 100% de etanol, respetivamente. ....	29
<b>Figura 20</b> Resultados do teste do halo da solução de óleo de orégãos com óleo de amêndoa (cima) e da solução de óleo de orégãos com etanol (baixo) com as concentrações 0%, 25%, 50% e 75%, respetivamente. ....	29

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1</b> Características das espécies patogênicas do género <i>Candida</i> . Fonte: Turner & Butler, 2014 .....	1
<b>Tabela 2</b> Tamanho das microcápsulas obtidas consoante o processo de microencapsulamento. (Ghosh, 2006) .....	17
<b>Tabela 3</b> Interações das ciclodextrinas com as diferentes fibras têxteis. Fonte: Rashmi Bhaskara-Amrit et al., 2011 .....	19
<b>Tabela 4</b> Características dos amaciadores Setalan Comfort e Hydroperm RPU. ....	21
<b>Tabela 5</b> Variáveis de testagem definidas. ....	27
<b>Tabela 6</b> Resumo dos resultados para determinação da concentração ideal de óleo essencial de orégãos com diluição em óleo de amêndoa e etanol. ....	29
<b>Tabela 7</b> Resultados do diâmetro de halo antimicrobiano (em cm) obtido com as diferentes funcionalizações com aplicação da solução de óleo de orégãos. ....	30
<b>Tabela 8</b> Resultados do diâmetro de halo antimicrobiano (em cm) obtido com as diferentes funcionalizações com aplicação da solução de óleo de árvore-do-chá. ....	32

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Candidíase Vulvovaginal

A candidíase vulvovaginal é causada por fungos pertencentes ao género *Candida*, encontrados frequentemente na pele e mucosas de vários seres do reino animal (Rodrigues et al., 2016). Existem várias espécies do género *Candida*. Contudo, apenas algumas são consideradas patogénicas para o ser humano, como as espécies *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, entre outras, sendo a espécie *Candida albicans* a mais recorrente (Rodrigues et al., 2016; Turner & Butler, 2014). Cerca de 90% das infeções diagnosticadas são causadas pela espécie *C. albicans*, todavia, nas infeções recorrentes e em pacientes imunocomprometidos e diabéticos, a percentagem de infeções por espécies não-*Candida albicans* (NCA) pode atingir os 20%. Existe também a possibilidade de ocorrerem infeções mistas, isto é, por duas ou mais espécies distintas de *Candida*. Contudo, estas representam menos de 10% dos casos, e as espécies envolvidas são, geralmente, *C. albicans* e *C. glabrata* (Vieira-Baptista & Bornstein, 2019). Na Tabela 1 encontram-se algumas características que distinguem as diferentes espécies patogénicas.

Tabela 1 Características das espécies patogénicas do género *Candida*. Fonte: Turner & Butler, 2014

Espécie	Plóidia	Tipo de Reprodução	Incidência (%)
<i>C. albicans</i>	Diplóide	Parassexual	65,3
<i>C. dubliniensis</i>	Diplóide	Parassexual	0,10
<i>C. tropicalis</i>	Diplóide	Parassexual	7,20
<i>C. parapsilosis</i>	Diplóide	-	6,00
<i>C. orthopsilosis</i>	Diplóide	-	0,50 <sup>e</sup>
<i>C. metapsilosis</i>	Diplóide	-	<0,10 <sup>e</sup>
<i>C. famata</i>	Haplóide	Homotálico	0,30
<i>C. lusitaniae</i>	Haplóide	Heterotálico	0,60
<i>C. guilliermondii</i>	Haplóide	Heterotálico	0,70
<i>C. krusei</i>	Haplóide	Heterotálico	2,40
<i>C. glabrata</i>	Haplóide	-	11,30
<i>C. kefyr</i>	Haplóide	Homotálico	0,50
<i>C. norvegensis</i>	-	Homotálico	0,10
<i>C. inconspicua</i>	-	-	0,20
<i>C. lipolytica</i>	Haplóide	Heterotálico	0,05

As espécies de *Lactobacillus* normalmente presentes na flora vaginal constituem um fator importante na proteção contra este tipo de fungos, uma vez que ambos competem por nutrientes e zonas de adesão e, os primeiros, produzem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, péptidos, ácidos gordos e, ainda, compostos que dificultam a ligação de espécies de *Candida* às mucosas. Os lactobacilos podem ainda inibir a filamentação e a produção de biofilmes (Vieira-Baptista & Bornstein, 2019).

Existem inúmeros estudos sobre a espécie *C. albicans* e sobre a sua virulência, em muito associada à evolução do seu estado de crescimento de levedura para crescimento em *hifas* ou pseudo-*hifas*. É especulado que ao atingirem a forma de *hifa*, estes fungos passam a poder penetrar em células do epitélio e resistir à fagocitose (Turner & Butler, 2014).

As infeções provocadas por este tipo de fungos são, essencialmente, infeções mucocutâneas superficiais inofensivas. Contudo, em casos extremos, podem tornar-se infeções invasivas atingindo qualquer órgão no organismo, como a candidemia, o tipo de infeção invasiva mais comum, que é a infeção por fungos do género *Candida* na corrente sanguínea (Rodrigues et al., 2016; Barantsevich & Barantsevich, 2022). A candidemia pode atingir uma taxa de mortalidade entre 22% e 75%, dependendo dos fatores de risco inerentes (Barantsevich & Barantsevich, 2022). As infeções superficiais manifestam-se através de vermelhidão, irritação na zona, dor e/ou ardor, podendo originar dispareunia e disúria, mas também eritema, edema e fissuras (Gonçalves et al., 2016; Willems et al., 2020). São conhecidas ainda outras complicações relacionadas, como infertilidade, aborto, alterações menstruais e gravidez ectópica (Fernandes et al., 2022).

Os fatores de risco deste tipo de infeções são, por exemplo, contraceptivos orais com elevado nível de estrogénio, atividade sexual, gravidez, diabetes, uso de antibióticos, obesidade, tabagismo e ainda a toma de inibidores SGLT2 (*sodium glucose cotransporter 2*) (Fernandes et al., 2022; Willems et al., 2020). Existe ainda a especulação de que há uma predisposição genética para a contração de candidíase vulvovaginal (Willems et al., 2020).

Nos últimos anos, ocorreu um aumento significativo nos casos detetados de infeções fúngicas na espécie humana. Estudos comprovam que, cerca de 75% das mulheres a nível mundial contraem candidíase vulvovaginal pelo menos uma vez na vida e, cerca de 8% apresentam casos de recorrência (Willems et al., 2020). Existem vários fatores que contribuíram para a evolução do número de casos de candidíase vulvovaginal. Contudo, vários estudos concluíram que a grande causa deste aumento são os tratamentos médicos com terapias imunossupressoras, o uso excessivo de antibióticos, alguns métodos cirúrgicos e, ainda, a utilização de alguns tipos de

implantes, que permitem a adesão e formação de biofilmes por serem um excelente substrato para estes microrganismos (Rodrigues et al., 2016; Willems et al., 2020). Alguns estudos revelaram ainda que, metade dos casos de infecções causadas por fungos do género *Candida* surgiram em pacientes em unidades de cuidados intensivos (Rodrigues et al., 2016).

A formação de biofilme, isto é, formação de uma comunidade extremamente organizada de microrganismos, começa com a adesão do fungo ao epitélio. Estudos concluíram que cerca de 65% das infecções apresentam este tipo de estrutura, conferindo assim uma maior resistência aos tratamentos antifúngicos e às defesas do organismo hospedeiro, sobrevivendo em meios com condições menos favoráveis. Considera-se que esta resistência advém de vários fatores complexos, entre os quais alterações de moléculas alvo, extrusão de substâncias antifúngicas e limitação de difusão ao nível da matriz. Fungos do género *Candida* formam biofilmes no epitélio vaginal e, por exemplo, em métodos contraceptivos como o dispositivo intrauterino (DIU) (Gonçalves et al., 2016). Existe ainda a possibilidade de ocorrência de biofilmes mistos (de diferentes espécies de *Candida*), atribuindo uma maior dificuldade no tratamento do que no caso de espécies microbianas diferentes, uma vez que os tratamentos antifúngicos convencionais são mais direcionados para o tratamento de infecções simples por *C. albicans* (Gonçalves et al., 2016; Rodrigues et al., 2016). Deste modo, torna-se necessário o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas capazes de ultrapassar estas adversidades (Rodrigues et al., 2016).

O método geralmente utilizado no tratamento de infecções do género *Candida* são agentes antifúngicos como polienos, azóis, equinocandinas e análogos de nucleosídeos. Apesar das variadas formas de tratamento que existem no mercado, a percentagem de falha no tratamento é elevada, isto porque, nos últimos anos, estes fungos desenvolveram a capacidade de resistir aos tratamentos convencionais (Rodrigues et al., 2016).

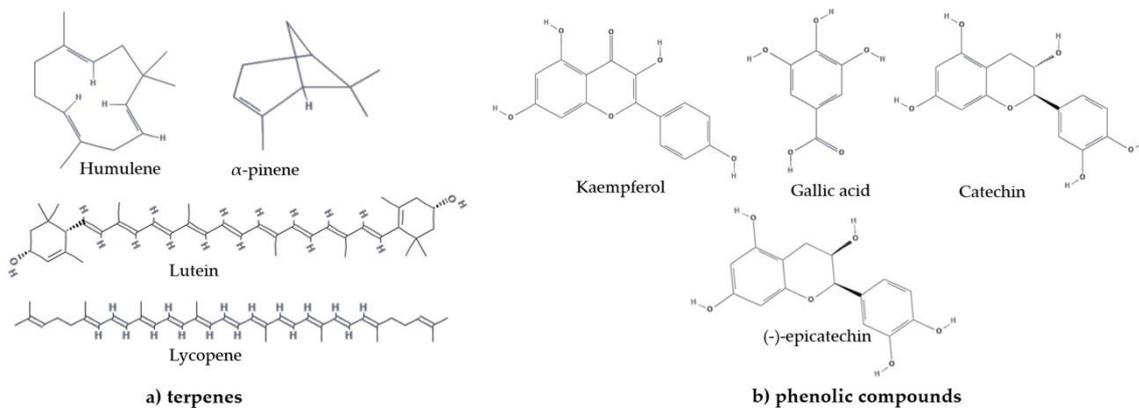
Como alternativa, tem-se vindo a desenvolver estudos de novos tratamentos com recurso a agentes antifúngicos e terapias inovadoras. Existem vantagens documentadas destes tratamentos inovadores relativamente aos tradicionais, como a maior eficácia e a menor toxicidade, e, também, uma maior variedade relativamente às espécies passíveis de serem tratadas, assim como uma menor hipótese de resistência ao agente antifúngico (Rodrigues et al., 2016). A atividade antimicrobiana de alguns produtos naturais como o mel, polifenóis, como o chá-verde, alho, óleos essenciais, entre outros, já foi comprovada (Fernandes et al., 2022). Efetivamente, compostos naturais como os óleos essenciais, são considerados uma alternativa vantajosa devido à sua

comprovada capacidade antimicrobiana, ao baixo impacto ambiental e custo de produção, acrescido de uma menor quantidade de reações negativas comparativamente aos tratamentos convencionais (Fernandes et al., 2022; Rodrigues et al., 2016).

## **1.2 Óleos Essenciais**

Os óleos essenciais são compostos naturais voláteis líquidos, obtidos a partir de várias partes das plantas como metabolito secundário. Os processos de extração são ideais para a natureza volátil e hidrofóbica dos óleos, e estes abrangem a hidrodestilação, destilação a vapor e expressão a frio (aplicável a cascas de frutas cítricas). Apesar do seu uso ser vasto como na medicina, agricultura e perfumes, devido às suas demais propriedades, a sua procura aumentou substancialmente nos últimos anos. Estes compostos são passíveis de serem usados na indústria farmacêutica e tratamentos medicinais, mas também na indústria cosmética e na aromaterapia, para além da sua aplicabilidade como conservantes e aromas na indústria alimentar (Maes et al., 2019).

