

P. PORTO

Escola Superior de Saúde

Instituto Politécnico do Porto

Miguel Ângelo Garrido da Costa

Desenvolvimento de têxteis com propriedades funcionais

Mestrado em Bioquímica em Saúde

Biotecnologia

dezembro, 2018

P. PORTO

Escola Superior de Saúde

Instituto Politécnico do Porto

Miguel Ângelo Garrido da Costa

Desenvolvimento de têxteis com propriedades funcionais

Dissertação submetida à Escola Superior de Saúde para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Bioquímica em Saúde, realizada sob a orientação científica da Engenheira Elsa Parente da RDD TEXTILES – *Research, Design and Development*, e orientação institucional da Professora Adjunta Doutora Mónica Vieira, PhD do Departamento de Ciências Químicas e das Biomoléculas da Escola de Saúde, Politécnico do Porto e da Professora Coordenadora com Agregação Doutora Cristina Prudêncio, PhD, MD do Departamento de Ciências Químicas e das Biomoléculas da Escola de Superior de Saúde, Politécnico do Porto.

dezembro, 2018

“Não se deve ir atrás de objetivos fáceis, é preciso procurar o que só pode ser alcançado por meio de maiores esforços.”

Einstein, Albert

Agradecimentos

Durante o decorrer do Mestrado em Bioquímica em Saúde, e durante a realização da tese e do presente estágio, muitos foram os que me ajudaram direta ou indiretamente.

À Professora Adjunta Mónica Vieira e à Eng^a Elsa Parente, orientadoras e supervisoras deste estágio, quero agradecer por, desde o início, se terem mostrado disponíveis para me orientarem, demonstrando sempre apoio, interesse, orientação, boa disposição, dedicação, ajuda, amizade, compreensão e paciência.

À Professora Sofia Cunha, pela ajuda, dedicação, oportunidade de lecionar, orientação, simpatia, amizade, colaboração e conselhos. À Professora Dulce e Ana Rita por toda ajuda, conselhos e disponibilidade.

À Eng^a Joana Vale, por todos os conselhos, ajuda, simpatia, dedicação, ensinamento e colaboração. À Professora Dolores Gouveia, ao Fancisco Rosas e à Daniela Betzen pelo ensinamento, ajuda e oportunidades proporcionadas no decorrer do presente estágio.

À Professora Coordenadora com Agregação Cristina Prudêncio, pelo seu empenho para com o curso e instituto de ensino, por todo o apoio dado aos alunos para o bom e excelente funcionamento do mesmo, assim como, toda a co-orientação, dedicação e conselhos dados.

Agradece-se também, ao CITEVE e ao CeNTI pela disponibilidade dos seus investigadores que me auxiliaram em tudo e por todo o conhecimento aprendido. Agradeço também o acesso a todos os laboratórios, procedimentos laboratoriais, equipamento e material utilizado. Obrigado, pela orientação e por toda a ajuda.

À minha família, em especial aos meus pais pelo seu esforço, dedicação, ajuda, compreensão, paciência e carinho ao longo destes anos, e à restante família por todo o apoio e por me darem inspiração para concluir todos os meus objetivos.

À Mariana, por todo apoio ao longo destes anos. Obrigado por tudo, pela paciência, pela ajuda e por todo carinho. Pelo facto de ter estado sempre ao meu lado nos bons e nos maus momentos, obrigado pela amizade e companheirismo e por nunca me ter deixado desistir.

A todos os amigos de infância, essencialmente ao Marco, à Marta e à Daniela que me conhecem como ninguém, e a todos que conheci através da universidade e que se tornaram como fossem família, um obrigado pela compreensão e pela amizade incondicional e por me apoiarem em tudo.

Aos amigos que encontrei nesta universidade, Allen, Andreia e Joana, que me acompanharam durante todo este percurso, a quem eu desejo todo o sucesso do mundo, tanto a nível profissional como pessoal. Aos amigos que encontrei na *RDD – Research Design and Development*, Ana, Andreia, Bruno, Carina, Cristiano, Joana Braga e Joana Gomes que me acompanharam ao longo de todo o estágio e por me orientarem e me transmitirem conhecimento.

E a todos aqueles que numa forma ou de outra me acompanharam e deixaram um marco na minha vida, nos bons e nos maus momentos, um enorme obrigado.

Resumo

Introdução: Os têxteis funcionais são uma área de interesse crescente para aplicações cosméticas, farmacêuticas e médicas, sendo importante encontrar soluções tecnologicamente avançadas e ambientalmente sustentáveis. Considerando o potencial químico, biológico e farmacológico de muitas plantas, o desenvolvimento de têxteis funcionais com compostos naturais é altamente promissor. Na produção de têxteis funcionais, o uso de materiais moleculares a uma nanoescala induz avanços na indústria têxtil. Estes têxteis funcionais, em contacto direto com a pele, promovem propriedades antimicrobianas, antioxidantes, anti-inflamatórias, entre outras, obtidas pela integração de extratos naturais e compostos biologicamente ativos em têxteis de origem natural.

Objetivos: Desenvolvimento de substratos têxteis naturais com propriedades funcionais através da impregnação do complexo de inclusão do composto natural com β -ciclodextrinas por técnicas de microencapsulação.

Materiais e métodos: O resveratrol, o própolis e a camomila foram submetidos a técnicas de extração com diferentes condições, e efetuaram-se análises microbiológicas para determinar a atividade antibacteriana de cada extrato. Para a produção de substratos têxteis com propriedades funcionais procedeu-se à microencapsulação, sendo realizada a encapsulação do extrato selecionado com melhores resultados com β -ciclodextrinas. Posteriormente, procedeu-se à impregnação dos complexos de inclusão formados nos substratos têxteis selecionados e efetuou-se a análise da atividade antioxidante e da atividade antibacteriana dos mesmos.

Resultados: O resveratrol foi o composto natural bioativo que apresentou melhores resultados de atividade antibacteriana. No processo de encapsulação, os melhores resultados foram obtidos pelo complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) C=0,027g/L. O substrato têxtil AMAJAW 18008 apresentou o maior *wet pick up* (%), dado apresentar maior percentagem de algodão na sua composição. O substrato têxtil AMAJAW 18008 impregnado com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) C=0,027g/L apresentou melhores resultados de atividade antioxidante; contudo, a adição de um agente ligante, melhorou os resultados. Os substratos têxteis AMAJAW 18008 impregnados com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A e B) com 1% de glioxal apresentaram atividade antibacteriana contra a *S. aureus* e a *E. coli*.

Conclusão: Assim, com os resultados obtidos neste estudo, desenvolveram-se substratos têxteis funcionais com propriedades antioxidantes e antibacterianas para a prevenção e tratamento de patologias dermatológicas.

Palavras-chave: têxteis funcionais, nanotecnologia, microencapsulação, compostos naturais e bioatividade.

Abstract

Introduction: Functional textiles are an area of growing interest for cosmetic, pharmaceutical and medical applications, and it is important to find technologically advanced and environmentally sustainable solutions. Considering the chemical, biological and pharmacological potential of many plants, the development of functional textiles with natural compounds is highly promising. In the production of functional textiles, the use of molecular materials at a nanoscale induces breakthroughs in the textile industry. These functional textiles, in direct contact with the skin, promote antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory properties, among others, obtained by the integration of natural extracts and biologically active compounds in natural textiles.

Aims: Development of natural textile substrates with functional properties through the impregnation of the inclusion complex of the natural compound with β -cyclodextrins by microencapsulation techniques.

Materials and methods: Resveratrol, propolis and chamomile were submitted to extraction techniques with different conditions, and microbiological analysis were performed to determine the antibacterial activity of each extract. To produce textile substrates with functional properties, a microencapsulation was performed, which consist in the encapsulation of the selected extract with better β -cyclodextrins results. Subsequently, the impregnation of the inclusion complexes formed on the selected textile substrates was carried out and the antioxidant and antibacterial activities were analyzed.

Results: Resveratrol was the natural bioactive compound that presented the best results of antibacterial activity. In the encapsulation process, the best results were obtained by the inclusion complex of resveratrol with β -cyclodextrins (B) C=0.027g/L. AMAJAW 18008 textile substrate presented the highest wet pick up (%), as it presents a higher percentage of cotton in its composition. AMAJAW 18008 textile substrate impregnated with the inclusion complex of resveratrol with β -cyclodextrins (B) C=0.027g/L showed better results of antioxidant activity; however, the addition of a binding agent improved the results. AMAJAW 18008 textile substrates impregnated with inclusion complex of resveratrol with β -cyclodextrins (A and B) with 1% glyoxal showed antibacterial activity against *S. aureus* and *E. coli*.

Conclusion: Thus, the results obtained in this study were the development of functional textile substrates with antioxidant and antibacterial properties for prevention and treatment of dermatological disorders.

Key words: functional textiles, nanotechnology, microencapsulation, natural compounds and bioactivity.

Índice Geral

A. Introdução.....	1
1. Fibras e têxteis funcionais	1
2. Propriedades de têxteis funcionais.....	3
3. Nanotecnologia.....	5
3.1. Nanotecnologia e a indústria têxtil.....	6
3.2. Nanomateriais e nanocompósitos.....	7
4. Microencapsulação	8
4.1. Métodos de microencapsulação.....	9
4.2. Ciclodextrinas e a sua aplicação na indústria têxtil.....	12
5. Interação de têxteis funcionais com a pele	14
5.1. Toxicidade dos nanomateriais	16
6. Microrganismos e atividade antimicrobiana	17
6.1. Microrganismos.....	17
6.2. Resistência microbiana.....	18
6.3. Atividade antimicrobiana e plantas medicinais.....	20
7. Plantas medicinais	21
7.1. Produtos naturais de plantas medicinais e compostos naturais bioativos	21
7.2. Resveratrol.....	24
7.3. Própolis.....	28
7.4. Camomila	32
8. Compostos bioativos.....	36
8.1. Metabolitos primários e secundários	36
8.2. Classificação dos compostos bioativos	37
8.2.1. Terpenos.....	38
8.2.2. Alcalóides.....	39
8.2.3. Compostos fenólicos.....	39
B. Objetivos.....	40
C. Materiais e métodos.....	42
A. Materiais	42
1. População e amostra de estudo	42
2. Estirpes utilizadas	42
3. Reagentes químicos	42
4. Equipamentos	43

B. Métodos	43
1. Extração de compostos bioativos de plantas medicinais	43
2. Concentração dos compostos bioativos dos extratos de plantas medicinais no evaporador rotativo	44
3. Análise da atividade antibacteriana dos extratos de plantas medicinais.....	44
3.1. Teste da suscetibilidade aos antibacterianos.....	44
3.2. Análise da atividade antibacteriana do extrato de resveratrol.....	45
3.2.1. Análise da atividade antibacteriana do extrato de resveratrol em meio de cultura líquido.....	45
3.2.2. Análise da atividade antibacteriana do extrato de resveratrol em meio de cultura sólido.....	45
4. Formação dos complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas.....	46
4.1. Complexo de inclusão (A) – Extrato etanólico (99,50% etanol) de resveratrol a 70°C concentrado.....	46
4.2. Complexo de inclusão (B) – Extrato de resveratrol em solução etanólica (99,50% etanol)	46
5. Impregnação têxtil com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas	46
6. Análise da atividade antioxidante dos substratos têxteis funcionalizados com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas.....	47
7. Análise da atividade antibacteriana dos substratos têxteis funcionalizados com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas.....	47
8. Desenvolvimento de protótipos com o substrato têxtil funcionalizado com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas.....	48
C. Análise estatística	48
D. Resultados e discussão.....	50
1. Análise da atividade antibacteriana dos extratos de plantas medicinais	50
1.1. Teste da suscetibilidade antibacteriana	51
1.1.1. Resveratrol.....	51
1.1.1.1. Extrato etanólico (99,50%) do resveratrol.....	51
1.1.1.2. Extrato aquoso do resveratrol.....	52
1.1.1.3. Extrato etanólico (99,50%) do resveratrol concentrado.....	52
1.1.1.4. Extrato aquoso do resveratrol concentrado.....	53
1.1.2. Própolis.....	55
1.1.2.1. Extrato etanólico do própolis.....	55
1.1.2.2. Extrato etanólico do própolis concentrado.....	56
1.1.3. Camomila.....	58

1.1.3.1. Extrato etanólico (99,50%) da camomila.....	58
1.1.3.2. Extrato aquoso da camomila.....	58
1.1.3.3. Extrato etanólico (99,50%) da camomila concentrado.....	59
1.1.3.4. Extrato aquoso da camomila concentrado.....	59
1.2. Análise da atividade antibacteriana do resveratrol.....	62
1.2.1. Análise da atividade antibacteriana do resveratrol em meio de cultura líquido e sólido.....	62
2. Análise dos espectros UV-Vis.....	70
2.1. Análise das β -ciclodextrinas.....	70
2.2. Análise das diferentes soluções de resveratrol.....	70
2.3. Análise dos complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A e B).....	72
3. Impregnação têxtil (Foulardagem).....	75
3.1. Substrato têxtil: AMAJAW 18019.....	75
3.2. Substrato têxtil: AMAJAW 18008.....	77
4. Análise dos espectros FTIR-ATR.....	81
4.1. Análise do resveratrol.....	81
4.2. Análise das β -ciclodextrinas.....	82
4.3. Análise dos substratos têxteis AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas.....	84
5. Análise da atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 (ABTS).....	88
5.1. Análise da atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas.....	89
5.2. Comparação da atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas.....	92
6. Análise da atividade antibacteriana do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 (ISO 20743:2013).....	96
6.1. Análise da atividade antibacteriana do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas.....	96
E. Conclusão.....	99
F. Perspetivas futuras.....	102
G. Anexos.....	103
1. Anexo A.....	103
2. Anexo B.....	105
3. Anexo C.....	107

4. Anexo D	115
5. Anexo E.....	116
6. Anexo F.....	117
7. Anexo G	120
8. Anexo H	121
9. Anexo I.....	122
10. Anexo J.....	123
11. Anexo K.....	126
H. Bibliografia.....	127

Índice de Tabelas

Tabela 1. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C e a 30°C.....	51
Tabela 2. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato aquoso do resveratrol a 100°C e a 80°C.....	52
Tabela 3. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C e a 30°C concentrado.....	53
Tabela 4. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato aquoso do resveratrol a 100°C e a 80°C concentrado.....	54
Tabela 5. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato etanólico a 73,50% etanol e a 36,75% etanol do própolis.....	56
Tabela 6. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato etanólico a 73,50% etanol e a 36,75% etanol do própolis concentrado.....	56
Tabela 7. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato etanólico (99,50%) da camomila a 70°C e a 30°C.....	58
Tabela 8. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato aquoso da camomila a 100°C e a 80°C.....	59
Tabela 9. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato etanólico (99,50%) da camomila a 70°C e a 30°C concentrado.....	59
Tabela 10. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato aquoso da camomila a 100°C e a 80°C concentrado.....	60
Tabela 11. Análise da atividade microbiológica da atividade antibacteriana da <i>S. aureus</i> ATCC 6538 para as diferentes diluições realizadas (10% a 90% de extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado) em meio de cultura líquido e sólido.....	64
Tabela 12. Análise da atividade microbiológica da atividade antibacteriana da <i>S. aureus</i> ATCC 6538 <i>P</i> para as diferentes diluições realizadas (10% a 90% de extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado) em meio de cultura líquido e sólido.....	65

Tabela 13. Análise da atividade microbiológica da atividade antibacteriana da <i>S. aureus</i> ATCC 29213 para as diferentes diluições realizadas (10% a 90% de extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado) em meio de cultura líquido e sólido.....	66
Tabela 14. Análise da atividade microbiológica da atividade antibacteriana da <i>S. aureus</i> ATCC 43300 <i>MRSA</i> para as diferentes diluições realizadas (10% a 90% de extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado) em meio de cultura líquido e sólido.....	67
Tabela 15. Determinação da massa do substrato têxtil AMAJAW 18019 de cada uma das amostras nas diferentes fases da impregnação pela técnica de foulardagem.....	75
Tabela 16. Comparação e análise da massa com consequente determinação do <i>wet pick up</i> (%) do substrato têxtil AMAJAW 18019 de cada uma das amostras entre duas fases da impregnação pela técnica de foulardagem.....	76
Tabela 17. Determinação da massa do substrato têxtil AMAJAW 18008 de cada uma das amostras nas diferentes fases da impregnação pela técnica de foulardagem.....	77
Tabela 18. Comparação e análise da massa com consequente determinação do <i>wet pick up</i> (%) do substrato têxtil AMAJAW 18008 de cada uma das amostras entre duas fases da impregnação pela técnica de foulardagem.....	79
Tabela 19. Atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas pelo método do radical ABTS.....	90
Tabela 20. Análise da atividade antibacteriana do substrato têxtil AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas contra a <i>S. aureus</i> ATCC 6538.....	97
Tabela 21. Análise da atividade antibacteriana do substrato têxtil AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas contra a <i>E. coli</i> ATCC 25922.....	97

Índice de Figuras

Figura 1. Perspectiva da nanoescala em relação aos objetos naturais: (a) inseto, (b) cabelo, (c) pólen, (d) glóbulos vermelhos, (e) rede de cobalto nanocristalino, (f) bacteriófago e (g) molécula de ácido acetilsalicílico.....	6
Figura 2. Representação esquemática de um lipossoma. No canto superior esquerdo está a estrutura da molécula de fosfatidilcolina. Na presença de água, formam-se as bicamadas de fosfolípidos, o que cria vesículas contendo um núcleo aquoso. As substâncias lipossolúveis podem ser armazenadas na camada externa lipídica (anel amarelo), enquanto as substâncias solúveis em água são armazenadas na fase aquosa interna (compartimento azul central)	10
Figura 3. Representação esquemática de nanopartículas poliméricas.....	10
Figura 4. Representação esquemática da estrutura geral dos dendrímeros.....	11
Figura 5. Representação esquemática das estruturas de ciclodextrinas alfa (α), beta (β) e gama (γ). A numeração de átomos de carbono é mostrada para uma única unidade de <i>D</i> -glucopiranosose.....	11
Figura 6. Representação esquemática da estrutura e conformação de ciclodextrinas naturais: alfa (α), beta (β) e gama (γ) ciclodextrinas.....	12
Figura 7. Representação esquemática da estrutura química das três ciclodextrinas naturais: alfa (α), beta (β) e gama (γ) ciclodextrinas.....	13
Figura 8. Representação esquemática da beta (β)-ciclodextrina.....	13
Figura 9. Tecnologia de nanopartículas para a entrega transcutânea do fármaco para a pele intacta ou danificada. (a) A libertação transepitelial de nanopartículas é limitada por penetração fraca através do estrato córneo de proteção. A entrega de nanopartículas trans-endógenas através do folículo capilar oferece um potencial para o tratamento de condições em que a pele está intacta. (b) - (c) A incorporação de nanopartículas portadoras de fármacos em curativos permite a libertação controlada de agentes biologicamente ativos em feridas abertas intradérmicamente, resultando em cicatrização melhorada e redução de cicatrizes.....	15
Figura 10. Estrutura química do <i>trans</i> -resveratrol e do <i>cis</i> -resveratrol.....	24
Figura 11. Estrutura química de alguns compostos presentes na camomila.....	34
Figura 12. Estruturas gerais das diferentes categorias de compostos bioativos das plantas medicinais: (a1 e a2) alcalóides, (b) monoterpenos, (c) sesquiterpenos, (d) triterpenos, saponinas e esteróides, (e) flavonóides, (f) poliacetilenos e (g) policetídeos.....	38

Índice de Gráficos

Gráfico 1. Espectro UV-Vis da solução de resveratrol C=0,027g/L, da solução de resveratrol (B) H ₂ O/EtOH e da solução de resveratrol (A) DMSO.....	71
Gráfico 2. Comparação do espectro UV-Vis da solução do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) C=0,027g/L, da solução do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) C=0,027g/L e da solução de resveratrol C=0,027g/L.....	73
Gráfico 3. Espectro de FTIR-ATR do resveratrol.....	81
Gráfico 4. Espectro de FTIR-ATR das β -ciclodextrinas.....	82
Gráfico 5. Espectro de FTIR-ATR do substrato têxtil AMAJAW 18008 controlo (H ₂ O/EtOH) e dos dois substratos têxteis AMAJAW 18008 selecionados com os melhores resultados, o substrato têxtil AMAJAW 18008 impregnado com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) C=0,027g/L com 1% de glioxal e o substrato têxtil AMAJAW 18008 impregnado com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) C=0,027g/L.....	85
Gráfico 6. Scan da solução de ABTS ^{•+} diluída. Determinação do comprimento de onda ideal para a determinação da atividade antioxidante do resveratrol pelo método do radical ABTS.....	88
Gráfico 7. Atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas com as respetivas equações das retas de calibração e coeficientes de determinação pelo método do radical ABTS.....	89
Gráfico 8. Comparação da atividade antioxidante (%) do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas com as respetivas barras de erro associadas pelo método do radical ABTS.....	93

Tabela de Siglas e Abreviaturas

6538 P	<i>S. aureus</i> ATCC 6538 resistente à <i>Penicillin</i>
a.C.	Antes de Cristo
ABTS	Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CDs	Ciclodextrinas
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
DL50	Dose letal
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EUCAST	<i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FTIR-ATR	<i>Fourier-Transform Infrared with Fourier Attenuated Total Reflection Spectroscopy</i>
MEP	Via do fosfato de metileritritol
MIC	<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>
MRSA	<i>S. aureus</i> ATCC 43300 resistente à <i>Methicillin</i>
NLT	Transportadores de lípidos nanoestruturados
OMS	Organização Mundial de Saúde
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
RSV	Resveratrol
SLN	Nanopartículas lipídicas sólidas
TCA	Ciclo do ácido tricarbóxico
TGI	Trato gastrointestinal
TSA	<i>Tryptic Soy Agar</i>
TSB	<i>Tryptic Soy Broth</i>
UFC	Unidade de formação de colónias
UPF	Fator de proteção contra raios ultravioleta
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Ultravioleta-Visível



RDD TEXTILES – Research, Design and Development is the “*company lab*” of VALÉRIUS GROUP Company, to provide integrated innovative solutions, from new concepts and designs to the final product - jersey fabrics and apparel. RDD’s resources are international and local sourcing, textile and fashion design and development, patterning & prototyping lab, dark room, quality control lab, development lab, fitting room, photo studio, video conference room, meeting rooms and showroom. RDD Textiles is based on research, design and development, promoting co – creation, consciousness, close service and complete solution, this is our DNA.

Social and environmental consciousness are in the soul of RDD which integrates an experienced team of researchers, thinkers and makers that co-work day by day with all the stakeholders. RDD inspires their costumers with a “*premium*” jersey fabric collection at affordable prices. RDD provides a complete solution. Co – Research, creating innovative solutions, Co – Development, fabric development with price opportunities, Co – Design, creating a capsule collection and Co – Creating Value.

Valérius 360 by RDD TEXTILES, is a project that has as mission recycling the partner brands and group clothing waste over production and stocks in order to produce yarns, textiles, garments and paper. Valérius 360 project is innovative and wants to achieve a superior “quality” dimension in textile recycling, starting from the conventional six steps process – garment collecting, sorting, grinding, re-born yarn, knit and apparel. This process intends to develop yarns with thinner counts and high-performance – presenting increased durability and resistance – at competitive prices to satisfy the new conscious customer expectations. The outputs of Valérius 360 are affordable jersey collection and garment capsule collection, reduction of resource consumption, price opportunity, new textile developments, new textile finishes, textiles with new functionalities and paper production with the textiles waste. Valérius 360 intends to co-create a circular fashion system with their stakeholders, encouraging to building a greener future and sustainable environment.

A. Introdução

1. Fibras e têxteis funcionais

Os têxteis, ou mais precisamente, as fibras têxteis, podem ter várias origens, e este é o critério mais utilizado para sua classificação e diferenciação. Estes podem ser divididos em dois grandes grupos. No primeiro grupo, há fibras de origem não natural, produzidas por processos industriais (de materiais sintéticos (por exemplo, poliéster)). No segundo, há fibras que são de origem natural, produzidos pela natureza (por exemplo, algodão). Antes do aparecimento de fibras não naturais (produzidas em laboratório por métodos químicos, físicos e/ou biológicos), apenas as fibras naturais eram utilizadas (Stefaniak *et al.*, 2014).

Dentro das fibras não naturais, estas podem ser divididas em: i) fibras sintéticas e ii) fibras artificiais. As fibras sintéticas (por exemplo, poliéster, poliamida e acrílico) são sintetizadas a partir de polímeros obtidos por síntese química, como petróleo ou carvão, enquanto fibras artificiais (por exemplo, acetato e viscose) são produzidas a partir do tratamento de fibras naturais, onde os polímeros naturais são transformados por agentes químicos. As fibras naturais podem ser divididas em três tipos: i) origem vegetal (por exemplo, algodão e linho), ii) origem animal (por exemplo, lã e seda) ou iii) origem mineral (por exemplo, amianto) (Araújo & Melo e Castro, 1984; Pezzolo, 2007).

O algodão, dentro das fibras naturais, é a fibra mais utilizada no mundo, sendo bastante utilizada para vestuário de primeira camada (contacto directo com a pele). Esta fibra celulósica é amplamente utilizada na confecção de têxteis, devido às suas excelentes características, como a suavidade, alta hidrofiliçidade, conforto, boa capacidade de descarga estática, fácil tingimento, adicionado ao facto de ser renovável e biodegradável (Abdel-Halim, Al -Deyab, & Alfaifi, 2014; Rukmani & Sundrarajan, 2012). Por outro lado, as fibras naturais apresentam algumas desvantagens. Estas são um meio favorável para o crescimento de microrganismos, podendo multiplicar-se rapidamente em condições básicas de humidade, nutrientes e temperatura, sendo também suscetíveis ao amassar e com alta inflamabilidade (Fouda, Abdel-Halim, & Al-Deyab, 2013; Gao & Cranston, 2008; Hebeish, El-Shafei, Sharaf, & Zaghoul, 2014a).

Uma nova geração de têxteis com características funcionais foi desenvolvida em resposta às necessidades e estilo de vida do consumidor. Os países mais desenvolvidos são os que mais contribuem para a evolução dos mesmos, e o movimento para o desenvolvimento de têxteis com novas propriedades, como na saúde e no meio ambiente, é perceptível (Nelson, 2002; Van Langenhove, 2007).

A definição de fibras ou têxteis funcionais não é consensual. De acordo com alguns autores, podem ser definidos como um processo que fornece propriedades funcionais aos materiais têxteis e de vestuário mediante a adição de produtos químicos, físicos e/ou biológicos. Contudo, outros autores definem como fibras que apresentam uma característica nova ou não convencional. Ou seja, os têxteis funcionais são têxteis que, para além das suas características normais, apresentam propriedades melhoradas

(Almeida, 2005; Gacén & Gacén, 2003). Quanto às propriedades funcionais dos têxteis, estas podem ser obtidas em vários pontos ao longo do seu processamento e produção. Podem ser obtidas na própria fibra, nos fios, tecidos ou outros materiais que são usados, ou podem ser obtidas na fase final do acabamento têxtil. Na produção de fibras e têxteis funcionais, o uso de materiais moleculares em escala nanométrica levou a um avanço na indústria têxtil. Em muitos casos, as propriedades funcionais envolvem a modificação de superfície, por exemplo através de mudanças químicas (EURATEX, 2006; Johnson & Cohen, 2010).

Os nanocompósitos de polímero, e conseqüentemente as nanopartículas e os compostos biologicamente ativos, podem ser implementados nos têxteis em duas etapas distintas através de dois processos distintos. Um destes processos ocorre quando os nanocompósitos são fundidos e aplicados sobre fios que são posteriormente utilizados na produção de têxteis, malhas ou tecidos. O outro processo é quando a superfície têxtil é revestida com uma formulação de nanocompósitos à base de polímero. Este último, é o processo mais prático e fácil de aplicar e pode ser incluído nos procedimentos convencionais de acabamento têxtil, sendo o mais utilizado (Madhu & Pal, 2012; Martins, Chiapetta, Carvalho, & Cassella, 2015; Ventura, Carneiro, & Souto, 2011).

Dentro destes dois processos distintos, vários métodos, como foulardagem, esgotamento, revestimento, imersão e impressão, são geralmente usados para aplicar microcápsulas nas fibras e têxteis funcionais. No entanto, alguns dos procedimentos destas técnicas necessitam de temperaturas elevadas. Assim, as técnicas mais utilizadas para a produção de fibras e têxteis funcionais e posterior aplicação em materiais têxteis são a impregnação por foulardagem, transferência de impressão e a técnica de pulverização (Ghayempour & Montazer, 2017; Haroun, Diab, & Hakeim, 2016; Martins, Chiapetta, Carvalho, & Cassella, 2015).

Os acabamentos químicos são aplicados através duma solução aquosa, dispersão ou emulsão de produtos químicos com auxiliares e agentes de ligação, seguidos por operações de secagem. A técnica de foulardagem, compreende um processo onde o banho é forçado a penetrar o interior do material têxtil a partir da força exercida por dois cilindros. Este processo melhora a transferência de massa, o que torna o processo de adsorção mais eficiente. No entanto, a desvantagem do reduzido tempo de contacto, entre a solução do complexo de inclusão e o tecido, pode prejudicar a adsorção da solução. No processo de foulardagem também se utilizam polímeros fixadores para melhorar a adsorção da solução à superfície têxtil. A temperatura do banho de impregnação e da secagem na estufa, podem também influenciar a eficiência da adsorção, assim como a pressão exercida pelos cilindros durante a impregnação (Madhu & Pal, 2012; Martins, Chiapetta, Carvalho, & Cassella, 2015; Wright, 1981).

Os têxteis funcionais, atualmente desenvolvidos, apresentam um conjunto de diversas funcionalidades. De acordo com as suas propriedades, estes podem ser divididos em vários grupos. Dentro dos vários grupos, existem têxteis funcionais que são utilizados para proteção, saúde, conforto, cosmética, entre muitos outros. A sua classificação é baseada nas suas propriedades químicas, físicas e/ou biológicas (Gacén & Gacén, 2003). De acordo com as propriedades das fibras funcionais, estas podem ser categorizadas e classificadas, do ponto de vista funcional, em três grupos distintos de acordo com o grau

de necessidade funcional. Podem pertencer ao grupo de fibras em que a função é absolutamente necessária, ao grupo onde o fato de não ter função funcional não é vantajoso e ao grupo em que a função é desejável (Almeida, 2005; Gacén & Gacén, 2003).

A transformação das fibras "tradicionais" em fibras funcionais baseou-se em métodos nanotecnológicos, resultando na incorporação de compostos biologicamente ativos no seu interior. Esta evolução no setor industrial permitiu melhorar a qualidade e o desempenho de um determinado têxtil, proporcionando uma maior estabilidade, durabilidade e maior conforto (Johnson & Cohen, 2010). Assim, o uso da nanotecnologia, e mais especificamente de têxteis funcionais com propriedades químicas e biológicas, tornou-se mais frequente na ciência biomédica e biotecnológica, tanto no desenvolvimento de diagnósticos como na terapêutica clínica.

2. Propriedades de têxteis funcionais

A modificação da superfície têxtil é uma alternativa que permite a incorporação de novas propriedades no material, sem alterar o conforto e a resistência mecânica, dando ao consumidor a possibilidade de aproveitar estas novas vantagens e funcionalidades (Fouda, Abdel-Halim, & Al-Deyab, 2013).

Estes têxteis podem apresentar funcionalidades diversas, como termorregulação, controlo da humidade, antimicrobiana, antioxidante, cicatrização, anti-odor, anti-ultravioleta (anti-UV), hidratante, repelente de certas substâncias, como água, óleo e insetos, entre outras aplicações. No caso de materiais funcionais que atuam contra patogénicos, os mais desenvolvidos são os antibacterianos (Fouda, Abdel-Halim, & Al-Deyab, 2013; Hu *et al.*, 2010; Johnson & Cohen, 2010; Lim & Hudson, 2004). O principal objetivo da produção e posterior utilização de têxteis funcionais tem sido a investigação de propriedades relacionadas ao conforto e segurança dos usuários, promovendo o seu bem-estar e melhorando a sua qualidade de vida (Monllor, Bonet, & Cases, 2007). O desenvolvimento de têxteis funcionais com compostos naturais bioativos é altamente promissora, uma vez que existe um alto potencial químico, biológico e farmacológico de muitos compostos biologicamente ativos. Dada esta diversidade, apenas alguns exemplos de têxteis funcionais serão abordados.

Em primeiro lugar, os têxteis que são repelentes a uma série de substâncias (por exemplo, água e óleo), apresentam a função de permanecerem limpos e resistentes a qualquer líquido que derrame sobre eles. Este comportamento é comparado ao das folhas de Lotus, que se mantêm limpas e secas, pois são repelentes à água devido às micro rugosidades que promovem a formação de uma textura áspera e rugosa e uma cera hidrofóbica. Este comportamento natural super-hidrofóbico é um exemplo do que podemos aplicar à superfície dos têxteis funcionais, um fenómeno que tem sido estudado há algum tempo. Está provado que o aumento da rugosidade de uma superfície leva a uma consequente melhoria na hidrofobicidade das superfícies (Cassie & Baxter, 1944;

Wenzel, 1936). Além deste tipo de material usado para determinar a molhabilidade de uma determinada superfície, estudos mais recentes apontam para outras teorias, mas também para outros tipos de materiais, como a adição de nanopartículas a polímeros funcionais que promovem a hidrofobicidade de uma dada superfície. Existem outras técnicas que ajudam a produzir o efeito hidrofóbico em certas superfícies, por exemplo, a deposição de poli(butilarilato) modificado através de nanotubos de carbono, ou pela deposição de nanopartículas de ouro com subsequente química de absorção sobre si mesmo, em folhetos auto-organizados e *n*-dodecanotiol em algodão. Em estudos subsequentes, na preparação de superfícies em têxteis e fibras de origem natural com propriedades super-hidrofóbicas, como o algodão, foram utilizados grupos amino para tornar a superfície hidrofóbica através da reação com mono-epoxid-polidimetilsiloxano (Hoefnagels, Wu, With, & Ming, 2007; Lau *et al.*, 2003; Wu, Sugimura, Inoue, & Takai, 2002).