Estes tipos de agentes naturais têm vindo a marcar um lugar de destaque no desenvolvimento da medicina e saúde pública. Apesar de já não serem as abordagens principais na medicina contemporânea, estudos avaliaram que cerca de 80% da população mundial ainda se apoia na medicina tradicional (Rodrigues et al., 2016). Existem estudos que comprovam a eficácia de alguns óleos essenciais contra alguns isolados clínicos de várias espécies de *Candida* como, por exemplo, segundo o artigo de Fernandes et al. (2022), os óleos essenciais de árvore-do-chá, cajeput, niaouli e tomilho branco apresentam atividade inibitória contra isolados clínicos de *C. glabrata*, *C. albicans*, *C. krusei* e *C. guilliermondii*. Os compostos bioativos presentes nos óleos essenciais têm demonstrado efeitos antioxidantes, anticancerígenos, anti-inflamatórios e, sobretudo, antimicrobiano. A atividade antimicrobiana deve-se, sobretudo, a compostos fenólicos e terpenóides presentes nos óleos vegetais (Rodrigues et al., 2016). Na Figura 1 encontram-se exemplos de alguns compostos fenólicos e terpenos extraídos de plantas.



**Figura 1** Exemplos de alguns terpenos e compostos fenólicos. Fonte: Lizárraga-Velázquez et al., 2020

Vários estudos comprovaram as propriedades antifúngicas, antivirais, antibacterianas, anticancerígenas, entre outras, dos terpenos. Estes representam cerca de 90% dos óleos essenciais e podem aparecer com diferentes estruturas, como o limoneno, carvacrol e timol, por exemplo. Os compostos fenólicos são metabolitos secundários resultantes de uma resposta de defesa e em condições de stress, presentes em algumas frutas e vegetais, azeite, vinhos, entre outros. Para além de possuir propriedades antioxidantes e antimicrobianas em relação a várias espécies patogénicas, incluindo espécies do género *Candida*, são fundamentais em doenças cardiovasculares, inflamatórias e diabetes, assim como na recuperação de doenças neurodegenerativas (Lizárraga-Velázquez et al., 2020; N. Martins et al., 2015).

Os óleos essenciais apresentam atividade antimicrobiana, pois uma vez em contacto com membranas de células causa dano na mesma ou até a sua rutura. Os componentes mais conhecidos por serem responsáveis por esta propriedade são o carvacrol e o timol. Contudo, também o eugenol e o citral apresentam elevada atividade antimicrobiana. Por sua vez, a atividade antioxidante dos óleos essenciais é substancialmente superior quando os compostos fenólicos ou outros princípios ativos apresentam ligação dupla e, uma vez mais, o timol e o carvacrol apresentam uma maior atividade antioxidante comparando com outros compostos fenólicos e terpenos. A atividade anti-inflamatória dos óleos essenciais pode ser utilizada em patologias como o reumatismo, artrites e alergias, sendo que esta é superior quando o óleo apresenta o composto principal responsável por esta propriedade, o  $\alpha$ -terpineol. Os óleos essenciais podem também ter algumas propriedades anticancerígenas, principalmente com compostos como  $\alpha$ -humuleno (Dhifi et al., 2016)

Os resultados publicados nos últimos anos relativamente aos extratos bioativos de plantas medicinais mostram-se promissores. Contudo, ainda não existem formulações capazes de serem usadas, especialmente em infeções contra biofilmes de espécies de *Candida* (Rodrigues et al., 2016).

### 1.2.1 Óleo Essencial de Orégão

O género *Origanum* pertence à família *Lamiaceae*, que inclui 43 espécies diferentes por todo o mundo, sendo estas originárias da zona do Mediterrâneo e Sudoeste Asiático. Estas são conhecidas pelo seu uso polivalente, desde a indústria farmacêutica à indústria alimentar, uma vez que apresentam capacidades antioxidantes, antimicrobianas, antibacterianas citotóxicas, antifúngicas e inseticidas (Özer et al., 2020).

Dentro deste género existem duas espécies distintas: *Origanum vulgare* e *Origanum virens*. A primeira existe por toda a Europa, essencialmente a norte da Península Ibérica, e apresenta flores de tonalidade lilás/roxa. A segunda apresenta flores maiores e, geralmente, brancas e encontram-se em toda a Península Ibérica, Ilhas Canárias e Baleares e no norte de África (Benítez et al., 2017). Na Figura 2, estão representadas ambas as espécies.

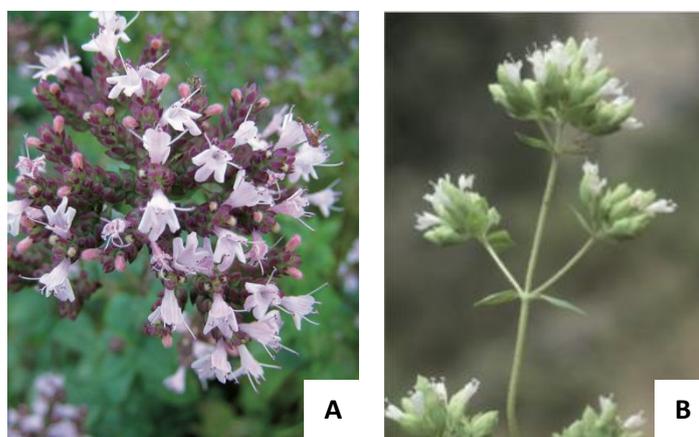


Figura 2 *Origanum vulgare* (A) e *Origanum virens* (B), respetivamente. Fonte: Benítez et al., 2017

O óleo essencial extraído destas plantas é composto em grande parte por compostos fenólicos, como o carvacrol e o timol. Contudo, esta composição varia consoante a espécie, a composição do solo, a altura da colheita, o clima, entre outros (Leyva-López et al., 2017; Özer et al., 2020).

Desta forma, tem um amplo espectro de aplicações, na indústria alimentar, como em bebidas alcoólicas e conservantes, na indústria cosmética, como ambientadores e líquidos de limpeza e indústria farmacêutica, utilizado mais concretamente em problemas do foro intestinal e respiratório, entre outros (Benítez et al., 2017).

Apesar de todas estas vantagens e aplicações, se for usado durante um longo período de tempo a uma concentração acima da recomendada, pode tornar-se tóxico e irritante. Consequentemente, o óleo essencial de orégão não deverá ser aplicado diretamente nas mucosas numa concentração superior a 1% (N. Martins et al., n.d.).

### **1.2.2 Óleo de Árvore-do-chá**

O óleo essencial de árvore-do-chá, obtido da espécie *Melaleuca artemifolia* e proveniente da Austrália é alvo de vários estudos devido à sua capacidade terapêutica, pois apresenta efeitos antifúngicos, antimicrobianos, antivirais e, ainda, anti-inflamatórios (da Silva et al., 2020; Gafner, 2018). Este produto é constituído por uma mistura de mono e sesquiterpenos e respetivos álcoois, sendo o terpeno o principal, estando presente em maior quantidade e sendo o mais eficaz pela propriedade antimicrobiana (da Silva et al., 2020). A Figura 3 exhibe a planta da árvore-do-chá.



Figura 3 *Melaleuca artemifolia*. Fonte: Gafner, n.d..

Uma vez que o óleo extraído apresenta propriedades antimicrobianas, este é utilizado como agente antisséptico e anti-inflamatório, assim como agente antifúngico. Contudo, se utilizado em

concentrações excessivas pode-se tornar tóxico (Puvača et al., 2020). Segundo a Comissão Científica em Produtos do Consumidor (SCCP), o óleo essencial da árvore-do-chá é irritante para a pele e para os olhos, em concentrações superiores a 5% (v/v). Contudo, segundo Fernandes et al. (2022), a fase de vapor deste óleo essencial não demonstrou propriedades citotóxicas.

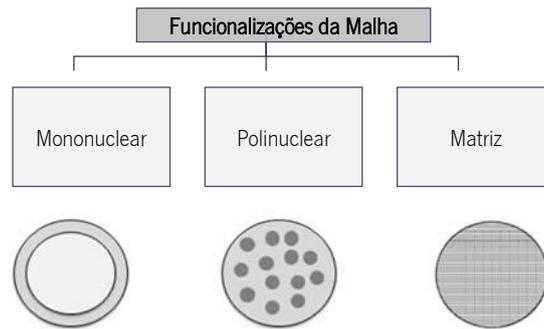
### **1.3 Funcionalização da Malha**

#### **1.3.1 Métodos de Encapsulamento**

Através de muitos exemplos, é possível concluir que a encapsulação de materiais surge na própria natureza, como forma de proteção. A indústria há muito que utiliza o microencapsulamento nos seus produtos, desde a indústria têxtil à indústria farmacêutica, com corantes e princípios ativos, respetivamente (Ghosh, 2006; Lu & Park, 2012). Em termos técnicos, este processo é considerado um envolvimento de partículas, sejam estas sólidas, líquidas ou gasosas, não só para proteção, mas também com o intuito de haver uma libertação controlada do ativo presente no núcleo (Ghosh, 2006).

As microcápsulas, geralmente, apresentam um formato esférico ou irregular, e são constituídas essencialmente por duas partes: o núcleo e o revestimento (Ghosh, 2006; Lu & Park, 2012). Este último tem a função de proteção e retenção, referida anteriormente, em relação ao núcleo no qual se encontra o princípio ativo. O núcleo é, comumente, utilizado em solução, emulsão ou dispersão, sendo que este pode ser composto por corantes, catalisadores, nanopartículas, entre outros (Ghosh, 2006).

Existem três tipos de arranjos de microcápsulas: mononuclear, polinuclear e matriz. O primeiro consiste num revestimento sobre um núcleo simples, ao contrário do arranjo polinuclear, no qual o invólucro envolve vários núcleos. No arranjo em matriz, o princípio ativo está organizado uniformemente no revestimento (Ghosh, 2006).



**Figura 4** Tipos de arranjos de microcápsulas. Fonte: Tolve et al., 2016.

De forma a melhorar a eficiência do processo de encapsulamento, é necessário ter em conta a compatibilidade das duas partes, os tratamentos que se possam aplicar no material do núcleo para que se obtenha o melhor resultado possível, e o tamanho do mesmo (Ghosh, 2006).

O material do revestimento pode ser formado por polímeros naturais e artificiais e, ainda, variar consoante a sua permeabilidade. O invólucro permeável é, frequentemente, utilizado com o objetivo de libertação, enquanto o semipermeável permite a entrada de soluções de baixo peso molecular presentes no meio, interagindo com o material do núcleo, para a sua posterior retirada. No caso do revestimento impermeável, este protege o princípio ativo do ambiente externo e, é libertado apenas se uma força mecânica o romper (Choudhury et al., 2021; Ghosh, 2006). O tamanho do poro e a espessura do revestimento determinam a libertação princípio ativo (Ghosh, 2006).

Devido à elevada volatilidade dos óleos essenciais surgiram técnicas de encapsulamento para a sua aplicação nos produtos finais. Estas técnicas poderão envolver interações físicas e/ou químicas por meio de uma matriz, aumentando o tempo de retenção do óleo. Consoante a aplicação desejada, os tempos de retenção variam. No caso da libertação mecânica, o óleo é apenas libertado no rebentamento das cápsulas (ideal para produtos cosméticos). Por outro lado, pode ser apenas necessária uma libertação gradual e controlada (ideal para aplicação alimentar) (Maes et al., 2019).

Desta forma, surgiram quatro tipos distintos de encapsulamento para os óleos essenciais, como exemplificado na Figura 5: (1) as partículas formam-se através de uma matriz que contém o óleo essencial; (2) cápsulas formadas por uma membrana e por um núcleo contendo o óleo essencial;

(3) complexos com cavidades, nas quais está o óleo essencial estabilizado; (4) esferas produzidas através de uma emulsão com tensoativos (Maes et al., 2019).

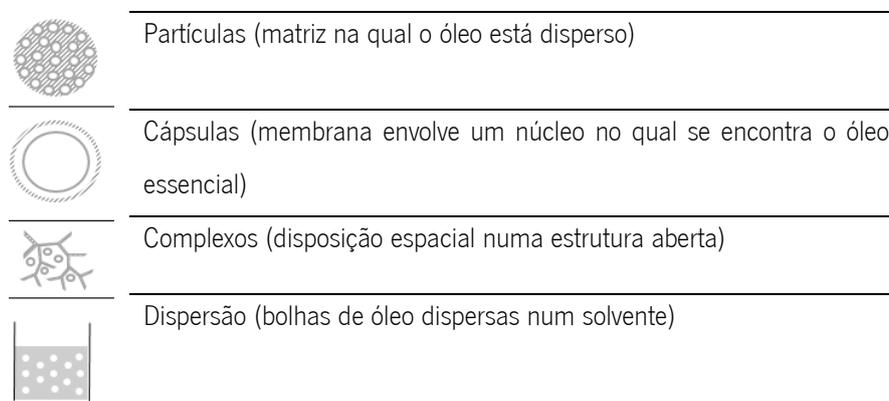


Figura 5 Tipos de encapsulamento de óleo. Fonte: Maes et al., 2019

Os métodos utilizados no microencapsulamento dividem-se em três categorias distintas: métodos químicos, métodos físicos/físico-químicos e físico-mecânicos (Ghosh, 2006).

### 1.3.1.1 Métodos Químicos

Os processos químicos envolvem métodos como a emulsão, polimerização por dispersão ou precipitação e a policondensação (Ghosh, 2006). Os vários métodos serão explanados de seguida.

#### 1.3.1.1.1 Emulsão

A técnica de emulsão consiste na adição gota a gota do material do núcleo a um meio de polimerização aquoso e um determinado emulsionante. O polímero precipita formando os núcleos iniciais, que vão crescendo progressivamente e revestindo o núcleo na sua totalidade até as microcápsulas se formarem (Rama Dubey et al., 2009). Este é o método mais usado na indústria devido à sua simplicidade e largo espectro de aplicações, desde o encapsulamento de lípidos, ao encapsulamento de enzimas e microrganismos (Choudhury et al., 2021; Rama Dubey et al., 2009).

### 1.3.1.1.2 Polimerização

A polimerização divide-se em dois grupos: precipitação e polimerização *in situ*. A precipitação controlada tem a particularidade de encapsular soluções de elevada concentração de polieletrólitos. Os aniões depositam-se, numa primeira fase, na superfície do material do núcleo através da formação de complexos. Esta deposição de camadas repete-se o número necessário de vezes, alternando aniões com catiões, expelindo, no final, os iões metálicos formados. Este método está esquematizado na figura 6 (Vinogradova et al., 2006).

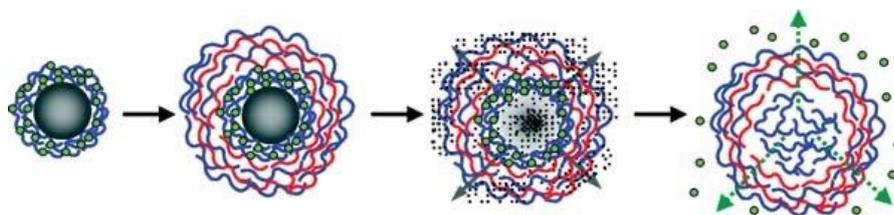


Figura 6 Encapsulamento por precipitação. Fonte: Vinogradova et al., 2006

A polimerização *in situ* ocorre a uma temperatura de aproximadamente 80°C por várias horas e requer a adição de um adjuvante. No final do processo, são realizadas lavagens para separar as microcápsulas dos restantes polieletrólitos, por centrifugação (Vinogradova et al., 2006). A figura 7 representa este processo de encapsulamento por polimerização *in situ*.

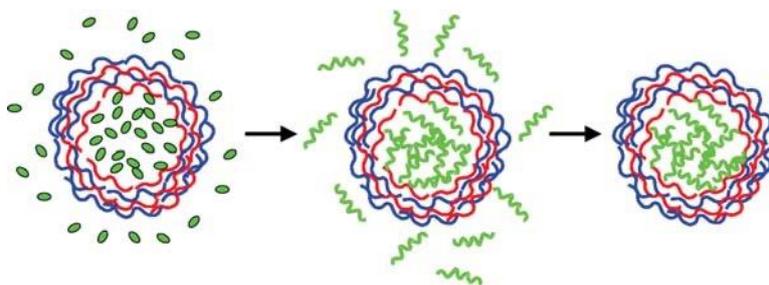


Figura 7 Encapsulamento por polimerização *in situ*. Fonte: Vinogradova et al., 2006)

### 1.3.1.1.3 Policondensação

A policondensação, como o nome implica, consiste na polimerização por condensação. Este método ocorre em determinadas condições para que se forme uma fase dispersa (gotículas) num meio de suspensão. Por fim, adiciona-se ainda um estabilizador para que não ocorra o

desmantelamento da partícula e ocorra a formação da microcápsula. Se o polímero utilizado for solúvel nas gotículas do núcleo a microcápsula formada será do tipo matriz, caso contrário, serão formadas microcápsulas mononucleares (Rama Dubey et al., 2009).

### **1.3.1.2 Métodos Físico-químicos**

Dentro dos métodos físico-químicos encontram-se a coacervação, o método layer-by-layer, a microencapsulação assistida por fluidos supercríticos (Ghosh, 2006). Seguidamente, serão aprofundados estes mesmos métodos.

#### **1.3.1.2.1 Coacervação**

Dentro dos processos físico-químicos encontram-se a coacervação simples e a coacervação complexa. A grande diferença entre os dois mecanismos reside na separação de fases, pois no primeiro caso é adicionado um agente de dissolvatação e no segundo caso ocorre a complexação entre polímeros de cargas opostas, utilizando a água como solvente (Lu & Park, 2012; Ghosh, 2006).

A coacervação complexa subdivide-se em três fases. Inicialmente, é preparada uma dispersão/emulsão com o conteúdo do núcleo e um polímero catiónico, por exemplo. A segunda fase passa pela junção de uma solução com um polímero aniónico promovendo o encapsulamento do núcleo, uma vez que ocorre a deposição do revestimento quando os polímeros formam um complexo, sendo que a espessura do mesmo é determinada pela concentração do polímero aniónico. Por fim, ocorre a estabilização da microcápsula por processos de dissolvatação, reticulação ou por tratamento térmico (Ghosh, 2006).

#### **1.3.1.2.2 Layer-by-Layer**

A técnica *layer-by-layer* permite a preparação de filmes multicamadas com grande variedade de aplicações, pois apresenta propriedades óticas, magnéticas e elétricas. Esta técnica consiste na imersão consecutiva de um substrato em soluções carregadas positivamente e negativamente por polieletrólitos ou nanopartículas. As microcápsulas formam-se utilizando partículas coloidais (material do núcleo), sobre as quais se formam as “camadas”. Desta forma, a espessura do filme relaciona-se diretamente com o número de camadas depositadas (Ghosh, 2006).

### 1.3.1.2.3 Encapsulamento por Fluidos Supercríticos

Novas estratégias têm surgido na área da produção de microcápsulas, como a utilização de fluidos supercríticos para o microencapsulamento de pesticidas, pigmentos, entre outros. Os materiais utilizados para revestir o núcleo dissolvem-se no fluido supercrítico, como cera e acrilatos e outros não solúveis. Os métodos mais recorrentes são a Rápida Expansão da Solução Supercrítica (RESS), o Gás Anti-Solvente (GAS) e Partículas de Solução Saturada de Gás (PGSS) (Ghosh, 2006).

No método RESS, o fluido supercrítico, no qual se encontra o material do núcleo e o revestimento, é mantido em pressão elevada e libertado, posteriormente, através de um pequeno orifício à pressão ambiente (Ghosh, 2006; Mirzataheria et al., 2014). Esta diferença de pressão faz com que ocorra a dissolvação do revestimento e sua deposição à volta do princípio ativo. Apesar da simplicidade do processo, a falta de ingredientes de baixa densidade solúveis em fluidos supercríticos é um grande problema, uma vez que esta característica é um requisito obrigatório tanto para o revestimento como para o núcleo. Contudo, caso a solubilidade seja insuficiente pode-se ainda recorrer a co-solventes. (Ghosh, 2006) Na Figura 8, encontra-se esquematizado o método de microencapsulamento por RESS.

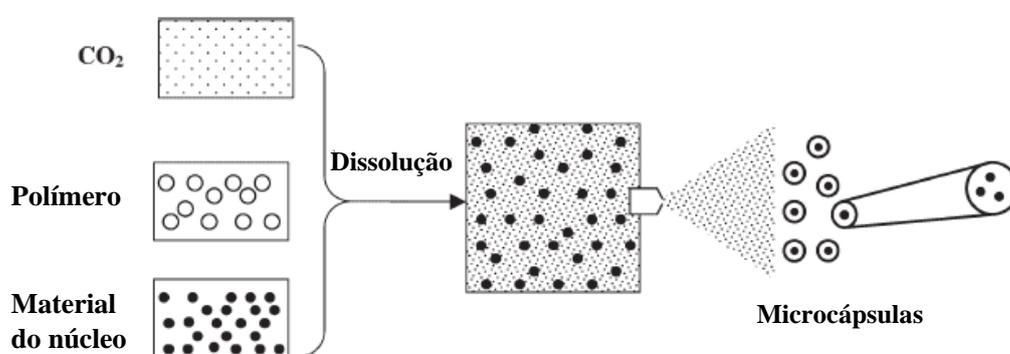


Figura 8 Microencapsulamento por RESS. Fonte: Mirzataheria et al., 2014

No processo GAS, é preparada uma solução com o material do núcleo e o revestimento mantido a alta pressão à qual é adicionado um fluido supercrítico, provocando uma expansão de volume e, por sua vez, um aumento da saturação que leva à precipitação do soluto. Desta forma, o soluto deve-se dissolver no líquido da solução inicial, mas não na mistura com o fluido supercrítico. Neste método não deve ser utilizada água, uma vez que esta apresenta baixa solubilidade em fluidos supercríticos (Ghosh, 2006; Mirzataheria et al., 2014).

No caso do método PGSS, o processo é semelhante ao RESS, pois o revestimento e o princípio ativo encontram-se numa mistura com o fluido supercrítico a alta pressão. Este último entra no material da cápsula, causando um aumento do volume, até que a temperatura de transição tenha sido ultrapassada, momento no qual o polímero passa à fase líquida. A partir do momento em que a pressão diminui, o revestimento deposita-se à volta do material do núcleo e a partícula retorna ao tamanho original. Este método é utilizado em casos que o revestimento e o princípio ativo não são solúveis no fluido supercrítico (Ghosh, 2006; Mirzataheria et al., 2014). O PGSS é frequentemente utilizado na indústria farmacêutica (Mirzataheria et al., 2014).

### 1.3.1.3 Métodos Físico-Mecânicos

Os métodos físico-mecânicos envolvem processos como coextrusão, *spray-drying*, encapsulamento por leito fluidizado, entre outros (Ghosh, 2006)

#### 1.3.1.3.1 Coextrusão

Um dos métodos físico-químicos mais usados é a coextrusão, que consiste num fluxo do material nuclear e num fluxo de material do revestimento, que formam gotículas devido à vibração, como demonstrado na Figura 9. A cápsula endurece, posteriormente, devido a uma reticulação química, evaporação por solvente e posterior resfriamento. (Ghosh, 2006; Mirzataheria et al., 2014)

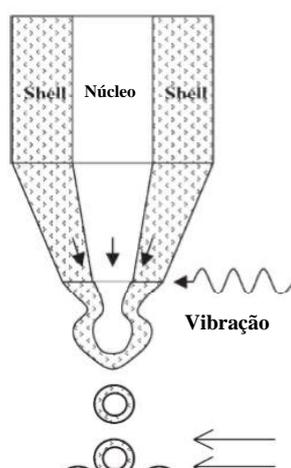


Figura 9 Encapsulamento por coextrusão. Fonte: Mirzataheria et al., 2014

### 1.3.1.3.2 *Spray-Drying*

O processo de *spray-drying*, utilizado na produção de fragrâncias, óleos, entre outros, tem um baixo custo associado (Lu & Park, 2012; Ghosh, 2006). Em primeiro lugar, é preparada uma solução de polímero e princípio ativo para posteriormente ser pulverizada numa câmara quente. À medida que o solvente utilizado evapora, o revestimento vai solidificando à volta das partículas do núcleo (Ghosh, 2006).