Outro exemplo, são os têxteis funcionais com propriedades antimicrobianas e anti-odor (por exemplo, atividade antibacteriana, anti-fúngica e antiviral), que são cada vez mais importantes devido ao seu contributo na melhoria da saúde, conforto e higiene dos seus usuários. Os têxteis antimicrobianos têm a função de proteger o corpo humano contra certas infecções e odores desagradáveis que podem ser provocados pelos microrganismos durante a metabolização de alguns produtos (Gacén Guillén, 2001). Dentro das propriedades antimicrobianas, uma ampla aplicação foi verificada. No que se refere aos têxteis com propriedades antibacterianas, a técnica mais comumente aplicada é o uso de nanopartículas de prata (Ag), TiO₂ ou ZnO. As nanopartículas de Ag mostram uma atividade antimicrobiana muito eficaz contra uma grande variedade de microrganismos em comparação com outras nanopartículas metálicas (Dogru *et al.*, 2017). O uso de Ag no tratamento antimicrobiano de têxteis, baseia-se na premissa de que a potência biocida é uma função da libertação de iões (Nowack, Krug, & Height, 2011). O mecanismo bactericida não é totalmente compreendido, mas pode ser o resultado da interação de iões de Ag com enzimas, ou pela geração de radicais livres que danificam as membranas celulares das bactérias e inibem o seu crescimento, o que é altamente eficiente com bactérias, sem apresentar toxicidade (Dziworska & Wilk, 2005; Fluhr *et al.*, 2005). O triclosan (2,4,4-hidroxifenil triclora (II) éter) é um dos compostos que também pode ser utilizado para este fim, apresentando propriedades anti-sépticas e desinfetantes, ajudando na luta contra bactérias. Este composto é geralmente usado em loções dermocosméticas, no entanto, as suas propriedades podem ser incorporadas nos têxteis funcionais, nomeadamente nas fibras de acetato, acrílico e polipropileno, uma vez que não é tóxico para a pele. Este composto é então bacteriostático a baixas concentrações, mas bactericida a altas concentrações, exibindo um bom comportamento contra uma ampla gama de bactérias (Gupta *et al.*, 2017; Russell, 2004). Em geral, os agentes antimicrobianos atuam contra os microrganismos, através da coagulação protéica, destruição da membrana celular, remoção de grupos necessários para o funcionamento enzimático, ou competição pelo mesmo substrato (Hebeish, El-Shafei, Sharaf, & Zaghloul, 2014a).

A proteção contra a radiação ultravioleta (UV) é também um assunto com grande foco e proeminência, onde vários grupos de pesquisa estão comprometidos com o desenvolvimento de técnicas para que os têxteis possam ajudar neste problema. Muitas pesquisas foram conduzidas para determinar a influência dos raios UV em diferentes organismos vivos, particularmente seres humanos, pois existe uma forte correlação entre

o cancro da pele e a dose de UV (Gawish *et al.*, 2016). Como bloqueadores de radiação UV, existem vários exemplos de nanopartículas inorgânicas, uma vez que não são tóxicas e são quimicamente estáveis a altas temperaturas. Como exemplo destas nanopartículas há TiO_2 , SiO_2 , ZnO e Al_2O_3 . Entre os vários estudos que já foram realizados, está a produção de um nanocompósito de óxido de zinco/polimetilmetacrilato e um nanocompósito de butacrilato de poliestireno latex-ZnO. Estes compósitos, devido às suas características, possuem excelentes propriedades de proteção anti-UV e podem ser aplicados em têxteis funcionais (Tang *et al.*, 2006; Xiong, Gu, You, & Wu, 2003). Extratos de casca de cebola vermelha, camomila e mistura de casca de cebola vermelha e camomila, revelaram um excelente fator de proteção contra raios UV (UPF), com nível 50+ para diversos tipos de tecidos, pelo que podem ser aplicados em têxteis funcionais (Gawish *et al.*, 2016).

As propriedades das fibras e dos têxteis funcionais dependem claramente do tipo e quantidade dos compostos biologicamente ativos que são adicionados à matriz das fibras e dos têxteis (Mikolajczyk, Boguń, & Rabiej, 2007). Posto isto, num contexto em que os têxteis funcionais para aplicações cosméticas, farmacêuticas e médicas são uma área de interesse crescente, é importante encontrar soluções tecnologicamente avançadas e ambientalmente sustentáveis. Considerando o potencial químico, biológico e farmacológico de muitos compostos biologicamente ativos, a pesquisa e desenvolvimento de têxteis funcionalizados com compostos naturais é altamente promissora, promovendo deste modo a sustentabilidade.

3. Nanotecnologia

Nos dias de hoje, as nanociências e as nanotecnologias estão mais desenvolvidas, abrangendo disciplinas que estudam e usam as propriedades da matéria em escalas muito pequenas - nanométricas. A nanotecnologia consiste na caracterização e manipulação de materiais à escala atómica e molecular, sendo responsável pela caracterização, produção e aplicação de estruturas e sistemas de controlo da forma e do tamanho das partículas (Raj, Jose, Sumod, & Sabitha, 2012).

A nanotecnologia trata-se da construção átomo por átomo, molécula por molécula com o objetivo de criar estruturas mais complexas. Este é um termo relativamente recente responsável pelo controlo da matéria em escalas nanométricas (Staggers, McCasky, Brazelton, & Kennedy, 2008). As nanopartículas, são então substâncias pequenas que se comportam e reagem como uma unidade total, sendo um dos diversos setores das tecnologias que são aplicados em sistemas de nanoescala com dimensões entre 1-100nm (Fleischer & Grunwald, 2008). Observa-se na figura 1 a relação entre objetos de origem natural à nanoescala.

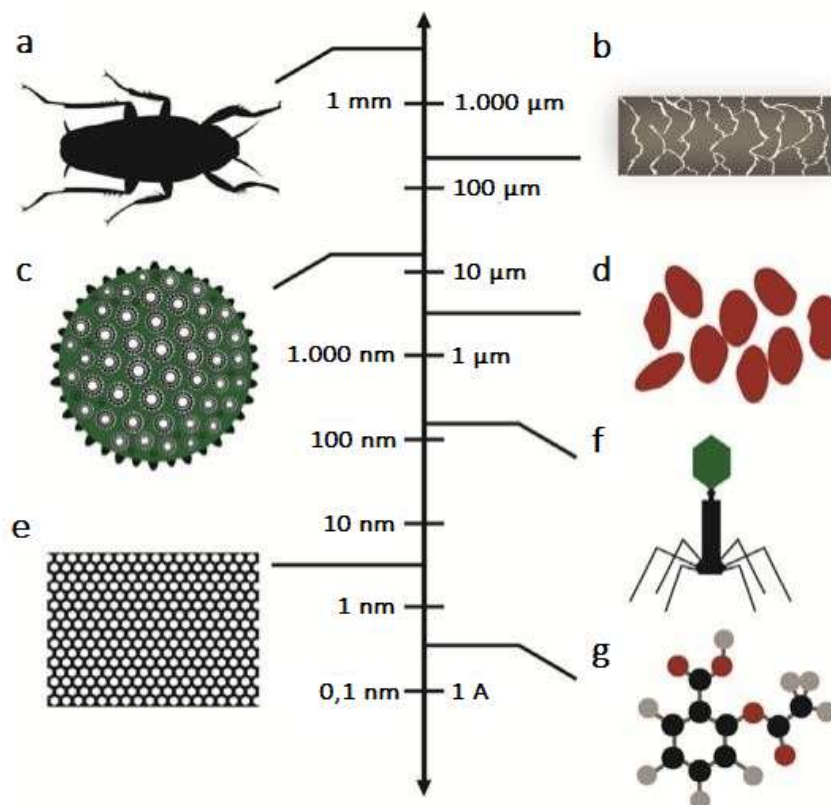


Figura 1. Perspectiva da nanoescala em relação aos objetos naturais: (a) inseto, (b) cabelo, (c) pólen, (d) glóbulos vermelhos, (e) rede de cobalto nanocristalino, (f) bacteriófago e (g) molécula de ácido acetilsalicílico (Adaptado de Mihrianyan, Ferraz, & Strømme, 2012).

Atualmente, a nanotecnologia é considerada uma ciência com um amplo espectro multidisciplinar que está em desenvolvimento crescente. Nesta ciência estão presentes diversas áreas, como química, física, engenharia, medicina, informática entre muitas outras (Baril, Franco, Viana, & Zanin, 2012). Por sua vez, esta pode ser aplicada nas indústrias farmacêutica, médica, mecânica e automóvel, óptica e eletrônica ou têxtil, devido às suas múltiplas funções e propriedades. A nanotecnologia desempenha um papel muito importante na funcionalização da tecnologia, uma vez que o seu principal objetivo é obter um produto geralmente macro com propriedades inovadoras, gerando um maior valor para o usuário (Fleischer & Grunwald, 2008; Fouda, Abdel-Halim, & Al-Deyab, 2013).

3.1. Nanotecnologia e a indústria têxtil

As partículas à nanoescala são usadas para desenvolver produtos em vários ramos, e uma das áreas que manipula a nanotecnologia para obter os seus benefícios é a indústria têxtil. O uso da nanotecnologia pela indústria têxtil ainda é pequeno em relação à pesquisa que é realizada, devido aos elevados custos que o desenvolvimento desta ciência implica. Na área têxtil, é fundamental que o desenvolvimento de ferramentas econômicas seja

desenvolvido para obter materiais que tenham um grande impacto e benefício no futuro próximo (Parthasarathi, 2008; Vilela Neto & Pacheco, 2012).

A nanotecnologia oferece ao setor têxtil novas características tecnológicas e científicas para as fibras e têxteis, mas também para o desenvolvimento de têxteis funcionais. A aplicação desta ciência nos têxteis é demonstrada através do desenvolvimento de têxteis multifuncionais (Johson *et al.*, 2010; Parthasarathi, 2008). Os desenvolvimentos na nanotecnologia têm o potencial de inspirar avanços no design de superfície com um alto nível de precisão. As aplicações nanotecnológicas nos têxteis ainda são recentes, mas muito promissoras (Laschuk, Nascimento, & Oliveira, 2008). Novos processos nanotecnológicos foram recentemente introduzidos no setor têxtil e foram indicados como ideias para incorporar novas funcionalidades de baixo custo em materiais, promovendo o aumento de dia para dia do uso de extratos de plantas medicinais na inovação têxtil (Fouda, Abdel-Halim, & Al-Deyab, 2013; Ibrahim *et al.*, 2012).

3.2. Nanomateriais e nanocompósitos

Os nanomateriais são materiais numa escala nanométrica, na ordem de 10^{-9} m, assim como toda a tecnologia "nano". Estes materiais são responsáveis pelo conjunto de habilidades a nível científico, que desenvolve sistemas/técnicas para a formação e preparação de nanopartículas de certos materiais, que surgiram no século passado (Ming, Wu, Van Benthem, & With, 2005; Ventura, Carneiro, & Souto, 2011). A maioria dos nanomateriais são de origem sintética, no entanto, há uma pequena percentagem de origem natural. As nanopartículas podem ser divididas em substâncias orgânicas e inorgânicas ou classificadas de acordo com a sua forma, tamanho, superfície e propriedades físico-químicas (Antonio *et al.*, 2014). Exemplos para aplicações de nanomateriais são as indústrias farmacêutica, mecânica, química, têxtil entre outras (Ventura, Carneiro, & Souto, 2011).

Um composto consiste em pelo menos dois materiais quimicamente distintos. Por sua vez, os nanocompósitos são compostos por pelo menos dois materiais, em que pelo menos um deles tem dimensões nanométricas (Grunlan, Mehrabi, Bannon, & Bahr, 2004). Estes, resultam da mistura à nanoescala de diferentes materiais, onde a matriz é geralmente polimérica, cerâmica ou mecânica (Ventura, Carneiro, & Souto, 2011). Os nanocompósitos têm uma relação de superfície de contacto muito elevada, resultando em melhorias importantes para os componentes bioativos que irão integrar. Alguns dos nanocompósitos são cerca de 1000 vezes mais resistentes do que os originalmente encontrados (Satyanarayana *et al.*, 2000).

4. Microencapsulação

A microencapsulação é um método economicamente viável de produção de têxteis funcionais, dentro das muitas técnicas já disponíveis (Nelson, 2002). Através desta tecnologia, substâncias sólidas, líquidas e/ou gasosas são encapsuladas e posteriormente libertadas de forma gradual para a pele, podendo o composto utilizado ser de origem natural ou sintética (Huertas, 2010).

A técnica de microencapsulação é o melhor método para proteger os extratos de plantas medicinais contra a volatilidade e instabilidade na presença de ar, luz, humidade e altas temperaturas. No entanto, a aplicação dos extratos destas plantas encapsuladas nos têxteis requer um processamento a baixa temperatura e alta velocidade, para evitar a quebra ou a destruição das microcápsulas (Ghayempour & Montazer, 2017).

A microencapsulação tem como características aumentar a estabilidade e controlar a libertação dos compostos naturais, diminuindo a taxa de libertação dos mesmos, aumentando a vida útil destes compostos. Além disto, a microencapsulação também protege os compostos bioativos, presentes e aprisionados no núcleo das microcápsulas, do ambiente externo. Esta técnica permite isolar os compostos bioativos através de uma membrana biopolimérica esférica natural. Em geral, as microcápsulas utilizadas nesta técnica, possuem uma membrana de 1 μm de espessura, 5-20 μm de diâmetro e uma concentração de composto biologicamente ativo de 20-45% (Ghayempour & Montazer, 2017; Hu *et al.*, 2011; Monllor, Bonet, & Cases, 2007). Embora de tamanho muito pequeno, as microcápsulas proporcionam uma área de aplicação relativamente grande, o que permite uma libertação uniforme, controlada e adequada dos compostos biologicamente ativos. O composto utilizado na microencapsulação pode sair da microcápsula pela ruptura da membrana, difusão através da membrana, dissolução lenta do polímero de membrana, fricção ou biodegradação, dependendo do agente de microencapsulação utilizado (Colomera *et al.*, 2002). Vários estudos foram realizados com o objetivo de melhorar a microencapsulação de compostos bioativos nos têxteis, permitindo criar têxteis funcionais com propriedades úteis e benéficas para os usuários.

A inserção desta tecnologia na indústria têxtil ocorreu na década de 1990, no entanto, esta técnica já foi amplamente utilizada noutras indústrias, como a farmacêutica e a alimentar (Monllor, Bonet, & Cases, 2007; Nelson, 2002). Estudos sobre a incorporação de fragrâncias através da técnica de microencapsulação assistida por emulsão mostram que este é um processo em que as microcápsulas podem ser facilmente manipuladas e fixadas na superfície do têxtil, permitindo uma libertação controlada e gradual do substrato (Camerlo, Vebert-Nardin, Rossi, & Popa, 2013).

Quando comparadas as nanocápsulas de tamanho inferior a 100nm com as microcápsulas, os primeiros apresentaram um potencial de libertação mais controlado do que as microcápsulas comumente aplicadas em têxteis com um tamanho de até 100 μm (Hu *et al.*, 2011). A estrutura diferenciada destes materiais pode facilitar a penetração no substrato têxtil e melhorar a interação com a fibra (Hu *et al.*, 2011), permitindo inferir que, quanto menor a microcápsula mais lenta e controlada será a libertação do composto encapsulado (Hu *et al.*, 2011; Monllor, Bonet, & Cases, 2007; Nelson, 2002). No entanto, um dos aspectos importantes na microencapsulação, e portanto, no processo de

encapsulamento em geral, é a seleção do material de parede (Ghayempour, Montazer, & Mahmoudi Rad, 2016; Montazer & Kahali, 2015).

Vários tipos de nanopartículas e sistemas coloidais podem melhorar a cinética, a biodistribuição e a liberação de certos compostos bioativos (Rossi-Bergmann, 2008). Estes nanotransportadores podem ser divididos em dois grupos. No primeiro grupo estão os nanotransportadores do tipo matriz, em que o núcleo apresenta uma matriz contínua que leva à liberação de compostos biologicamente ativos através da difusão ou erosão. Nestes, há nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) e transportadores de lípidos nanoestruturados (NLT), nanoesferas de substâncias metálicas, não metálicas, carbono, sílica sintética, polímeros naturais ou até mesmo polímeros sintéticos, bem como nanocristais ou cristais líquidos. No segundo grupo de nanotransportadores, estão os do tipo reservatório, onde o núcleo é oco e os compostos biologicamente ativos estão suspensos. Para estes, existem lipossomas, transferossomas, etossomas, ultrassomas, fotossomas, niossomas e nanotopos, ciclodextrinas e derivados de micro e nanopartículas (Chaudhari, 2012; Mihranyan, Ferraz, & Strømme, 2012).

4.1. Métodos de microencapsulação

Vários materiais podem ser utilizados como agentes de microencapsulação. Dentro das várias técnicas de microencapsulação, há os lipossomas. Os lipossomas são vesículas esféricas artificiais de tamanho variável (25-5000nm de diâmetro) e podem ser produzidos a partir de fosfolípidos naturais e colesterol, sendo bastante utilizados em cosméticos. Os lipossomas são transportadores formados por uma bicamada fosfolipídica, à volta do seu núcleo aquoso, como se encontra representado na figura 2. Esta bicamada de fosfolípidos permite que os lipossomas tenham a capacidade de se fundir nas membranas celulares promovendo a liberação do conteúdo presente no seu núcleo aquoso, possibilitando a administração tópica (Mihranyan, Ferraz, & Strømme, 2012; Sharma & Sharma, 2012).

Estes transportadores, compostos por uma bicamada de fosfolípidos, apresentam as suas cabeças hidrófilicas expostas para o interior e exterior da vesícula, enquanto as cadeias hidrofóbicas estão localizadas dentro da bicamada formada. Assim, os lipossomas carregam agentes ativos hidrofílicos no núcleo da vesícula, enquanto que os agentes ativos hidrofóbicos são incorporados na própria bicamada lipídica (Rossi-Bergmann, 2008). Atualmente, existem outros transportadores cuja estrutura é semelhante aos lipossomas, tais como ultrassomas, fotossomas, aquassomas e transferossomas, que visam aumentar a penetração dos compostos biologicamente ativos (Raj, Jose, Sumod, & Sabitha, 2012).

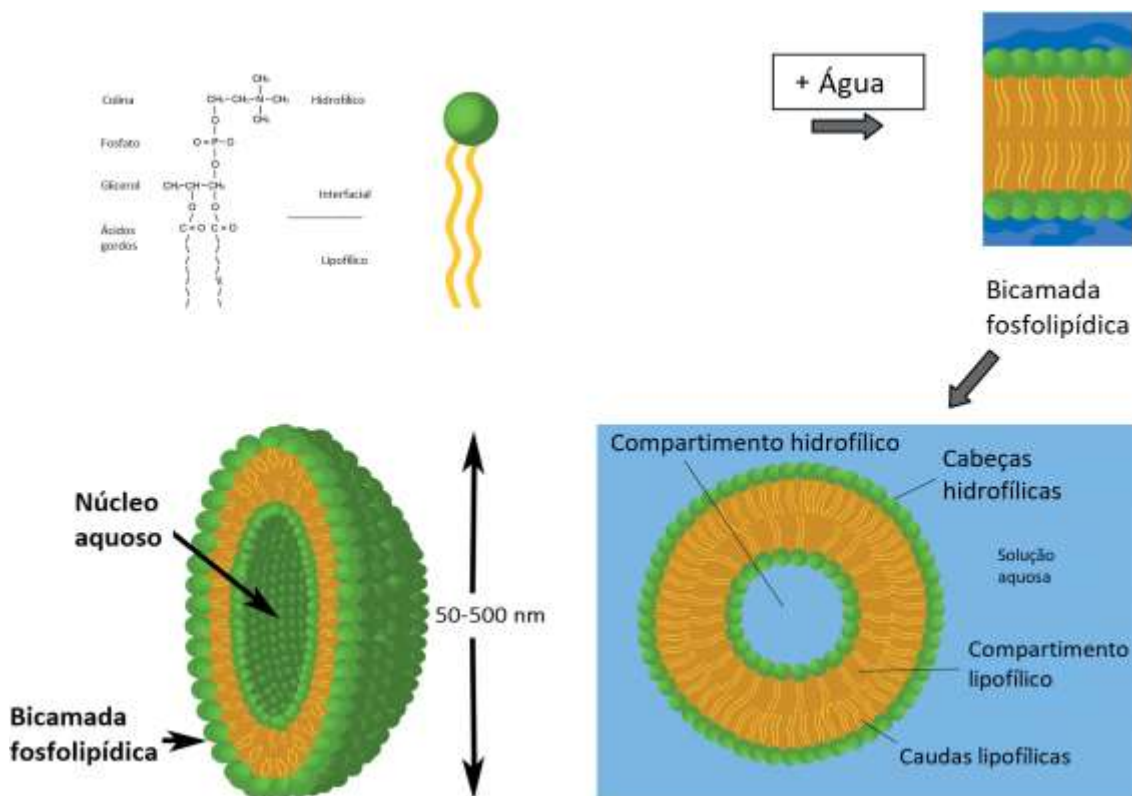


Figura 2. Representação esquemática de um lipossoma. No canto superior esquerdo está a estrutura da molécula de fosfatidilcolina. Na presença de água, formam-se as bicamadas de fosfolípidos, o que cria vesículas contendo um núcleo aquoso. As substâncias lipossolúveis podem ser armazenadas na camada externa lipídica (anel amarelo), enquanto as substâncias solúveis em água são armazenadas na fase aquosa interna (compartimento azul central) (Adaptado de De Leeuw, De Vijlder, Bjerring, & Neumann, 2009).

As nanopartículas poliméricas (Figura 3), ao contrário dos lipossomas, não possuem um núcleo aquoso, mas sim uma membrana ou matriz sólida composta por um polímero. Neste tipo de nanopartículas, os compostos biologicamente ativos são encapsulados ou adsorvidos nas partículas, e as nanocápsulas podem ser obtidas e são posteriormente libertadas da partícula por erosão ou difusão de forma gradual. As nanopartículas poliméricas apresentam a vantagem do baixo custo em relação aos fosfolípidos, além de apresentarem maior estabilidade e durabilidade e também permitem uma maior taxa de absorção. Estes apresentam baixa toxicidade e são amplamente utilizados no transporte de vitaminas e antioxidantes (Mihrianyan, Ferraz, & Strømme, 2012; Rossi-Bergmann, 2008).

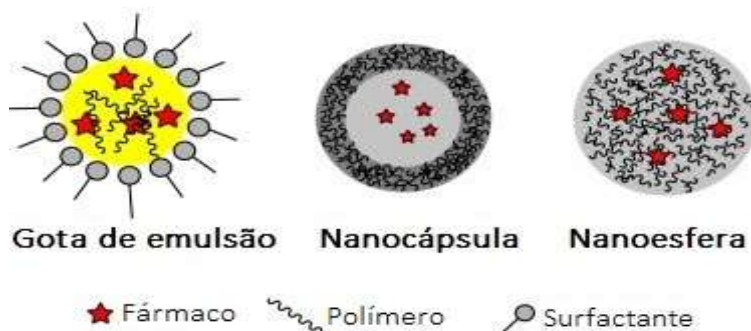


Figura 3. Representação esquemática de nanopartículas poliméricas (Adaptado de Crucho & Barros, 2017).

Outro método de microencapsulação são os dendrímeros, como pode ser observado na figura 4. Estes são polímeros globulares altamente ramificados, com 1-10nm. Apresentam algumas diferenças quando comparados aos demais polímeros sintéticos, entre elas o facto de apresentarem um alto grau de uniformidade molecular e uma alta previsão de peso molecular, tamanho e vários grupos funcionais. Hoje, são considerados como um sistema de nova geração com alto potencial de aplicação na saúde (D'Emanuele & Attwood, 2005; Rossi-Bergmann, 2008).

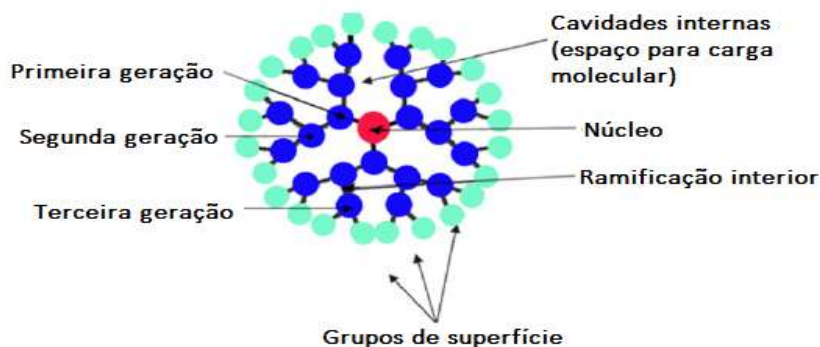
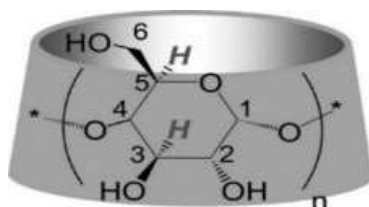


Figura 4. Representação esquemática da estrutura geral dos dendrímeros (Adaptado de Jain, Kesharwani, Gupta, & Jain, 2010).

Uma técnica também utilizada no encapsulamento de diferentes compostos bioativos é a microemulsão. A microemulsão consiste numa mistura de materiais aquosos e de óleo na presença de um surfactante. O surfactante reduz a tensão superficial e cria a microemulsão com baixo consumo de energia. Vantagens como, taxa de polimerização rápida, menor tamanho de partícula, distribuição de tamanhos limitados e estabilidade termodinâmica, são muito importantes quando comparados com as características do método da emulsão convencional (Dong *et al.*, 2016; Khemakhem *et al.*, 2016).

As ciclodextrinas (CDs) (Figura 5), são uma família de oligossacarídeos macrocíclicos tridimensionais em forma de cone, com cerca de 1nm de altura. A maioria é caracterizada pelo elevado número de hidroxilos (OH). O interior das ciclodextrinas é hidrofóbico enquanto que a sua superfície é hidrofílica, sendo usadas para solubilizar compostos lipossolúveis biologicamente ativos (Abdel-Halim, Al-Deyab, & Alfaifi, 2014; Davis & Brewster, 2004).



n=6: α -Ciclodextrina

n=7: β -Ciclodextrina

n=8: γ -Ciclodextrina

Figura 5. Representação esquemática das estruturas de ciclodextrinas alfa (α), beta (β) e gama (γ). A numeração de átomos de carbono é mostrada para uma única unidade de *D*-glucopiranosose (Adaptado de Mavridis & Yannakopoulou, 2015).

4.2. Ciclodextrinas e a sua aplicação na indústria têxtil

Em 1891, Villiers foi o primeiro a mencionar as ciclodextrinas, que posteriormente foram caracterizadas como oligossacarídeos cíclicos por Schardinger em 1904 (Nazi, Malek, & Moghadam, 2012). As ciclodextrinas são caracterizadas por apresentarem uma estrutura tridimensional semelhante a um cone (Davis & Brewster, 2004), como se pode observar na figura 6. Estas fazem parte da família de oligossacarídeos macrocíclicos, que se originaram durante o processo de degradação enzimática de amido e são constituídas por unidades de *D*-glucopiranosose, unidas por ligações glicosídicas (α -1,4) (Ciobanu *et al.*, 2013; Medronho *et al.*, 2013; Morin-Crini & Crini, 2013).

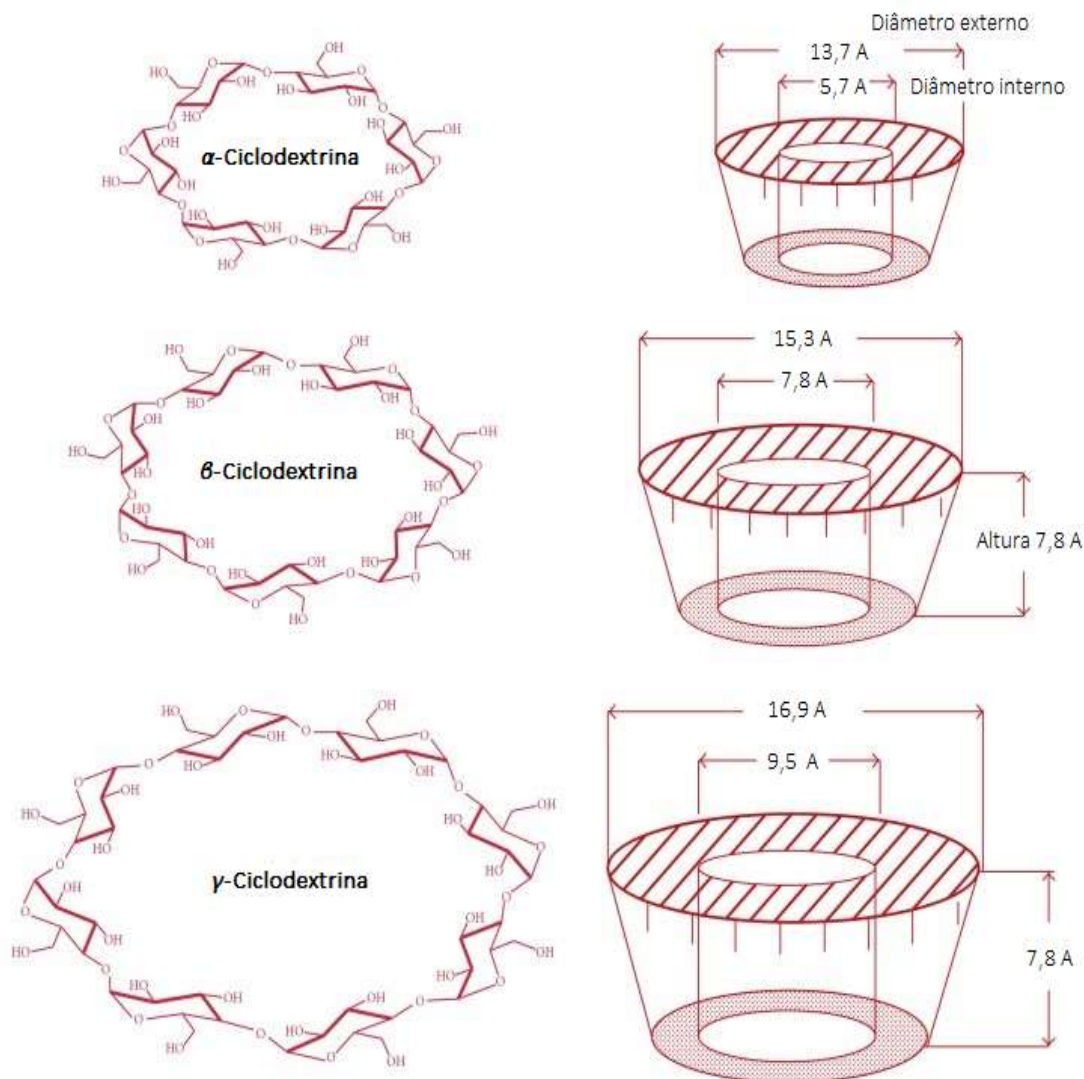


Figura 6. Representação esquemática da estrutura e conformação de ciclodextrinas naturais: alfa (α), beta (β) e gama (γ) ciclodextrinas (Adaptado de Gidwani & Vyas, 2015).

A família das ciclodextrinas naturais engloba as ciclodextrinas alfa (α), beta (β) e gama (γ) de 6, 7 e 8 unidades de glicopiranosose, respetivamente (Mohamed *et al.*, 2012; Morin-Crini & Crini, 2013), como se pode observar na figura 7. Cada unidade de glicopiranosose possui 3 grupos OH livres na parte inferior e superior da estrutura do anel, esta distribuição dos grupos OH faz com que as ciclodextrinas tenham uma superfície hidrofílica e uma cavidade interna hidrofóbica. Devido à presença dos átomos de oxigénio

provenientes das moléculas glicosídicas, o ambiente da cavidade interna é rico em elétrons (Abdel-Halim, Al-Deyab, & Alfaiqi, 2014; Nazi, Malek, & Kotek, 2012).

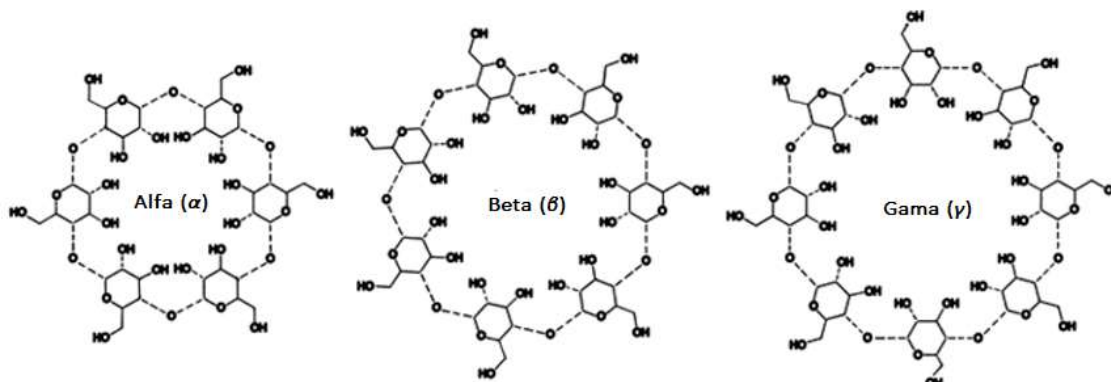


Figura 7. Representação esquemática da estrutura química das três ciclodextrinas naturais: alfa (α), beta (β) e gama (γ) ciclodextrinas (Adaptado de Booij, 2009).

As ciclodextrinas conferem várias propriedades, tais como aumentar a estabilidade e durabilidade do composto biologicamente ativo, protegendo-o da degradação térmica e foto-oxidativa, mascarar ou reduzir os efeitos fisiológicos, reduzir a volatilidade e permitir a libertação controlada do composto biologicamente ativo. Estas também têm a vantagem de não produzir toxicidade e poderem ser aplicadas sem causar problemas para a saúde (Ciobanu *et al.*, 2013; Hill, Gomes, & Taylor, 2013; Morin-Crini & Crini, 2013).

A β -ciclodextrina (Figura 8) é a mais versátil de todas, e é a que tem maior afinidade para a maioria dos compostos bioativos. Esta é a mais utilizada devido à libertação controlada, síntese simples, disponibilidade e preço relativamente baixo (Abdel-Halim, Al-Deyab, & Alfaiqi, 2014; Ciobanu *et al.*, 2013; Medronho *et al.*, 2013).

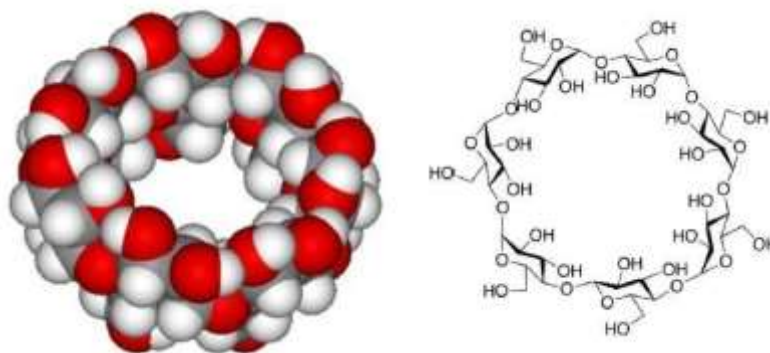


Figura 8. Representação esquemática da beta (β)-ciclodextrina (Adaptado de Medronho *et al.*, 2013).

As β -ciclodextrinas têm a capacidade de formar complexos de inclusão com várias moléculas. A interação entre a β -ciclodextrina e o composto biologicamente ativo, com consequente formação do complexo de inclusão, pode envolver a inclusão total ou a associação com a parte hidrofóbica ou hidrofílica da molécula (Hebeish *et al.*, 2008; Morin-Crini & Crini, 2013). Estas estruturas têm sido amplamente utilizadas para a produção de têxteis com propriedades funcionais através da fixação de β -ciclodextrinas com o composto biologicamente ativo em certos têxteis, mais precisamente em têxteis de origem natural, como o algodão (Abdel-Halim *et al.*, 2010).

As β -ciclodextrinas têm uma grande capacidade de encapsular moléculas bioativas, proporcionando um bom tratamento terapêutico aos usuários (Abdel-Halim, Al-Deyab, & Alfaifi, 2014). Têm sido amplamente utilizadas, a fim de proporcionar uma melhor qualidade de vida aos seres humanos, devido à aplicação de compostos bioativos em ciclodextrinas com propriedades antimicrobianas, antioxidantes, anti-inflamatórias, entre outras que são seguras e não tóxicas tanto para os humanos quanto para o meio ambiente. A aplicação do complexo de inclusão das ciclodextrinas com os compostos bioativos nos têxteis é variada, obtendo-se uma durabilidade temporária ou fixação permanente através da formação de ligações químicas (Harifi & Montazer, 2012; Madhu & Pal, 2012; Martins, Chiapetta, Carvalho, & Cassella, 2015).

5. Interação de têxteis funcionais com a pele

A pele é o meio de passagem utilizado para a distribuição tópica de vários compostos biologicamente ativos. Atualmente, através da tecnologia recente, como é o caso dos têxteis funcionais, a integração destes compostos ocorre através de nanomateriais. Esta libertação gradual de compostos bioativos naturais encapsulados, ocorre devido à humidade atmosférica e, devido também à própria humidade e pH da pele, absorvendo pequenas quantidades de água (Abdel-Halim, Al-Deyab, & Alfaifi, 2014; Hebeish, El-Shafei, Sharaf, & Zaghloul, 2014b).

A entrada de nanomateriais na pele é amplamente utilizada para facilitar as terapias locais, uma vez que com estes materiais ativos à nanoescala, há evidências de um aumento do potencial de penetração tópica em comparação às partículas de maior tamanho (Prow *et al.*, 2011). No entanto, por vezes, a barreira mecânica imposta pela pele evita e tende a dificultar a entrega dos componentes biologicamente ativos a nível tópico, uma vez que a pele é a principal barreira contra a penetração de partículas externas, pelo que desenvolveu mecanismos de defesa que lhe conferem proteção física, imunológica e metabólica (Chaudhari, 2012). Assim, quando a pele está jovem e intacta, sem a presença de uma modificação da barreira, oferece maior resistência à penetração de nanomateriais. No entanto, devido ao envelhecimento da pele ou na presença de uma patologia (por exemplo, desidratação, psoríase, acne e queimaduras), ou seja, quando a barreira está comprometida, a penetração dos nanomateriais torna-se mais facilitada (Barry, 2001; Prow *et al.*, 2011).

Os mecanismos de permeação passiva são os mais frequentes nestas nanopartículas, pois ocorrem através dos microcanais intercelulares da pele. Existem três mecanismos sugeridos que explicam a penetração de compostos biologicamente ativos na pele e, consequentemente, na camada corneana. O primeiro mecanismo é a permeação transfolicular e os ductos pilosos sudoríferos, sendo este mecanismo de penetração um dos principais para vários compostos bioativos. O segundo mecanismo é a permeabilidade transcelular, onde os solutos passam diretamente pela camada da córnea. O último mecanismo é a permeação intercelular, onde os solutos atravessam as células da córnea,

permanecendo constantemente na matriz lipídica (Antonio *et al.*, 2014; Gupchup & Zatz, 1997).

Os nanomateriais afirmam-se como um excelente mecanismo de oportunidade para exercer uma transferência racional e direcionada para certas zonas da pele, tornando-se numa tecnologia promissora (Chaudhari, 2012). Como estes nanomateriais têm uma relação de superfície de contacto muito alta, a sua difusão e penetração na pele é muito maior e a degradação ocorre mais lentamente, o que melhora a sua integração, atuando de forma mais rápida. O facto destes componentes serem absorvidos pela pele também é uma grande vantagem para evitar efeitos secundários, uma vez que existe uma menor absorção sistêmica, anulando a possível limitação imposta pelo metabolismo de primeira saída ou metabolismo pré-sistêmico (Jackson, Kopecki, & Cowin, 2013; Satyanarayana *et al.*, 2000). Na figura 9 é possível observar os potenciais locais que podem ajudar na transferência de nanomateriais através da pele.

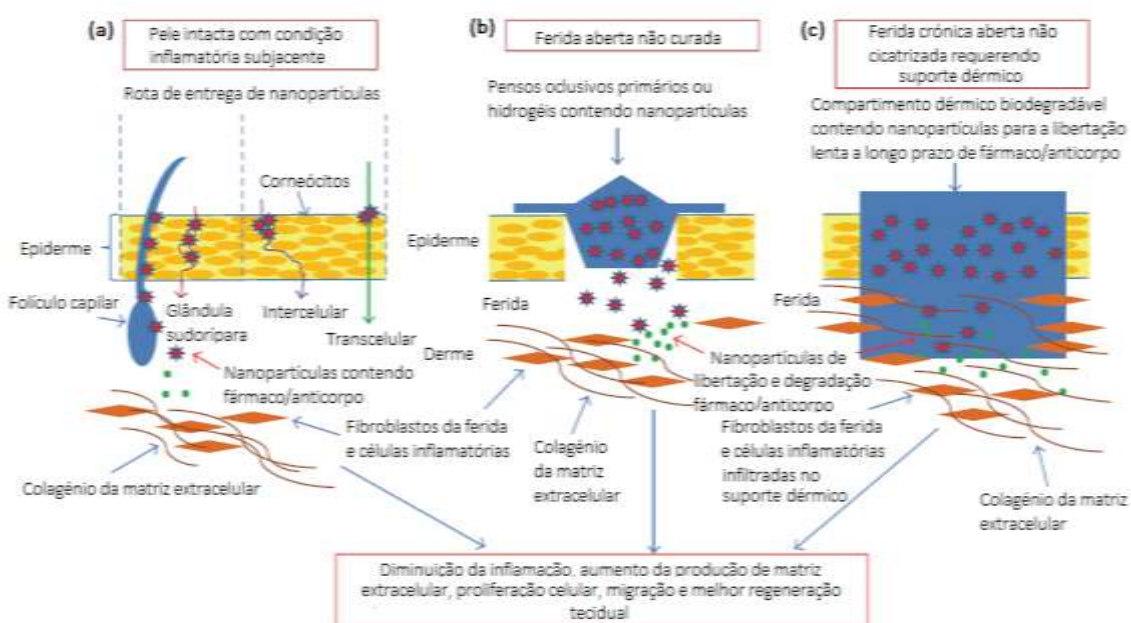


Figura 9. Tecnologia de nanopartículas para a entrega transcutânea do fármaco para a pele intacta ou danificada. **(a)** A libertação transepitelial de nanopartículas é limitada por penetração fraca através do estrato córneo de proteção. A entrega de nanopartículas trans-endógenas através do folículo capilar oferece um potencial para o tratamento de condições em que a pele está intacta. **(b) - (c)** A incorporação de nanopartículas portadoras de fármacos em curativos permite a libertação controlada de agentes biologicamente ativos em feridas abertas intradérmicamente, resultando em cicatrização melhorada e redução de cicatrizes (Adaptado de Jackson, Kopecki, & Cowin, 2013).

Muitas das nanopartículas consideradas naturais, como compostos bioativos, vírus, bactérias, entre outras, só podem penetrar a pele humana se esta barreira estiver comprometida. Assim, este comprometimento da pele pode ser aproveitado, e é um ponto chave para ajudar e melhorar a incorporação de compostos ativos, através de nanomateriais (Prow *et al.*, 2011).

A administração tópica de compostos biologicamente ativos é um desafio devido às dificuldades no controlo da libertação e na quantidade exata de composto ativo que atinge as diferentes camadas da pele. A fim de obter uma absorção tópica eficaz e com resultados

satisfatórios, existem vários tipos de sistemas de libertação utilizados para o transporte de substâncias activas, como descrito acima (Antonio *et al.*, 2014). Através de diferentes estudos, verificou-se que os sistemas de nanopartículas facilitam e auxiliam a permanência do composto biologicamente ativo na pele sem aumentar o transporte transdérmico (Alvarez-Román *et al.*, 2004; Antonio *et al.*, 2014).

De todos os meios de transporte e libertação dos compostos biologicamente ativos, as nanopartículas são as mais importantes em termos de visão futura. Isto ocorre porque as nanopartículas, em termos tecnológicos, podem sofrer uma grande evolução e melhoria, mas também são caracterizadas pela sua alta estabilidade físico-química, podendo ser utilizadas numa ampla gama de aplicações com vários tipos de compostos biologicamente ativos (Mihranyan, Ferraz, & Strømme, 2012). Assim, o objetivo desta tecnologia é aumentar o tempo de contacto entre estes compostos e a pele, conduzir e libertar estes compostos para o local alvo e facilitar o transporte dos compostos biologicamente ativos através da pele, auxiliando os tratamentos terapêuticos (Antonio *et al.*, 2014).

5.1. Toxicidade dos nanomateriais

Um composto biologicamente ativo deverá ser seguro para o ser humano e para o meio ambiente, pelo que deve ser cuidadosamente selecionado, sendo o uso de compostos naturais uma alternativa que atende esta necessidade. Os compostos com baixa toxicidade impulsionaram a pesquisa para a criação de novas fibras e têxteis naturais funcionais (Gugliuzza & Drioli, 2013; Islam, Shahid, & Mohammad, 2013; Selvam *et al.*, 2012). Assim, a aplicação de novos acabamentos têxteis na modificação de materiais de superfície e na utilização de compostos bioativos pode ser uma alternativa mais económica para a produção de têxteis funcionais com uma toxicidade muito baixa quando comparada à produção de fibras não naturais com as mesmas propriedades (Karthik, Rathinamoorthy, & Murugan, 2012).

Uma questão que preocupa e está empiricamente relacionada com uso de nanopartículas em têxteis funcionais é perceber se, estes compostos são seguros para a saúde. Como a nanotecnologia trabalha com materiais e compostos biologicamente ativos à nanoescala, ocorre uma diminuição no tamanho das nanopartículas. Deste modo, a penetração destes nas camadas da derme e da epiderme pode levar a um aumento na toxicidade das nanopartículas, já que os nanocompósitos têm uma relação superfície de contato muito elevada. Outros também são responsáveis pela toxicidade destes nanomateriais, uma vez que a composição química associada ao risco potencial de volatilidade pode levar a um aumento da lesão celular, estrutura da superfície, solubilidade, bem como a agregação de nanopartículas (Nasir, 2010; Satyanarayana *et al.*, 2000). Devido a esta lacuna, não são do nosso conhecimento estudos suficientes para compreender os riscos que isto implica sobre a saúde. Assim, é necessário avaliar o ciclo de vida destas nanopartículas, o seu comportamento quando em contato com o corpo e o meio ambiente, bem como os aspectos sociais, éticos e ambientais (Nel *et al.*, 2009; Nel *et al.*, 2013; Prow *et al.*, 2011).

É especialmente importante prestar atenção à biocompatibilidade, farmacocinética e farmacodinâmica, toxicidade, eficácia, riscos e benefícios que estes compostos podem oferecer. Desta forma, o uso de nanopartículas em seres humanos, devido à falta de estudos *in vivo*, pode, em algumas situações, não ser suficientemente seguro. O termo "nanotecnologia" é um tópico relativamente recente nos campos da engenharia, da têxtil e da medicina e, portanto, estudos ainda estão a ser realizados para compreender o quão prejudiciais e/ou benéficos podem ser para a saúde e para o meio ambiente. Contudo, até à data, não são do nosso conhecimento, estudos em que a exposição humana aos nanomateriais tenha sido prejudicial. Assim, os benefícios dos nanomateriais presentes nos têxteis funcionais para a encapsulação de compostos biologicamente ativos são mais significativos do que a toxicidade que estes possam apresentar para a saúde humana (Mura & Couvreur, 2012; Nel *et al.*, 2013).

6. Microrganismos e atividade antimicrobiana

As plantas com propriedades terapêuticas utilizadas tradicionalmente nos cuidados de saúde constituem uma importante fonte de novos compostos biologicamente ativos. Muito antes da descoberta da existência dos microrganismos, sabia-se que certas plantas possuíam atividades benéficas para a saúde e que estas continham o que se podia caracterizar como princípios antimicrobianos, sendo largamente utilizadas na comunidade (Ríos & Recio, 2005).

Os principais produtos vegetais que possuem atividade antimicrobiana são os extratos, os óleos essenciais e as proteínas de origem vegetal. A busca de produtos vegetais com atividade antimicrobiana é de extrema importância, uma vez que permite esclarecer o uso popular das plantas medicinais, proporcionar a oportunidade de que sejam encontrados novos compostos com atividade antimicrobiana, muitas vezes superior aos fármacos atuais, e até mesmo melhorar os já existentes (Pereira *et al.*, 2006).

6.1. Microrganismos

Muitos microrganismos são agentes patogénicos, no entanto, existem microrganismos que são benéficos para outras espécies ou para o meio ambiente. Sabe-se que a superfície da pele está repleta de microrganismos residentes que contribuem no desenrolar de complicações patológicas, como por exemplo a diabetes (Dreno *et al.*, 2014; Edmonds-Wilson *et al.*, 2015). A combinação de microrganismos e resposta inflamatória são a causa mais comum para muitas complicações e doenças de pele. Por exemplo, a foliculite é uma doença causada pela infeção de folículos pilosos por *Staphylococcus aureus*, onde ocorre o aparecimento de pequenas manchas de cabeça branca cercadas por pequenas

áreas vermelhas, já no pé de atleta os sinais mais frequentes são a vermelhidão e a comichão (Calhoun, Dowling, & Mader, 2000; Rhody, 2000; Skov & Baadsgaard, 2000).

As bactérias são microrganismos unicelulares que não possuem um núcleo celular organizado, sendo, portanto, procariontes. Este tipo de microrganismo não possui organelos membranares nem DNA (do inglês, *Deoxyribonucleic Acid*) organizado em cromossomas, contrariamente ao que acontece nas células eucariontes. As bactérias podem ser aeróbias, quando vivem na presença de oxigénio, anaeróbias, quando vivem na ausência de oxigénio ou, podem ser anaeróbias facultativas. A estrutura da parede celular de bactérias Gram-positivas, apresenta uma elevada quantidade de peptidoglicano, o que permite que moléculas hidrofóbicas penetrem nas células e atuem na parede, bem como na membrana celular e dentro do citoplasma. Por outro lado, a parede celular de bactérias Gram-negativas apesar de ser menos rígida, é quimicamente mais complexa, sendo constituída por menos quantidade de peptidoglicano. As bactérias Gram-negativas, apresentam uma membrana externa composta por uma dupla camada de fosfolípidos, que estão ligados à membrana interna por lipopolissacarídeos, estes são os que determinam a antigenicidade, toxicidade e patogenicidade dos microrganismos (Nazzaro *et al.*, 2013; Vargas *et al.*, 2004). Além disso, as bactérias Gram-negativas possuem um teor lipídico maior do que as Gram-positivas, e tais características podem estar envolvidas com a maior resistência. A membrana externa é quase impermeável aos compostos hidrofóbicos, embora alguns a consigam atravessar lentamente, através de poros (Plésiat & Nikaido, 1992; Vargas *et al.*, 2004).

O papel das bactérias na saúde, como agentes infecciosos, é bem conhecido. A maioria dos microrganismos presentes na pele são estirpes Gram-positivas, como *S. aureus*. No entanto, há também estudos que relatam a presença de estirpes Gram-negativas, como *Escherichia coli*. Na diabetes mellitus, *S. aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* estão entre os patógenos mais comumente encontrados na pele humana e são os agentes etiológicos para muitas infeções cutâneas e nosocomiais em úlceras no pé diabético (Dreno *et al.*, 2014; Edmonds-Wilson *et al.*, 2015).

O uso de extratos de plantas e de produtos fitoquímicos, ambos com propriedades antimicrobianas conhecidas, apresentam uma elevada importância na terapêutica das doenças infecciosas. Muitas plantas têm sido popularmente usadas por possuírem atividade antimicrobiana e antioxidante associada aos seus compostos secundários, uma vez que possuem substâncias ativas, como é o caso dos terpenos (Nascimento, Locatelli, Freitas, & Silva, 2000). Em geral, os agentes antimicrobianos atuam contra os microrganismos, através da coagulação proteica, destruição da membrana celular, remoção de grupos necessários para o funcionamento enzimático, ou competição pelo mesmo substrato (Hebeish, El-Shafei, Sharaf, & Zaghoul, 2014a).

6.2. Resistência microbiana

Nos últimos anos, a resistência microbiana tem aumentado muito, representando um problema mundial. Apesar da alta tecnologia e dos pesados investimentos da indústria

farmacêutica na produção de medicamentos antimicrobianos cada vez mais potentes, a resistência microbiana está em ascensão. O aumento do número de estirpes microbianas resistentes a múltiplos antimicrobianos representa um grande desafio no tratamento das infecções, sendo notória a necessidade de se encontrar novas substâncias capazes de inibir ou matar estas estirpes. A seleção de patógenos resistentes aos antimicrobianos é um dos casos mais bem documentados da evolução biológica (Pereira *et al.*, 2006; Nogueira, Diniz, & Lima, 2008).

A antibioterapia humana e animal é constantemente desafiada, havendo uma seleção de patógenos resistentes a antimicrobianos, tornando-se num sério problema em países desenvolvidos e em desenvolvimento. O número de bactérias patogênicas presentes no homem e nos animais que apresentam um perfil amplo de resistência aos antimicrobianos atuais está em amplo crescimento, pelo que a necessidade de desenvolver alternativas é fulcral, podendo estas ser de origem natural, como a utilização de extratos de plantas medicinais (Carvalho *et al.*, 2014; Duarte *et al.*, 2015).

Uma bactéria é resistente a um determinado antibiótico, quando capaz de crescer, *in vitro*, na presença da concentração inibitória que esse fármaco atinge no sangue. De acordo com EUCAST (do inglês, *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), um microrganismo é considerado resistente quando existe uma elevada probabilidade de falha na terapêutica (Macgowan, 2008).

A resistência microbiana pode ser natural ou adquirida. A resistência natural, também conhecida como intrínseca, é uma característica biológica natural do microrganismo e é observada regularmente numa determinada espécie bacteriana em relação a diferentes antimicrobianos, pelo que esta resistência é previsível. Por outro lado, a resistência adquirida ocorre quando existe um microrganismo primitivamente sensível a um determinado antibiótico e pode estar relacionada aos fenómenos de mutação ou de recombinação genética (Rossi & Andreazzi, 2005).

A resistência dos microrganismos aos antimicrobianos não é consensual entre os diferentes países e regiões. As estirpes resistentes aos antimicrobianos podem ser de dois tipos de origem, hospitalar ou comunitária. Algumas espécies resistentes estão amplamente difundidas e espalhadas em todo o mundo, como é o caso da *S. aureus* (Tortora, Funke, & Case, 2003). A *S. aureus* ATCC (do inglês, *American Type Culture Collection*) 43300 resistente à *Methicillin* (*MRSA*) resulta de alterações genéticas, tendo sido descrita pela primeira vez em 1961 no Reino Unido, num isolado de origem nosocomial. Desde então, o *MRSA* tem-se tornado num patógeno com alta prevalência na população e as infecções causadas por estas estirpes são responsáveis por cerca de um quinto de todas as infecções hospitalares (Pesewu, Cutler, & Humber, 2008; Sica & Spencer, 2009).

Além deste tipo de infecções, muitas outras são responsáveis pelo aparecimento de bactérias resistentes a microrganismos. O uso de antibióticos não é exclusivo ao tratamento de doenças infecciosas, mas também se estende a medidas profiláticas na população em geral e no processo de crescimento de animais. Exemplo destes casos, é a administração de determinados antibióticos aos animais, que mais tarde chegarão ao homem através da cadeia alimentar. Desta forma, o rápido aparecimento de estirpes resistentes aos antibióticos diminui a efetividade do antimicrobiano, tornando-se urgente

o desenvolvimento de novos fármacos que combatam estas resistências (Butler & Buss, 2006; Livermore, 2007).

Em virtude do aumento da resistência a antimicrobianos, a seleção de antibióticos na terapêutica apresenta-se como uma tarefa difícil e desafiadora. Ao longo destes últimos anos, a indústria farmacêutica tem-se focado em desenvolver novos antibióticos e modificado alguns fármacos já existentes, no entanto, o consumo excessivo, indiscriminado e inconsciente de antimicrobianos tem levado ao aumento da resistência bacteriana (Santos *et al.*, 2011).

6.3. Atividade antimicrobiana e plantas medicinais

É difícil descrever quais são os mecanismos responsáveis pelas atividades biológicas, devido à complexidade estrutural dos compostos naturais. No entanto, a ação sinérgica de alguns extratos naturais com os antibacterianos normalmente utilizados na prática clínica é conhecida, determinando uma diminuição na concentração mínima inibitória (MIC, do inglês *Minimum Inhibitory Concentration*) do antibacteriano. A existência de fármacos antibacterianos de origem natural pode ser devida à evolução dos metabolitos secundários como substâncias ativas e que conferem vantagens aos organismos produtores. Esses produtos naturais parecem penetrar nas células e interagir nos alvos proteicos, já que possuem uma complexidade estrutural que é comum em muitos alvos de antibacterianos (Butler & Buss, 2006).

A partir de plantas medicinais e dos seus compostos bioativos são obtidos vários compostos que, apesar de apresentarem estruturas químicas diferentes dos antimicrobianos produzidos pelas bactérias, têm demonstrado uma elevada eficiência no controlo do crescimento de uma ampla variedade de microrganismos, e até mesmo na inibição dos mesmos. Este controlo e inibição do crescimento de patógenos está associado aos compostos presentes nas plantas medicinais e seus compostos bioativos, que podem apresentar uma vasta gama de constituintes com estruturas químicas diversificadas, o que irá levar à interação de inúmeras moléculas presentes no extrato (Carvalho *et al.*, 2014).

A efetividade dos antibióticos disponíveis, atualmente, diminui à medida que aumenta o número de bactérias resistentes causadoras de infeções, pelo que novos antimicrobianos serão necessários para o tratamento de infeções causadas por bactérias multirresistentes (Rossi & Andreazzi, 2005). O aumento da resistência dos microrganismos aos antimicrobianos, atualmente utilizados, levou à avaliação de outros agentes que podem ter atividade antimicrobiana, como as plantas medicinais e os seus compostos bioativos (Carvalho *et al.*, 2014; Vargas *et al.*, 2004).

Muito antes da descoberta e desenvolvimento dos antibacterianos, os compostos de origem natural já eram as ferramentas de escolha mais comuns para o tratamento de diversas infeções. A busca de compostos naturais, a partir de plantas medicinais, com propriedades antimicrobianas tem um grande interesse, uma vez que permite uma nova opção para a farmacologia atual, onde os compostos naturais muitas vezes possuem uma atividade antimicrobiana mais forte do que muitos fármacos utilizados comumente na

terapêutica tradicional. Nas últimas décadas, a indústria farmacêutica tem produzido um grande número de novos antibióticos, no entanto, como o desenvolvimento de resistência a estes fármacos ocorre muito rapidamente, é impossível prever como os microrganismos reagirão aos novos antimicrobianos desenvolvidos. Assim, faz sentido pensar nas plantas medicinais como fontes de novos agentes terapêuticos contra bactérias, bactérias resistentes e bactérias multiresistentes aos antimicrobianos (Butler & Buss, 2006).

7. Plantas medicinais

As plantas medicinais e os compostos bioativos naturais têm sido utilizados há milhares de anos na medicina popular para vários fins. A medicina fitoterápica, conhecida como fitomedicina ou medicina botânica, utiliza as diferentes partes das plantas medicinais, incluindo flores, frutas, sementes, folhas, cascas e raízes destinadas para fins terapêuticos (Choudhury *et al.*, 2017).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estimou que, em 1985 a grande maioria da população mundial, cerca de 80%, dependia da medicina tradicional para os cuidados de saúde primários. Segundo esta mesma organização, as plantas medicinais são a melhor fonte para a obtenção de uma variedade de moléculas biologicamente ativas (Carvalho *et al.*, 2014). De acordo com a OMS, existem cerca de 20 mil plantas medicinais em 91 países, incluindo 12 mega países de biodiversidade. De acordo com o relatado, nos dias de hoje, 60% da população mundial utiliza medicamentos tradicionais como sistema primário de saúde. Além disso, no ano 2000, os produtos naturais ou derivados de produtos naturais de plantas medicinais compreendiam 14 dos 35 melhores fármacos. Deste modo, a OMS defende o uso de plantas medicinais, especialmente nos programas de saúde pública nos países em desenvolvimento. No entanto, algumas das espécies de plantas medicinais com possível atividade biológica permanecem amplamente inexploradas (Bonifácio *et al.*, 2014; Choudhury *et al.*, 2017; Sasidharan *et al.*, 2011).

7.1. Produtos naturais de plantas medicinais e compostos naturais bioativos

Os produtos naturais podem derivar de uma série de organismos, como plantas, animais e microrganismos. Estes produtos de origem natural são considerados como uma fonte alternativa na terapêutica, pelo que o interesse por estes está a crescer muito rápido. Estas alternativas apresentam diversas vantagens, uma vez que se tratam de produtos naturais, não sendo sintetizados sintética e quimicamente, e a probabilidade de apresentarem efeitos secundários e tóxicos é mínima (Bolzani, Valli, Pivatto, & Viegas, 2012; Khalid *et al.*, 2012).

A atividade biológica é a via principal na abordagem etnofarmacológica, e a sua avaliação é necessária para validar o uso tradicional de plantas medicinais e seus compostos naturais bioativos e procurar possíveis extratos mais ativos. A biodiversidade dos produtos naturais representa uma fonte ilimitada e quase inesgotável de novas entidades químicas com potencial farmacológico (Brusotti *et al.*, 2014). Para além da grande diversidade de plantas medicinais que existem em todo mundo, existem também compostos bioativos encontrados em diversas plantas e produtos naturais. As plantas medicinais e os compostos naturais bioativos apresentam diversas propriedades terapêuticas, as quais são utilizadas como alternativas viáveis (Vargas *et al.*, 2004).

Estima-se que 40% dos fármacos disponíveis na terapêutica atual foram desenvolvidos a partir de fontes naturais: 25% de plantas, 12% de microrganismos e 3% de animais. Somente no período entre 1983-1994, dos 520 novos fármacos aprovados pela FDA (do inglês, *Food and Drug Administration*), 220 (39%) foram desenvolvidos a partir de produtos naturais. Além disso, um terço dos fármacos mais prescritos e vendidos a nível mundial foi desenvolvido a partir de produtos naturais (Calixto, 2003).

As plantas medicinais, nos últimos anos, estão a ganhar um interesse crescente. Este interesse é devido ao seu potencial uso na medicina, levando ao tratamento de várias doenças comuns. Existe uma enorme gama de atividades biológicas benéficas e que já se encontram comprovadas, como a atividade anticancerígena, antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, analgésica e cicatrizante, entre outras. Os extratos das plantas medicinais também são, atualmente, utilizados em sínteses químicas ou como novos materiais, com aplicações nas mais diversas áreas médicas, farmacêuticas, tecnológicas e comerciais (Hartmann & Onofre, 2010). A mais valia das plantas medicinais depreende-se com a grande quantidade de fitoquímicos terapêuticos que estas têm e desenvolvem, e que, por consequência, promovem o desenvolvimento de novas metodologias (Azwanida, 2015; Brusotti *et al.*, 2014).

As plantas medicinais são uma das fontes mais importantes para a inovação e desenvolvimento de medicamentos. Os produtos naturais de plantas medicinais são especialmente importantes nos países em vias de desenvolvimento, onde, na maioria dos casos, estes produtos são utilizados para os cuidados de saúde. Estes compostos também são muito importantes nos países desenvolvidos, uma vez que os produtos naturais de plantas medicinais são uma alternativa inteligente para os compostos sintéticos frequentemente utilizados (Bonifácio *et al.*, 2014). Os produtos naturais desempenham um papel importante para a compreensão e descoberta das vias metabólicas celulares, o que é essencial no processo de descoberta e inovação de novos fármacos. Muitas vezes, as substâncias que tem origem natural são precursoras de compostos que podem ser utilizados como fármacos ou como ferramentas bioquímicas na compreensão da fisiopatologia das doenças (Gullo *et al.*, 2006).

Os produtos naturais de plantas medicinais e seus compostos naturais bioativos proporcionam inúmeras oportunidades para novos métodos de tratamento e prevenção em diversas doenças, como problemas dermatológicos geralmente causados pelo *stress* oxidativo, devido à sua grande disponibilidade e diversidade química. A atividade antioxidante, mas também antimicrobiana deve-se à presença de componentes fitoquímicos, cuja concentração pode variar dependendo de vários fatores, como cultivo,

colheita e meios utilizados para obter o extrato das plantas medicinais (Nogueira, Diniz, & Lima, 2008). A utilização de fontes naturais no desenvolvimento e formulação de produtos para a pele, como alternativa aos medicamentos convencionais e aos produtos sintéticos, contribuíram para o aumento do interesse pela pesquisa e aplicação industrial deste tipo de plantas medicinais (Mukherjee, Maity, Nema, & Sarkar, 2011). A grande quantidade de compostos fenólicos e de flavonóides nas plantas medicinais é uma mais valia, tendo um impacto positivo na saúde (Venugopal & Liu, 2012). Desta forma, estas plantas e os seus produtos químicos são particularmente importantes na indústria farmacêutica e cosmética (Azwanida, 2015).

Os extratos de plantas medicinais já há muito tempo têm servido de base para diversas aplicações na medicina popular, entre elas, a produção de antissépticos tópicos. Os extratos de plantas medicinais são mais eficazes do que as plantas principais propriamente ditas (Ghayempour & Montazer, 2017; Hartmann & Onofre, 2010). Um benefício adicional dos medicamentos à base de plantas medicinais é a menor incidência de resistência aos fármacos. A avaliação dos resultados da toxicidade dos extratos de plantas medicinais proporciona a oportunidade de conhecer efeitos adversos (Eser *et al.*, 2017; Zippel, 2004). Uma vantagem apresentada pelas plantas medicinais e pelos compostos biologicamente ativos, é que a sua biodegradabilidade é melhor do que a dos produtos sintéticos, apresentando alta compatibilidade com o meio ambiente (Eser *et al.*, 2017; Gawish *et al.*, 2016; Montazer & Parvinzadeh, 2007). Desta forma, o crescente interesse em fármacos derivados de plantas medicinais levou à utilização de vários compostos bioativos, de plantas ou outras fontes naturais, para uma variedade de aplicações na saúde (Hwang & Lim, 2015).

Apesar dos muitos benefícios dos extratos de plantas medicinais, existem desvantagens associadas: (i) alta volatilidade, (ii) dosagem não controlada, (iii) instabilidade na presença de ar, luz e humidade e (iv) altas temperaturas que levam a uma aplicação difícil das plantas medicinais, sendo necessária a sua encapsulação em nanocápsulas, para que estas possam exercer os seus efeitos eficazmente (Ghayempour & Montazer, 2017). De acordo com vários autores, a melhor estratégia para resolver este problema é encapsular os extratos de plantas medicinais em membranas poliméricas (Ghayempour & Montazer, 2016; Yoshizawa, 2004).

Existem várias complicações de saúde que são tratadas com terapêutica à base de plantas medicinais, incluindo distúrbios inflamatórios, hipertensão e outras doenças cardiovasculares, diabetes *mellitus*, hiperlipidemia, distúrbios hepáticos, úlceras pépticas e outras doenças gastrointestinais, doenças do trato urinário, cancro, tuberculose, patologias dermatológicas, dores musculares, problemas do sistema respiratório e sistema nervoso central (Bing *et al.*, 2016; Choudhury *et al.*, 2017; Kesavadev *et al.*, 2017).