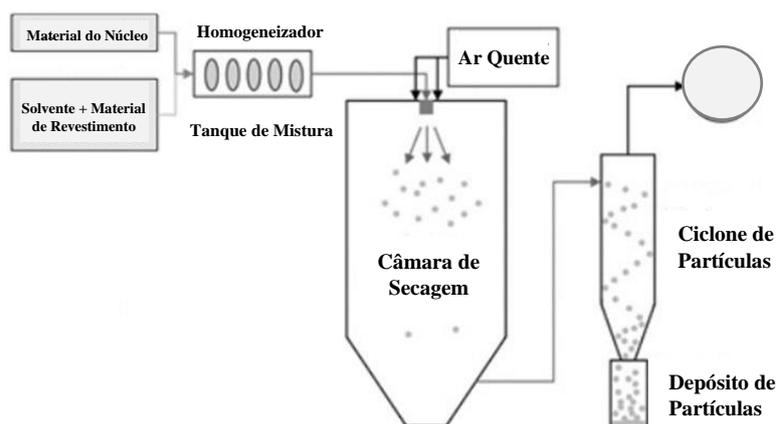


Figura 10 Encapsulamento por spray-drying. Fonte: Casanova & Santos, 2016

### 1.3.1.3.3 Tecnologia de Leito Fluidizado

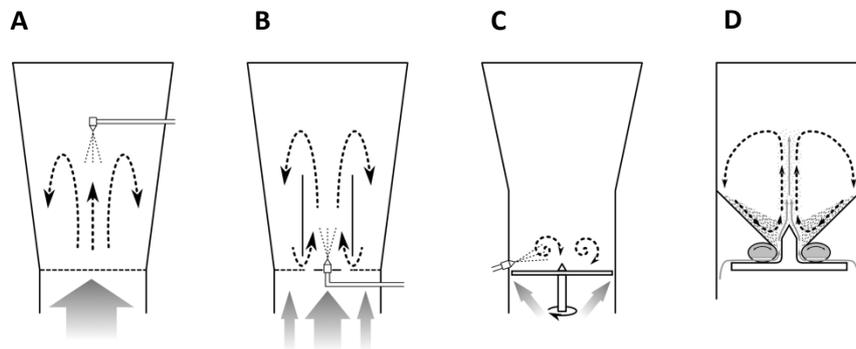
A tecnologia de leito fluidizado consiste na pulverização do revestimento líquido sobre as partículas de material nuclear, havendo uma rápida evaporação para a formação da cápsula. Existem três tipos de processos distintos: spray inferior, spray tangencial e spray superior (Choudhury et al., 2021; Ghosh, 2006).

Na pulverização inferior, utiliza-se uma câmara na qual existe uma placa perfurada e um bico cilíndrico, do qual é borrifado o material da cápsula. As partículas de princípio ativo entram na câmara a partir da placa inferior, entrando em contacto com o material do revestimento, sendo assim encapsuladas. O encapsulamento acontece por resfriamento da microcápsula ou pela evaporação do solvente. Apesar de demorado, a percentagem de partículas defeituosas é inferior (Ghosh, 2006). Este é o método de leito fluidizado mais utilizado na indústria (Zhuang et al., 2022).

No processo de pulverização superior, o revestimento é pulverizado no sentido oposto ao leito fluidizado, aumentando a sua eficiência comparativamente aos outros métodos (Ghosh, 2006).

Existe ainda o método de spray tangencial, que reside num disco giratório colocado na câmara de revestimento. O material do revestimento é libertado também a partir de um tubo tangente ao disco, isto é, à medida que o material do núcleo sai pelo disco, este é encapsulado pelo material de revestimento pulverizado tangencialmente. Quanto maior a distância ao spray menor o número de microcápsulas formadas (Ghosh, 2006).

Existe ainda o método de disco giratório, no qual suspensões de revestimento e princípio ativo são colocadas num disco rotativo, fazendo as partículas ficarem encapsuladas devido à ação giratória, por ação de resfriamento. Este mecanismo é opção económica e simples, com elevada eficiência (Ghosh, 2006). Na Figura 11 estão esquematizados os vários métodos de encapsulamento por leito fluidizado.



**Figura 11** Encapsulamento por tecnologia de leito fluidizado por (A) pulverização superior, (B) pulverização inferior, (C) pulverização tangencial e (D) disco giratório. Fonte: Naturwissenschaften, n.d.

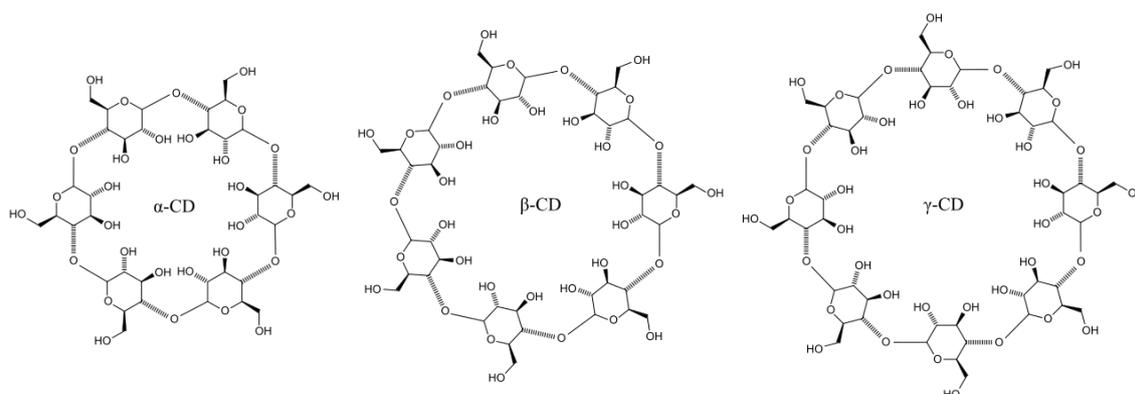
A escolha do método ideal dependerá do produto desejado e das propriedades dos materiais selecionados (Ghosh, 2006). Na Tabela 2 encontram-se resumidas as dimensões das partículas obtidas em cada processo.

**Tabela 2** Tamanho das microcápsulas obtidas consoante o processo de microencapsulamento. (Ghosh, 2006)

Processo de Microencapsulamento	Tamanho da partícula [ $\mu\text{m}$ ]
Extrusão	250 - 2500
<i>Spray-Drying</i>	5 - 5000
Pulverização por Leito Fluidizado	20 - 1500
Disco Rotativo	5 - 1500
Coacervação	2 - 1200
Evaporação do Solvente	0,5 - 1000
Separação de Fases	0,5 - 1000
Polimerização in situ	0,5 - 1100
Polimerização Interfacial	0,5 - 1000
Emulsão	0,1 - 0,5
<i>Layer-by-Layer</i>	0,02 - 20

#### 1.4 Ciclodextrinas

As ciclodextrinas são obtidas através do amido, pela sua degradação enzimática, e são compostas por várias moléculas de glicose unidas por ligações glicosídicas, formando assim oligossacarídeos cíclicos complexos com estrutura de cone truncado (Cabrales et al., 2012; Rashmi Bhaskara-Amrit et al., 2011). Estas são divididas em três grupos distintos:  $\alpha$ -ciclodextrinas,  $\beta$ -ciclodextrinas,  $\gamma$ -ciclodextrinas, cada um composto por 6, 7 e 8 ligações glicosídicas, respetivamente, aumentando a dimensão da cavidade consoante o aumento do número de ligações, como exemplificado na figura 12 (Rashmi Bhaskara-Amrit et al., 2011). Nas Figuras 12 e 13 encontram-se as estruturas bidimensionais e tridimensionais da ciclodextrinas.



**Figura 12** Estrutura dos diferentes tipos de ciclodextrinas. (Fonte: Rashmi Bhaskara-Amrit et al., 2011)

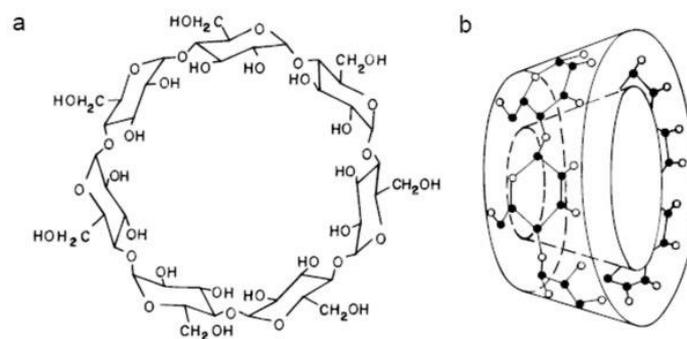


Figura 13 Estrutura tridimensional das  $\beta$ -ciclodextrinas. Fonte: Challa et al., 2005

A cavidade destas moléculas oferece um local adequado para a albergagem de uma molécula hidrofóbica, ou seja, é capaz de solubilizar e estabilizar uma molécula instável ou volátil noutras condições. Esta reação ocorre pela formação de micelas em soluções aquosas. Desta forma, as ciclodextrinas são um importante veículo para o encapsulamento de princípios ativos hidrofóbicos (Rashmi Bhaskara-Amrit et al., 2011).

Entre todos os tipos de ciclodextrinas, devido à sua fácil obtenção, preço e tamanho da concavidade, as  $\beta$ -ciclodextrinas são a melhor opção para o uso na indústria, uma vez que as  $\alpha$ -ciclodextrinas têm um volume insuficiente para a retenção de alguns materiais e as  $\gamma$ -ciclodextrinas são de dispendiosa obtenção (Rashmi Bhaskara-Amrit et al., 2011; Challa et al., 2005).

Os métodos de encapsulamento utilizados em ciclodextrinas passam pela preparação de uma solução simples, co-precipitação ou extrusão, entre outros. Em reações de complexação é utilizada a água como solvente. Contudo, se não existir solubilidade entre a água e as ciclodextrinas, são adicionados solventes, como o etanol, uma vez que não ocorre a complexação do mesmo e este se evapora com facilidade (Rashmi Bhaskara-Amrit et al., 2011).

Apesar das mais valias, o complexo ou microcápsula formada não tem característica permanente e a sua duração e resistência de ligação vão depender do tamanho da molécula hóspede, das interações de carga e ligações de hidrogénio, entre outros. Existem ainda estudos que comprovam a melhoria da solubilidade das ciclodextrinas aquando do uso de derivados de hidroxipropilo e metilado de ciclodextrinas e ciclodextrinas ramificadas (Rashmi Bhaskara-Amrit et al., 2011).

Existem cerca de 30 produtos farmacêuticos que utilizam ciclodextrinas na sua formulação, como a cetirizina, minoxidil, voriconazol, entre outros (Medicines Agency, 2017). Estas são aplicadas de forma a controlar a libertação de fármacos. Além da indústria farmacêutica, as ciclodextrinas podem ainda ser aplicadas na indústria cosmética, como na libertação de fragrâncias, e perfumes, ou mesmo em produtos de higiene pessoal, como cremes e pós. No caso da indústria alimentar, as ciclodextrinas são aplicadas, por exemplo, na remoção do colesterol do leite e outros alimentos e toma parte na conservação de alimentos. Estas moléculas têm ainda aplicações na agroindústria e em ciências ambientais (Rashmi Bhaskara-Amrit et al., 2011).

Existem vários métodos de incorporação de ciclodextrinas no tecido, entre as quais se encontram a pulverização, impressão, revestimento, impregnação, entre outros (Rashmi Bhaskara-Amrit et al., 2011). Contudo, a sua ligação vai depender do tipo de fibra utilizada, como especificado na Tabela 3.