Assim, as plantas medicinais e os compostos naturais bioativos apresentam um grande potencial para o tratamento terapêutico, clínico e farmacológico, apesar de muitos destes extratos não terem sido investigados e comprovados cientificamente. Este efeito terapêutico é devido aos flavonóides, alcalóides, taninos, terpenos, entre muitos outros, que atuam como princípios bioativos. No entanto, a seleção de plantas medicinais e seus compostos naturais bioativos pode depender de vários fatores, que incluem o estágio e progressão da doença, tipos de comorbidades que os pacientes apresentam,

disponibilidade, acessibilidade e perfil de segurança das plantas medicinais (Choudhury *et al.*, 2017).

7.2. Resveratrol

O resveratrol (RSV), *trans*-3, 4',5-trihidroxiestilbeno, 5-[(E)-2-(4-hidroxifenil)-etenil] benzeno-1,3-diol, ou C₁₄H₁₂O₃, apresenta-se como um composto natural bioativo. Existe em duas isoformas ativas, sendo a isoforma de *trans*-resveratrol mais biologicamente ativa do que a *cis* (Figura 10) (Calabrese, Mattson, & Calabrese 2010; Artero, Artero, Tarín, & Cano, 2015). A sua estrutura química apresenta dois anéis aromáticos e várias ligações duplas, formando intermediários relativamente estáveis, devido à ressonância do anel presente na sua estrutura. O resveratrol é caracterizado pelo seu caráter lipofílico, principalmente devido ao domínio do estilbeno, mas também devido aos três grupos OH, apresentando a capacidade de estar envolvido em ligações de hidrogénio ou em interações iónicas, dependendo dos seus locais de protonação (Alonso *et al.*, 2013). Este polifenol natural é definido como um esbozenóide, uma fitoalexina que apresenta uma vasta gama de benefícios para os seres vivos (Ferreira & Domingues, 2016; Silva *et al.*, 2017).

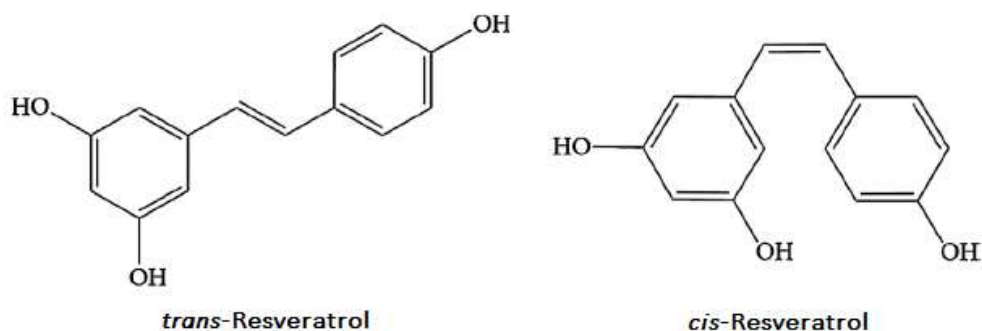


Figura 10. Estrutura química do *trans*-resveratrol e do *cis*-resveratrol (Adaptado de Vries, Strydom, & Steenkamp, 2017).

O resveratrol, assim como outras fitoalexinas naturais, é um metabolito secundário de baixo peso molecular do grupo de compostos conhecidos como estilbenos. Além destas características, o resveratrol é um composto que apresenta uma baixa solubilidade em água (0,03 g/L) e elevada em etanol (50,00 g/L), é fotossensível e suscetível à oxidação. A sua atividade biológica pode ser limitada pelo metabolismo de primeira saída, reduzindo a sua viabilidade e biodisponibilidade para o uso clínico (Liu *et al.*, 2016; Öztürk, Arslan, Yerer, & Bishayee, 2017; Paulo *et al.*, 2010). Tendo em conta esta limitação, o procedimento de complexação com lipossomas ou com moléculas como as ciclodextrinas é viável para aumentar a sua solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade. O resveratrol é absorvido a uma taxa alta através do intestino delgado, logo existe uma relação inversa entre absorção e biodisponibilidade do resveratrol. Isto acontece devido ao tamanho pequeno do *trans*-resveratrol e ao caráter não polar, pelo que a absorção ocorre através da difusão passiva através das membranas (Duarte *et al.*, 2015; Öztürk, Arslan, Yerer, & Bishayee, 2017; Silva *et al.*, 2014).

Este composto foi originalmente identificado como o principal ingrediente ativo em *Polygonum cuspidatum*, uma planta amplamente utilizada na medicina tradicional japonesa e chinesa para tratar infecções fúngicas, distúrbios cutâneos inflamatórios, hepatotoxicidade e doenças cardiovasculares. O resveratrol pode ser encontrado em diferentes formas de dosagem farmacêutica e é recomendado como suplemento dietético (Mukherjee, Dudley, & Das, 2010; Öztürk, Arslan, Yerer, & Bishayee, 2017).

O resveratrol é produzido naturalmente por várias plantas comestíveis e não comestíveis, quando sob o ataque de agenes patogênicos vegetais e humanos em resposta a condições de *stress* ambiental ou outro tipo de lesões, como por exemplo, em defesa de infecções microbianas. Este composto pode encontrar-se sob a forma natural na pele das uvas, nas framboesas, nos morangos, nos amendoins, no cacau, entre outros. No entanto, o resveratrol também pode ser produzido por síntese química e por síntese biotecnológica (microrganismos de engenharia metabólica). O resveratrol ao ser ingerido sob forma de alimento é benéfico para a prevenção de algumas doenças, sendo evidenciado em pessoas que consomem uma dieta mediterrânea, onde a saúde cardiovascular é parcialmente atribuída ao consumo diário moderado de vinho tinto (Hwang & Lim, 2015; Silva *et al.*, 2017; Vries, Strydom, & Steenkamp, 2017).

O seu efeito biológico está relacionado com o caráter eletrónico, a lipofilicidade e o volume molecular de cada um. Quando o resveratrol é administrado, este pode atravessar a barreira hematoencefálica, pois mostrou alguma eficácia na doença de Alzheimer e ataxia de Friedreich (Turner *et al.*, 2015; Wightman *et al.*, 2015). A eficácia do resveratrol na colite ulcerativa, indica que a administração do resveratrol apresenta benefícios terapêuticos no trato gastrointestinal (TGI) (Patel *et al.*, 2010).

Por outro lado, também existem análogos de resveratrol de origem natural que, por vezes, podem apresentar um perfil farmacocinético mais favorável do que o próprio resveratrol. O resveratrol trimetil éter (trans-3,5,4'-trimetoxystilbene) é um composto natural análogo do resveratrol, sendo caracterizado por apresentar uma melhor estabilidade metabólica do que o resveratrol, uma vez que a depuração é cerca de 8 a 9 vezes mais lenta. A estabilidade metabólica melhorada deste composto é atribuída à metoxilação completa dos grupos hidroxilo do composto (Lin & Ho, 2011). Outro análogo do resveratrol é o pterostilbene (trans-3,5-dimetoxi-4'-hidroxiestilbene), uma vez que este mostrou possuir uma resposta farmacocinética mais favorável devido à sua libertação mais lenta, ao tempo de transição médio mais longo e à exposição plasmática mais abundante. Isto ocorre, uma vez que este composto apresenta menos grupos hidroxilo do que o resveratrol, tornando-o menos suscetível ao metabolismo de conjugação (Yeo, Ho, & Lin, 2013). O oxiresveratrol (trans-3,5,2',4'-tetrahidroxiestilbene), outro análogo de resveratrol, tem um grupo hidroxilo adicional no anel aromático, que permite uma melhor solubilidade em água (Chen, Yeo, Elhennawy, & Lin, 2016). Por último, o trans-4-4'-dihidroxiestilbene demonstrou ter efeitos anticancerígenos bastante interessantes, no entanto apresenta o inconveniente da sua baixa solubilidade aquosa. Isto foi solucionado através da solubilização do trans-4-4'-dihidroxiestilbene com hidroxipropil- β -ciclodextrina, apresentando um perfil farmacocinético superior ao resveratrol (Chen *et al.*, 2015).

Atualmente, o resveratrol é administrado apenas por via oral. Apesar do resveratrol ser bem absorvido apresenta uma baixa biodisponibilidade, resultando em baixas concentrações plasmáticas. Devido à baixa biodisponibilidade, a distribuição sistêmica é limitada e as concentrações não são altas o suficiente em determinados locais ativos para provocar os efeitos farmacológicos esperados e pretendidos (Vries, Strydom, & Steenkamp, 2017). Como forma de solucionar este problema, a administração do resveratrol juntamente com outro fitoquímico melhora a biodisponibilidade, protegendo-o do metabolismo rápido (Vries, Strydom, & Steenkamp, 2017; Wightman *et al.*, 2014). Uma forma de solucionar esta limitação é o uso de pró-fármacos, sendo esta uma potencial via para maximizar a biodisponibilidade do resveratrol (Smoliga & Blanchard, 2014). Exemplo de um pró-fármaco é o 3,5,4'-tri-O-acetilresveratrol, onde o resveratrol gerado a partir deste é eliminado a uma taxa muito mais lenta do que o resveratrol na sua forma livre (Liang *et al.*, 2013). Esta abordagem tem como principal objetivo aumentar a quantidade de *trans*-resveratrol livre, permitindo que o pró-fármaco dê origem ao resveratrol nas células através de reações enzimáticas, resultando em concentrações aumentadas para uma maior atividade biológica no local alvo (Smoliga & Blanchard, 2014; Vries, Strydom, & Steenkamp, 2017). Além disto, existem outras alternativas, como a via transdérmica, sendo esta, uma via de administração onde o metabolismo de primeira passagem é evitado. Isto permite que o fármaco não seja absorvido no trato gastrointestinal, aumentando a biodisponibilidade do resveratrol, permitindo maiores concentrações nos locais ativos (Trotta *et al.*, 2015; Vries, Strydom, & Steenkamp, 2017). Por último, existem as nanocápsulas de cicodextrinas, onde há um aumento da solubilidade, estabilidade e permeação do resveratrol. As nanocápsulas de ciclodextrinas com resveratrol apresentam resultados de liberação e estabilidade mais favoráveis *in vitro* em comparação com o resveratrol sozinho na sua forma ativa, sendo este método bastante útil para a aplicação tópica de compostos bioativos (Ansari, Vavia, Trotta, & Cavalli, 2011).

Algumas propriedades terapêuticas do resveratrol já se encontram fundamentadas, contudo é necessária mais investigação para que seja possível avaliar as capacidades bioativas do resveratrol. Estas atividades são em grande parte atribuídas aos componentes polifenólicos do resveratrol (Calabrese, Mattson, & Calabrese 2010; Artero, Artero, Tarín, & Cano, 2015; Giacosa *et al.*, 2016). As atividades anti-inflamatórias, antioxidantes, anticancerígenas, neuroprotectoras, cicatrizantes, proteção à radiação UV e a potente atividade antimicrobiana, são muitas das propriedades e ações biológicas apresentadas pelo resveratrol (Gülçin, 2010; Hwang & Lim, 2015; Silva *et al.*, 2017).

Várias propriedades já se encontram comprovadas tanto em bactérias Gram-positivas quanto em Gram-negativas, como a atividade anti-inflamatória, antioxidante, neuroprotectora e antimicrobiana (Ferreira & Domingues, 2016; Paulo *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2017). O resveratrol representa uma nova classe de agentes antimicrobianos. Este composto aparenta ter potencial como agente antibacteriano natural tanto para a preservação de alimentos quanto para o uso medicinal e terapêutico (Paulo *et al.*, 2010).

É importante que, nos tratamentos utilizados para as patologias dermatológicas, existam compostos naturais que possuam atividades antimicrobianas contra espécies bacterianas, que são importantes agentes etiológicos em infecções cutâneas humanas, como é o caso do resveratrol. Além disso, outros estudos realizados mostram a capacidade

do resveratrol em inibir o crescimento de espécies bacterianas clinicamente importantes em várias patologias de interesse dermatológico, incluindo *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* e *Helicobacter pylori*, três bactérias Gram-negativas (Celimene, Smith, Young, & Stanosz, 2001; Docherty, Fu, & Tsai, 2001). De acordo com um estudo realizado por Paulo e seus colaboradores (2010), verificou-se que *Bacillus cereus*, *S. aureus* e *Enterococcus faecalis*, foram os microrganismos que apresentaram maior sensibilidade, entre os utilizados no ensaio (Paulo *et al.*, 2010). Liu e seus colaboradores (2016), verificaram que o resveratrol interfere no crescimento e apresenta efeitos antimicrobianos em várias estirpes, como, por exemplo, *E. coli* e *S. aureus*. Estes autores, sustentam este efeito antimicrobiano devido ao efeito das espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês *Reactive Oxygen Species*), que são compostos químicos resultantes da ativação ou redução do oxigênio molecular ou derivados dos produtos da redução (Liu *et al.*, 2016). Considera-se que, antimicrobianos de vários tipos criam lesões distintas devido ao ROS, como por exemplo quebras de DNA de cadeia dupla, que bloqueiam o seu crescimento e, se suficientemente graves, induzem uma resposta letal ao *stress* que culmina numa cascata de ROS tóxicos (Hwang & Lim, 2015; Liu *et al.*, 2016; Zhao, Hong, & Drlica, 2015).

O resveratrol é um antioxidante *in vitro* eficaz, com uma elevada atividade de eliminação de radicais livres (Limmongkon *et al.*, 2017). As características do resveratrol como um antioxidante eficaz foram demonstradas em estudos *in vitro*, no entanto, não está claro se este apresenta esta propriedade *in vivo*. Vale ressaltar que, o efeito do resveratrol depende do seu estado redox, ou seja, se ele age como um antioxidante ou um pró-oxidante. O resveratrol como um antioxidante exerce um efeito duplo, pode aumentar a atividade de enzimas antioxidantes e pode agir através da remoção de radicais livres (Kuršvietienė, Stanevičienė, Mongirdienė, & Bernatoniene, 2016). Acquaviva e seus colaboradores (2002) mostraram que as propriedades antioxidantes do resveratrol *in vitro* foram aumentadas com o aumento da concentração deste composto (Acquaviva *et al.*, 2002). Desta forma, os antioxidantes naturais presentes em plantas medicinais e alimentos, podem atuar na remoção dos radicais livres e inibir a peroxidação lipídica (Repetto & Llesuy, 2002; Tadić *et al.*, 2008).

De acordo com Babich, Reisbaum e Zuckerbraun (2000), para que o resveratrol possa ser usado no tratamento de infecções da pele, o seu efeito em queratinócitos e fibroblastos humanos precisa ser analisado (Babich, Reisbaum, & Zuckerbraun, 2000). Redondo, Jimenez, Perez e Garcia-Foncillas (2000), afirmaram que o resveratrol não é citotóxico para os queratinócitos epidérmicos humanos normais isolados das secções femininas do peito, embora iniba a sua proliferação (Redondo, Jimenez, Perez, & Garcia-Foncillas, 2000). Em contraste, um estudo realizado por Holian e Walter (2001) mostrou que, para os queratinócitos humanos normais do prepúcio, o resveratrol inibe a proliferação e é citotóxico (Holian & Walter, 2001). Paulo e seus colaboradores (2010), através de ensaios de citometria de fluxo verificaram que o crescimento celular foi inibido, concluindo que o resveratrol afeta o ciclo celular bacteriano, parando a divisão celular (Paulo *et al.*, 2010).

Assim, o resveratrol merece atenção não só por ser um possível antimicrobiano e antioxidante, mas também pelas suas outras potenciais aplicações funcionais, terapêuticas e clínicas.

7.3. Própolis

O própolis caracteriza-se como uma mistura complexa de substâncias recolhidas e produzidas por abelhas (*Apis mellifera L.*), resultado de uma colheita seletiva de diferentes exsudatos de flores, folhas, cascas e plantas presentes na proximidade da colmeia. O própolis é depois trabalhado pelas glândulas salivares das abelhas, resultando numa massa final de aspeto resinoso (Nunes, 2009). Esta resina é assim, um composto que resulta da mistura de brotos florais, plantas, pólen e enzimas segregadas pelas abelhas (Casquete, Castro, Jácome, & Teixeira, 2016; Falcão *et al.*, 2013; Ristivojević *et al.*, 2016).

Este composto é um produto, atualmente, pouco valorizado pela maioria dos apicultores, do ponto de vista da rentabilização comercial das suas explorações. O própolis, também designado como “cola de abelha”, apresenta uma tonalidade verde, amarela e/ou castanha, podendo inclusivamente ser quase negro, dependendo da origem botânica e da idade. A consistência é altamente influenciada pela temperatura, é flexível e pegajoso acima de 30°C, duro e inquebrável a cerca de 15°C, e frágil e facilmente pulverizável a temperaturas inferiores a 5°C. O seu ponto de fusão situa-se entre os 60 e os 70°C, podendo subir acima dos 100°C (Casaca, 2010).

O própolis tem o importante papel de garantir a saúde das colónias das abelhas, uma vez que, além das características nutricionais, funciona como material de construção e mantém o ambiente antisséptico na colmeia. Permite também reparar danos, construir locais assépticos, permitindo a esterilização do meio ambiente da colmeia, prevenir infeções a partir de feridas, serve como isolador térmico e é à prova de água. Pela mesma razão, o própolis é também usado dentro da colmeia para embalsamar certos intrusos e, neste caso, as propriedades antimicrobianas do própolis são exploradas para evitar o desenvolvimento da microflora putrefativa (Casquete, Castro, Jácome, & Teixeira, 2016; Falcão *et al.*, 2013; Ristivojević *et al.*, 2016).

As muitas propriedades do própolis são conhecidas desde a antiguidade (Vargas *et al.*, 2004). Desde os nossos antepassados, o própolis é conhecido e usado na medicina tradicional devido às suas propriedades clínicas e terapêuticas. No entanto, só desde 1970 é que os investigadores analisaram os seus constituintes e as suas propriedades biológicas em relação ao seu uso etnofarmacológico (Casquete, Castro, Jácome, & Teixeira, 2016; Falcão *et al.*, 2013; Ristivojević *et al.*, 2016).

As aplicações do própolis são inúmeras, vão desde a medicina, a engenharia alimentar, as indústrias têxtil, farmacêutica e cosmética, entre muitas outras. Um dos usos mais populares do própolis é na medicina tradicional, sendo utilizado como adjuvante no tratamento de infeções da cavidade oral e do primeiro trato respiratório (Azarpazhooh & Leake, 2006). Estes compostos também são bastante utilizados em outras patologias, auxiliando o tratamento de problemas de mau hálito, aftas, gengivites, feridas, cortes, micoses, espinhas, verrugas, frieiras, furúnculos e manchas da pele (Marcucci, 1995). Nos dias de hoje, a utilização deste composto ao serviço da saúde é vasta, sendo utilizado também como suplemento ou prevenção de infeções inflamatórias, diabetes *mellitus*, doenças cardíacas e hepáticas, e no tratamento de feridas e úlceras. Tendo em conta a

natureza do própolis, a sua viabilidade para aplicações *eco-friendly* é amplamente considerável (Ali, Kassem, & Atta-Alla, 2010; Cushnie & Lamb, 2005).

Relativamente à aplicação do própolis em têxteis, estão em curso alguns estudos, contudo são ainda inexistentes soluções comerciais, e a sua validação técnica e funcional ainda não está muito fundamentada. Os estudos realizados com a integração de própolis nos têxteis focam sobretudo na atividade antibacteriana e antioxidante dos mesmos, e, segundo Abramiuc *et al.*, (2013), Adomavičiūtė *et al.*, (2017) e Sharaf, Higazy e Hebeish (2013), os resultados são bastante promissores, no entanto, estas e as restantes propriedades do própolis ainda carecem de maior validação científica e aumento da durabilidade à lavagem (Abramiuc *et al.*, 2013; Adomavičiūtė *et al.*, 2017; Sharaf, Higazy, & Hebeish, 2013). Apesar dos consideráveis desenvolvimentos de têxteis funcionais com própolis a nível mundial, ainda não há estudos relacionados com própolis de origem portuguesa incorporado em substratos têxteis que validem todas as suas propriedades.

A composição química do própolis varia muito de acordo com a origem vegetal da resina e, portanto, com as características geográficas e climáticas do local de origem, bem como das plantas encontradas em torno da colmeia (Casquete, Castro, Jácome, & Teixeira, 2016; Ristivojević *et al.*, 2016; Sanpa *et al.*, 2015). Além disto, a variabilidade genética das abelhas-rainha também influencia a composição química do própolis (Park, Ikegaki, Abreu, & Alcici, 1998). De acordo com as suas características e composição, a variedade da flora local é muito importante, pelo que há plantas que são mais ou menos ricas em resinas e em fontes de fitoquímicos biologicamente ativos. A complexidade fenólica do própolis está ligada à diversidade fenólica da resina vegetal, mas também à combinação de diferentes plantas visitadas pelas abelhas, particularmente em locais com diversidade fito-geográfica (Ristivojević *et al.*, 2016; Sanpa *et al.*, 2015). Todavia, existem compostos em quantidades muito baixas, pelo que alguns compostos são, às vezes, detetados apenas como oligoelementos, o que significa que a planta é escassa em torno da colmeia ou não é a planta preferida das abelhas (Ristivojević *et al.*, 2016; Salatino, Fernandes-Silva, Righi, & Salatino, 2011).

O própolis propriamente dito, denominado “própolis bruto” (60-80% de própolis puro), é constituído por substâncias com três origens diferentes. É constituído por um componente derivado de extratos vegetais colhidos pelas abelhas, um componente derivado da segregação do metabolismo das abelhas (ceras e enzimas salivares) e um componente correspondente às substâncias introduzidas durante a produção do própolis (Casquete, Castro, Jácome, & Teixeira, 2016; Ristivojević *et al.*, 2016).

O propólis apresenta uma elevada quantidade de compostos fenólicos, aproximadamente 50% do teor da resina. Por outro lado, os restantes 50% incluem a cera da abelha (30%), os compostos voláteis/óleos essenciais e aromáticos (10%), o pólen (5%) e outras substâncias (vitaminas B1, B2, B6, C, E e provitamina A, minerais, óleos essenciais, ferro, cálcio, magnésio, entre outros) (5%) (Marcucci, 1995). Destes compostos, os compostos fenólicos têm sido os mais investigados e têm sido considerados os responsáveis por diversas actividades biológicas atribuídas ao própolis. Assim, os extratos vegetais são os componentes mais importantes, dado que são constituídos por moléculas que são responsáveis pela maioria das actividades biológicas observadas. A

maioria dos componentes das resinas das plantas são incorporadas no própolis sem quaisquer alterações, mas é provável que alguns dos componentes sejam sujeitos a alterações enzimáticas através da acção da saliva das abelhas durante a sua colheita, ou pela posterior adição de cera (Ristivojević *et al.*, 2016; Salatino, Fernandes-Silva, Righi, & Salatino, 2011).

Os compostos fenólicos, flavonóides, ácidos aromáticos e ácidos diterpenóides parecem ser os principais componentes responsáveis pelas atividades biológicas do própolis (Casquete, Castro, Jácome, & Teixeira, 2016; Koo *et al.*, 2000). A grande variedade de componentes sempre foi um dos principais problemas no estudo da atividade dos diferentes tipos de própolis. A composição química da fonte da planta determina e caracteriza o perfil químico do própolis, pelo que a comparação do perfil é o melhor indicador para a avaliação, caracterização e padronização da origem do mesmo (Falcão *et al.*, 2013; Vecchi & Drago, 2007). Alguns componentes do própolis estão presentes em todas as amostras, enquanto outros só estão presentes em própolis derivado de espécies de plantas específicas (Lustosa *et al.*, 2008). A elevada variabilidade da composição química do própolis reflete-se em grandes diferenças nas características físicas, que podem variar desde a cor, aroma ou sabor, mas também menos distintamente na atividade biológica (Casaca, 2010; Falcão *et al.*, 2013; Salatino, Fernandes-Silva, Righi, & Salatino, 2011).

A concentração de compostos fenólicos também pode estar relacionada com os procedimentos de extração dos compostos, uma vez que vários fatores, como o solvente utilizado e o tempo de extração, afetam o rendimento deste composto (Bankova, De Castro, & Marcucci, 2000; Vecchi & Drago, 2007). O própolis é solúvel em vários solventes, tais como o éter, etanol, acetona, tolueno e tricloroetileno, os quais permitem a dissolução da maior parte dos seus constituintes (Marcucci, 1996). Vários tipos de soluções de extratos etanólicos, hidro-alcoólicos e aquosos com própolis têm sido realizadas para diferentes situações, como por exemplo, na regeneração da pele, como antimicrobiano, anti-parasitário e anti-inflamatório (Varga *et al.*, 2004). Estudos indicam que algumas destas propriedades bioativas do própolis são intensificadas quando o extrato é etanólico em comparação com o extrato aquoso (Ali, Kassem, & Atta-Alla, 2010). Para a formulação de alguns produtos, o própolis é usado principalmente como extrato hidroalcoólico, o que limita a adesão da comunidade devido às propriedades organoléticas, todavia, existe a solução da utilização do própolis em solução acetilada. Deste modo, para o própolis hidroalcoólico, o problema da baixa solubilidade, que limita a atividade *in vivo* devido à má capacidade de atingir altas concentrações no local de ação, permanece, e é uma das propriedades que pode e deve ser melhorada. Outras abordagens tecnológicas devem ser estudadas e analisadas para que estes problemas sejam ultrapassados. Uma das opções possíveis seria a utilização de biocatalizadores, permitindo que as estruturas químicas das substâncias de partida permanecem inalteradas, enquanto as propriedades físicas e químicas (por exemplo, solubilidade, estabilidade e sabor) são melhoradas. Contudo existem outras soluções, como é o caso do processo de acetilação, que permite aumentar a solubilidade do própolis na água e aumentar a sua atividade antimicrobiana. Assim, quanto ao própolis em solução acetilada, a atividade observada *in vitro* fornece evidências para uma possível aplicação mais direcionada e mais eficaz do que as fórmulas mais tradicionais (Vecchi & Drago, 2007).

Ao própolis têm sido atribuídas muitas propriedades, no entanto, nem todas estão sustentadas por evidências científicas sólidas (Vecchi & Drago, 2007). Dentro destas propriedades, este composto apresenta atividades antioxidantes, cicatrizantes, anti-cancerígenas, antimicrobianas, anti-inflamatórias, entre muitas outras (Adomavičiūtė *et al.*, 2017; Casquete, Castro, Jácome, & Teixeira, 2016; Falcão *et al.*, 2013).

Está documentado que o própolis inibe a proliferação de bactérias, fungos e vírus. A atividade antimicrobiana ocorre devido à elevada quantidade de flavonóides, ácidos aromáticos e ésteres presentes na sua composição (Sforcin *et al.*, 2000). Embora as propriedades antimicrobianas do própolis sejam objeto de muita pesquisa, é difícil comparar os resultados de diferentes estudos, uma vez que a composição dos extratos de própolis é variável, e diferentes métodos para a avaliação da atividade antimicrobiana do própolis são utilizados (Ristivojević *et al.*, 2016). Quanto à atividade antibacteriana, este apresenta maior eficácia contra as bactérias Gram-positivas e eficácia limitada contra as Gram-negativas (Lu, Chen, & Chou, 2005; Marcucci *et al.*, 2001), possivelmente devido à elevada quantidade de compostos fenólicos, flavonóides, ácidos e ésteres aromáticos presentes na resina, os quais atuam sobre a estrutura da parede celular destes microrganismos. Como as bactérias Gram-negativas possuem uma parede celular quimicamente mais complexa e um teor lipídico maior, pode explicar esta maior resistência (Kareem *et al.*, 2015; Vargus *et al.*, 2004).

De acordo com dois estudos, Kedzia, Geppert e Iwaszkiewicz (1990), e Krol e seus colaboradores (1993), o mecanismo da atividade antimicrobiana é bastante complexo (Kedzia, Geppert, & Iwaszkiewicz, 1990; Koo *et al.*, 2000; Krol *et al.*, 1993), no entanto, este pode ser atribuído ao sinergismo entre hidroxilados de flavonóides e sesquiterpenos (Casquete, Castro, Jácome, & Teixeira, 2016; Lu, Chen, & Chou, 2005; Ristivojević *et al.*, 2016). Os compostos que geralmente são considerados como responsáveis pela sua atividade antimicrobiana são os flavonóides e os ésteres de ácidos fenólicos, constituintes estes que caracterizam uma grande percentagem dos compostos presentes no própolis (Sforcin *et al.*, 2000). Deste modo, a atividade antimicrobiana não é o resultado de uma única fração, mas sim é determinada pela ação sinérgica de alguns dos seus componentes (Vecchi & Drago, 2007).

O própolis apresenta uma atividade antibacteriana que pode ocorrer por diversos mecanismos de ação. Estes mecanismos de ação podem ocorrer através da inibição da divisão celular, dissociação da membrana citoplasmática e da parede celular, inibição da síntese protéica e RNA polimerase ou através da inibição enzimática (Cushnie & Lamb, 2005; Vecchi & Drago, 2007). Baixas concentrações deste composto podem interferir com enzimas de produção de energia e concentrações mais elevadas podem desnaturar as proteínas (Tiwari *et al.*, 2009). Em estudos realizados com *Candida albicans*, os autores observaram que o própolis provocou redução no comprimento das hifas, inibição dose-dependente da atividade da fosfolipase e alteração da estrutura da membrana plasmática (D'Auria *et al.*, 2003).

Os efeitos antimicrobianos do própolis estão bem documentados contra várias bactérias, leveduras, vírus e parasitas, apresentando uma atividade marcada contra vários tipos de microrganismos, como *Streptococcus pneumoniae*, *S. aureus*, *S. aureus* sensível à *Methicillin* e *S. aureus* resistente à *Methicillin*, e algumas bactérias anaeróbicas. A

atividade em relação a estes microrganismos é bacteriostática a baixas concentrações, mas bactericida a concentrações mais elevadas (Sanpa *et al.*, 2015; Sforcin & Bankova, 2011).

A atividade antioxidante do própolis está associada à sua composição química. A presença de flavonóides e outros compostos fenólicos como principais constituintes ativos do própolis com actividade antioxidante, tem sido demonstrada por vários autores (Kumazawa, Hamazaka, & Nakayama, 2004). Os compostos fenólicos, particularmente os flavonóides, são os principais constituintes responsáveis pelas ações terapêuticas do própolis (Arvouet-Grand, Vennat, Pourra, & Legret, 1994).

Estudos realizados demonstraram que o própolis apresenta atividade anti-inflamatória, pelo que previne a formação da cascata inflamatória. A presença de flavonas na composição química do própolis, é uma das explicações para esta atividade biológica. O mecanismo anti-inflamatório consiste na intervenção destes compostos a nível dos mediadores da inflamação e ainda na redução da migração celular e na inibição da produção de radicais livres (Menezes, Alvarez, & Almeida, 1999; Öztürk *et al.*, 2000).

Através da caracterização do própolis, demonstrou-se que este composto não é tóxico para seres humanos ou mamíferos, a menos que este seja administrado numa dose muito elevada (Casquete, Castro, Jácome, & Teixeira, 2016; Mishima *et al.*, 2005). O própolis apresenta um nível baixo de toxicidade aguda, os valores relatados de dose letal (DL50) no animal estão entre 2050-7340 mg/kg (Vecchi & Drago, 2007). No entanto, este pode apresentar pequenas reações, a mais comum é a dermatite. Quanto à aplicação cosmética este também apresenta alguns casos de reações secundárias devido ao seu uso extensivo, havendo um aumento dos casos de alergia (Giusti, Miglietta, Pepe, & Seidenari, 2004; Walgrave, Warshaw, & Glesne, 2005).

7.4. Camomila

Entre as várias espécies utilizadas na medicina popular, a camomila é uma das mais frequentemente usadas. A camomila é o nome genérico dado a diversas plantas da família *Asteraceae*, sendo as espécies mais comuns a *Chamomilla recutita* L., *Matricaria chamomilla* e *Chamaemelum nobile*. É uma planta comumente utilizada para fins medicinais, caracteriza-se como uma planta herbácea anual, aromática e apresenta muitas propriedades bioativas (Gawish *et al.*, 2016; Srivastava & Gupta, 2007). A camomila é normalmente distinguida e representada por duas variedades comuns, a camomila alemã (*Chamomilla recutita*) e a camomila romana (*Chamaemelum nobile*) (Coelho, Scio, Lima, & Nogueira, 2012; Hartmann & Onofre, 2010; Srivastava, Shankar, & Gupta, 2010).

A camomila é a planta medicinal mais cultivada a nível mundial, e, nos dias de hoje, já se inclui como oficial nas farmacopeias de quase todos os países, uma vez que apresenta um grande interesse terapêutico (Carvalho *et al.*, 2014; Coelho, Scio, Lima, & Nogueira, 2012; Gawish *et al.*, 2016). A sua origem é europeia e asiática, mais precisamente no sul da Europa e em algumas regiões da Ásia Ocidental, sendo que esta planta é facilmente

encontrada em países de clima ameno (Carvalho *et al.*, 2014; Coelho, Scio, Lima, & Nogueira, 2012). A parte da camomila comumente utilizada para fins medicinais e terapêuticos é constituída pelos seus extratos florais secos, uma vez que nestes existe uma maior quantidade de compostos bioativos (Hartmann & Onofre, 2010; Souza, Rocha, Melo, & Nixdorf, 2006). Contudo, o conteúdo de compostos bioativos presente na camomila pode variar dependendo do tempo e do local de colheita (Eser *et al.*, 2017).