**Tabela 3** Interações das ciclodextrinas com as diferentes fibras têxteis. Fonte: Rashmi Bhaskara-Amrit et al., 2011

Parâmetro	Algodão	Lã	Poliéster	Poliamida	Polipropileno
Interações iónicas	-	+	-	+	-
Ligações covalentes	+	+	-	-	-
Ligações Van der Waal	-	-	+	+	-
Agentes de reticulação	+	+	+	-	-
Polimerização	+	+	+	+	+

+ = lig. possível; - = lig. não possível

Uma vez que o pretendido é a aplicação das ciclodextrinas incorporadas com óleo essencial, é necessário garantir que não existem reações adversas das ciclodextrinas com a pele. Estudos sobre a toxicidade e carcinogenicidade mostraram que as ciclodextrinas apenas são tóxicas numa concentração acima de 0,1% (m/v) quando em contacto direto com a pele (Buschmann et al., 2001; Medicines Agency, 2017).

## **1.5 Têxteis Médicos**

Os produtos têxteis configuram um substrato ideal para o crescimento de microrganismos, uma vez guarnecidos com as condições perfeitas de humidade, temperatura e nutrientes. Consequentemente, a necessidade de inovação no campo das fibras sintéticas cresceu substancialmente. As fibras sintéticas, por si só, resistem de melhor forma ao crescimento de bactérias e outros microrganismos, isto porque permitem uma melhor transpiração do que fibras de algodão ou poliéster. Genericamente, as questões levantadas relativamente ao crescimento de microrganismos incidem no odor e na deterioração do tecido (El-Ola, 2008).

De modo geral, as inovações têxteis a nível médico e cirúrgico dividem-se em quatro grupos distintos: material não implantável (ligaduras, curativos, etc.); dispositivos extracorporais (órgãos artificiais); materiais implantáveis (enxertos, ligamentos, suturas, etc.) e produtos de saúde e higiene (roupas, roupas de cama, panos e aventais cirúrgicos, etc.) (El-Ola, 2008).

Estes têxteis inovadores passam por um tratamento antimicrobiano que evita a formação de manchas, deterioração e descoloração, a contaminação por microrganismos e a sua proliferação. Para que o acabamento antimicrobiano seja duradouro, é essencial que este seja resistente à lavagem e compatível com tratamentos químicos, e, naturalmente, não deve ser nocivo à saúde e ao ambiente e deve apresentar seletividade relativamente a microrganismos indesejáveis (El-Ola, 2008).

## **1.6 Métodos de Tratamentos Têxteis**

Na indústria têxtil, uma parte fundamental para a produção de têxteis funcionais, como nos têxteis médicos, são os acabamentos, tratamentos estes que podem conferir características antimicrobianas, de autolimpeza, entre outras. O desenvolvimento e melhoria destes tratamentos causou um impacto positivo nestas características, melhorando os seus valores (Repon et al., 2021). Encontram-se na bibliografia vários métodos passivos de serem usados na aplicação de microcápsulas e nanopartículas a fibras têxteis, entre os quais o *spray*, a estamparia e a impregnação por esgotamento e por *foulardagem*, sendo este último o método mais utilizado, uma vez que é possível controlar a velocidade e a pressão a que este ocorre (Martins et al., 2015; Ventura et al., n.d.). Após o processo de funcionalização segue-se ainda a fixação térmica e a secagem. (Ventura et al., n.d.) De forma a aumentar a eficácia da funcionalização da malha com

ciclodextrinas foram utilizados os amaciadores Setalan Comfort e Hydroperm RPU com as características destacadas na Tabela 4.

Tabela 4 Características dos amaciadores Setalan Comfort e Hydroperm RPU.

Características	Setalan Comfort	Hydroperm RPU
Aspetto	Líquido	Líquido
Cor	Branco	Amarelado
pH	3,0 - 5,0	4,0 - 6,0
Solubilidade	Solúvel em água	Solúvel em água fria
Carácter Iónico	Não iónico	Não iónico

O primeiro é geralmente no tratamento da fibra de poliéster, conferindo um toque suave e promovendo a hidrofiliidade, ideal para malhas onde é requerido uma maior capacidade de absorção e transpiração. Proporciona ainda poder anti-estático, reduz o atrito e confere propriedades de limpeza fácil. O segundo, Hydroperm RPU, é um amaciador de poliuretano termorreativo que confere características de suavidade permanente a fibras de celulose tanto naturais como regeneradas e a fibras de poliamida. Possui ainda um acabamento pesado conferindo uma sensação superior de qualidade e aumenta a elasticidade da malha. Tal como o Setalan, tem acabamento hidrofílico. O comportamento de lavagem melhora com a aplicação deste amaciador, assim como a recuperação do vinco.

### 1.6.1 Esgotamento

O método de esgotamento consiste na submersão de uma fibra têxtil numa solução contendo o composto ativo requerido, durante um determinado tempo. Características como a concentração do princípio ativo, a temperatura da operação e o tempo influenciam a fixação (Martins et al., 2015).

Apesar destas características forçarem a adsorção, existe uma distribuição desigual de soluto e uma baixa transferência de massa e, para melhorar estes parâmetros é adicionado um polímero fixador capaz de conferir uma ligação mais forte entre o princípio ativo e a malha (Martins et al., 2015).

### 1.6.2 Foulardagem

Esta é uma técnica convencional, na qual o tecido é mergulhado na solução e, posteriormente, colocado num foulard, que consiste em dois rolos cilíndricos que rodam a determinada velocidade e sob uma certa pressão, no qual o tecido passa, forçando o composto ativo a penetrar na fibra. Em comparação com o método de esgotamento, este é mais eficiente, isto porque a transferência de massa é maior e o soluto fica uniformemente distribuído na malha. Neste caso, poderão também ser utilizados polímeros que facilitam a fixação do soluto (Martins et al., 2015). Na figura 14, encontra-se um exemplo de um *foulard* industrial.



Figura 14 *Foulard* industrial. Fonte: [www.erbatech.com](http://www.erbatech.com)

Existem ainda outros métodos de impregnação, como o *PAD-stream*, *PAD-batch*, *PAD-dry* e o *PAD-dry:stream*. Contudo, devido à sua complexidade não são os processos eleitos nas indústrias (Martins et al., 2015).

### 1.6.3 Estamparia

A estamparia consiste na deposição de cor ou pasta nas áreas desejadas de uma fibra têxtil. No caso de ser aplicada coloração é possível construir padrões e desenhos ao contrário do tingimento, no qual a coloração é uniforme (Kasikovic, 2016). São distinguidos três métodos principais de estamparia: impressão em tela plana, impressão com rolos e impressão digital.

No caso da impressão direta, o pigmento ou princípio ativo é aplicado na forma de pasta por impressão. A impressão tradicional utiliza um quadro de madeira ou metal, com uma tela de algodão, viscose e celulose (mais recentemente, nylon e poliéster), garantindo uma estabilidade superior quando é utilizada uma pasta não aquosa (Kasikovic, 2016).

Apesar da evolução do processo ao longo das décadas, o auge deu-se com a criação da impressão contínua, uma vez que facilitou a produção em massa de tecidos estampados, devido à velocidade do processo e à impressão simultânea, tornando-se o processo mais usado atualmente (Kasikovic, 2016). A figura 15, apresenta uma impressora têxtil tradicional.



**Figura 15** Impressora têxtil plana tradicional. Fonte: [www.galigrup.com](http://www.galigrup.com).

Apesar da estamparia de quadros ser contínua, a sua produtividade é baixa para a necessidade da indústria, por isso surgiu a impressão com rolos. O método de impressão é semelhante, mudando apenas da tela para rolos cilíndricos de metal e mantendo o equipamento de secagem e fixação. O tecido desloca-se ao longo dos cilindros e os mesmo rodam com a malha e, ao contrário do que acontece com a impressão em tela plana, podem ser usadas várias cores ao mesmo tempo (Cotton Incorporated, 2003).



**Figura 16** Impressora têxtil de rolos. Fonte: [www.zimmer-klagenfurt.com](http://www.zimmer-klagenfurt.com)

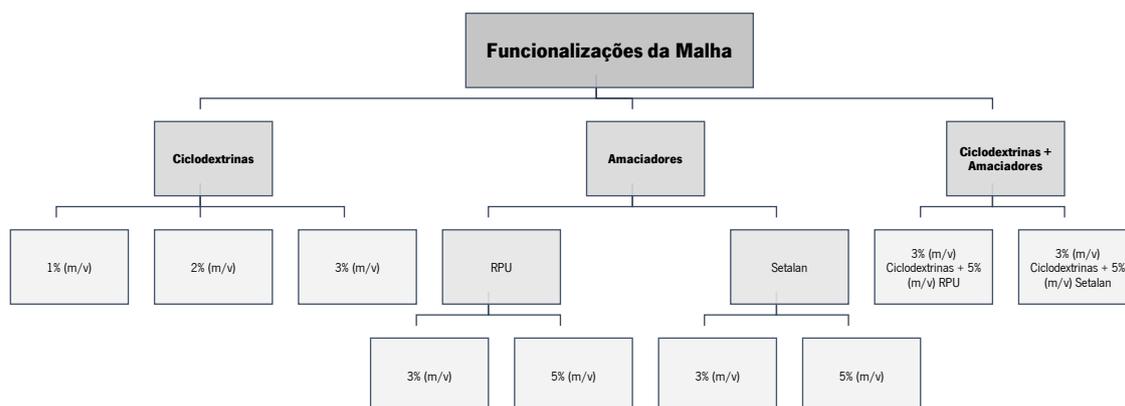
A impressão digital é o método mais recentemente criado, apresenta vantagens comparativamente aos restantes métodos, devido à variabilidade de designs que apresenta e, devido ao facto de ser mais prático e não implicar desperdício na troca do estampado, contudo o equipamento é mais dispendioso em comparação com os tradicionais (Cotton Incorporated, 2003).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Material Têxtil e Funcionalização

A malha utilizada no estudo tem a designação interna de V74 e é produzida na empresa João António Lima – Malhas Lda. com a referência 1503, apresenta uma composição final de 62% poliéster, 34% viscose e 4% de elastano. Na tinturaria, a malha é sujeita a um processo de acabamento na seguinte ordem: termofixação e fecho da malha, fervedura da fibra e posterior secagem e ramulagem, com tratamento hidrófilo.

De forma a determinar o melhor método de aplicação do óleo essencial à malha foram testadas várias funcionalizações, com base em diferentes concentrações de  $\alpha$ -ciclodextrinas, diferentes concentrações de amaciadores (RPU e Setalan) e ainda a mistura de ambos, como indicado na Figura 17.



**Figura 17** Esquema das diferentes funcionalizações aplicadas na malha.

As soluções de  $\alpha$ -ciclodextrinas de 1%, 2% e 3% foram preparadas adicionando, respetivamente, 1,5g; 3g e 4,5g de  $\alpha$ -ciclodextrinas (Aquitex – Acabamentos Químicos Têxteis, S.A., Portugal) a 150 ml de água destilada. Para as soluções de amaciadores, para 3% (m/v) adicionou-se 4,5g do respetivo amaciador e 7,5g para 5% (m/v) e completou-se as 150g com água destilada. Por sua vez, para a solução com  $\alpha$ -ciclodextrinas e amaciadores, foi adicionado 4,5g de  $\alpha$ -ciclodextrinas e 7,5g do respetivo amaciador. Os amaciadores utilizados foram o Setalan Comfort e o Hydroperm RPU New Liq C (Acatel - Acabamentos Têxteis S.A., Portugal).

Após a preparação das soluções, um tecido com cerca de 300 cm<sup>2</sup> foi mergulhado na respetiva solução e passado de seguida num *foulard*, a uma pressão de 3 bar e velocidade de 2,4 m/s. Posteriormente, foi colocado numa râmola à temperatura de 130°C, durante 5 minutos.

## **2.2 Agentes Antimicrobianos**

Neste estudo, foram avaliados dois óleos essenciais distintos: o óleo essencial de orégão (Florame, Bio 5ml), pertencente à espécie *Origanum compactum* (ou *Origanum vulgare*) originária do Norte de África, extraído da flor do topo por destilação a vapor e composto por essencialmente por carvacrol, timol e terpenos; e o óleo essencial árvore-do-chá (Florame, Bio 30ml), da espécie *Melaleuca alternifolia*, extraído das folhas de uma planta originária da África do Sul e Oceânia, por destilação a vapor, e composto fundamentalmente por terpineol e terpinenos. Optou-se pela utilização destes óleos essenciais, pois existem estudos prévios, realizados no grupo de investigação, que comprovam a eficácia dos mesmos.