A utilização da camomila é muito vasta, e, atualmente, é utilizada em diversas indústrias para os mais diversos fins, como na indústria farmacêutica, cosmética, química, alimentar e têxtil (Akgul & Saglikoglu, 2005). As preparações de camomila são comumente usadas para a terapêutica de muitas patologias, incluindo, inflamação, insónias, hematomas, úlceras, irritações da pele, eczema, queimaduras, entre outras (Gawish *et al.*, 2016; Sak *et al.*, 2017; Srivastava, Shankar, & Gupta, 2010). Além destas utilidades da camomila, muitas outras se encontram descritas, como a aplicação para a prevenção e tratamento de alguns tipos de cancro, como o da mama, ovário e próstata (Kozak, Sobczak, & Żukiewicz-Sobczak, 2016; Sak *et al.*, 2017). Os extratos de camomila têm sido amplamente utilizados nos tratamentos de pele à base de plantas, devido às suas propriedades funcionais e ao facto de serem adequados a todos os tipos de pele, sobretudo aos mais sensíveis. O óleo essencial de camomila é bastante utilizado na indústria farmacêutica para o desenvolvimento de cremes e outras preparações farmacológicas de uso externo, cujo objetivo é cicatrizar a pele, reduzir a inflamação, assim como também promover uma atividade antimicrobiana e analgésica. Estas evidências e a utilização desta planta em diversos produtos comerciais, como infusões e cosméticos, reforçam a importância do uso deste composto natural no tratamento de feridas, devido à sua enorme capacidade de cicatrização. No entanto, o estudo da sua incorporação em têxteis para o tratamento dermatológico é ainda residual. As flores de camomila podem ser utilizadas sozinhas ou em combinação com outras plantas, cujo objetivo é diminuir vários tipos de inchaço externo, como inchaço facial associado a infeção subjacente ou abscesso, vários tipos de erupções cutâneas, mamilos gretados e variola (Srivastava, Shankar, & Gupta, 2010).

Os compostos bioativos são normalmente extraídos da camomila utilizando água, etanol ou metanol como solventes, formando extratos aquosos, etanólicos ou metanólicos, respetivamente. Além destes, podem ser utilizados diversos tipos de solventes, podendo estes ser polares ou apolares. Estudos também verificaram que a quantidade de constituintes fenólicos extraídos com diferentes solventes, como por exemplo extratos etanólicos e extratos aquosos, é bastante diferente (Eser *et al.*, 2017). O extrato etanólico apresenta uma maior capacidade de inibir o crescimento bacteriano, uma vez que consegue uma melhor extração dos princípios ativos polares das plantas, os quais se refletem na sua ação antibacteriana. Alguns compostos antimicrobianos já identificados em plantas são aromáticos ou saturados de moléculas orgânicas, o que torna o etanol um solvente ideal. Isto pode ser o resultado da falta de solubilidade dos componentes ativos em soluções apolares (Bayoub *et al.*, 2010; Carvalho *et al.*, 2014; Srivastava, Shankar, & Gupta, 2010).

A composição química da camomila é variada, e diferentes classes de componentes biologicamente ativos estão presentes neste tipo de planta, uma vez que esta tem muitas vias metabólicas secundárias que irão dar origem a diversos compostos (Nogueira, Diniz,

& Lima, 2008). Estes, posteriormente, são isolados e utilizados como preparações medicinais e cosméticas (Sak *et al.*, 2017; Srivastava, Shankar, & Gupta, 2010). Nos extratos das folhas de camomila podem ser encontrados uma série de compostos bioativos, uma vez que os principais constituintes químicos das plantas estão localizados nos canais secretores e nas glândulas multicelulares individuais, situados na parte superior da planta (Hartmann & Onofre, 2010).

Na camomila foram identificados, como metabolitos secundários, mais de 120 constituintes químicos bioativos, incluindo 28 terpenóides, 36 flavonóides e 52 compostos adicionais com potencial farmacológico (Ghayempour & Montazer, 2017; Hartmann & Onofre, 2010). Entre estes compostos bioativos temos (Figura 11): diversos flavonóides, α -bisabolol, camazuleno, apigenina, quercetina, terpenos, cumarinas, entre muitos outros. De todos os compostos já identificados, na camomila podemos encontrar com maior relevância, 50-65% de α -bisabolol e camazuleno, 10% de mucilagens polisacarídicas, 8% de glicosídeos flavonóides e de flavonóis, menos de 1% de taninos, 0,3% de colina e aproximadamente 0,1% de cumarinas (Ghayempour & Montazer, 2017; Hartmann & Onofre, 2010; Srivastava, Shankar, & Gupta, 2010).

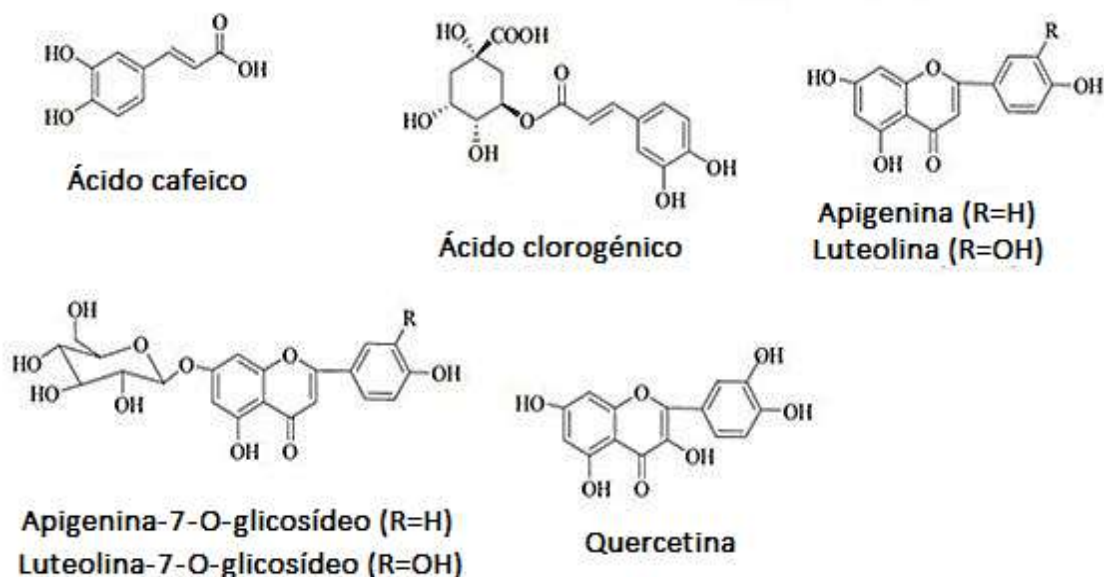


Figura 11. Estrutura química de alguns compostos presentes na camomila (Adaptado de Gawish *et al.*, 2016).

Dos vários flavonóides, a apigenina é considerado o composto mais promissor e com os resultados mais interessantes. Na maioria das vezes, os extratos padronizados contêm 1,2% de apigenina, um dos agentes bioativos mais eficazes, sendo a apigenina-7-glucósido o principal constituinte bioativo da camomila (Srivastava, Shankar, & Gupta, 2010). Desta forma, as atividades farmacológicas da camomila são devidas à presença de vários grupos de substâncias ativas, pelo que a atividade terapêutica da camomila é determinada pelos princípios ativos lipofílicos e hidrofílicos contidos na composição do seu extrato (Hartmann & Onofre, 2010).

Os extratos florais têm sido utilizados em terapias desde o século V a.C. (Šarić, Stanić, Maleš, & Šarić, 1997), pelo que a camomila apresenta uma variedade de potencialidades clínicas, terapêuticas e farmacológicas. A esta planta, têm sido atribuídas

diversas propriedades, como atividades anti-inflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas, imunoestimulantes, ansiolíticas, sedativas, cicatrizantes, entre outras. No entanto, nem todas as propriedades estão sustentadas por evidências científicas sólidas (Ghayempour & Montazer, 2017; Sak *et al.*, 2017; Srivastava, Shankar, & Gupta, 2010).

O extrato de camomila apresenta atividade antibacteriana eficaz contra uma série de bactérias, na grande maioria das vezes. Os principais constituintes da camomila que podem ser apontados como responsáveis pela atividade antimicrobiana são o α -bisabolol, a quercetina e a umbeliferona (Coelho, Scio, Lima, & Nogueira, 2012; Srivastava, Shankar, & Gupta, 2010). Além destes, as cumarinas e o camazuleno também apresentam uma atividade antimicrobiana forte. O consumo de camomila está associado a um aumento significativo dos níveis urinários de hipotato e glicina, que estão associados ao aumento da atividade antibacteriana (Wang *et al.*, 2005). De acordo com o estudo realizado por Hartmann e Onofre (2010), os melhores resultados para a atividade antibacteriana foram obtidos para a *S. aureus*, quando em contacto com o extrato puro de camomila (Hartmann & Onofre, 2010). Por outro lado, de acordo com um estudo desenvolvido por Coelho, Scio, Lima e Nogueira (2012), *P. aeruginosa*, *B. cereus* e o fungo *Cryptococcus neoformans* foram as estirpes mais sensíveis quando em contacto com uma solução metanólica de camomila (Coelho, Scio, Lima, & Nogueira, 2012). A atividade antibacteriana da camomila, quando em contacto com bactérias Gram-positivas e Gram-negativas é diferente. A ausência de inibição de crescimento para bactérias Gram-negativas e a inibição de crescimento para bactérias Gram-positivas pode ser explicada com base na estrutura celular das mesmas. A explicação para a ausência de inibição de crescimento para bactérias Gram-negativas consiste na falta de penetração dos compostos através da membrana celular, composta por uma monocamada lipopolissacarídica, o que restringe a difusão de compostos hidrofóbicos (Onmetta-aree, Suzuki, Gasaluck, & Eumkeb, 2006).

A atividade antioxidante é uma das principais atividades da camomila, sendo que esta é garantida pelas propriedades redox que permitem o comportamento de agentes redutores ou dadores de hidrogénio. Os compostos fenólicos constituem um dos principais grupos de antioxidantes encontrados nas plantas, sendo os flavonóides, lactonas sesquiterpênicas, alguns taninos, quercitina, camazuleno e o bisabolol, os compostos bioativos responsáveis pelas propriedades antioxidantes (Szöke *et al.*, 2004; Srivastava & Gupta, 2007). Os componentes da camomila exibem propriedades antioxidantes nos fibroblastos da pele humana, sugerindo também efeitos anticancerígenos (Sak *et al.*, 2017).

A atividade cicatrizante da camomila é também uma das suas fortes propriedades terapêuticas. Estudos realizados, através de aplicações tópicas de extratos de camomila, demonstraram que este composto é eficaz no tratamento de eczema atópico. A epigenina, um dos principais compostos da camomila, tem efeito dose-dependente, e é responsável por inibir a irritação da pele, assim como também o α -bisabolol, ambos responsáveis pela cicatrização e regeneração da pele (O'Hara *et al.*, 1998). Estudos realizados, relativos à observação da cicatrização de feridas, demonstraram que a camomila apresentou uma maior redução na área da ferida, epitelização mais rápida e o teor de hidroxiprolina foi significativamente maior (Nayak, Raju, & Rao, 2007). Estudos recentes também indicam

que o extrato de camomila induz a cicatrização de feridas mais rapidamente do que os próprios corticosteróides (Martins *et al.*, 2009).

Apenas uma pequena percentagem de indivíduos é sensível à camomila, pelo que alguns deles podem vir a desenvolver reações alérgicas. Pessoas que apresentem sensibilidade a plantas, são mais propensas a desenvolver alergias quando em contato com a camomila, especialmente se administram outros fármacos que desencadeiam algum tipo de sensibilização (Budzinski, Foster, Vandenhoeck, & Arnason, 2000). É possível que algumas das reações alérgicas provocadas, aquando do tratamento com a camomila, possam ser devidas à contaminação da camomila com outras plantas ou outros compostos não puros. Possíveis reações entre a camomila e outros compostos não estão bem documentadas, sendo necessário mais estudos (Srivastava, Shankar, & Gupta, 2010).

8. Compostos bioativos

A pesquisa científica de novos compostos bioativos das plantas medicinais e outras fontes naturais é um campo em rápido crescimento na indústria farmacêutica (Sak *et al.*, 2017). As plantas medicinais produzem uma enorme diversidade de compostos que não têm papéis evidentes nos processos de crescimento e desenvolvimento. Estes podem servir como fitofármacos ou conduzir ao desenvolvimento de novos fármacos semi-sintéticos ou sintéticos. Os compostos bioativos nas plantas medicinais são compostos produzidos pelas plantas com efeitos farmacológicos ou toxicológicos (Bernhoft, 2010a). Os novos compostos de origem nativa possuem grandes promessas como potenciais agentes quimiopreventivos e quimioterapêuticos de próxima geração (Sak *et al.*, 2017). Tipicamente, os compostos bioativos nas plantas medicinais são produzidos como metabolitos secundários (Azmir *et al.*, 2013; Bernhoft, 2010b).

8.1. Metabolitos primários e secundários

O primeiro grupo é composto por metabolitos primários, que são substâncias químicas destinadas ao crescimento e ao desenvolvimento, como por exemplo hidratos de carbono, aminoácidos, proteínas e lipídios (Bernhoft, 2010b; Harborne, 1993).

Os metabolitos secundários, filogeneticamente, parecem ser sintetizados de forma aleatória (Bernhoft, 2010b; Harborne, 1993). Estes ajudam as plantas medicinais a aumentar a sua capacidade de sobrevivência, subsistência e resistência, e assim, permitir a sua interação com o meio ambiente, promovendo o seu desenvolvimento. Os metabolitos secundários produzem uma grande variedade de compostos orgânicos que parece não ter função direta no seu crescimento e desenvolvimento (Bernhoft, 2010a; Taiz & Zeiger, 2002). Os metabolitos secundários, como terpenos, alcalóides, fenóis e

compostos voláteis estão envolvidos na defesa direta ou indireta das plantas medicinais, estando entre os principais metabolitos sintetizados (Taiz & Zeiger, 2002; Troncoso *et al.*, 2012). Na verdade, muitas vezes, os metabolitos secundários encontrados nas plantas medicinais complexas funcionam de forma sinérgica e raramente apenas um único metabolito é responsável pela atividade biológica apresentada. Diferentes espécies de plantas medicinais, de acordo com as suas necessidades, produzem diferentes metabolitos secundários, sendo diferente de espécie para espécie (Brusotti *et al.*, 2014).

Assim, vários destes compostos são produzidos com o objetivo de desempenhar funções importantes nestas plantas (Bernhoft, 2010a). Os metabolitos secundários diferem dos metabolitos primários, uma vez que têm uma distribuição restrita no reino vegetal. Portanto, os metabolitos secundários são especialmente encontrados em apenas uma determinada espécie de plantas ou grupo relacionado de espécies, enquanto que os metabolitos primários são encontrados em todo o reino vegetal (Taiz & Zeiger, 2002).

8.2. Classificação dos compostos bioativos

As plantas medicinais produzem diversos compostos bioativos, pelo que parece ser regra e não exceção. De um modo geral, a maioria das plantas, mesmo as plantas comuns, são capazes de produzir tais compostos. No entanto, as plantas medicinais contêm maiores concentrações e maior quantidade de compostos bioativos, sendo também mais potentes que os desenvolvidos pelas plantas comuns (Bernhoft, 2010b).

Os diferentes grupos em que os compostos bioativos podem ser classificados ainda não é concordante entre a comunidade científica, uma vez que esta classificação depende das categorias abordadas. Contudo, os compostos bioativos das plantas podem ser divididos em diferentes classes, entre elas os alcalóides, monoterpenos, sesquiterpenos, triterpenos, saponinas, esteróides, flavonóides, poliacetilenos e policetídeos, como se pode observar na figura 12 (Ong, 2004; Wink, 2003).

Todas estas classes podem ser agrupadas e divididas em apenas três categorias principais. De acordo com estudos realizados por vários investigadores, as propriedades farmacológicas de alguns metabolitos secundários bem conhecidos são categorizadas em terpenóides, alcalóides e compostos fenólicos (Choudhary & Swarnkar, 2011; Jahn *et al.*, 2012; Kashani, Hoseini, Nikzad, & Aarabi, 2012).

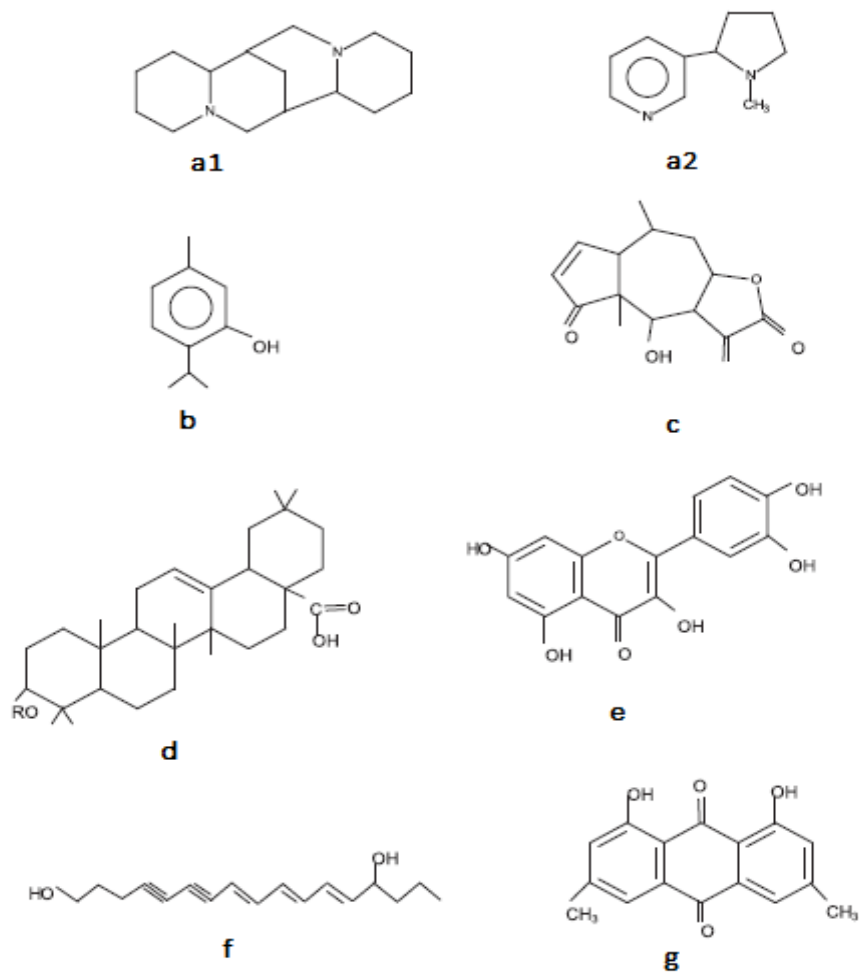


Figura 12. Estruturas gerais das diferentes categorias de compostos bioativos das plantas medicinais: (**a1** e **a2**) alcalóides, (**b**) monoterpenos, (**c**) sesquiterpenos, (**d**) triterpenos, saponinas e esteróides, (**e**) flavonóides, (**f**) poliacetilenos e (**g**) policetídeos (Adaptado de Wink, 2003).

8.2.1. Terpenos

Os terpenos e terpenóides constituem a maior classe de metabolitos secundários e têm aproximadamente 25.000 tipos diferentes. Os terpenóides, presentes nas plantas medicinais, desempenham papéis muito importantes nos fármacos tradicionais. Estes, distribuem-se amplamente pela natureza e são encontrados em abundância nas plantas superiores (Taiz & Zeiger, 2002; Xu, Li, Dai, & Peng, 2018). Como exemplo destes compostos bioativos, temos ácido abscísico, ácido oleanólico, pinitol, ácido ursólico, entre muitos outros (Xu, Li, Dai, & Peng, 2018).

Os terpenos apresentam um papel importante como compostos sinalizadores ou fatores de crescimento nas plantas. No entanto, as funções biológicas ainda não foram completamente investigadas, pelo que a propriedade de repelente de insetos, antimicrobiana e anti-inflamatória são três das suas atividades já descobertas. No grupo dos terpenos e terpenóides, as unidades básicas de 5-carbono de terpenos são sintetizadas por duas vias diferentes. Os terpenos são produzidos através da via do ácido mevalônico

e da via do fosfato de metileritritol (MEP). Neste grupo, as diversas substâncias são geralmente insolúveis em água e o processo de biossíntese ocorre a partir de certos compostos intermediários, como a acetil-CoA ou os glicolíticos. Os terpenos são produtos naturais, onde a sua estrutura pode ser dividida em unidades de isopreno de cinco carbonos, por isso também podem ser conhecidos como isoprenóides (Croteau, Kutchan, & Lewis, 2000; Taiz & Zeiger, 2002).

8.2.2. Alcalóides

Existem aproximadamente 15.000 tipos de alcalóides diferentes, que contêm nitrogénio encontrado em aproximadamente 20% das espécies das plantas vasculares. Entre os inúmeros alcalóides presentes em algumas plantas medicinais e compostos biologicamente ativos, temos berberina, cafeína, tetrandrina, piperina, entre outros (Taiz & Zeiger, 2002; Xu, Li, Dai, & Peng, 2018).

Os alcalóides apresentam uma vasta gama de atividades, entre elas anti-hiperglicémica, anticancerígena e antimicrobiana. Os compostos que pertencem ao grupo dos alcalóides, metabolitos secundários com nitrogénio, são caracterizados por um anel heterocíclico que contém átomos de nitrogénio e de carbono. Estes metabolitos secundários com nitrogénio são sintetizados principalmente a partir de aminoácidos comuns. Neste grupo, os alcalóides podem ser produzidos por aminoácidos aromáticos, provenientes da via do ácido chiquímico, ou por aminoácidos alifáticos, provenientes do ciclo do ácido tricarbóxico (TCA) (Croteau, Kutchan, & Lewis, 2000; Taiz & Zeiger, 2002).

8.2.3. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são um grupo quimicamente heterogéneo com cerca de 10.000 tipos de compostos individuais diferentes, sendo alguns solúveis apenas em solventes orgânicos, outros, como ácidos carboxílicos e glicósidos, solúveis em água, e ainda um terceiro grupo de compostos grandes e insolúveis. Os compostos fenólicos presentes nas plantas medicinais, são responsáveis por algumas das suas atividades biológicas e propriedades bioativas (Eser *et al.*, 2017). De acordo com Eser e seus colaboradores (2017), maiores concentrações de compostos fenólicos foram encontradas em extratos etanólicos e, valores elevados de conteúdo fenólico são importantes em termos do perfil da planta medicinal (Eser *et al.*, 2017). Os compostos fenólicos presentes nas plantas medicinais e compostos biologicamente ativos são inúmeros, como exemplo, temos resveratrol, quercetina, rutina, curcumina, apigenina, entre outros (Xu, Li, Dai, & Peng, 2018).

Uma grande maioria dos compostos fenólicos apresenta atividades antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana (Xu, Li, Dai, & Peng, 2018). Os compostos fenólicos são sintetizados através da via do ácido chiquímico e da via do ácido malónico. Os fenóis das plantas são biossintetizados de várias formas, no entanto, nas plantas superiores, a maioria dos compostos fenólicos são derivados em parte da fenilalanina, produto da via do ácido chiquímico (Croteau, Kutchan, & Lewis, 2000; Eser *et al.*, 2017; Taiz & Zeiger, 2002).

B. Objetivos

Este projeto faz parte da pesquisa voltada para o desenvolvimento de substratos têxteis inovadores para a prevenção e tratamento dermatológico de patologias através de substratos têxteis funcionais com extratos naturais. O objetivo principal é desenvolver substratos têxteis inovadores para prevenção e tratamento dermatológico de patologias através de substratos têxteis funcionais de origem natural impregnados com complexos de inclusão com extratos naturais e compostos biologicamente ativos microencapsulados com β -ciclodextrinas. Assim, o objetivo deste estudo é avaliar o potencial antioxidante e antimicrobiano de substratos têxteis origem natural (fibras celulósicas) funcionais, incorporados com biomateriais nano e microencapsulados.

Assim, as principais linhas de pesquisa e os objetivos específicos deste trabalho são:

1. Estudar os processos de extração, concentração, manipulação, formulação dos compostos naturais e sua adequação à aplicação têxtil;
2. Estudar as potencialidades da atividade antibacteriana dos compostos naturais contra estirpes Gram-negativas e Gram-positivas com e sem resistência antibacteriana;
 - a) Analisar e comparar as diferenças entre o controle e as amostras experimentais;
 - b) Analisar e comparar a atividade antibacteriana de acordo com as diferentes concentrações utilizadas.
3. Estudar os processos de encapsulação e formação do complexo de inclusão do composto natural com β -ciclodextrinas;
 - a) Analisar e comparar as diferenças entre o controle e as amostras experimentais;
 - b) Analisar e comparar as diferenças entre a funcionalidade do composto natural e a funcionalidade do complexo de inclusão do composto natural com β -ciclodextrinas.
4. Estudar os processos de impregnação do complexo de inclusão do composto natural com β -ciclodextrinas nos diferentes substratos têxteis;
 - a) Analisar e comparar as diferenças antes e depois da funcionalização do substrato têxtil;
 - b) Analisar e comparar as diferenças entre o controle e as amostras experimentais;

- c) Analisar e comparar as diferenças entre as diferentes concentrações utilizadas nos ensaios experimentais;
 - d) Analisar e comparar as diferenças entre a presença e a ausência de agentes ligantes.
5. Caracterizar o composto natural, as β -ciclodextrinas e os substratos têxteis impregnados com o complexo de inclusão do composto natural com β -ciclodextrinas;
- a) Analisar e comparar as diferenças entre o controle e as amostras experimentais;
 - b) Analisar e comparar as diferenças entre a presença e a ausência de agentes ligantes;
 - c) Analisar e comparar as diferenças entre as diferentes composições de algodão dos substratos têxteis utilizados.
6. Estudar as potencialidades da atividade antioxidante do complexo de inclusão do composto natural com β -ciclodextrinas nos substratos têxteis;
- a) Analisar e comparar as diferenças entre o controle e as amostras experimentais;
 - b) Analisar e comparar as diferenças entre as diferentes concentrações utilizadas nos ensaios experimentais;
 - c) Analisar e comparar as diferenças entre a presença e a ausência de agentes ligantes.
7. Estudar as potencialidades da atividade antibacteriana do complexo de inclusão do composto natural com β -ciclodextrinas nos substratos têxteis contra estirpes Gram-negativas e Gram-positivas;
- a) Analisar e comparar as diferenças entre o controle e as amostras experimentais;
 - b) Analisar e comparar as diferenças entre a presença e a ausência de agentes ligantes.
8. Aplicar os conhecimentos adquiridos para o desenvolvimento de soluções têxteis funcionais.

Os objetivos específicos propostos para este estudo devem seguir a sequência lógica estabelecida para que a realização deste projeto seja executada com sucesso.

C. Materiais e métodos

Este estudo foi realizado na RDD *Textiles (Research, Design and Development)*, no CENTI (*Centre of Nanotechnology and Smart Materials*) e no CITEVE (Centro Tecnológico Têxtil e Vestuário). Além disso, contou com a colaboração da ESS-IPP (Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto) e das empresas Valérius e António Barroso.

A. Materiais

1. População e amostra de estudo

Para a elaboração do presente trabalho foram selecionadas três plantas medicinais e os seus respetivos compostos bioativos. As três plantas medicinais selecionadas foram o resveratrol (CebaNatural), o própolis (Biprol) e a camomila (Rota das Índias). Posteriormente, uma amostra representativa e aleatória foi recolhida para uma população de substratos têxteis previamente selecionados. Os substratos têxteis selecionados apresentavam na sua constituição diferentes composições de algodão e elastano. Os substratos têxteis selecionados foram o AMAJAW 18019 (88% algodão orgânico e 12% elastano) (RDD) e o AMAJAW 18008 (95% algodão orgânico e 5% elastano) (RDD).

A amostra do estudo foi submetida a vários processos de microencapsulação do composto natural bioativo selecionado, obtendo-se o desenvolvimento de substratos têxteis funcionais com extratos naturais para a população com patologias dermatológicas.

2. Estirpes utilizadas

A análise da atividade microbiológica dos extratos de plantas medicinais e dos substratos têxteis funcionais foi realizada com estirpes aeróbias mesófilas Gram-positivas e Gram-negativas. As Gram-positivas utilizadas foram *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* ATCC 6538 resistente à *Penicillin* (6538 P) e a *S. aureus* ATCC 43300 resistente à *Methicillin* (MRSA) e a estirpe Gram-negativa foi a *E. coli* ATCC 25922.

3. Reagentes químicos

Para a realização dos procedimentos laboratoriais do presente trabalho foram utilizados vários reagentes químicos. Utilizou-se água (H₂O) ultrapura (*Millipore* com

uma resistividade de 18,2 MW.cm), etanol (CH₃CH₂OH) 99,5% (*Aga*), DMSO (Dimetilsulfóxido) 99,5% (*Sigma-Aldrich*), meio de cultura sólido TSA (do inglês, *Tryptic Soy Agar*) (*VWR Chemicals*), meio de cultura líquido TSB (do inglês, *Tryptic Soy Broth*) (*VWR Chemicals*), cloreto de sódio (NaCl) (*Carlo Erba Reagents*), β -ciclodextrinas (*Roquette*), glioxal 40wt.% em água (*Sigma-Aldrich*), glutaraldeído 50wt.% em água (*Panreac*), ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)) $\geq 98\%$ (*Sigma-Aldrich*), hidrogenofosfato de potássio (K₂HPO₄) (*Merck*) e dihidrogenofosfato de potássio (KH₂PO₄) (*Panreac*).

4. Equipamentos

Para a realização dos procedimentos laboratoriais do presente trabalho, vários equipamentos foram necessários. Utilizou-se placa de aquecimento com agitação (*Scansi – IKA C-MA6 HS7*), evaporador rotativo (*Buchi Switzerland*), estufa (*Binder*), incubadora orbital (*VWR Incubating Orbital Shaker*), autoclave (*Uniclave 88*), espectrofotômetro visível (*GENESYS™ 20 Visible Spectrophotometer*), banho de ultrassons (*Selecta*), foulard (*Werner Mathis AG*), secadeira (*Werner Mathis AG*), espectrofotômetro UV-Vis (Ultravioleta-Visível) (*UV-Vis lambda 35 da Perkin Elmer*) e espectrofotômetro de FTIR-ATR (do inglês, *Fourier-Transform Infrared with Fourier Attenuated Total Reflection Spectroscopy*) (*Spectrum 100 da Perkin Elmer*).

B. Métodos

Na sequência deste estudo, a análise da atividade microbiológica foi realizada para avaliar a atividade antimicrobiana presente nos extratos de plantas medicinais e nos substratos têxteis com propriedades funcionais. A análise química foi realizada através da avaliação da atividade antioxidante presente nos substratos têxteis com propriedades funcionais. Também foram realizadas técnicas de microencapsulação para os compostos biologicamente ativos com as β -ciclodextrinas e soluções para a formulação de complexos de inclusão para o processo de impregnação nos substratos têxteis.

1. Extração de compostos bioativos de plantas medicinais

Para a análise e extração dos compostos bioativos presentes nas três plantas medicinais selecionadas, procedeu-se ao método de extração a quente em sistema aberto por infusão/decoção. Este método de extração foi realizado com diferentes solventes e com diferentes condições extrativas. Os solventes escolhidos foram a água e o etanol, realizando-se assim extrações aquosas a 100°C e a 80°C e extrações etanólicas (99,5% etanol) a 70°C e a 30°C do resveratrol e da camomila, tendo por base o método extrativo

realizado por Azwanida (2015) e por Handa, Khanuja, Longo e Rakesh (2008), com modificações na temperatura, tempo e solvente utilizado para a extração (Azwanida, 2015; Handa, Khanuja, Longo, & Rakesh, 2008). Para o própolis não foi realizado nenhum tipo de extração, uma vez que este já se encontrava em extrato etanólico a 73,5% etanol, tendo-se também diluído posteriormente a 36,75% etanol.

2. Concentração dos compostos bioativos dos extratos de plantas medicinais no evaporador rotativo

A concentração dos compostos bioativos dos extratos aquosos e etanólicos do resveratrol e da camomila, obtidos anteriormente, e dos extratos etanólicos a 73,5% etanol e a 36,75% etanol do própolis, foi realizada de acordo com o método efetuado por Deng *et al.* (2018) e por Ge *et al.* (2018), com modificações na temperatura e tempo de concentração no evaporador rotativo (Deng *et al.*, 2018; Ge *et al.*, 2018).

3. Análise da atividade antibacteriana dos extratos de plantas medicinais

A análise da atividade microbiológica dos extratos de plantas medicinais e seus compostos bioativos, foi realizada tendo em conta o conjunto de estirpes previamente selecionadas.

3.1. Teste da suscetibilidade aos antibacterianos

Os extratos de plantas medicinais selecionados para o teste da suscetibilidade aos antibacterianos foram, os extratos aquosos a 100°C e a 80°C e os extratos etanólicos (99,5% etanol) a 70°C e a 30°C do resveratrol e da camomila, os extratos etanólicos a 73,5% etanol e a 36,75% etanol do própolis, assim como os respectivos extratos concentrados de cada um dos extratos referidos. Para cada ensaio, foram efetuados controlos, que permitiram garantir que os resultados apresentados são dos compostos bioativos dos extratos e não dos solventes utilizados.

O teste da suscetibilidade aos antibacterianos, foi realizado tendo em conta os padrões de desempenho, critérios e normas recomendadas pelo *CLSI* (do inglês, *Clinical and Laboratory Standards Institute*) (Cockerill *et al.*, 2013). Para a análise antibacteriana dos microrganismos em relação às plantas medicinais, foi efetuada a medição do diâmetro dos halos de inibição formados pelas estirpes testadas, tendo sido considerado de acordo com o padronizado que, o diâmetro dos halos de inibição ≥ 9 mm apresenta atividade antibacteriana. Este ensaio, foi realizado de acordo com o teste de Kirby e Bauer (Carvalho *et al.*, 2014; Hudzicki, 2009; Smânia *et al.*, 1995).

3.2. Análise da atividade antibacteriana do extrato de resveratrol

O extrato etanólico (99,5% etanol) de resveratrol a 70°C concentrado, apresentou os melhores resultados de atividade antibacteriana relativamente às outras amostras (3.1.), pelo que, este foi selecionado para prosseguir com a análise da atividade microbiológica a diferentes concentrações (10% a 90%), contra estirpes Gram-positivas. Para cada ensaio, foram efetuados controlos, que permitiram garantir que os resultados apresentados são dos compostos bioativos dos extratos e não dos solventes utilizados.

3.2.1. Análise da atividade antibacteriana do extrato de resveratrol em meio de cultura líquido

A análise da atividade microbiológica para a suscetibilidade aos antibacterianos do extrato etanólico (99,5% etanol) de resveratrol a 70°C concentrado em meio de cultura líquido, foi efetuada com o intuito de, através das densidades óticas, avaliar, se ocorria ou não, a inibição do crescimento das estirpes por parte do extrato anteriormente selecionado. A análise da atividade microbiológica para o teste da suscetibilidade aos antibacterianos, foi realizada tendo em conta os padrões de desempenho, critérios e normas recomendadas pelo CLSI (do inglês, *Clinical and Laboratory Standards Institute*) (Cockerill *et al.*, 2013). A análise da atividade microbiológica do extrato etanólico (99,5% etanol) de resveratrol a 70°C concentrado em meio de cultura líquido, foi realizada de acordo com Knapp e seus colaboradores (2015) e com Wesgate, Grasha e Maillard (2016), com modificações na temperatura e tempo de incubação (Knapp *et al.*, 2015; Wesgate, Grasha & Maillard, 2016).

3.2.2. Análise da atividade antibacteriana do extrato de resveratrol em meio de cultura sólido

Após os ensaios microbiológicos para a suscetibilidade aos antibacterianos do extrato etanólico (99,5% etanol) de resveratrol a 70°C concentrado em meio de cultura líquido (3.2.1.), procedeu-se à realização da análise da atividade microbiológica para a suscetibilidade aos antibacterianos do extrato etanólico (99,5% etanol) de resveratrol a 70°C concentrado em meio de cultura sólido, como forma de verificar a viabilidade celular após o contacto com os potenciais agentes antibacterianos presentes no extrato, através da ausência ou presença de crescimento de colónias das estirpes testadas. A análise da atividade microbiológica para o teste da suscetibilidade aos antibacterianos, foi realizada tendo em conta os padrões, critérios e normas recomendadas pelo CLSI (do inglês, *Clinical and Laboratory Standards Institute*) (Cockerill *et al.*, 2013). A análise da atividade microbiológica do extrato etanólico (99,5% etanol) de resveratrol a 70°C concentrado em meio de cultura sólido, foi realizada de acordo com o protocolo de funcionamento interno implementado no laboratório de microbiologia da ESS-IPP.

4. Formação dos complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas

Para a formação de complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas seguiu-se uma metodologia de encapsulação ligeiramente modificada relativamente ao tipo de extrato de resveratrol utilizado, de forma a otimizar o processo (A e B). Para cada ensaio, foram efetuados controlos, que permitiram garantir a fiabilidade dos resultados obtidos.

4.1. Complexo de inclusão (A) – Extrato etanólico (99,50% etanol) de resveratrol a 70°C concentrado

Neste procedimento, foi utilizado o extrato etanólico (99,50% etanol) de resveratrol a 70°C concentrado, anteriormente preparado, aquando dos ensaios antibacterianos. A formação do complexo de inclusão do extrato etanólico (99,50% etanol) de resveratrol a 70°C concentrado com β -ciclodextrinas, foi avaliada através do espectrofotómetro ultravioleta-visível. O procedimento para a encapsulação do mesmo, foi realizado de acordo com Bertacche e seus colaboradores (2006), Lu e seus colaboradores (2009), Nishihira e seus colaboradores (2013) e Savić-Gajić e seus colaboradores (2017) (Bertacche *et al.*, 2006; Lu *et al.*, 2009a; Nishihira *et al.*, 2013; Savić-Gajić *et al.*, 2017).

4.2. Complexo de inclusão (B) – Extrato de resveratrol em solução etanólica (99,50% etanol)

Neste procedimento, foi utilizado o extrato de resveratrol em solução etanólica (99,50% etanol), tal como descrito no estudo realizado por Nishihira e seus colaboradores (2013) (Nishihira *et al.*, 2013). A formação do complexo de inclusão do extrato de resveratrol em solução etanólica (99,50% etanol) com β -ciclodextrinas, foi avaliada através do espectrofotómetro ultravioleta-visível. O procedimento para a encapsulação do mesmo, foi realizado de acordo com Bertacche e seus colaboradores (2006), Lu e seus colaboradores (2009), Nishihira e seus colaboradores (2013) e Savić-Gajić e seus colaboradores (2017) (Bertacche *et al.*, 2006; Lu *et al.*, 2009a; Nishihira *et al.*, 2013; Savić-Gajić *et al.*, 2017).

5. Impregnação têxtil com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas

Para a impregnação dos complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas, anteriormente preparados, nos substratos têxteis, realizou-se a técnica de foulardagem. Os substratos têxteis funcionalizados, foram posteriormente avaliados através da gramagem (massa em gramas por metro quadrado), obtendo-se o *wet pick-up* (%), e pela técnica de FTIR-ATR. Para cada ensaio, foram efetuados controlos, que permitiram garantir a fiabilidade dos resultados obtidos.

Além das soluções dos complexos de inclusão anteriormente preparadas, foram também preparadas soluções dos complexos de inclusão com agente de ligação, o glioxal (1%) ou o glutaraldeído (1%), de modo a promover uma maior fixação do complexo de inclusão na superfície têxtil. O procedimento para a impregnação dos complexos de inclusão formados pela técnica de foulardagem, foi realizado de acordo com Martins, Chiapetta, Carvalho e Cassella (2015), com modificações na temperatura, agitação, pressão e tempo de impregnação, assim como agentes de ligação utilizados (Martins, Chiapetta, Carvalho, & Cassella, 2015).

6. Análise da atividade antioxidante dos substratos têxteis funcionalizados com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas

Para estudar a funcionalização dos substratos têxteis com resveratrol, procedeu-se à análise da atividade antioxidante (%). Esta foi realizada para os substratos têxteis funcionais impregnados com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas com os melhores resultados, de acordo com os resultados obtidos nos procedimentos laboratoriais realizados anteriormente, determinando assim a percentagem de atividade antioxidante obtida. Para cada ensaio, foram efetuados controlos, que permitiram garantir a fiabilidade dos resultados obtidos.

Para a análise da atividade antioxidante do resveratrol foi realizado o método do radical ABTS. O procedimento para a análise da atividade antioxidante dos substratos têxteis funcionais impregnados com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas, pelo método do radical ABTS, foi realizado de acordo com Alonso e seus colaboradores (2013), Re e seus colaboradores (1999) e Zemljič e seus colaboradores (2014) (Alonso *et al.*, 2013; Re *et al.*, 1999; Zemljič *et al.*, 2014).

7. Análise da atividade antibacteriana dos substratos têxteis funcionalizados com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas

A análise da atividade microbiológica dos substratos têxteis funcionalizados com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas, foi realizada tendo em conta o conjunto de estirpes previamente selecionadas. Para analisar a funcionalização dos mesmos, procedeu-se à determinação da atividade antibacteriana do substrato têxtil funcional impregnado com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas que apresentou os melhores resultados. O substrato têxtil com os melhores resultados foi escolhido de acordo com os resultados obtidos nos procedimentos laboratoriais anteriormente realizados. Para cada ensaio, foram efetuados controlos, que permitiram garantir a fiabilidade dos resultados obtidos.

O procedimento para a determinação da atividade antibacteriana do substrato têxtil funcional impregnado com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas, e assim, a realização da análise da atividade microbiológica para o teste da suscetibilidade aos antibacterianos, foi realizado de acordo com a *ISO 20743:2013 – Textiles - Determination of antibacterial activity of textile products (ISO 20743:2013)*.

8. Desenvolvimento de protótipos com o substrato têxtil funcionalizado com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas

Os protótipos desenvolvidos foram realizados com o substrato têxtil funcional impregnado com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas que apresentou os melhores resultados, ao longo dos ensaios laboratoriais realizados anteriormente. Foram desenvolvidas peças de vestuário de primeira camada (contacto direto com a pele), por forma a promover um melhor tratamento das patologias dermatológicas. Para o desenvolvimento dos protótipos, a equipa de engenheiros têxteis, químicos e bioquímicos procedeu à escolha de substratos têxteis cuja composição, estrutura e acabamento do substrato têxtil se apropsiasse ao objetivo final e promovesse um melhor conforto e uma melhor qualidade de vida ao usuário. De seguida, a equipa de bioquímicos procedeu à funcionalização dos substratos têxteis selecionados, realizando também todos os ensaios microbiológicos e químicos. Para o desenvolvimento das peças de vestuário, a equipa de designs desenvolveu peças ergonómicas e adequadas à finalidade pretendida. Após o desenvolvimento, procedeu-se à produção de moldes das peças de vestuário, para a posterior confeção e produção dos protótipos de vestuário finais. Por fim, desenvolveram-se duas linhas de vestuário, uma *Sweatshirt* de homem de manga comprida *Raglan Sketch* e umas *Leggings* de mulher, ambas de primeira camada, com o substrato têxtil funcionalizado com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas selecionado, com propriedades antioxidantes e antimicrobianas. Os protótipos desenvolvidos foram concretizados de acordo com a ficha técnica de confeção da *Sweatshirt* de homem de manga comprida *Raglan Sketch* (Anexo A) e de acordo com a ficha técnica de confeção das *Leggings* de mulher (Anexo B).

C. Análise estatística

O programa informático *Microsoft Office Excel 2016*, foi utilizado para realizar a análise dos resultados obtidos das variáveis de interesse, tendo-se efetuado, sempre que possível, para os resultados analisados, a média, o desvio padrão e a normalização.

Conforme mencionado anteriormente, foram estudadas as variáveis de sete características diferentes: (1) estudar os processos de extração, concentração,

manipulação, formulação dos compostos naturais e sua adequação à aplicação têxtil; (2) estudar as potencialidades da atividade antibacteriana dos compostos naturais contra estirpes Gram-negativas e Gram-positivas com e sem resistência antibacteriana; (3) estudar os processos de encapsulação e formação do complexo de inclusão do composto natural com β -ciclodextrinas; (4) estudar os processos de impregnação do complexo de inclusão do composto natural com β -ciclodextrinas nos diferentes substratos têxteis; (5) caracterizar o composto natural, as β -ciclodextrinas e os substratos têxteis impregnados com o complexo de inclusão do composto natural com β -ciclodextrinas; (6) estudar as potencialidades da atividade antioxidante do complexo de inclusão do composto natural com β -ciclodextrinas nos substratos têxteis; (7) estudar as potencialidades da atividade antibacteriana do complexo de inclusão do composto natural com β -ciclodextrinas nos substratos têxteis contra estirpes Gram-negativas e Gram-positivas. Este estudo envolveu: (i) análise e comparação das diferenças entre o controlo e as amostras experimentais; (ii) análise e comparação da atividade antibacteriana de acordo com as diferentes concentrações utilizadas; (iii) análise e comparação das diferenças entre a funcionalidade do composto natural e a funcionalidade do complexo de inclusão do composto natural com β -ciclodextrinas; (iv) análise e comparação das diferenças antes e depois da funcionalização do substrato têxtil; (v) análise e comparação das diferenças entre as diferentes concentrações utilizadas nos ensaios experimentais; (vi) análise e comparação das diferenças entre a presença e a ausência de agentes ligantes; (vii) análise e comparação das diferenças entre as diferentes composições de algodão dos substratos têxteis utilizados.

Assim, a análise dos resultados obtidos permitiu estudar a presença do composto natural nos substratos têxteis funcionalizados, assim como também verificar a sua atividade antibacteriana e antioxidante.

D. Resultados e discussão

1. Análise da atividade antibacteriana dos extratos de plantas medicinais

O método de extração para as plantas medicinais varia dependendo do efeito pretendido. Os compostos bioativos presentes nas plantas e compostos medicinais são extraídos com vários tipos de solventes. Podem ser utilizados diversos solventes, podendo estes ser polares ou apolares. Os solventes mais utilizados são a água, etanol ou metanol, podendo também ocorrer extrações onde o solvente de extração é uma mistura, como por exemplo o hidroalcoólico (Eser *et al.*, 2017). As técnicas mais comuns para extrair compostos fenólicos utilizam solventes orgânicos ou inorgânicos. Vários parâmetros podem influenciar o rendimento de compostos bioativos e a atividade antibacteriana, incluindo: (i) grau de divisão; (ii) tempo de extração; (iii) agitação; (iv) temperatura; (v) número de repetições de extração da amostra; (vi) proporção amostra-solvente; (vii) tipo de solvente. Além disso, a recuperação ideal de compostos bioativos é diferente de amostra para amostra. Ou seja, o resveratrol, o própolis e a camomila apresentam rendimentos de extração e atividade antibacteriana diferentes, uma vez que estes são constituídos por compostos bioativos diferentes que se comportam de maneiras diferentes para os mesmos tipos e mesmas condições de extração (Azwanida, 2015; Carvalho *et al.*, 2014; Khoddami, Wilkes, & Roberts, 2013).

No presente estudo, dentro das extrações realizadas, para a maioria dos extratos estudados os resultados apresentados mostraram que a extração etanólica foi melhor comparativamente à aquosa, independentemente das temperaturas utilizadas para as extrações, e que, os diferentes solventes mostraram atividades diferentes, dado que, diferentes quantidades e famílias de compostos bioativos foram extraídos. Além disto, as extrações etanólicas, de um modo geral, apresentaram uma atividade antibacteriana com melhores resultados. Comparando os resultados do extrato puro com os do extrato concentrado, a maioria dos resultados mostrou-se melhor e com melhor inibição da atividade antibacteriana para os extratos concentrados das respectivas plantas e compostos medicinais. Verificou-se, ainda que, os resultados dos extratos aquosos concentrados apresentaram melhores resultados de atividade antibacteriana, quando comparados com os extratos etanólicos concentrados. Apesar disto, os extratos etanólicos concentrados são preferidos, dado que a extração etanólica permite uma maior extração de compostos fenólicos, logo supõe-se que vá permitir uma maior atividade antioxidante aliada à comprovada atividade antibacteriana. Estes resultados mostram-se concordantes com os de outros estudos realizados, dado que, diferentes autores verificaram que a quantidade de constituintes fenólicos extraídos com diferentes solventes, como por exemplo extratos etanólicos e extratos aquosos, é bastante diferente, e que os extratos etanólicos apresentavam uma maior quantidade de compostos bioativos extraídos (Bankova, De Castro, & Marcucci, 2000; Eser *et al.*, 2017; Vecchi & Drago, 2007).

1.1. Teste da suscetibilidade antibacteriana

1.1.1. Resveratrol

As propriedades medicinais do resveratrol já se encontram documentadas tanto para bactérias Gram-positivas como para Gram-negativas, como por exemplo atividade anti-inflamatória, antioxidante e antibacteriana. De entre vários compostos bioativos, os principais constituintes responsáveis pelas propriedades bioativas do resveratrol são os compostos fenólicos (Ferreira & Domingues, 2016; Hwang & Lim, 2015; Silva *et al.*, 2017). Os resultados apresentados para as Gram-positivas e para as Gram-negativas, na maioria dos estudos realizados, não são os mesmos, o que vai de acordo com os nossos resultados apresentados. Os resultados dos extratos do resveratrol concentrados, no geral, foram melhores para todas as estirpes bacterianas testadas, sendo que a grande maioria das Gram-positivas apresentou forte suscetibilidade aos extratos. Desta forma, o resveratrol apresenta diferentes efeitos dependendo dos microrganismos envolvidos e do método e das condições de extração realizadas (Gülçin, 2010; Paulo *et al.*, 2010; Soto, Falqué, & Domínguez, 2015).

1.1.1.1. Extrato etanólico (99,50%) do resveratrol

O extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C (Tabela 1. A.) apresenta atividade antibacteriana para a maioria das estirpes testadas, apenas a *S. aureus* ATCC 29213 ($d=8,0\pm 0,0\text{mm}$) e a *E. coli* ATCC 25922 ($d=0,0\pm 0,0\text{mm}$) não apresentam suscetibilidade antibacteriana. Já para o extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 30°C (Tabela 1. B.), a maioria das estirpes testadas não apresentam atividade antibacteriana, uma vez que apenas a *S. aureus* ATCC 6538 ($d=11,0\pm 1,4\text{mm}$) apresenta suscetibilidade antibacteriana.

Tabela 1. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C e a 30°C.

Estirpe	<u>Diâmetro do halo de inibição (mm)</u>			
	<u>A. Extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C</u>		<u>B. Extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 30°C</u>	
	<u>Média do halo de inibição (\bar{x})</u>	<u>Desvio padrão (σ)</u>	<u>Média do halo de inibição (\bar{x})</u>	<u>Desvio padrão (σ)</u>
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	10,5*	0,7	11,0*	1,4
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P	9,5*	0,7	8,5	0,7
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	8,0	0,0	8,5	0,7
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 MRSA	11,5*	0,	8,5	0,7

Legenda: * – halos de inibição com diâmetros $\geq 9\text{mm}$ possuem atividade antibacteriana.

1.1.1.2. Extrato aquoso do resveratrol

Quanto ao extrato aquoso do resveratrol a 100°C (Tabela 2. A.), verifica-se que não apresenta atividade antibacteriana para todas as estirpes testadas, não se verificando suscetibilidade antibacteriana. Quando analisado o extrato aquoso do resveratrol a 80°C (Tabela 2. B.), este apresenta atividade antibacteriana para a *S. aureus* ATCC 43300 *MRSA* ($d=15,0\pm 5,7$ mm), todas as outras estirpes testadas não apresentam suscetibilidade antibacteriana.

Tabela 2. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato aquoso do resveratrol a 100°C e a 80°C.

Estirpe	<u>Diâmetro do halo de inibição (mm)</u>			
	<u>A. Extrato aquoso do resveratrol a 100°C</u>		<u>B. Extrato aquoso do resveratrol a 80°C</u>	
	<u>Média do halo de inibição (\bar{x})</u>	<u>Desvio padrão (σ)</u>	<u>Média do halo de inibição (\bar{x})</u>	<u>Desvio padrão (σ)</u>
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	3,5	5,0	4,0	4,2
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P	4,0	0,0	7,5	0,7
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	2,5	2,1	7,5	0,7
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 <i>MRSA</i>	1,0	0,0	15,0*	5,7

Legenda: * – halos de inibição com diâmetros ≥ 9 mm possuem atividade antibacteriana.

1.1.1.3. Extrato etanólico (99,50%) do resveratrol concentrado

Os resultados relativos ao extrato etanólico (99,50%) do resveratrol, tanto para a extração a 70°C (Tabela 3. A.) como para a 30°C (Tabela 3. B.) concentrado, são muito relevantes. Para ambas as extrações, todas as estirpes Gram-positivas testadas apresentam suscetibilidade antibacteriana, e apenas a estirpe Gram-negativa testada, *E. coli* ATCC 25922, não apresenta suscetibilidade antibacteriana. No entanto, o extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado apresenta resultados melhores, com um diâmetro do halo de inibição máximo de $15,5\pm 2,1$ mm para a *S. aureus* ATCC 43300 *MRSA*, sendo estes os melhores resultados para a atividade antibacteriana das estirpes dos extratos testados.

Tabela 3. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C e a 30°C concentrado.

Estirpe	<u>Diâmetro do halo de inibição (mm)</u>			
	<u>A. Extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado</u>		<u>B. Extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 30°C concentrado</u>	
	<u>Média do halo de inibição (x)</u>	<u>Desvio padrão (σ)</u>	<u>Média do halo de inibição (x)</u>	<u>Desvio padrão (σ)</u>
<i>E. coli</i> ATCC 25922	2,0	0,0	1,0	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	13,5*	0,7	13,0*	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P	11,0*	1,4	10,0*	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	12,5*	0,7	13,0*	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 MRSA	15,5*	2,1	11,0*	0,0

Legenda: * – halos de inibição com diâmetros ≥ 9 mm possuem atividade antibacteriana.

1.1.1.4. Extrato aquoso do resveratrol concentrado

Os resultados do extrato aquoso do resveratrol, tanto para a extração a 100°C (Tabela 4. A.) como para a 80°C (Tabela 4. B.) concentrados, também são muito relevantes, assim como os do extrato etanólico (99,50%) do resveratrol concentrado (Tabela 3. A. e B.). Para ambas as extrações aquosas concentradas, todas as estirpes Gram-positivas testadas apresentam suscetibilidade e apenas a estirpe Gram-negativa testada, *E. coli* ATCC 25922, não apresenta suscetibilidade. Contudo, no extrato aquoso do resveratrol concentrado, a extração a 80°C é a que apresenta os melhores resultados, com um diâmetro do halo de inibição máximo de $22,5 \pm 0,7$ mm para a *S. aureus* ATCC 43300 MRSA. *S. aureus* ATCC 43300 MRSA mostra diâmetros dos halos de inibição maiores, mesmo quando comparados com o extrato etanólico do resveratrol a 70°C concentrado (Tabela 3. A.), cujo diâmetro do halo de inibição máximo é $15,5 \pm 2,1$ mm, para a mesma estirpe.

Apesar disto, os resultados do extrato etanólico do resveratrol concentrados são preferidos, dado que a extração etanólica permite uma maior extração de compostos fenólicos, logo irá permitir uma maior atividade antioxidante aliada à comprovada atividade antibacteriana (Eser *et al.*, 2017).

Tabela 4. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato aquoso do resveratrol a 100°C e a 80°C concentrado.

Estirpe	<u>Diâmetro do halo de inibição (mm)</u>			
	<u>A. Extrato aquoso do resveratrol a 100°C concentrado</u>		<u>B. Extrato aquoso do resveratrol a 80°C concentrado</u>	
	<u>Média do halo de inibição (\bar{x})</u>	<u>Desvio padrão (σ)</u>	<u>Média do halo de inibição (\bar{x})</u>	<u>Desvio padrão (σ)</u>
<i>E. coli</i> ATCC 25922	3,0	1,4	6,5	0,7
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	15,0*	0,0	17,0*	1,4
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P	11,0*	5,7	13,0*	1,4
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	17,0*	0,0	21,0*	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 MRSA	18,5*	0,7	22,5*	0,7

Legenda: * – halos de inibição com diâmetros ≥ 9 mm possuem atividade antibacteriana.

Em suma, os nossos resultados mostraram que, o teste da suscetibilidade antibacteriana para o resveratrol apresentou uma elevada atividade antibacteriana para as estirpes Gram-positivas e nenhuma atividade antibacteriana para a Gram-negativa. As estirpes Gram-positivas que apresentaram maior suscetibilidade antibacteriana foram a *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* ATCC 6538 P e a *S. aureus* ATCC 43300 MRSA. *S. aureus* ATCC 29213 foi a estirpe Gram-positiva que apresentou menor suscetibilidade. Quanto à *E. coli* ATCC 25922, em todos os ensaios realizados, não demonstrou suscetibilidade aos extratos utilizados, sendo que em alguns casos foi mesmo nula. No entanto, os resultados observados para os extratos do resveratrol concentrados, no geral, foram melhores para todas as estirpes testadas.

Estudos realizados por outros grupos de investigação mostram a capacidade do resveratrol em inibir o crescimento de espécies bacterianas clinicamente importantes em várias patologias de interesse dermatológico, incluindo *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis* e *H. pylori*, as três bactérias Gram-negativas (Celimene, Smith, Young, & Stanosz, 2001; Docherty, Fu, & Tsai, 2001; Mahady & Pendland, 2000), estirpes não testadas no presente trabalho. Outros estudos que avaliaram estirpes não analisadas neste trabalho é o realizado por Ferreira e Domingues (2016) e por Plumed-Ferrer e seus colaboradores (2013). Os resultados apresentados por estes autores mostram que o resveratrol exibe atividade antibacteriana contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, incluindo *Listeria monocytogenes* (Ferreira & Domingues, 2016; Plumed-Ferrer *et al.*, 2013). No entanto, os resultados obtidos pela estirpe Gram-negativa testada, *E. coli*, mostram não inibir o crescimento bacteriano. *E. coli* não tem grande interesse dermatológico, pelo que, provavelmente, não existem estudos com esta estirpe. Esta é uma bactéria de origem fecal, que habita principalmente no nosso trato digestivo inferior, e o seu interesse para a avaliação dos extratos de plantas medicinais, para posterior aplicação a nível tópico, não é muito relevante.

De acordo com um estudo realizado por Paulo e seus colaboradores (2010), verificou-se que *B. cereus*, *S. aureus* e *E. faecalis*, foram os microrganismos que apresentaram maior sensibilidade, entre as estirpes utilizadas no ensaio (Paulo *et al.*, 2010), confirmando a elevada atividade antibacteriana do resveratrol verificada no presente

estudo (1.2.). Liu e seus colaboradores (2016), verificaram que o resveratrol interfere no crescimento e apresenta efeitos antibacterianos em várias estirpes, como, por exemplo, *E. coli* e *S. aureus*, confirmando os resultados para as estirpes Gram-positivas testadas (1.2.). Estes autores, sustentam esta atividade antibacteriana com base no efeito das ROS, que são compostos químicos resultantes da ativação ou redução do oxigênio molecular ou derivados dos produtos da redução. As ROS são produtos gerados pelo metabolismo aeróbio e sabe-se que a sua acumulação é um fator negativo, que aumenta devido ao *stress* e também pode ser visto como um mensageiro envolvido nas vias de transdução de sinal. Estas espécies são altamente reativas e provocam danos nas células. Se não forem eliminadas, podem causar danos em moléculas importantes, como proteínas, DNA e lipídios (Liu *et al.*, 2016).

1.1.2. Própolis

O própolis atrai muita atenção da comunidade científica por ser um composto bioativo interessante para aplicação na medicina, em produtos domésticos, produtos dermatológicos, produtos alimentícios, na indústria farmacêutica, e também na indústria têxtil. Possui várias propriedades biológicas, incluindo propriedades antibacterianas, antioxidantes e anti-inflamatórias (Casquete, Castro, Jácome, & Teixeira, 2016; Falcão *et al.*, 2013; Ristivojević *et al.*, 2016). Estudos indicam que algumas destas propriedades bioativas do própolis são intensificadas quando o extrato é etanólico em comparação com o extrato aquoso (Ali, Kassem, & Atta-Alla, 2010), o que não se verificou nos resultados obtidos. O própolis é solúvel em vários solventes, tais como o éter, etanol, acetona, tolueno e tricloroetileno, os quais permitem a dissolução da maior parte dos seus constituintes (Marcucci, 1996). O própolis não apresentou atividade antibacteriana para nenhuma das estirpes Gram-positivas e Gram-negativas testadas, o que não vai de encontro com muitos dos estudos realizados. No entanto, quanto aos extratos do própolis concentrados, no geral, foram melhores para todas as estirpes testadas. Desta forma, de acordo com estudos realizados e em concordância com os nossos resultados, o própolis apresenta diferentes efeitos dependendo dos microrganismos envolvidos e do método e das condições de extração realizadas (Dobrowalski *et al.*, 1991; Vargas *et al.*, 2004).

1.1.2.1. Extrato etanólico do própolis

Os extratos etanólicos do própolis a 73,50% etanol e a 36,75% etanol (Tabela 5.) não apresentam atividade antibacteriana para nenhuma das estirpes Gram-positivas e Gram-negativas testadas. Quando analisada a estirpe Gram-negativa, *E. coli* ATCC 25922, verificou-se que esta demonstrou uma suscetibilidade antibacteriana nula.

Tabela 5. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato etanólico a 73,50% etanol e a 36,75% etanol do própolis.

Estirpe	Diâmetro do halo de inibição (mm)			
	A. Extrato etanólico a 73,50% etanol do própolis		B. Extrato etanólico a 36,75% etanol do própolis	
	Média do halo de inibição (\bar{x})	Desvio padrão (σ)	Média do halo de inibição (\bar{x})	Desvio padrão (σ)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	3,5	0,7	3,5	0,7
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P	2,5	0,7	3,5	0,7
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	4,5	0,7	3,0	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 MRSA	2,5	0,7	1,5	2,1

Legenda: * – halos de inibição com diâmetros ≥ 9 mm possuem atividade antibacteriana.

1.1.2.2. Extrato etanólico do própolis concentrado

Os resultados do extrato etanólico a 73,50% etanol do própolis concentrado (Tabela 6. A.) não apresentam suscetibilidade antibacteriana para nenhuma das estirpes testadas. Quanto aos resultados do extrato etanólico a 36,75% etanol do própolis concentrado (Tabela 6. B.), o mesmo se verificou, não apresentaram suscetibilidade antibacteriana para nenhuma das estirpes testadas. Quando analisada a estirpe Gram-negativa, *E. coli* ATCC 25922, em ambas extrações, verificou-se que esta demonstrou uma suscetibilidade antibacteriana nula, à semelhança do observado nos extratos etanólicos do própolis a 73,50% etanol e a 36,75% etanol (Tabela 5.).

Contudo, quanto ao extrato etanólico do própolis concentrado, os resultados mostram halos de inibição maiores quando comparados ao não concentrado, apesar de, em ambos, não se verificar suscetibilidade antibacteriana para nenhuma das estirpes testadas.

Tabela 6. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato etanólico a 73,50% etanol e a 36,75% etanol do própolis concentrado.

Estirpe	Diâmetro do halo de inibição (mm)			
	A. Extrato etanólico a 73,50% etanol do própolis concentrado		B. Extrato etanólico a 36,75% etanol do própolis concentrado	
	Média do halo de inibição (\bar{x})	Desvio padrão (σ)	Média do halo de inibição (\bar{x})	Desvio padrão (σ)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	4,5	0,7	5,0	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P	4,0	0,0	4,0	1,4
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	4,5	0,7	5,0	2,8
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 MRSA	3,0	0,0	5,5	2,1

Legenda: * – halos de inibição com diâmetros ≥ 9 mm possuem atividade antibacteriana.

O própolis não apresentou atividade antibacteriana para nenhuma das estirpes Gram-positivas testadas. Quanto à estirpe Gram-negativa, *E. coli* ATCC 25922, em todos os ensaios realizados, não ocorreu atividade antibacteriana, tendo sido nula. No entanto, os resultados observados no evaporador rotativo, quando os extratos do própolis estavam concentrados, no geral, foram melhores para todas as estirpes testadas, pois mostram halos de inibição maiores para as Gram-positivas, não se verificando, no entanto, atividade antibacteriana.

A propriedade antibacteriana do própolis está amplamente relatada. Pesquisas realizadas por Dobrowalski e seus colaboradores (1991), relataram que o própolis é ativo contra bactérias Gram-positivas, mas mostrou atividade limitada contra bactérias Gram-negativas, o que vai de encontro com os resultados apresentados (Dobrowalski *et al.*, 1991), permitindo justificar, em parte, os nossos resultados obtidos, uma vez que a atividade antibacteriana na estirpe Gram-negativa foi nula quando comparada às Gram-positivas, apesar de ambas não apresentarem qualquer atividade antibacteriana.

Chang, Yeh, Wen e Chern (2002), relatam que as amostras de própolis contêm várias quantidades de flavonóides, sendo estes compostos os principais responsáveis pela atividade antibacteriana do própolis (Chang, Yeh, Wen, & Chern, 2002; Lu, Chen, & Chou, 2005). No estudo realizado por Lu, Chen e Chou (2005), dependendo da concentração, da zona, origem e do período de coleta, o própolis exerceu vários graus de atividade antibacteriana contra *S. aureus*, ao contrário dos resultados do presente trabalho, onde o própolis não apresentou atividade antibacteriana para nenhuma das estirpes testadas, incluindo a *S. aureus*. Os mesmos autores concluíram que a *S. aureus* na fase exponencial média era mais sensível ao própolis, seguindo as células na fase exponencial tardia e as células na fase estacionária. Assim, à medida que a cultura envelhece e se torna inativa, as células tendem a ficar mais resistentes aos agentes antibacterianos (Lu, Chen, & Chou 2005). Por outro lado, Sforcin e seus colaboradores (2000) não observaram diferenças significativas em relação ao efeito sazonal sobre a atividade antibacteriana do própolis contra *S. aureus* e *E. coli* (Sforcin *et al.*, 2000), o que vai de encontro com os resultados observados no presente trabalho.

De acordo com Vargas e seus colaboradores (2004), observou-se que o própolis inibe o crescimento de estirpes além das testadas no presente trabalho. Dentre as bactérias avaliadas, a bactéria Gram-positiva mais sensível foi a *Nocardia asteroides* (100%) e a bactéria Gram-negativa mais sensível foi a *P. aeruginosa* (72,41%) ao extrato de própolis, estirpes não testadas no presente trabalho. No final deste estudo, conclui-se que as bactérias Gram-positivas são mais sensíveis (92,6%) do que as Gram-negativas (42,5%) (Vargas *et al.*, 2004). Estes resultados mostram-se concordantes com os observados no presente trabalho, apesar de os resultados observados para o própolis não demonstrarem qualquer atividade antibacteriana. No entanto, segundo o mesmo autor, outros estudos realizados não encontraram nenhuma atividade antibacteriana no extrato de própolis sobre isolado clínico de *E. coli*, ou então, analisando diferentes frações de extrato metanólico de própolis, encontraram pouca ou nenhuma atividade na *E. coli* e *P. aeruginosa* (Vargas *et al.*, 2004), indo de encontro com os resultados obtidos no presente trabalho.

1.1.3. Camomila

As atividades farmacológicas da camomila são devidas à presença de vários grupos de substâncias ativas, entre elas, os terpenos, que possuem uma grande importância. Nesta espécie, o camazuleno e o bisabolol são exemplos de terpenos responsáveis principalmente pela atividade anti-inflamatória da planta, mas também, as atividades antibacteriana e antioxidante. Outros constituintes da camomila que podem ser apontados como responsáveis pela atividade antibacteriana são o α -bisabolol, a quercetina e a umbeliferona (Coelho, Scio, Lima, & Nogueira, 2012; Srivastava, Shankar, & Gupta, 2010). Além destes, as cumarinas também apresentam uma atividade antibacteriana forte (Wang *et al.*, 2005). Os resultados dos extratos de camomila apresentaram baixa atividade antibacteriana para as estirpes testadas. No entanto, os resultados dos extratos da camomila concentrados, no geral, foram melhores para todas as estirpes testadas, sendo que a grande maioria das Gram-positivas apresentou forte atividade antibacteriana.