## **2.3 Microrganismo – Condições de Armazenamento e Crescimento**

O organismo utilizado nos testes realizados foi a *Candida albicans* SC5314, conservada a -80°C ± 2°C, num meio de Sabouraud Dextrose Broth (SDB, Liofilchem®), com uma concentração de 15% (v/v) de glicerol (Merck®, Germany). Posteriormente ao descongelamento, as células do microrganismo foram colocadas em SDB (Sabouraud Dextrose Broth) e colocadas numa incubadora em agitação, a 37°C por aproximadamente 18 horas.

## **2.4 Determinação da eficácia dos tratamentos aplicados**

A concentração ideal da solução de óleo de orégão foi determinada com a realização do teste do halo com *C. albicans* SC5314, com um disco de papel de 1 cm de diâmetro, sobre o qual foram pipetados 25 µl de solução de óleo de orégãos diluído em óleo de amêndoas das seguintes concentrações: 2%, 5%, 10%, 25%, 50% e 75% (v/v). Uma vez que a mistura destes dois óleos não é homogénea e a solução tinha uma consistência pouco apropriada para borrifar, numa posterior avaliação, repetiu-se os ensaios das concentrações de 25%, 50% e 75% de óleo de orégão diluída em etanol a 96%.

Posteriormente, a malha foi cortada em quadrados de aproximadamente 3x3 cm e, de seguida, foi testado o efeito antimicrobiano tendo em conta algumas variáveis definidas, como exemplificado na Tabela 5. Ainda de acordo com a mesma tabela, para cada óleo e para cada número de borrifos, foram testadas diferentes horas de espera, isto é, quanto tempo de repouso que as malhas tiveram após serem borrifadas até ao momento do teste (momento no qual o tecido é colocado em contacto com o meio de agar, já inoculado com a *C. albicans* SC 5314).

**Tabela 5** Variáveis de testagem definidas.

<b>Variáveis</b>												
<b>Óleo de orégão</b>	1 Borrifo			2 Borrifos			3 Borrifos		4 Borrifos		6 Borrifos	
	0h	4h		0h	4h	24h	0h	4h	0h	4h	0h	4h
<b>Óleo de árvore-de-chá</b>	2 Borrifo			3 Borrifos			4 Borrifos		5 Borrifos		6 Borrifos	
	0h	4h	24h	0h	4h		0h	4h	0h	4h	0h	4h

## 2.5 Teste do halo

Os meios utilizados nos ensaios, Sabouraud Dextrose Broth (SDB) e Sabouraud Dextrose Agar (SDA), foram preparados previamente, segundo as instruções do fabricante. Após o tempo de incubação, referido anteriormente, de cerca de 18 horas, foram realizadas uma centrifugação e duas lavagens do pré-inóculo com uma solução salina (PBS), a 6000 rpm, a 4°C, por 10 minutos.

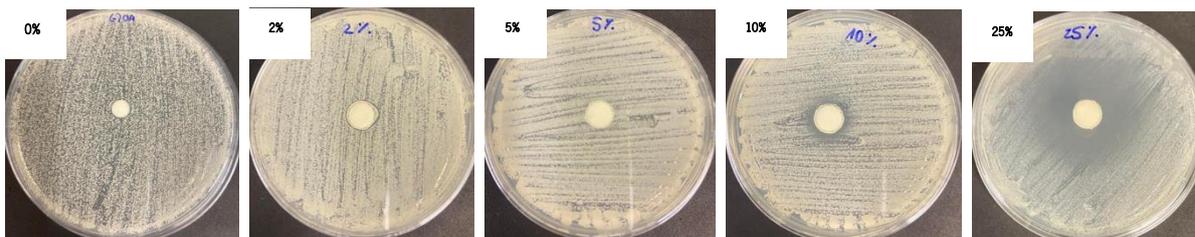
Seguidamente, procedeu-se à contagem de células numa câmara de Neubauer, de forma a ser feito o ajuste do inóculo para uma concentração final de  $1 \times 10^8$  células/mL. Posteriormente, foram inoculadas as placas de Sabouraud Dextrose Agar (SDA) necessárias, com o auxílio de uma zaragatoa, de forma a obter um crescimento celular uniforme, para cada amostra em duplicado, por cada ensaio.

A malha, já cortada, foi borrifada com a solução de óleo essencial diretamente no tecido, a uma distância de cerca de 20 cm, de um lado apenas, tendo sido esse mesmo lado colocado, em contacto com a cultura e colocou-se as culturas numa incubadora a 37°C por 24h, aproximadamente.

### 3 RESULTADOS E RESPECTIVA DISCUSSÃO

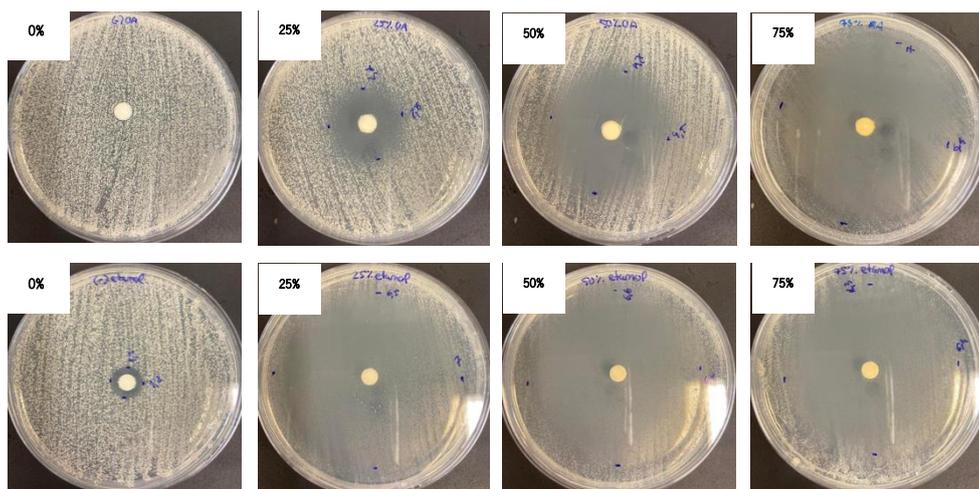
#### 3.1 Atividade Inibitória do Agente Antimicrobiano (Óleo Essencial de Orégão)

Como referido anteriormente, foi realizada a determinação qualitativa da atividade antimicrobiana, pelo teste do halo, de diferentes concentrações (2%, 5%, 10% e 25% (v/v)) de óleo essencial de orégão diluído em óleo de amêndoa. Na Figura 18, encontram-se os resultados obtidos, incluindo o controlo com apenas óleo de amêndoa.



**Figura 18** Resultados da atividade antimicrobiana por teste do halo da solução de óleo essencial de orégão nas concentrações de 0% (controlo), 2%, 5%, 10% e 25% (v/v), respetivamente, diluído em óleo de amêndoa.

Para além das dificuldades encontradas para misturar homogeneamente os dois tipos de óleo, os resultados obtidos não foram satisfatórios, uma vez que apenas se formou uma zona de inibição a partir da concentração de 10%. Contudo na concentração de 10% o halo obtido não se mostrou significativo, pois, de forma geral, e segundo valores tabelados para outras substâncias antimicrobianas, os diâmetros dos halos deverão ser superiores a 2 cm (Asun A et al., 2020). Assim, o teste foi repetido para concentrações de 25%, 50% e 75% (v/v) de óleo de orégão em óleo de amêndoa e em etanol, de forma a facilitar a homogeneização da solução e comparado com a solução de óleo essencial de orégão nas mesmas concentrações. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 19.



**Figura 19** Resultados da atividade antimicrobiana, por teste do halo, da solução de óleo de orégão com óleo de amêndoa (cima) e da solução de óleo de orégão com etanol (baixo) com as concentrações 25%, 50% e 75%, e respectivos controles, com 0% de óleo essencial de orégão e 100% de óleo de amêndoas e 100% de etanol, respectivamente.

Como é possível observar pela Figura 19, tanto o etanol como o óleo de amêndoas não apresentam atividade antimicrobiana, desta forma é possível comparar os resultados das mesmas concentrações. Consequentemente, e segundo a Tabela 6, é possível constatar a diferença entre a eficácia das duas soluções, isto porque o halo é superior nas concentrações de 25% e 50% (v/v) de óleo essencial de orégão na diluição em etanol, comparativamente à diluição em óleo de amêndoas e, apenas na concentração de 75% (v/v) os resultados foram semelhantes, porém o uso de grandes quantidades de óleo essencial não é de todo viável a nível industrial. Desta forma, a solução considerada ótima é de 25% (v/v) de óleo de orégão em etanol.

**Tabela 6** Resumo dos resultados para determinação da concentração ideal de óleo essencial de orégãos com diluição em óleo de amêndoa e etanol.

Concentração do Óleo Essencial de Oregãos (% v/v)	Diâmetro do Halo - Diluição em Óleo de Amêndoa (cm)	Diâmetro do Halo - Diluição em Etanol (cm)
0% (Controlo)	-	1,08 ± 0,22
2%	-	N.d.
5%	-	N.d.
10%	1,00 ± 0,32	N.d.
25%	2,73 ± 0,25	6,75 ± 0,42
50%	4,95 ± 0,34	6,18 ± 0,72
75%	6,55 ± 0,41	6,57 ± 0,56

Uma vez que já foram realizados estudos comparativos entre o óleo de orégão e o óleo de árvore-do-chá, e estes provaram que a atividade é inferior para o óleo da árvore-do-chá foram apenas realizados testes para determinação da concentração mínima para o óleo essencial de orégão e a mesma concentração foi usada para ambos ao longo do trabalho. (Tampieri et al., 2005)

## 3.2 Determinação da eficácia dos tratamentos aplicados

### 3.2.1 Óleo Essencial de Orégão

Posteriormente à preparação da solução com o respetivo óleo essencial, como referido anteriormente, a solução foi borrifada na fibra têxtil. Existe alguma variabilidade no método de aplicação, pois a quantidade de solução deposta no tecido está dependente da homogeneização da solução, da pressão aplicada no momento do borrifo e da distância do *spray* à malha, como constatado ao longo do trabalho. Consequentemente, cada variável foi reproduzida, no mínimo, em duplicado. O efeito antimicrobiano foi observado cerca de 24 horas depois da aplicação do tecido na cultura. Após o tratamento dos resultados, foi possível obter a seguinte tabela (Tabela 7) para a solução de 25% (v/v) de óleo de orégão em etanol, na qual estão destacados a verde os melhores valores obtidos. A vermelho estão destacados os valores de halos que tiveram melhor resultado às 4 horas de repouso do que às 0 horas.

Tabela 7 Resultados do diâmetro de halo antimicrobiano (em cm) obtido com as diferentes funcionalizações com aplicação da solução de óleo de orégãos.