1.1.3.1. Extrato etanólico (99,50%) da camomila

Quanto aos resultados do extrato etanólico (99,50%) da camomila a 70°C (Tabela 7. A.), para todas as estirpes testadas verifica-se que não ocorre suscetibilidade antibacteriana. Ao analisar o extrato etanólico (99,50%) da camomila a 30°C (Tabela 7. B.), verifica-se que apenas a *S. aureus* ATCC 6538 *P* ($d=10,0\pm 1,4$ mm) apresenta suscetibilidade antibacteriana.

Tabela 7. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato etanólico (99,50%) da camomila a 70°C e a 30°C.

Estirpe	<u>Diâmetro do halo de inibição (mm)</u>			
	<u>A. Extrato etanólico (99,50%) da camomila a 70°C</u>		<u>B. Extrato etanólico (99,50%) da camomila a 30°C</u>	
	<u>Média do halo de inibição (\bar{x})</u>	<u>Desvio padrão (σ)</u>	<u>Média do halo de inibição (\bar{x})</u>	<u>Desvio padrão (σ)</u>
<i>E. coli</i> ATCC 25922	6,5	0,7	8,0	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	5,0	0,0	8,5	0,7
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 <i>P</i>	8,0	2,8	10,0*	1,4
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 <i>MRSA</i>	0,0	0,0	7,5	0,7

Legenda: * – halos de inibição com diâmetros ≥ 9 mm possuem atividade antibacteriana.

1.1.3.2. Extrato aquoso da camomila

A suscetibilidade antibacteriana demonstrada por todas as estirpes testadas quando em contacto com os extratos aquosos da camomila a 100°C e a 80°C (Tabela 8.) é nula, uma vez que não apresentam qualquer halo de inibição.

Tabela 8. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato aquoso da camomila a 100°C e a 80°C.

Estirpe	Diâmetro do halo de inibição (mm)			
	A. Extrato aquoso da camomila a 100°C		B. Extrato aquoso da camomila a 80°C	
	<u>Média do halo de inibição (x)</u>	<u>Desvio padrão (σ)</u>	<u>Média do halo de inibição (x)</u>	<u>Desvio padrão (σ)</u>
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 MRSA	0,0	0,0	0,0	0,0

Legenda: * – halos de inibição com diâmetros ≥ 9 mm possuem atividade antibacteriana.

1.1.3.3. Extrato etanólico (99,50%) da camomila concentrado

Os extratos etanólicos (99,50%) da camomila a 70°C e a 30°C, ambos concentrados (Tabela 9.), não apresentam atividade antibacteriana para nenhuma das estirpes testadas.

Contudo, quanto à concentração do extrato etanólico da camomila, os resultados mostram halos de inibição maiores quando comparados ao não concentrado, apesar de, em ambos, não se verificar suscetibilidade antibacteriana para nenhuma das estirpes testadas.

Tabela 9. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato etanólico (99,50%) da camomila a 70°C e a 30°C concentrado.

Estirpe	Diâmetro do halo de inibição (mm)			
	A. Extrato etanólico (99,50%) da camomila a 70°C concentrado		B. Extrato etanólico (99,50%) da camomila a 30°C concentrado	
	<u>Média do halo de inibição (x)</u>	<u>Desvio padrão (σ)</u>	<u>Média do halo de inibição (x)</u>	<u>Desvio padrão (σ)</u>
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	7,5	0,7	5,5	3,5
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P	7,0	2,8	5,0	1,4
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	4,0	0,0	3,5	3,5
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 MRSA	8,0	1,4	1,0	0,0

Legenda: * – halos de inibição com diâmetros ≥ 9 mm possuem atividade antibacteriana.

1.1.3.4. Extrato aquoso da camomila concentrado

Para o extrato aquoso da camomila a 100°C concentrado (Tabela 10. A.), todas as estirpes Gram-positivas testadas apresentam suscetibilidade, e apenas a estirpe bacteriana Gram-negativa testada, *E. coli* ATCC 25922 ($d=5,0\pm 0,0$ mm), não apresenta suscetibilidade antibacteriana. Quanto ao extrato aquoso da camomila a 80°C concentrado

(Tabela 10. B.), apenas a *S. aureus* ATCC 29213 ($d=12,0\pm 0,0$ mm) e a *S. aureus* ATCC 43300 MRSA ($d=11,0\pm 1,4$ mm) apresentam suscetibilidade antibacteriana.

Assim, os resultados do extrato aquoso da camomila concentrado são melhores, quando comparados com os resultados do extrato etanólico da camomila concentrado. Dentro dos resultados do extrato aquoso da camomila concentrado, o que apresenta melhores resultados e com uma atividade antibacteriana melhor é o extrato aquoso da camomila a 100°C. Contudo, os resultados do extrato etanólico da camomila concentrado são preferidos, dado que a extração etanólica permite uma maior extração de compostos fenólicos, podendo assim permitir uma maior atividade antibacteriana (Eser *et al.*, 2017).

Tabela 10. Análise da atividade microbiológica da suscetibilidade antibacteriana e diâmetro dos halos de inibição das cinco estirpes testadas com o extrato aquoso da camomila a 100°C e a 80°C concentrado.

Estirpe	Diâmetro do halo de inibição (mm)			
	A. Extrato aquoso da camomila a 100°C concentrado		B. Extrato aquoso da camomila a 80°C concentrado	
	Média do halo de inibição (\bar{x})	Desvio padrão (σ)	Média do halo de inibição (\bar{x})	Desvio padrão (σ)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	5,0	0,0	8,5	2,1
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	12,5*	0,7	7,5	0,7
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P	10,0*	0,0	5,0	7, 1
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	14,0*	0,0	12,0*	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 MRSA	12,5*	0,7	11,0*	1,4

Legenda: * – halos de inibição com diâmetros ≥ 9 mm possuem atividade antibacteriana.

Carvalho e seus colaboradores (2014), realizaram um estudo onde testaram a atividade antibacteriana da camomila contra algumas estirpes. Os dados deste estudo revelaram que o extrato etanólico bruto de camomila apresentou inibição no crescimento de *P. aeruginosa*, estirpe não testada no presente estudo, uma vez que o halo de inibição só foi considerado significativo quando este era maior ou igual a 9mm, tal como o presente estudo. No entanto, os resultados mostraram que este mesmo extrato não foi eficaz frente à *S. aureus*, *E. coli* e *S. enterica*. Estes resultados, em parte, vão de encontro aos obtidos para a maioria dos ensaios do presente trabalho, uma vez que, a *S. aureus* não mostrou suscetibilidade antibacteriana para a grande maioria dos extratos brutos da camomila, com a exceção da *S. aureus* ATCC 6538 P que apresentou suscetibilidade. Contudo, apresentou alguma atividade antibacteriana para a *S. aureus* quando os extratos brutos de camomila eram concentrados. Para a *E. coli*, os resultados do presente estudo também vão de encontro com os apresentados por Carvalho e seus colaboradores (2014), dado que, esta estirpe não apresentou suscetibilidade antibacteriana para nenhum dos ensaios realizados (Carvalho *et al.*, 2014).

Asolini, Tedesco e Carpes (2006), avaliaram a atividade antibacteriana dos extratos etanólico e aquoso da camomila contra as estirpes *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cereus* e *B. subtilis*. Os resultados mostraram que o extrato aquoso de camomila não apresentou nenhuma atividade inibitória contra *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Já o extrato etanólico da camomila apresentou um halo de inibição de 2mm contra *S. aureus* (Asolini, Tedesco, & Carpes, 2006), resultados concordantes com os apresentados no presente estudo para o extrato bruto de camomila. Segundo Dogru e seus colaboradores (2017), a camomila

mostra um efeito inibitório leve, inibindo o crescimento de todos os agentes patogénicos alvo testados (Dogru *et al.*, 2017).

De acordo com o estudo realizado por Hartmann e Onofre (2010), os melhores resultados para a atividade antibacteriana foram obtidos para a *S. aureus*, quando em contacto com o extrato puro de camomila, resultados semelhantes aos apresentados pelo presente estudo, apesar de em alguns ensaios não se verificar atividade antibacteriana (Hartmann & Onofre, 2010). Silva e seus colaboradores (2012), observaram que o extrato hidroalcoólico da camomila foi eficiente contra a *S. aureus*, contudo, este mesmo extrato foi ineficiente contra a *E. coli*. Outros estudos relataram também que o extrato etanólico da camomila apresentou atividade antibacteriana contra a *L. monocytogenes* e *S. aureus*, no entanto, não foi efetivo contra a *E. coli* (Bayoub *et al.*, 2010; Silva, Barbosa, Seito, & Fernandes, 2012), resultados concordantes para alguns dos ensaios realizados para a *S. aureus* e a *E. coli*. Assim, esta atividade antibacteriana da camomila, quando em contacto com bactérias Gram-positivas e Gram-negativas é diferente (Oonmetta-aree, Suzuki, Gasaluck, & Eumkeb, 2006).

Para cada ensaio dos diferentes extratos, foram efetuados controlos, que permitiram garantir que os resultados apresentados são dos compostos bioativos dos extratos e não dos solventes utilizados. De acordo com os resultados deste estudo, e de um modo geral, verificou-se que, para todos os extratos, a atividade antibacteriana esteve mais presente contra as estirpes Gram-positivas. As possíveis diferenças da suscetibilidade bacteriana, observadas entre estas estirpes, são explicadas pelo fato das Gram-negativas serem microrganismos mais complexos do ponto de vista estrutural e químico. A ausência de inibição de crescimento para as estirpes Gram-negativas e a inibição de crescimento para as Gram-positivas pode ser explicada com base na estrutura celular das mesmas. A estrutura da parede celular das estirpes Gram-positivas, apresenta uma elevada quantidade de peptidoglicano, o que permite que moléculas hidrofóbicas penetrem nas células e atuem na parede, bem como na membrana celular e no citoplasma. Por outro lado, a parede celular das estirpes Gram-negativas apesar de ser menos rígida, é quimicamente mais complexa, esta é constituída por menos quantidade de peptidoglicano. As estirpes Gram-negativas, apresentam uma membrana externa composta por uma dupla camada de fosfolípidos, que estão ligados à membrana interna por lipopolissacarídeos. Os lipopolissacarídeos são os que determinam a antigenicidade, toxicidade e patogenicidade destes microrganismos. Assim, a explicação para a ausência de inibição de crescimento para as estirpes Gram-negativas consiste na falta de penetração dos compostos através da membrana celular, composta por uma monocamada lipopolissacarídica, o que restringe a difusão de compostos hidrofóbicos (Nazzaro *et al.*, 2013; Oonmetta-aree, Suzuki, Gasaluck, & Eumkeb, 2006; Vargas *et al.*, 2004).

É difícil descrever quais são os mecanismos responsáveis que exercem as atividades biológicas, devido à complexidade estrutural dos compostos naturais. No entanto, a ação sinérgica de alguns extratos naturais com os antibacterianos normalmente utilizados na clínica é conhecida, determinando uma diminuição na concentração mínima inibitória do antibacteriano. Os produtos naturais parecem penetrar nas células e interagir nos alvos proteicos, já que possuem uma complexidade estrutural que é comum em alvos de antibacterianos (Butler & Buss, 2006).

1.2. Análise da atividade antibacteriana do resveratrol

Tendo em consideração os testes da suscetibilidade antibacteriana realizados anteriormente, os resultados relativos ao extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado (1.1.1.3. Tabela 3. A.), foram os melhores. Assim, selecionou-se o extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado para prosseguir com a análise da atividade microbiológica para as estirpes Gram-positivas.

1.2.1. Análise da atividade antibacteriana do resveratrol em meio de cultura líquido e sólido

A suscetibilidade antibacteriana de *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* ATCC 6538 P, *S. aureus* ATCC 29213 e *S. aureus* ATCC 43300 MRSA, para as diferentes diluições realizadas do extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado em meio de cultura líquido, foi similar entre os resultados apresentados por cada uma das estirpes. Para a *S. aureus* ATCC 6538 (Tabela 11), na diluição a 30%, 20% e 10%, os valores da diferença da normalização foram elevados, sendo 0,186, 1,253 e 15,619, respetivamente, indicativos de crescimento da estirpe. Por outro lado, verificou-se que ocorreu inibição do crescimento da estirpe quando o extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado está diluído de 40% ($\Delta N = 0,031$) a 90% ($\Delta N = 0,040$). A *S. aureus* ATCC 6538 P (Tabela 12), para a diluição a 30%, 20% e 10%, os valores da diferença da normalização foram também os mais elevados, sendo 0,651, 0,973 e 23,576, respetivamente. A inibição do crescimento da estirpe foi demonstrada quando o extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado está diluído de 40% ($\Delta N = 0,228$) a 90% ($\Delta N = 0,017$). Na *S. aureus* ATCC 29213 (Tabela 13), a diluição a 30%, 20% e 10%, apresentou os valores da diferença da normalização elevados, sendo 0,698, 3,329 e 8,015, respetivamente. Não ocorreu crescimento da estirpe, e, portanto, houve inibição da mesma, quando o extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado está diluído de 40% ($\Delta N = 0,140$) a 90% ($\Delta N = 0,033$). Quanto à *S. aureus* ATCC 43300 MRSA (Tabela 14), na diluição a 30%, 20% e 10%, os valores da diferença da normalização foram os mais elevados, sendo 0,490, 1,879 e 6,753, respetivamente, indicativos de crescimento da estirpe. Contudo, e de acordo com as estirpes anteriormente testadas, a inibição do crescimento da estirpe foi demonstrada quando o extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado está diluído de 40% ($\Delta N = 0,163$) a 90% ($\Delta N = 0,048$).

Quanto à suscetibilidade antibacteriana das estirpes Gram-positivas, nas diferentes diluições realizadas do extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado em meio de cultura sólido, para todas elas verificou-se crescimento de colónias quando o extrato está diluído a 30%, 20% e 10%, através da presença da formação de colónias. A inibição do crescimento de colónias das estirpes ocorre quando o extrato está diluído de 40% a 90%, através da ausência da formação das mesmas.

Assim, verificou-se que após a normalização, quanto maior a percentagem de extrato maior o efeito do mesmo na estirpe testada, e, a menor diluição do extrato que não mostrou crescimento bacteriano foi de 40%, verificando-se um efeito bactericida. A diluição de 40% do extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado é suficiente para inibir o crescimento das estirpes em meio de cultura líquido e inibir o crescimento de colónias das estirpes em meio de cultura sólido.

Tabela 11. Análise da atividade microbiológica da atividade antibacteriana da *S. aureus* ATCC 6538 para as diferentes diluições realizadas (10% a 90% de extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado) em meio de cultura líquido e sólido.

<u>Diluição</u>	<u>Crescimento bacteriano T0</u>			<u>Crescimento bacteriano T24</u>			<u>Crescimento de colónias bacterianas T24</u>	
	<u>Média</u>	<u>Desvio Padrão</u>	<u>Normalização</u>	<u>Média</u>	<u>Desvio Padrão</u>	<u>Normalização</u>	Δ Normalização	<u>Média</u>
	x	σ	N_{T0}	x	σ	N_{T24}	$\Delta N = N_{T24} - N_{T0} $	x
TSB (100%)	-0,012	0,003	n. a.	-0,015	0,001	n. a.	n. a.	-
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 (50%) + TSB (50%)	0,158	0,006	n. a.	0,969	0,047	n. a.	n. a.	+
TSB (10%) + Extrato (90%)	0,344	0,005	n. a.	0,314	0,003	n. a.	n. a.	-
TSB (20%) + Extrato (80%)	0,249	0,003	n. a.	0,235	0,004	n. a.	n. a.	-
TSB (30%) + Extrato (70%)	0,187	0,002	n. a.	0,191	0,003	n. a.	n. a.	-
TSB (40%) + Extrato (60%)	0,149	0,002	n. a.	0,156	0,001	n. a.	n. a.	-
TSB (50%) + Extrato (50%)	0,111	0,005	n. a.	0,130	0,002	n. a.	n. a.	-
TSB (60%) + Extrato (40%)	0,088	0,001	n. a.	0,106	0,001	n. a.	n. a.	-
TSB (70%) + Extrato (30%)	0,063	0,003	n. a.	0,083	0,001	n. a.	n. a.	-
TSB (80%) + Extrato (20%)	0,040	0,001	n. a.	0,057	0,002	n. a.	n. a.	-
TSB (90%) + Extrato (10%)	0,014	0,000	n. a.	0,028	0,001	n. a.	n. a.	-
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 (5%) + TSB (5%) + Extrato (90%)	0,364	0,004	1,058	0,319	0,005	1,018	0,040	-
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 (10%) + TSB (10%) + Extrato (80%)	0,277	0,017	1,112	0,252	0,002	1,069	0,043	-
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 (15%) + TSB (15%) + Extrato (70%)	0,212	0,000	1,136	0,213	0,002	1,113	0,022	-
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 (20%) + TSB (20%) + Extrato (60%)	0,179	0,002	1,202	0,188	0,001	1,200	0,001	-
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 (25%) + TSB (25%) + Extrato (50%)	0,152	0,004	1,365	0,166	0,001	1,276	0,089	-
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 (30%) + TSB (30%) + Extrato (40%)	0,132	0,003	1,498	0,155	0,002	1,467	0,031	-

Desenvolvimento de têxteis com propriedades funcionais

<i>S. aureus</i> ATCC 6538 (35%) + TSB (35%) + Extrato (30%)	0,124	0,003	1,973	0,148	0,004	1,787	0,186	+
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 (40%) + TSB (40%) + Extrato (20%)	0,128	0,002	3,235	0,257	0,013	4,488	1,253	+
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 (45%) + TSB (45%) + Extrato (10%)	0,145	0,002	10,381	0,737	0,008	26,000	15,619	+

Legenda: n. a. – não aplicável; (-) – ausência da formação de colónias bacterianas; (+) – presença da formação de colónias bacterianas.

Tabela 12. Análise da atividade microbiológica da atividade antibacteriana da *S. aureus* ATCC 6538 *P* para as diferentes diluições realizadas (10% a 90% de extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado) em meio de cultura líquido e sólido.

Diluição	Crescimento bacteriano T0			Crescimento bacteriano T24			Crescimento de colónias bacterianas T24	
	Média	Desvio Padrão	Normalização	Média	Desvio Padrão	Normalização	Δ Normalização	Média
	x	σ	N_{T0}	x	σ	N_{T24}	$\Delta N = N_{T24} - N_{T0} $	x
TSB (100%)/TSB (2000 μ L)	-0,004	0,001	n. a.	-0,010	0,001	n. a.	n. a.	-
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 <i>P</i> (50%) + TSB (50%)	0,155	0,004	n. a.	0,896	0,151	n. a.	n. a.	+
TSB (10%) + Extrato (90%)	0,313	0,008	n. a.	0,283	0,006	n. a.	n. a.	-
TSB (20%) + Extrato (80%)	0,230	0,008	n. a.	0,215	0,003	n. a.	n. a.	-
TSB (30%) + Extrato (70%)	0,178	0,026	n. a.	0,174	0,008	n. a.	n. a.	-
TSB (40%) + Extrato (60%)	0,122	0,003	n. a.	0,145	0,001	n. a.	n. a.	-
TSB (50%) + Extrato (50%)	0,105	0,005	n. a.	0,121	0,001	n. a.	n. a.	-
TSB (60%) + Extrato (40%)	0,072	0,003	n. a.	0,099	0,001	n. a.	n. a.	-
TSB (70%) + Extrato (30%)	0,048	0,005	n. a.	0,077	0,002	n. a.	n. a.	-
TSB (80%) + Extrato (20%)	0,027	0,007	n. a.	0,058	0,001	n. a.	n. a.	-
TSB (90%) + Extrato (10%)	0,004	0,002	n. a.	0,035	0,002	n. a.	n. a.	-
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 <i>P</i> (5%) + TSB (5%) + Extrato (90%)	0,330	0,006	1,052	0,293	0,005	1,035	0,017	-
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 <i>P</i> (10%) + TSB (10%) + Extrato (80%)	0,286	0,007	1,247	0,228	0,007	1,057	0,189	-

Desenvolvimento de têxteis com propriedades funcionais

<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P (15%) + TSB (15%) + Extrato (70%)	0,223	0,011	1,253	0,195	0,004	1,117	0,136	-
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P (20%) + TSB (20%) + Extrato (60%)	0,157	0,003	1,283	0,175	0,002	1,207	0,076	-
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P (25%) + TSB (25%) + Extrato (50%)	0,133	0,005	1,267	0,156	0,005	1,287	0,020	-
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P (30%) + TSB (30%) + Extrato (40%)	0,121	0,002	1,681	0,143	0,003	1,453	0,228	-
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P (35%) + TSB (35%) + Extrato (30%)	0,121	0,004	2,538	0,145	0,001	1,887	0,651	+
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P (40%) + TSB (40%) + Extrato (20%)	0,127	0,004	4,716	0,218	0,019	3,743	0,973	+
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P (45%) + TSB (45%) + Extrato (10%)	0,141	0,009	32,462	0,311	0,026	8,886	23,576	+

Legenda: n. a. – não aplicável; (-) – ausência da formação de colónias bacterianas; (+) – presença da formação de colónias bacterianas.

Tabela 13. Análise da atividade microbiológica da atividade antibacteriana da *S. aureus* ATCC 29213 para as diferentes diluições realizadas (10% a 90% de extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado) em meio de cultura líquido e sólido.

<u>Diluição</u>	<u>Crescimento bacteriano T0</u>			<u>Crescimento bacteriano T24</u>			<u>Crescimento de colónias bacterianas T24</u>	
	<u>Média</u>	<u>Desvio Padrão</u>	<u>Normalização</u>	<u>Média</u>	<u>Desvio Padrão</u>	<u>Normalização</u>	<u>Δ Normalização</u>	<u>Média</u>
	x	σ	N_{T0}	x	σ	N_{T24}	$\Delta N = N_{T24} - N_{T0} $	x
TSB (100%)	-0,022	0,001	n. a.	-0,021	0,001	n. a.	n. a.	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213 (50%) + TSB (50%)	0,225	0,008	n. a.	1,008	0,199	n. a.	n. a.	+
TSB (10%) + Extrato (90%)	0,356	0,004	n. a.	0,325	0,003	n. a.	n. a.	-
TSB (20%) + Extrato (80%)	0,265	0,004	n. a.	0,254	0,002	n. a.	n. a.	-
TSB (30%) + Extrato (70%)	0,187	0,002	n. a.	0,202	0,002	n. a.	n. a.	-
TSB (40%) + Extrato (60%)	0,146	0,014	n. a.	0,165	0,002	n. a.	n. a.	-
TSB (50%) + Extrato (50%)	0,110	0,007	n. a.	0,136	0,005	n. a.	n. a.	-
TSB (60%) + Extrato (40%)	0,079	0,005	n. a.	0,105	0,002	n. a.	n. a.	-

Desenvolvimento de têxteis com propriedades funcionais

TSB (70%) + Extrato (30%)	0,049	0,003	n. a.	0,078	0,002	n. a.	n. a.	-
TSB (80%) + Extrato (20%)	0,030	0,007	n. a.	0,051	0,002	n. a.	n. a.	-
TSB (90%) + Extrato (10%)	0,007	0,002	n. a.	0,022	0,000	n. a.	n. a.	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213 (5%) + TSB (5%) + Extrato (90%)	0,377	0,004	1,061	0,334	0,001	1,028	0,033	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213 (10%) + TSB (10%) + Extrato (80%)	0,317	0,009	1,196	0,270	0,002	1,063	0,133	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213 (15%) + TSB (15%) + Extrato (70%)	0,248	0,002	1,324	0,240	0,002	1,185	0,139	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213 (20%) + TSB (20%) + Extrato (60%)	0,195	0,005	1,330	0,219	0,003	1,327	0,003	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213 (25%) + TSB (25%) + Extrato (50%)	0,172	0,002	1,571	0,201	0,001	1,472	0,100	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213 (30%) + TSB (30%) + Extrato (40%)	0,159	0,001	2,013	0,196	0,001	1,873	0,140	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213 (35%) + TSB (35%) + Extrato (30%)	0,160	0,005	3,236	0,198	0,005	2,538	0,698	+
<i>S. aureus</i> ATCC 29213 (40%) + TSB (40%) + Extrato (20%)	0,169	0,003	5,644	0,458	0,042	8,974	3,329	+
<i>S. aureus</i> ATCC 29213 (45%) + TSB (45%) + Extrato (10%)	0,198	0,007	28,333	0,800	0,025	36,348	8,015	+

Legenda: n. a. – não aplicável; (-) – ausência da formação de colónias bacterianas; (+) – presença da formação de colónias bacterianas.

Tabela 14. Análise da atividade microbiológica da atividade antibacteriana da *S. aureus* ATCC 43300 MRSA para as diferentes diluições realizadas (10% a 90% de extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado) em meio de cultura líquido e sólido.

<u>Diluição</u>	<u>Crescimento bacteriano T0</u>			<u>Crescimento bacteriano T24</u>			<u>Crescimento de colónias bacterianas T24</u>	
	<u>Média</u>	<u>Desvio Padrão</u>	<u>Normalização</u>	<u>Média</u>	<u>Desvio Padrão</u>	<u>Normalização</u>	<u>Δ Normalização</u>	<u>Média</u>
	x	σ	N_{T0}	x	σ	N_{T24}	$\Delta N = N_{T24} - N_{T0} $	x
TSB (100%)	-0,018	0,000	n. a.	-0,020	0,000	n. a.	n. a.	-
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 MRSA (50%) + TSB (50%)	0,202	0,003	n. a.	0,794	0,092	n. a.	n. a.	+

Desenvolvimento de têxteis com propriedades funcionais

TSB (10%) + Extrato (90%)	0,366	0,004	n. a.	0,330	0,001	n. a.	n. a.	-
TSB (20%) + Extrato (80%)	0,265	0,002	n. a.	0,250	0,003	n. a.	n. a.	-
TSB (30%) + Extrato (70%)	0,193	0,001	n. a.	0,201	0,003	n. a.	n. a.	-
TSB (40%) + Extrato (60%)	0,148	0,001	n. a.	0,163	0,001	n. a.	n. a.	-
TSB (50%) + Extrato (50%)	0,116	0,001	n. a.	0,135	0,001	n. a.	n. a.	-
TSB (60%) + Extrato (40%)	0,083	0,002	n. a.	0,109	0,002	n. a.	n. a.	-
TSB (70%) + Extrato (30%)	0,049	0,002	n. a.	0,080	0,000	n. a.	n. a.	-
TSB (80%) + Extrato (20%)	0,030	0,005	n. a.	0,054	0,002	n. a.	n. a.	-
TSB (90%) + Extrato (10%)	0,008	0,002	n. a.	0,027	0,002	n. a.	n. a.	-
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 <i>MRSA</i> (5%) + TSB (5%) + Extrato (90%)	0,377	0,006	1,029	0,323	0,002	0,981	0,048	-
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 <i>MRSA</i> (10%) + TSB (10%) + Extrato (80%)	0,296	0,015	1,117	0,257	0,003	1,028	0,089	-
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 <i>MRSA</i> (15%) + TSB (15%) + Extrato (70%)	0,238	0,001	1,233	0,228	0,001	1,131	0,102	-
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 <i>MRSA</i> (20%) + TSB (20%) + Extrato (60%)	0,191	0,004	1,291	0,205	0,002	1,258	0,034	-
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 <i>MRSA</i> (25%) + TSB (25%) + Extrato (50%)	0,162	0,002	1,398	0,186	0,003	1,381	0,017	-
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 <i>MRSA</i> (30%) + TSB (30%) + Extrato (40%)	0,144	0,001	1,732	0,171	0,002	1,569	0,163	-
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 <i>MRSA</i> (35%) + TSB (35%) + Extrato (30%)	0,137	0,002	2,815	0,186	0,003	2,325	0,490	+
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 <i>MRSA</i> (40%) + TSB (40%) + Extrato (20%)	0,160	0,005	5,382	0,390	0,017	7,261	1,879	+
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 <i>MRSA</i> (45%) + TSB (45%) + Extrato (10%)	0,177	0,002	22,125	0,789	0,071	28,878	6,753	+

Legenda: n. a. – não aplicável; (-) – ausência da formação de colônias bacterianas; (+) – presença da formação de colônias bacterianas.

Em suma, os resultados da análise da atividade microbiológica do resveratrol em meio de cultura líquido e sólido para todas as estirpes Gram-positivas testadas são similares, ou seja, em todos os ensaios verificou-se inibição do crescimento das estirpes em meio de cultura líquido e inibição do crescimento de colónias das estirpes em meio de cultura sólido, quando o extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado está diluído de 40% a 90%. Apenas se verificou crescimento das estirpes em meio de cultura líquido e crescimento de colónias das estirpes em meio de cultura sólido, quando o extrato etanólico (99,50%) do resveratrol a 70°C concentrado se encontra diluído a 30%, 20% e 10%. Quanto maior a percentagem de extrato maior o efeito do mesmo nas estirpes testadas. A menor diluição do extrato que inibiu o crescimento das estirpes em meio de cultura líquido e inibiu o crescimento de colónias das estirpes em meio de cultura sólido, e, desta forma, apresenta um efeito bactericida, foi de 40%.

De acordo com Liu e seus colaboradores (2016), os resultados analisados para as Gram-positivas são similares aos apresentados no presente trabalho (Liu *et al.*, 2016). Paulo e seus colaboradores (2010), verificaram que de entre os microrganismos que apresentaram maior sensibilidade, as Gram-positivas eram as que apresentavam resultados mais significativos (Paulo *et al.*, 2010), confirmando os resultados obtidos para a atividade antibacteriana de todas as estirpes de *S. aureus* no presente estudo. Os resultados apresentados por Ferreira e Domingues (2016) mostram que o resveratrol exibe atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. Os resultados destes autores, quanto às Gram-positivas, corroboram com os nossos resultados, uma vez que as diferentes estirpes de *S. aureus*, apresentaram suscetibilidade antibacteriana, com conseqüente inibição do seu crescimento. Por outro lado, quanto às Gram-negativas, os nossos resultados não corroboram com os apresentados pelos mesmos autores (Ferreira & Domingues, 2016). O mesmo foi verificado por Plumed-Ferrer e seus colaboradores (2013), tendo sido mostrada a atividade antibacteriana do resveratrol contra Gram-positivas, permitindo confirmar mais uma vez os resultados apresentados, apesar de também ter sido verificada a inibição do crescimento das estirpes Gram-negativas (Plumed-Ferrer *et al.*, 2013).

Para cada ensaio, foram efetuados controlos, que permitiram garantir que os resultados apresentados são dos compostos bioativos do extrato e não dos solventes utilizados. Esta atividade antibacteriana, demonstrada pelas estirpes analisadas, pode ser devida ao facto de a estrutura da parede celular das estirpes Gram-positivas ser menos complexa que a das Gram-negativas, uma vez que as primeiras apresentam uma elevada quantidade de peptidoglicano, o que permite que moléculas hidrofóbicas penetrem nas células e atuem na parede, bem como na membrana celular e no citoplasma (Nazzaro *et al.*, 2013; Oonmetta-aree, Suzuki, Gasaluck, & Eumkeb, 2006).

2. Análise dos espectros UV-Vis

2.1. Análise das β -ciclodextrinas

Para verificar que a solução das β -ciclodextrinas não absorve na zona de interesse, ou seja, não interfere com as medições posteriormente realizadas, foi efetuado um controlo. O controlo referente às β -ciclodextrinas, não apresentou picos máximos de absorção ao longo do comprimento de onda, como esperado. Sambasevam, Mohamad, Sarih e Ismail (2013), avaliaram a síntese e caracterização do complexo de inclusão da β -ciclodextrina e azometina. De acordo com os resultados apresentados por estes autores, foi possível observar que, as β -ciclodextrinas não apresentam picos máximos de absorção ao longo do comprimento de onda, e, portanto, a sua absorbância pode ser desprezada (Sambasevam, Mohamad, Sarih, & Ismail, 2013), concordante com os resultados obtidos.

2.2. Análise das diferentes soluções de resveratrol

De acordo com o gráfico 1, podemos observar o espectro UV-Vis de diferentes soluções de resveratrol, entre elas a solução de resveratrol $C=0,027\text{g/L}$, a solução de resveratrol (B) $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$ e a solução de resveratrol (A) DMSO. Verificou-se que duas soluções de resveratrol se comportaram de forma similar aquando da análise no espectrofotómetro UV-Vis. Estas soluções de resveratrol apresentam um pico máximo de absorção a 306nm e a 307nm para a solução de resveratrol $C=0,027\text{g/L}$ e para a solução de resveratrol (B) $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$, respetivamente. Quanto à solução de resveratrol (A) DMSO, não foi possível observar um pico máximo de absorção, muito possivelmente devido ao facto de a faixa espectral estar entre 300nm e 500nm , de acordo com o protocolo utilizado. Deste modo, para analisar melhor os resultados, a faixa espectral teria de estar entre 200nm e 500nm , para obtermos resultados mais claros. No entanto, podemos afirmar que os resultados da solução de resveratrol (A) DMSO são piores quando comparados aos apresentados pela solução de resveratrol $C=0,027\text{g/L}$ e pela solução de resveratrol (B) $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$. O tratamento de purificação e de ressuspensão com o DMSO, parece prejudicar a intensidade do resveratrol, pelo que a sua atividade é enfraquecida e inferior à apresentada pelas outras duas soluções de resveratrol. Assim, a solução de resveratrol (B) $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$ tem melhores resultados quando comparada com a solução de resveratrol (A) DMSO.