Tipo de Funcionalização	Diâmetro do Halo (cm)										
	1 Borrifo		2 Borrifos			3 Borrifos		4 Borrifos		6 Borrifos	
	0h	4h	0h	4h	24h	0h	4h	0h	4h	0h	4h
(1) Malha Virgem	3,35 ± 0,49	0,00 ± 0,00	5,98 ± 1,06	5,62 ± 1,12	3,13 ± 0,46	6,95 ± 0,00	7,35 ± 0,00	7,45 ± 1,21	5,70 ± 3,96	8,50 ± 0,00	N.d.
(2) 1% α-CD	2,73 ± 0,04	2,55 ± 0,00	7,18 ± 0,91	6,16 ± 0,55	4,24 ± 0,90	7,05 ± 0,64	7,60 ± 0,00	8,50 ± ±0,00	8,50 ± 0,00	8,50 ± 0,00	8,50 ± 0,00
(3) 2% α-CD	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	7,33 ± 1,17	6,26 ± 0,88	4,39 ± 1,04	7,98 ± 0,18	7,90 ± 0,00	7,54 ± 1,11	7,08 ± 1,91	8,50 ± 0,00	8,50 ± 0,00
(4) 3% α-CD	3,40 ± 0,42	3,20 ± 0,21	6,42 ± 1,15	6,20 ± 1,65	3,85 ± 0,62	8,50 ± 0,00	8,33 ± 0,25	8,50 ± 0,00	8,16 ± 0,39	8,50 ± 0,00	8,50 ± 0,00
(5) 3% RPU	5,45 ± 0,00	1,00 ± 1,41	6,49 ± 1,50	5,63 ± 0,46	5,04 ± 1,02	7,55 ± 0,00	5,78 ± 0,60	7,64 ± 1,30	7,28 ± 1,17	8,50 ± 0,00	6,43 ± 0,11
(6) 5% RPU	3,70 ± 0,00	1,45 ± 2,05	6,35 ± 0,77	6,19 ± 0,48	4,60 ± 0,82	7,70 ± 1,13	7,50 ± 0,64	7,95 ± 0,95	6,69 ± 1,31	8,50 ± 0,00	6,28 ± 0,11
(7) 3% Setalan	2,00 ± 0,00	1,23 ± 1,73	6,92 ± 0,88	6,14 ± 1,73	3,60 ± 0,30	8,50 ± 0,00	7,45 ± 0,00	8,50 ± 0,00	8,50 ± 0,00	8,50 ± 0,00	7,20 ± 1,84
(8) 5% Setalan	0,00 ± 0,00	2,65 ± 0,21	6,45 ± 1,42	6,22 ± 1,22	3,47 ± 0,83	8,50 ± 0,00	7,88 ± 0,11	8,26 ± 0,48	7,58 ± 1,12	8,50 ± 0,00	6,20 ± 0,42
(9) 3% α-CD + 5% RPU	2,55 ± 1,80	1,85 ± 2,62	6,10 ± 0,45	5,65 ± 0,79	4,23 ± 0,25	8,23 ± 0,39	7,35 ± 0,00	7,60 ± 1,80	6,02 ± 1,03	8,50 ± 0,00	8,50 ± 0,00
(10) 3% α-CD + 5% Setalan	1,03 ± 1,45	2,38 ± 3,36	6,88 ± 1,02	6,35 ± 1,18	5,03 ± 0,11	7,75 ± 0,21	8,50 ± 0,00	8,50 ± 0,00	8,50 ± 0,00	8,50 ± 0,00	8,50 ± 0,00

Como é possível perceber pela Tabela 7, as funcionalizações com os halos maiores obtidos para cada número de borrifo e cada hora não foram sempre as mesmas, ou seja, não é possível definir um único método como o melhor. Contudo, existem algumas funcionalizações que se destacam pela sua eficácia, como as funcionalizações com  $\alpha$ -ciclodextrinas, em especial a funcionalização com uma solução de 3% (m/v)  $\alpha$ -ciclodextrinas. Dentro das funcionalizações, com amaciador apenas, o Setalan mostra uma maior eficácia relativamente ao RPU, contudo, não é suficiente para ser utilizado isoladamente. Para além da funcionalização de 3% (m/v)  $\alpha$ -ciclodextrinas, a junção com 3% (m/v)  $\alpha$ -ciclodextrinas + 5% (m/v) Setalan também mostrou resultados prósperos.

Outra situação observada no decorrer do trabalho foi a humidade retida na malha com o aumento do número de borrifos, isto porque o ideal no produto final será uma fibra têxtil capaz de reter a solução com óleo, mas que seja confortável para o uso quotidiano do utente. A partir dos 3 borrifos a malha fica demasiado húmida para ser colocada na roupa íntima e, apesar dos halos obtidos com 2 borrifos não serem os maiores, obteve-se uma atividade antimicrobiana bastante satisfatória e uma malha “semi-seca” e, desta forma, passível de ser usada na aplicação pretendida.

Através da Tabela 7, é possível concluir ainda que, como esperado, o diâmetro do halo aumenta com o aumento do número de borrifos e, que para as 0 horas de repouso, ou seja, o tecido após ser borrifado foi imediatamente colocado em contacto com a cultura, as diferenças entre as diferentes funcionalizações não são significativas. Consequentemente, e uma vez mais, não é possível seleccionar uma funcionalização mais eficaz, porque os comportamentos das mesmas são muito semelhantes. Todavia, existem 3 funcionalizações que atingem o diâmetro máximo (da dimensão da placa de Petri) com apenas 3 borrifos de solução, sendo estas as funcionalizações com 3% (m/v)  $\alpha$ -ciclodextrinas, 3% (m/v) Setalan e 5% (m/v) Setalan, ainda que com pouca diferença no diâmetro, comparativamente às demais soluções.

Os diâmetros dos halos para as 4 horas de repouso, como seria de esperar, são inferiores comparativamente aos correspondentes para as 0 horas. Consequentemente, existe apenas uma funcionalização a atingir o diâmetro máximo aos 3 borrifos, sendo esta a funcionalização com 3% (m/v)  $\alpha$ -ciclodextrinas + 5% (m/v) Setalan, seguida uma vez mais da funcionalização com 3% (m/v)  $\alpha$ -ciclodextrinas, com uma zona de inibição de diâmetro 8,33 cm.

### 3.2.2 Óleo de Árvore-de-Chá

Assim como para o óleo essencial de orégão, também para o óleo essencial de árvore-de-chá foi reproduzido o teste do halo para malhas borrifadas com uma solução com o respetivo óleo essencial, para diferentes números de borrifos, que neste caso foram 2, 3, 4, 5 e 6 borrifos, e para três tempos de repouso de 0, 4 e 24 horas, em duplicado, para cada variável. Os resultados obtidos encontram-se resumidos na Tabela 9.

Tabela 8 Resultados do diâmetro de halo antimicrobiano (em cm) obtido com as diferentes funcionalizações com aplicação da solução de óleo de árvore-do-chá.

Tipo de Funcionalização	Diâmetro do Halo (cm)											
	2 Borrifos			3 Borrifos		4 Borrifos		5 Borrifos		6 Borrifos		
	0h	4h	24h	0h	4h	0h	4h	0h	4h	0h	4h	
(1) Malha Virgem	2,70 ±	0,00 ±	0,00 ±	3,60 ±	0,00 ±	4,60 ±	0,00 ±	5,35 ±	1,05 ±	1,33 ±	6,98 ±	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,48	1,87	0,50	
(2) 1% $\alpha$ -CD	2,10 ±	0,00 ±	0,00 ±	3,75 ±	0,00 ±	4,80 ±	0,00 ±	6,08 ±	1,38 ±	2,60 ±	1,73 ±	
	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	3,11	0,00	3,43	1,94	1,13	2,40	
(3) 2% $\alpha$ -CD	3,25 ±	0,00 ±	0,00 ±	5,05 ±	0,00 ±	8,50 ±	0,00 ±	2,63 ±	2,05 ±	4,45 ±	6,43	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,00	0,57	±1,80	
(4) 3% $\alpha$ -CD	4,25 ±	0,00 ±	0,00 ±	3,80 ±	0,00 ±	2,90	2,03 ±	6,25 ±	1,28 ±	8,50 ±	5,90 ±	
	6,01	0,00	0,00	0,00	0,00	±0,28	2,86	0,00	1,80	0,00	0,00	
(5) 3% RPU	2,78 ±	0,00 ±	0,00 ±	3,00 ±	0,00 ±	8,50 ±	2,90 ±	4,73 ±	2,45 ±	8,50 ±	6,88 ±	
	0,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,78	0,67	0,00	0,00	0,04	
(6) 5% RPU	4,83 ±	0,00 ±	0,00 ±	5,45 ±	3,95 ±	8,50 ±	2,63 ±	7,65 ±	3,15 ±	8,50 ±	5,33 ±	
	2,72	0,00	0,00	0,78	1,63	0,00	0,04	1,20	0,14	0,00	0,67	
(7) 3% Setalan	2,70 ±	0,00 ±	0,00 ±	4,10 ±	0,00 ±	5,55 ±	0,00 ±	8,23 ±	2,70 ±	6,60	3,63 ±	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,39	0,57	±2,69	1,31	
(8) 5% Setalan	3,20 ±	0,00 ±	0,00 ±	4,25 ±	1,15 ±	5,98 ±	1,43 ±	8,50 ±	2,50 ±	8,50 ±	3,88 ±	
	0,00	0,00	0,00	1,06	1,63	3,57	2,02	0,00	0,00	0,01	2,23	
(9) 3% $\alpha$ -CD + 5% RPU	4,48 ±	1,30	0,00 ±	1,73 ±	1,40 ±	4,83 ±	2,90 ±	5,88 ±	2,63 ±	3,28 ±	5,68 ±	
	1,52	±1,84	0,00	2,44	1,98	1,31	0,99	3,71	0,11	0,74	3,22	
(10) 3% $\alpha$ -CD + 5% Setalan	2,80 ±	0,00 ±	0,00 ±	2,48 ±	0,00 ±	5,95 ±	0,00 ±	3,60 ±	3,58 ±	4,60 ±	7,35 ±	
	0,07	0,00	0,00	0,04	0,00	3,61	0,00	0,35	1,10	3,04	0,14	

Comprovado através da Tabela 8, e tal como aconteceu nos ensaios com o óleo essencial de orégão, não existe uma funcionalização única que se destaque como mais eficaz. Contudo, para o óleo da árvore-do-chá, a funcionalização com  $\alpha$ -ciclodextrinas não se mostrou promissora e o amaciador com melhores resultados foi o RPU, por oposição ao que aconteceu com o óleo de orégão, tanto na concentração de 3% (m/v) como na concentração 5% (m/v).

Através da tabela anterior é possível também concluir que, como esperado, a atividade antimicrobiana do óleo essencial de árvore-do-chá em comparação com o óleo essencial de orégão

é consideravelmente inferior e, para o óleo da árvore-de-chá, não seria de todo aconselhável a utilização de 2 borrifos apenas, pois às 4h já praticamente não existe efeito antimicrobiano em nenhuma das funcionalizações. O número de borrifos mínimo a aplicar seria 5, pois só a partir deste número de aplicações existe halo em todas as funcionalizações. Contudo, para equiparar resultados com o óleo de orégão (para os 2 borrifos) seriam necessários de facto os 6 borrifos de solução.

Todavia, é possível distinguir duas funcionalizações que se destacam ao longo do aumento do número de borrifos para as 0 horas que, neste caso, são as funcionalizações com 3% (m/v) e 5% (m/v) RPU. A funcionalização de 2% (m/v)  $\alpha$ -ciclodextrinas tem ainda um comportamento semelhante nos 1, 2 e 3 borrifos, mostrando-se também promissora.

Comparativamente com os resultados às 4h de espera do óleo de orégão, os halos para o óleo de árvore-de-chá são significativamente inferiores, havendo apenas inibição a partir dos 4 borrifos na maior parte das funcionalizações, não chegando nenhuma funcionalização a atingir o diâmetro máximo de 8,5 cm. Como referido anteriormente, apenas com 6 borrifos se atingem diâmetros de halo semelhantes aos ensaios com 2 borrifos de óleo essencial de orégão. Para as 4 horas, os melhores resultados foram obtidos com as funcionalizações de 3% (m/v)  $\alpha$ -ciclodextrinas + 5% (m/v) Setalan, assim como aconteceu com o óleo essencial de orégão.

## 4 CONCLUSÕES

Como foi possível aferir através dos resultados, os óleos essenciais tanto de orégão como de árvore-do-chá apresentam os efeitos antimicrobianos necessários para o tratamento da candidíase vulvovaginal, causada pela espécie *C. albicans*. Apesar de ambos apresentarem esta propriedade, o óleo essencial de orégão destacou-se com uma atividade inibitória superior, garantindo halos com diâmetros de 8,5 cm (diâmetro máximo da placa) após 4 horas de aplicação da solução da solução de 25% (v/v) em spray, com apenas 2 borrifos. Para além do seu efeito após 4 horas de aplicação se manter, a sua atividade antimicrobiana pode-se manter até às 24 horas após a aplicação, no caso do óleo essencial de orégão, o que não acontece com 2 borrifos de solução de 25% (v/v) com o óleo essencial de árvore-de-chá.

As funcionalizações mostraram-se eficazes no prolongamento do efeito antimicrobiano dos óleos, através de uma libertação controlada dos mesmos ao longo do tempo. As  $\alpha$ -ciclodextrinas mostraram ser o tratamento funcional mais eficaz, em especial quando combinado com amaciadores tensioativos, em especial com o Setalan Comfort, nas concentrações de 3% (m/v) e 5% (m/v) respetivamente.

É possível, por fim, concluir que existe a possibilidade de ser produzida uma nova estratégia terapêutica com recurso a uma solução de óleo de orégão e aplicada por borrifo numa malha pelo próprio paciente, existindo, contudo, algumas variáveis a serem estudadas.

## 5 PERSPETIVAS FUTURAS

Uma das alternativas que surgiu nos últimos anos à utilização dos métodos de acabamento tradicionais, é a tecnologia Weko Fluid-Application-System (WFA). Este é um método mais económico e ecológico do que o processo convencional de foulardagem, pois diminui o tempo do processo, reduzindo o tempo de secagem, uma vez que os produtos são aplicados com recurso a uma menor quantidade de água. Para além disto, deixa de haver a pressão exercida na malha, impedindo o possível rebentamento das microcápsulas. Representando, desta forma, um melhor método para a funcionalização das malhas com ciclodexterinas e uma boa aposta no desenvolvimento do dispositivo terapêutico. Porém, seriam necessários novos testes.

O etanol em contacto com a pele pode causar irritação, ardor e vermelhidão e, apesar de no dispositivo têxtil a desenvolver não haver contacto direto da solução com óleo essencial com a vulva, mas sim apenas da sua fase de vapor, é importante reduzir a quantidade de álcool na solução final (Compendium of Chemical Hazards, 2019). Assim, é necessário desenvolver outro tipo de soluções capazes de serem borrifadas para a malha de forma uniforme e que apresentem a mesma capacidade antimicrobiana, sem serem tóxicas ou irritantes.

Para terminar, é fundamental a testagem com outras espécies de *Candida* de referência e isolados clínicos e dos seus biofilmes, de forma a aferir se a capacidade antimicrobiana se mantém para as mesmas, assim como a realização de testes qualitativos que permitam uma melhor avaliação da eficácia do método aplicado.

## Referências

- Asun A, Cornejo J, LaPierre L, Varela D, & Vergara C. (2020). Laboratory Guide: Methodologies for Antimicrobial Susceptibility Testing APEC Sub-Committee on Standards and Conformance. [www.apec.org](http://www.apec.org)
- Barantsevich, N., & Barantsevich, E. (2022). Diagnosis and Treatment of Invasive Candidiasis. *Antibiotics*. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11060718>
- Benítez, G., Gonzalez-Tejero, M. R., & Mesa, J. M. (2017). Medicinal Plants - *Origanum vulgare* L. <https://www.researchgate.net/publication/271732193>
- Buschmann, H.-J., Knittel, D., & Schollmeyer, E. (2001). New Textile Applications of Cyclodextrins. In *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* (Vol. 40).
- Cabreres, L., Abidi, N., Hammond, A., & Hamood, A. (2012). Cotton Fabric Functionalization with Cyclodextrins. *J. Mater. Environ. Sci*, 3(3), 561-574.
- Casanova, F., & Santos, L. (2016). Encapsulation of cosmetic active ingredients for topical application-a review. In *Journal of Microencapsulation* (Vol. 33, Issue 1, pp. 1-17). <https://doi.org/10.3109/02652048.2015.1115900>
- Challa, R., Ahuja, A., Ali, J., & Khar, R. K. (2005). Cyclodextrins in Drug Delivery: An Updated Review. <http://www.aapspharmscitech.org>
- Choudhury, N., Meghwal, M., & Das, K. (2021). Microencapsulation: An overview on concepts, methods, properties and applications in foods. In *Food Frontiers* (Vol. 2, Issue 4, pp. 426-442). <https://doi.org/10.1002/fft2.94>
- Compendium of Chemical Hazards. (2019). <http://www.medicinesinpregnancy.org/Medicine-pregnancy/Alcohol/>.
- Cotton Incorporated. (2003). *Textile Printing*.
- da Silva, N. P., Carmo Rapozo Lavinias Pereira, E. do, Duarte, L. M., de Oliveira Freitas, J. C., de Almeida, C. G., da Silva, T. P., de Melo, R. C. N., Morais Apolônio, A. C., de Oliveira, M. A. L., de Mello Brandão, H., Pittella, F., Fabri, R. L., Tavares, G. D., & de Faria Pinto, P. (2020). Improved anti-Cutibacterium acnes activity of tea tree oil-loaded chitosan-poly ( $\epsilon$ -caprolactone) core-shell nanocapsules. *Colloids and Surfaces*. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111371>
- Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016). Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. <https://doi.org/10.3390/medicines3040025>
- El-Ola, S. M. A. (2008). Recent developments in finishing of synthetic fibers for medical applications. In *Designed Monomers and Polymers* (Vol. 11, Issue 6, pp. 483-533). <https://doi.org/10.1163/156855508X363816>
- Fernandes, L., Gonçalves, B., Costa, R., Fernandes, Â., Gomes, A., Nogueira-Silva, C., Silva, S., Rodrigues, M. E., & Henriques, M. (2022). Vapor-Phase of Essential Oils as a Promising Solution to Prevent Candida Vaginal Biofilms Caused by Antifungal Resistant Strains. *Healthcare*. <https://doi.org/10.3390/healthcare10091649>
- Gafner, S. (2018). Tea Tree Oil Laboratory Guidance Document DNA barcoding of Medicinal Plants, Food and Drug Quality. <https://www.researchgate.net/publication/328175728>
- Ghosh, S. K. (2006). Functional coatings: by polymer microencapsulation.

- Gonçalves, B., Ferreira, C., Alves, C. T., Henriques, M., Azeredo, J., & Silva, S. (2016). Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, Microbiology and Risk Factors. In *Critical Reviews in Microbiology* (Vol. 42, Issue 6, pp. 905–927). <https://doi.org/10.3109/1040841X.2015.1091805>
- Kasikovic, N. (2016). Textile printing- Past, Present and Future “Development of software model for scientific and production improvement in graphic industry”. <https://www.researchgate.net/publication/310597434>
- Leyva-López, N., Gutiérrez-Grijalva, E. P., Vazquez-Olivo, G., & Heredia, J. B. (2017). Essential oils of oregano: Biological activity beyond their antimicrobial properties. In *Molecules* (Vol. 22, Issue 6). <https://doi.org/10.3390/molecules22060989>
- Lizárraga-Velázquez, C. E., Leyva-López, N., Hernández, C., Gutiérrez-Grijalva, E. P., Salazar-Leyva, J. A., Osuna-Ruiz, I., Martínez-Montaño, E., Arrizon, J., Guerrero, A., Benitez-Hernández, A., & Ávalos-Soriano, A. (2020). Antioxidant molecules from plant waste: Extraction techniques and biological properties. In *Processes* (Vol. 8, Issue 12, pp. 1–44). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/pr8121566>
- Lu, Y., & Park, K. (2012). Microencapsulation: Methods and Pharmaceutical Applications. <https://doi.org/10.3109/9781841848204.000>
- Maes, C., Bouquillon, S., & Fauconnier, M. L. (2019). Encapsulation of essential oils for the development of biosourced pesticides with controlled release: A review. In *Molecules* (Vol. 24, Issue 14). <https://doi.org/10.3390/molecules24142539>
- Martins, N., Barros, L., Henriques, M., Silva, S., & Ferreira, I. C. F. R. (2015). Activity of phenolic compounds from plant origin against *Candida* species. In *Industrial Crops and Products* (Vol. 74, pp. 648–670). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.067>
- Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Henriques, M., Silva, S., & Ferreira, I. C. F. R. (n.d.). Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* L.: different performances regarding bioactivity and phenolic compounds.
- Martins, T. G., Chiapetta, S. C., Carvalho, L. J., & Cassella, R. J. (2015). Comparison of the efficiency of different techniques (exhaustion and padding) for the fixation of permethrin in fabrics. *Revista Virtual de Quimica*, p. 1119–1129. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150062>
- Medicines Agency, E. (2017). Committee for Human Medicinal Products (CHMP). [www.ema.europa.eu/contact](http://www.ema.europa.eu/contact)
- Mirzataheria, M., Mahtabanib, A. H., & Lotfalieic, M. (2014). Emulsion Polymerization and Encapsulation of Micro and Nanoparticles within Polymer Droplets. *Jordan Journal of Chemistry*, p. 229–266. <https://doi.org/10.12816/0025977>
- Naturwissenschaften, F. (2017). Investigation of fluidised bed coating: Measurement, optimisation and statistical modelling of coating layers.
- Özer, Z., Gören, A. C., Kılıç, T., Öncü, M., Çarıkçı, S., & Dirmenci, T. (2020). The phenolic contents, antioxidant and anticholinesterase activity of section *Amaracus* (Gled.) Vogel and *Anatolicon* letsw. of *Origanum* L. species. *Arabian Journal of Chemistry*, p. 5027–5039. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.01.025>
- Puvača, N., Lika, E., Cocoli, S., Kika, T. S., Bursić, V., Vuković, G., Simin, M. T., Petrovic, A., & Cara, M. (2020). Use of tea tree essential oil (*Melaleuca alternifolia*) in laying hen’s nutrition on performance and egg fatty acid profile as a promising sustainable organic agricultural tool. <https://doi.org/10.3390/SU12083420>
- Rama Dubey, T.C. Shami, & K.U. Bhasker Rao. (2009). Microencapsulation Technology and Applications. *Defence Science Journal*, 59, p. 82–95.
- Rashmi Bhaskara-Amrit, U., Agrawal, P. B., & Warmoeskerken, M. M. C. G. (2011). Applications of  $\beta$ -cyclodextrins in Textiles. In *AUTEX Research Journal* (Vol. 11). [http://www.autexrj.org/No4-2011/0020\\_11.pdf](http://www.autexrj.org/No4-2011/0020_11.pdf)

- Repon, M. R., Islam, T., Sadia, H. T., Mikučionienė, D., Hossain, S., Kibria, G., & Kaseem, M. (2021). Development of Antimicrobial Cotton Fabric Impregnating AgNPs Utilizing Contemporary Practice. *Coatings*. <https://doi.org/10.3390/COATINGS11111413>
- Rodrigues, M. E., Silva, S., Azeredo, J., & Henriques, M. (2016). Novel strategies to fight *Candida* species infection. In *Critical Reviews in Microbiology* (Vol. 42, Issue 4, pp. 594–606). <https://doi.org/10.3109/1040841X.2014.974500>
- Tolve, R., Galgano, F., Caruso, M. C., Tchuénbou-Magaia, F. L., Condelli, N., Favati, F., & Zhang, Z. (2016). Encapsulation of health-promoting ingredients: applications in foodstuffs. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, p. 888–918. <https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1205552>
- Turner, S. A., & Butler, G. (2014). The *Candida* pathogenic species complex. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019778>
- Ventura, S., Carneiro, N., & Souto, A. P. (n.d.). Acabamento de têxteis multifuncionais com nanocompósitos poliméricos.
- Vieira-Baptista, P., & Bornstein, J. (2019). Candidiasis, Bacterial Vaginosis, Trichomoniasis and Other Vaginal Conditions Affecting the Vulva. In *Vulvar Disease: Breaking the Myths*, pp. 167–205. Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-61621-6\\_24](https://doi.org/10.1007/978-3-319-61621-6_24)
- Vinogradova, O. I., Lebedeva, O. v., & Kim, B. S. (2006). Mechanical behavior and characterization of microcapsules. *Annual Review of Materials Research*, pp. 143–178. <https://doi.org/10.1146/annurev.matsci.36.011205.123733>
- Willems, H. M. E., Ahmed, S. S., Liu, J., Xu, Z., & Peters, B. M. (2020). Vulvovaginal candidiasis: A current understanding and burning questions. In *Journal of Fungi* (Vol. 6, Issue 1). <https://doi.org/10.3390/jof6010027>
- Zhuang, H., Chen, X., & Feng, T. (2022). Research on Technology of Medicinal Functional Food. In *Processes* (Vol. 10, Issue 8). MDPI. <https://doi.org/10.3390/pr10081509>