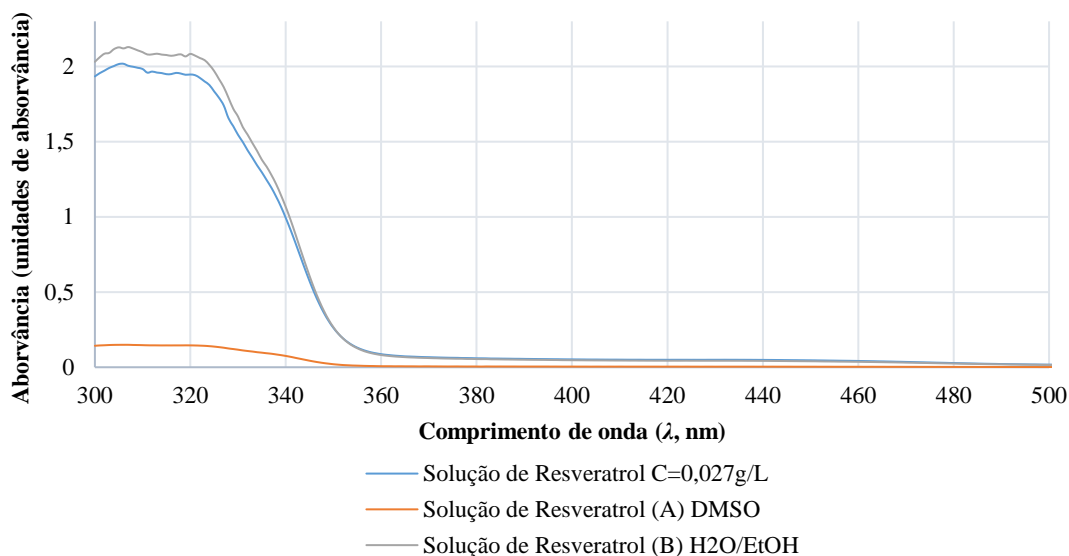


Gráfico 1. Espectro UV-Vis da solução de resveratrol C=0,027g/L, da solução de resveratrol (B) H₂O/EtOH e da solução de resveratrol (A) DMSO.

Nishihira e seus colaboradores (2013), procederam à caracterização do resveratrol complexado à hidroxipropil- β -ciclodextrina para posterior aplicação em ratos hiperglicêmicos. No trabalho realizado por estes autores, foi possível verificar que o pico máximo apresentado no espectro do *trans*-resveratrol variou de 306nm a 320nm (Nishihira *et al.*, 2013), o que coincide com os nossos resultados, tanto para a solução de resveratrol C=0,027g/L como para a solução de resveratrol (B) H₂O/EtOH. Estes resultados também se encontram concordantes com os estudos realizados por Kolouchová-Hanzlíková, Melzoch, Filip e Smidrkal (2004). De acordo com estes autores, os resultados observados mostraram que, o pico máximo no espectro do *trans*-resveratrol variou de 306nm a 320nm, enquanto que, o espectro do *cis*-resveratrol atingiu seu pico máximo a 295nm. Para a detecção de ambos os isômeros do resveratrol, estes autores utilizaram o comprimento de onda ótimo de 306nm (Kolouchová-Hanzlíková, Melzoch, Filip, & Smidrkal, 2004), o mesmo observado nos nossos resultados para a solução de resveratrol C=0,027g/L.

O estudo realizado por Cheng e seus colaboradores (2018), analisou espectros UV-Vis do resveratrol, do complexo de inclusão de resveratrol com carboximetil- β -ciclodextrina e do conjugado de resveratrol com carboximetil- β -ciclodextrina. De acordo com os resultados observados por estes autores, foi possível verificar que o resveratrol apresentava dois picos de absorção atribuídos ao anel aromático, que foram localizados entre 200nm e 400nm. Estes resultados mostram-se concordantes com os nossos resultados, uma vez que verificamos um pico máximo de absorção a 306nm e 307nm para as diferentes soluções de resveratrol. Por outro lado, não conseguimos confirmar a existência dos dois picos de absorção, uma vez que o nosso espectro foi realizado numa gama de comprimentos de onda entre 300nm e 500nm, intervalo este que exclui um pico de absorção verificado por Cheng e seus colaboradores (2018), entre 200nm e 300nm (Cheng *et al.*, 2018).

O estudo realizado por Zhong e seus colaboradores (2009), analisou a solubilidade e a atividade antioxidante da complexação do resveratrol com ciclodextrinas. Estes autores

verificaram que, no espectro UV-Vis do resveratrol o pico máximo de absorção foi de 304nm (Zhong *et al.*, 2009). Como pode ser observado no gráfico 1, os resultados apresentados por Zhong e seus colaboradores (2009), mostram-se similares aos obtidos no presente estudo, uma vez que foi observado um pico máximo a 306nm e a 307nm para a solução de resveratrol $C=0,027\text{g/L}$ e para a solução de resveratrol (B) $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$, respetivamente.

2.3. Análise dos complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A e B)

O espectro UV-Vis da solução do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) $C=0,027\text{g/L}$, da solução do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) $C=0,027\text{g/L}$ e da solução de resveratrol $C=0,027\text{g/L}$ encontra-se demonstrado no gráfico 2. Verificou-se que existe uma solução de um dos complexos de inclusão, a solução do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) $C=0,027\text{g/L}$, que é mais semelhante à solução de resveratrol $C=0,027\text{g/L}$, aquando da análise no espectrofotómetro UV-Vis. Por outro lado, também se verificou que o outro complexo formado, a solução do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) $C=0,027\text{g/L}$, apresenta um espectro semelhante ao demonstrado no gráfico 1 pela solução de resveratrol (A) DMSO. Como podemos observar pelo presente gráfico, a solução do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) $C=0,027\text{g/L}$ e a solução de resveratrol $C=0,027\text{g/L}$ apresentam um pico de absorção máximo quando o comprimento de onda é igual a 306nm. No entanto, é importante chamar a atenção ao pico de absorção a 323nm, uma vez que este pode fazer parte de um dos pontos isobésticos, determinando assim a formação do complexo de inclusão. Quanto à solução do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) $C=0,027\text{g/L}$, verificou-se o mesmo observado na solução de resveratrol (A) DMSO, ou seja, não foi possível observar um pico máximo de absorção, muito possivelmente devido ao facto de a faixa espectral estar entre 300nm e 500nm. Deste modo a faixa espectral teria de estar entre 200nm e 500nm, para obtermos resultados mais claros e também perceber se ocorreu ou não a formação dos pontos isobésticos. No entanto, podemos afirmar que os resultados da solução do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) $C=0,027\text{g/L}$ são piores quando comparados aos apresentados pela solução do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) $C=0,027\text{g/L}$. Mesmo quando encapsulado nas β -ciclodextrinas, o tratamento do resveratrol de purificação e de ressuspensão com o DMSO, parece prejudicar a intensidade do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) $C=0,027\text{g/L}$ formado, indicando que a sua atividade é enfraquecida e inferior à apresentada pelo complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) $C=0,027\text{g/L}$. Assim, a solução do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) $C=0,027\text{g/L}$ apresenta melhores resultados quando comparada com a solução do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) $C=0,027\text{g/L}$ formado.

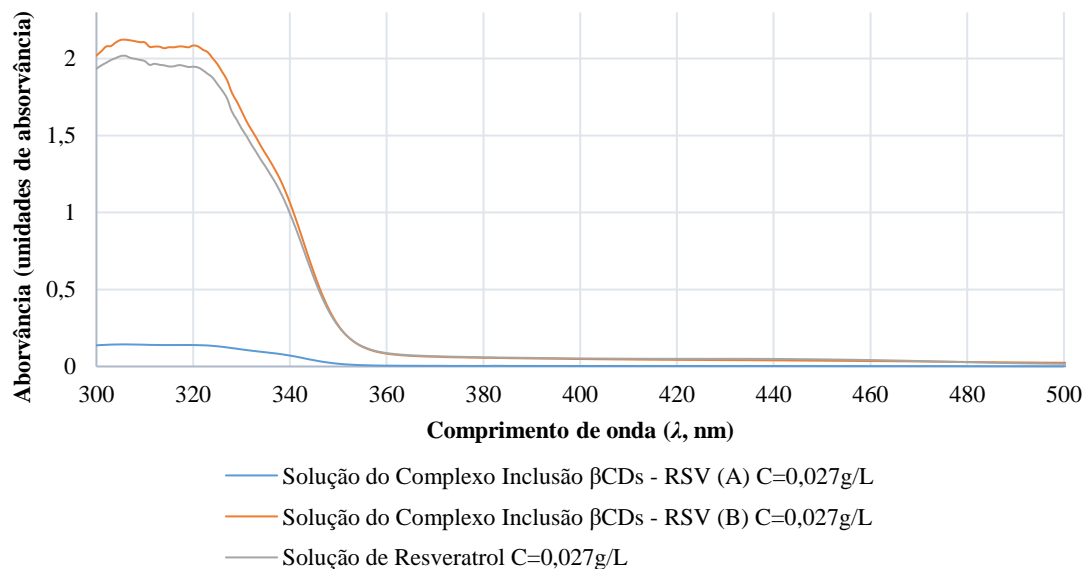


Gráfico 2. Comparação do espectro UV-Vis da solução do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) C=0,027g/L, da solução do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) C=0,027g/L e da solução de resveratrol C=0,027g/L.

O estudo realizado por Cheng e seus colaboradores (2018), tal como já verificado, analisou espectros UV-Vis do resveratrol, do complexo de inclusão de resveratrol com carboximetil- β -ciclodextrina e do conjugado de resveratrol com carboximetil- β -ciclodextrina. Quanto aos resultados obtidos para os complexos de inclusão formados, foi possível observar que no complexo de inclusão do resveratrol com as carboximetil- β -ciclodextrinas, foram obtidos picos máximos de absorção semelhantes, devido ao complexo de inclusão ter sido formado pelo resveratrol e pelas carboximetil- β -ciclodextrinas. Isto ocorre, uma vez que tal como já referido, as β -ciclodextrinas, e, consequentemente as carboximetil- β -ciclodextrinas, não apresentam qualquer interferência nos resultados. No entanto, de acordo com Cheng e seus colaboradores (2018), os picos máximos de absorção do conjugado das carboximetil- β -ciclodextrinas com o resveratrol foram a 304nm e a 201nm, sendo diferentes dos apresentados pelo resveratrol e pelo seu complexo de inclusão. Uma possível explicação para o aparecimento do pico máximo no espectro UV-Vis do conjugado das carboximetil- β -ciclodextrinas com o resveratrol, pode ser devido à presença do resveratrol na sua estrutura. O mesmo acontece com os resultados apresentados no gráfico 2, uma vez que, o aparecimento do pico de absorção no espectro UV-Vis do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) C=0,027g/L, é devido à presença do resveratrol na sua estrutura, produzindo um pico característico a 306nm. Neste mesmo estudo realizado por Cheng e seus colaboradores (2018), quando o resveratrol formou o complexo de inclusão com carboximetil- β -ciclodextrinas, o complexo formou pontes de hidrogénio, o que possivelmente promoveu a alteração da sua absorção UV-Vis. Além disso, quando o conjugado se formou, a estrutura original do resveratrol foi alterada, pelo que outros grupos puderam afetar a absorção de UV-Vis do resveratrol (Cheng *et al.*, 2018). Além destas análises, estes autores também verificaram que a irradiação da luz pode afetar a estabilidade do resveratrol, do complexo de inclusão de resveratrol com carboximetil- β -ciclodextrina e do conjugado de resveratrol com carboximetil- β -ciclodextrina. Foi

observado que quando a solução de resveratrol foi diretamente exposta sob luz UV, a absorvância a 305nm diminuiu à medida que o tempo de exposição aumentava. No entanto, verificaram que a mudança da absorvância do composto de inclusão foi menor que a do resveratrol. Os resultados sugerem que o complexo de inclusão formado é mais foto-estável do que o resveratrol sozinho. O motivo desta mudança foi que o resveratrol ficou protegido pelas carboximetil- β -ciclodextrinas. Em paralelo com os nossos resultados, o complexo de inclusão é formado pelo resveratrol com as β -ciclodextrinas, promovendo de igual forma a proteção do resveratrol pelas β -ciclodextrinas. Quanto aos resultados do complexo das carboximetil- β -ciclodextrinas com o resveratrol, parecem melhores do que os obtidos no nosso estudo com o complexo de inclusão formado pelo resveratrol com β -ciclodextrinas. Quando as carboximetil- β -ciclodextrinas formaram o complexo de inclusão com o resveratrol, o resveratrol formou ligações de hidrogénio estáveis com as carboximetil- β -ciclodextrinas (Cheng *et al.*, 2018), o mesmo esperado no nosso estudo, havendo a formação de ligações de hidrogénio estáveis entre o resveratrol e as β -ciclodextrinas.

O estudo realizado por Zhong e seus colaboradores (2009), também como já verificado, analisou a solubilidade e a atividade antioxidante da complexação do resveratrol com ciclodextrinas. Estes autores verificaram que o espectro UV-Vis do resveratrol é diferente quando formado o complexo de inclusão com as ciclodextrinas. Como verificado pelos resultados apresentados por estes autores, as β -ciclodextrinas causam pequenos desvios no pico máximo de absorção do resveratrol, enquanto a absorvância é levemente aumentada. Estes resultados mostraram-se diferentes dos obtidos no presente estudo, uma vez que, no nosso trabalho não foi verificada a deslocação do pico máximo de absorção do resveratrol quando formado o complexo de inclusão deste com as β -ciclodextrinas (Zhong *et al.*, 2009).

No estudo realizado por Sambasevam, Mohamad, Sarih e Ismail (2013), foi analisada a síntese e caracterização do complexo de inclusão de β -ciclodextrinas e azometina. Estes autores verificaram que ao longo de toda a faixa espectral, observou-se uma intensidade aumentada em todos os pontos do comprimento de onda, isto, devido aos fenómenos da formação do complexo de inclusão entre as β -ciclodextrinas e a azometina (Sambasevam, Mohamad, Sarih, & Ismail, 2013). Como se pode observar nos gráficos apresentados (Gráfico 1 e 2), no nosso estudo não se observou tal intensidade aumentada, traduzindo-se na indicação de que possivelmente o complexo de inclusão não se terá formado ou se se terá formado, este não se formou na sua totalidade, dado que as quantidades utilizadas foram muito baixas. No entanto, tal como concluído anteriormente, o resveratrol está presente, conferindo na mesma as atividades antimicrobiana e antioxidante previamente verificadas.

Por fim, e tendo em conta os resultados obtidos no presente trabalho, alguns dos nossos resultados não corroboram com a literatura, onde a presença dos pontos isobéticos pode determinar a formação de um complexo de inclusão. No entanto, de acordo com a literatura, para ocorrer a formação de complexos de inclusão, os pontos isobéticos aparecem a 253nm e 326nm (Nishihira *et al.*, 2013; Zhang, Jiang, Guo, & Li, 2008; Zhang, Shuang, Dong, & Pan, 2003), não se tendo verificado o mesmo no presente estudo.

3. Impregnação têxtil (Foulardagem)

3.1. Substrato têxtil: AMAJAW 18019

De acordo com a tabela 15, podemos verificar que o substrato têxtil AMAJAW 18019, aquando da funcionalização no foulard, apresenta uma massa têxtil muito superior à inicialmente medida antes da funcionalização às condições ambiente. Isto indica que a impregnação da solução com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas foi eficaz, uma vez que a técnica de foulardagem permitiu que esta solução ficasse impregnada no substrato têxtil AMAJAW 18019. O mesmo substrato têxtil, aquando da funcionalização no foulard às condições ambiente, apresenta um valor de normalização muito próximo de um, o que nos indica também que a técnica de foulardagem foi eficaz e permitiu que esta solução ficasse impregnada no substrato têxtil AMAJAW 18019.

Tabela 15. Determinação da massa do substrato têxtil AMAJAW 18019 de cada uma das amostras nas diferentes fases da impregnação pela técnica de foulardagem.

AMAJAW 18019	1. Substrato têxtil antes da funcionalização às condições ambiente		2. Substrato têxtil depois da funcionalização no foulard		3. Substrato têxtil depois da funcionalização às condições ambiente	
	Massa têxtil (g)	Normalização	Massa têxtil (g)	Normalização	Massa têxtil (g)	Normalização
Controlo (-) H₂O/EtOH	8,233	n. a.	12,760	n. a.	8,056	n. a.
Controlo (+) (A) Resveratrol DMSO 1:1000 C=0,027g/L	8,160	n. a.	13,520	n. a.	7,958	n. a.
Controlo (+) (A) Resveratrol DMSO 1:1000 C=0,053g/L	8,214	n. a.	13,660	n. a.	8,059	n. a.
Controlo (+) (A) Resveratrol DMSO 1:1000 C=0,100g/L	7,925	n. a.	13,250	n. a.	7,772	n. a.
Controlo (+) (B) Resveratrol H₂O/EtOH C=0,027g/L	8,200	n. a.	13,230	n. a.	8,018	n. a.
Controlo (+) (B) Resveratrol H₂O/EtOH C=0,053g/L	8,201	n. a.	13,760	n. a.	7,935	n. a.
Controlo (+) (B) Resveratrol H₂O/EtOH C=0,100g/L	7,804	n. a.	12,910	n. a.	7,601	n. a.
Complexo Inclusão βCDs - RSV (A) C=0,027g/L	7,926	0,971	12,360	0,914	7,758	0,975
Complexo Inclusão βCDs - RSV (A) com 1% de glioxal	8,077	0,990	13,590	1,005	7,954	0,999
Complexo Inclusão βCDs - RSV (A) com 1% de glutaraldeído	8,060	0,988	13,650	1,010	7,912	0,994
Complexo Inclusão βCDs - RSV (B) C=0,027g/L	8,009	0,977	13,550	1,024	7,847	0,979

Complexo Inclusão βCDs - RSV (B) com 1% de glioxal	8,014	0,977	12,820	0,969	7,860	0,980
Complexo Inclusão βCDs - RSV (B) com 1% de glutaraldeído	8,091	0,987	13,630	1,030	8,003	0,998

Legenda: 1 – Substrato têxtil antes da funcionalização às condições ambiente; 2 – Substrato têxtil depois da funcionalização no foulard; 3 – Substrato têxtil depois da funcionalização às condições ambiente; n. a. – não aplicável.

Os resultados da tabela 16 são relativos à análise do *wet pick up* (%) do substrato têxtil AMAJAW 18019. De acordo com os resultados apresentados, verificou-se que a diferença de massa entre o substrato têxtil antes da funcionalização às condições ambiente e o substrato têxtil depois da funcionalização no foulard é similar entre todos os ensaios realizados, tendo-se verificado um mínimo de 4,434g para o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) C=0,027g/L, e um máximo de 5,590g para o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) com 1% de glutaraldeído. Quanto ao *wet pick up*, verificou-se que este é sempre superior a 55,000% para todas as amostras testadas. Os valores do *wet pick up* mais elevados foram os do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) com 1% de glutaraldeído, do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) C=0,027g/L e do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) com 1% de glutaraldeído, com 69,361%, 69,187% e 68,466%, respetivamente. Assim, de acordo com os resultados, o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) C=0,027g/L apresenta melhores resultados comparativamente ao complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) C=0,027g/L. Quando adicionado um agente ligante, os resultados com 1% de glutaraldeído dos complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) C=0,027g/L e (B) C=0,027g/L são melhores, comparativamente aos resultados com 1% de glioxal. Para todos os ensaios a variação da normalização é próximo de zero, como esperado.

Tabela 16. Comparação e análise da massa com consequente determinação do *wet pick up* (%) do substrato têxtil AMAJAW 18019 de cada uma das amostras entre duas fases da impregnação pela técnica de foulardagem.

<u>AMAJAW 18019</u>	Diferença da massa no substrato têxtil <u>1.</u> e <u>2.</u>	<i>Wet pick up</i> do substrato têxtil <u>1.</u> e <u>2.</u>	Δ Normalização <u>1.</u> e <u>2.</u>
	Δ Massa têxtil (g)	<i>Wet pick up</i> (%)	$\Delta N = N_2 - N_1$
Controlo (-) H ₂ O/EtOH	4,527	54,994	n. a.
Controlo (+) (A) Resveratrol DMSO 1:1000 C=0,027g/L	5,360	65,688	n. a.
Controlo (+) (A) Resveratrol DMSO 1:1000 C=0,053g/L	5,446	66,294	n. a.
Controlo (+) (A) Resveratrol DMSO 1:1000 C=0,100g/L	5,325	67,196	n. a.
Controlo (+) (B) Resveratrol H ₂ O/EtOH C=0,027g/L	5,030	61,337	n. a.
Controlo (+) (B) Resveratrol H ₂ O/EtOH C=0,053g/L	5,559	67,778	n. a.
Controlo (+) (B) Resveratrol H ₂ O/EtOH C=0,100g/L	5,106	65,435	n. a.

Complexo Inclusão βCDs - RSV (A) C=0,027g/L	4,434	55,941	0,057
Complexo Inclusão βCDs - RSV (A) com 1% de glioxal	5,513	68,255	0,015
Complexo Inclusão βCDs - RSV (A) com 1% de glutaraldeído	5,590	69,361	0,022
Complexo Inclusão βCDs - RSV (B) C=0,027g/L	5,541	69,187	0,048
Complexo Inclusão βCDs - RSV (B) com 1% de glioxal	4,806	59,961	0,008
Complexo Inclusão βCDs - RSV (B) com 1% de glutaraldeído	5,539	68,466	0,044

Legenda: 1 – Substrato têxtil antes da funcionalização às condições ambiente; 2 – Substrato têxtil depois da funcionalização no foulard; n. a. – não aplicável.

3.2. Substrato têxtil: AMAJAW 18008

De acordo com os resultados da tabela 17, verificamos que o substrato têxtil AMAJAW 18008, aquando da funcionalização no foulard, apresenta uma massa têxtil muito superior à inicialmente medida antes da funcionalização às condições ambiente. O que, comparativamente ao AMAJAW 18019 (Tabela 15), indica que a impregnação da solução com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas foi eficaz, uma vez que a técnica de foulardagem permitiu que esta solução ficasse impregnada no substrato têxtil AMAJAW 18008. No entanto, os resultados da massa do substrato têxtil depois da funcionalização no foulard para o AMAJAW 18008 são consideravelmente superiores aos do AMAJAW 18019, pois apresentam uma taxa maior de impregnação. O substrato têxtil AMAJAW 18008, aquando da funcionalização no foulard às condições ambiente, apresenta um valor de normalização muito próximo de um, o que nos indica também que a técnica de foulardagem foi eficaz e permitiu que esta solução ficasse impregnada no substrato têxtil AMAJAW 18008, resultados estes similares aos apresentados pelo substrato têxtil AMAJAW 18019.

Tabela 17. Determinação da massa do substrato têxtil AMAJAW 18008 de cada uma das amostras nas diferentes fases da impregnação pela técnica de foulardagem.

AMAJAW 18008	1. Substrato têxtil antes da funcionalização às condições ambiente		2. Substrato têxtil depois da funcionalização no foulard		3. Substrato têxtil depois da funcionalização às condições ambiente	
	Massa têxtil (g)	Normalização	Massa têxtil (g)	Normalização	Massa têxtil (g)	Normalização
Controlo (-) H₂O/EtOH	9,151	n. a.	15,420	n. a.	8,999	n. a.
Controlo (+) (A) Resveratrol DMSO 1:1000 C=0,027g/L	9,372	n. a.	15,470	n. a.	9,136	n. a.

Controlo (+) (A)						
Resveratrol DMSO 1:1000 C=0,053g/L	9,588	n. a.	15,960	n. a.	9,374	n. a.
Controlo (+) (A)						
Resveratrol DMSO 1:1000 C=0,100g/L	9,826	n. a.	16,390	n. a.	9,606	n. a.
Controlo (+) (B)						
Resveratrol H₂O/EtOH C=0,027g/L	8,229	n. a.	14,730	n. a.	9,006	n. a.
Controlo (+) (B)						
Resveratrol H₂O/EtOH C=0,053g/L	8,952	n. a.	14,840	n. a.	8,701	n. a.
Controlo (+) (B)						
Resveratrol H₂O/EtOH C=0,100g/L	9,792	n. a.	16,530	n. a.	9,607	n. a.
Complexo Inclusão βCDs - RSV (A) C=0,027g/L	9,873	1,054	16,280	1,052	9,697	1,061
Complexo Inclusão βCDs - RSV (A) com 1% de glioxal	9,420	1,005	16,100	1,041	9,282	1,016
Complexo Inclusão βCDs - RSV (A) com 1% de glutaraldeído	9,430	1,006	16,060	1,038	9,279	1,016
Complexo Inclusão βCDs - RSV (B) C=0,027g/L	9,904	1,204	16,450	1,117	9,695	1,077
Complexo Inclusão βCDs - RSV (B) com 1% de glioxal	9,317	1,132	15,500	1,052	9,155	1,017
Complexo Inclusão βCDs - RSV (B) com 1% de glutaraldeído	9,203	1,118	15,660	1,063	8,960	0,995

Legenda: 1 – Substrato têxtil antes da funcionalização às condições ambiente; 2 – Substrato têxtil depois da funcionalização no foulard; 3 – Substrato têxtil depois da funcionalização às condições ambiente; n. a. – não aplicável.

Assim, os resultados da massa do substrato têxtil depois da funcionalização no foulard para o AMAJAW 18008 são melhores que para o AMAJAW 18019, permitindo inferir que o AMAJAW 18008 apresentou uma taxa de impregnação da solução com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas mais eficaz que o AMAJAW 18019. A composição do substrato têxtil interfere na impregnação da mesma. Como o AMAJAW 18008 apresenta uma maior percentagem de algodão na sua composição (95% algodão orgânico e 5% elastano), irá apresentar uma maior taxa de impregnação da solução com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas.

Os resultados da tabela 18 são relativos à análise do *wet pick up* do substrato têxtil AMAJAW 18008. De acordo com os resultados apresentados, verificou-se que a diferença de massa entre o substrato têxtil antes da funcionalização às condições ambiente e o substrato têxtil depois da funcionalização no foulard é similar entre todos os ensaios realizados, tendo-se verificado um mínimo de 6,183g para o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) com 1% de glioxal e um máximo de 6,680g para complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) com 1% de glioxal. Quanto ao *wet pick up*, verificou-se que este é sempre superior a 64,000% para todas as amostras testadas. Os três valores do *wet pick up* mais elevados foram 70,906%, 70,311% e

70,168%, para o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) com 1% de glioxal, o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) com 1% de glutaraldeído e o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) com 1% de glutaraldeído, respetivamente. Os resultados permitem inferir que o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) C=0,027g/L apresenta melhores resultados comparativamente ao complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) C=0,027g/L. Quando adicionado um agente ligante, os resultados com 1% de glioxal do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) C=0,027g/L são melhores quando comparados aos resultados com 1% de glutaraldeído e os resultados com 1% de glutaraldeído do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) C=0,027g/L são melhores quando comparados aos resultados com 1% de glioxal. Para todos os ensaios a variação da normalização é próximo de zero, como esperado.

Tabela 18. Comparação e análise da massa com consequente determinação do *wet pick up* (%) do substrato têxtil AMAJAW 18008 de cada uma das amostras entre duas fases da impregnação pela técnica de foulardagem.

<u>AMAJAW 18008</u>	Diferença da massa no substrato têxtil <u>1.</u> e <u>2.</u>	Wet pick up do substrato têxtil <u>1.</u> e <u>2.</u>	Δ Normalização <u>1.</u> e <u>2.</u>
	Δ Massa têxtil (g)	Wet pick up (%)	$\Delta N = N_2 - N_1$
Controlo (-) H₂O/EtOH	6,269	68,504	n. a.
Controlo (+) (A) Resveratrol DMSO 1:1000 C=0,027g/L	6,098	65,072	n. a.
Controlo (+) (A) Resveratrol DMSO 1:1000 C=0,053g/L	6,372	66,464	n. a.
Controlo (+) (A) Resveratrol DMSO 1:1000 C=0,100g/L	6,564	66,802	n. a.
Controlo (+) (B) Resveratrol H₂O/EtOH C=0,027g/L	6,501	78,993	n. a.
Controlo (+) (B) Resveratrol H₂O/EtOH C=0,053g/L	5,888	65,774	n. a.
Controlo (+) (B) Resveratrol H₂O/EtOH C=0,100g/L	6,738	68,816	n. a.
Complexo Inclusão βCDs - RSV (A) C=0,027g/L	6,407	64,888	0,001
Complexo Inclusão βCDs - RSV (A) com 1% de glioxal	6,680	70,906	0,036
Complexo Inclusão βCDs - RSV (A) com 1% de glutaraldeído	6,630	70,311	0,032
Complexo Inclusão βCDs - RSV (B) C=0,027g/L	6,546	66,090	0,087
Complexo Inclusão βCDs - RSV (B) com 1% de glioxal	6,183	66,358	0,080
Complexo Inclusão βCDs - RSV (B) com 1% de glutaraldeído	6,457	70,168	0,055

Legenda: 1 – Substrato têxtil antes da funcionalização às condições ambiente; 2 – Substrato têxtil depois da funcionalização no foulard; n. a. – não aplicável.

De acordo com os resultados anteriormente analisados, podemos verificar que o *wet pick up*, para os diferentes substratos têxteis, AMAJAW 18019 e AMAJAW 18008, foi diferente, uma vez que a composição e a estrutura de cada um são também diferentes. Assim, verificou-se que quando analisado o *wet pick up*, este foi superior e com melhores

resultados para o substrato têxtil AMAJAW 18008, dado apresentar uma maior percentagem de algodão na sua composição. Deste modo, o AMAJAW 18008 foi o escolhido para prosseguir com as análises da atividade antioxidante e antibacteriana.

Quando analisada a bibliografia científica existente, verificou-se que existe uma lacuna, uma vez que não foi encontrado nenhum estudo que tenha realizado o mesmo tipo de análise que o presente trabalho. Podemos concluir, que o nosso estudo apresenta um caráter inovador, dado que não foram encontrados estudos que tivessem analisado a impregnação da solução dos complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas em substratos têxteis. No entanto, alguns estudos semelhantes foram encontrados, pelo que, de certo modo, é possível realizar comparações e conclusões.

No estudo realizado por Zemljč e seus colaboradores (2014), analisou-se a funcionalização antibacteriana e antioxidante do substrato têxtil de viscose usando formulações de quitosano-curcumina. Estes autores confirmaram a ligação bem-sucedida da formulação de quitosano-curcumina sobre o substrato têxtil de viscose, através da diferença de massas, por métodos gravimétricos. Em todos os casos, a massa da amostra aumentou quando comparada com o tecido de viscose de referência (Zemljč *et al.*, 2014), o que coincide com os resultados apresentados no presente estudo.

Segundo o estudo realizado por Kert e Gorjanc (2017), onde se analisaram microcápsulas impregnadas em substratos têxteis, e o estudo de Hebeish, Ramadan, El-Naggar e El-Rafie (2011), onde foram estudadas soluções coloidais de nanopartículas de prata em substratos têxteis, em ambos os estudos, verificou-se um *wet pick up* de 100% (Hebeish, Ramadan, El-Naggar, & El-Rafie, 2011; Kert & Gorjanc, 2017), resultados diferentes dos apresentados no presente trabalho. Teli e Chavan (2016), analisaram o processo de aplicação modificado em substratos têxteis de algodão para melhorar a repelência aos mosquitos, e verificou-se que estes substratos têxteis apresentaram um *wet pick up* de 90% (Teli & Chavan, 2016), resultados superiores aos obtidos no presente trabalho. Aracil e seus colaboradores (2015), compararam duas técnicas, para aplicar microcápsulas em substratos têxteis de algodão. De acordo com estes autores, a técnica de fouldagem permitiu garantir um *wet pick up* entre 85% e 90% (Aracil *et al.*, 2015). Estes resultados, são superiores aos obtidos no presente trabalho, uma vez que os nossos melhores resultados do *wet pick up* estavam próximos dos 70%.

Por outro lado, no estudo realizado por Xu e seus colaboradores (2018), verificou-se que os substratos têxteis de algodão analisados, apresentaram um *wet pick up* próximo dos 80% (Xu *et al.*, 2018), resultados similares aos do presente estudo. O estudo realizado por Beninate, Boylston, Drake e Reeves (1968), verificou que pela técnica de fouldagem, as amostras de substrato têxtil apresentaram um *wet pick up* de 75% (Beninate, Boylston, Drake, & Reeves, 1968), próximo dos nossos resultados obtidos. De acordo com Kittinaovarat, Hengprapakron e Janvikul (2012), foi possível observar, no substrato têxtil de algodão, um *wet pick up* de 70% (Kittinaovarat, Hengprapakron, & Janvikul, 2012), resultados muito semelhantes aos observados no presente trabalho, dado que, os nossos melhores resultados apresentaram um *wet pick up* na mesma ordem de grandeza.

4. Análise dos espectros FTIR-ATR

4.1. Análise do resveratrol

De acordo com o gráfico 3, podemos observar as bandas características para o espectro FTIR-ATR do resveratrol. Verificou-se a presença de bandas características deste composto natural bioativo a 3292cm^{-1} , representativa de ligações de grupos OH (associado), alongamento, sendo esta uma banda forte, larga e resultante de uma associação polimérica. Identificaram-se outras bandas características a 2848cm^{-1} e 2924cm^{-1} representativas de ligações CH (alifáticos), bandas estas importantes na sua caracterização. Também foram verificadas bandas características a 1464cm^{-1} , 1512cm^{-1} , 1587cm^{-1} e 1606cm^{-1} representativas de ligações C=C (aromáticos). Estas vibrações de núcleos aromáticos, são caracterizadas por apresentarem bandas na zona 1580cm^{-1} , que é intensa quando o grupo fenil é conjugado com insaturações ou mesmo ligado a átomos com pares de elétrons livres. A zona das bandas de 1450cm^{-1} , geralmente é obscurecida e a zona das bandas de 1500cm^{-1} é normalmente mais forte, sendo, portanto, características das vibrações do esqueleto do anel benzeno, como observado nos resultados obtidos. Por último no espectro FTIR-ATR do resveratrol observou-se bandas a 965cm^{-1} e a 987cm^{-1} representativas de ligações C=CH, correspondentes a bandas transolefínicas típicas.

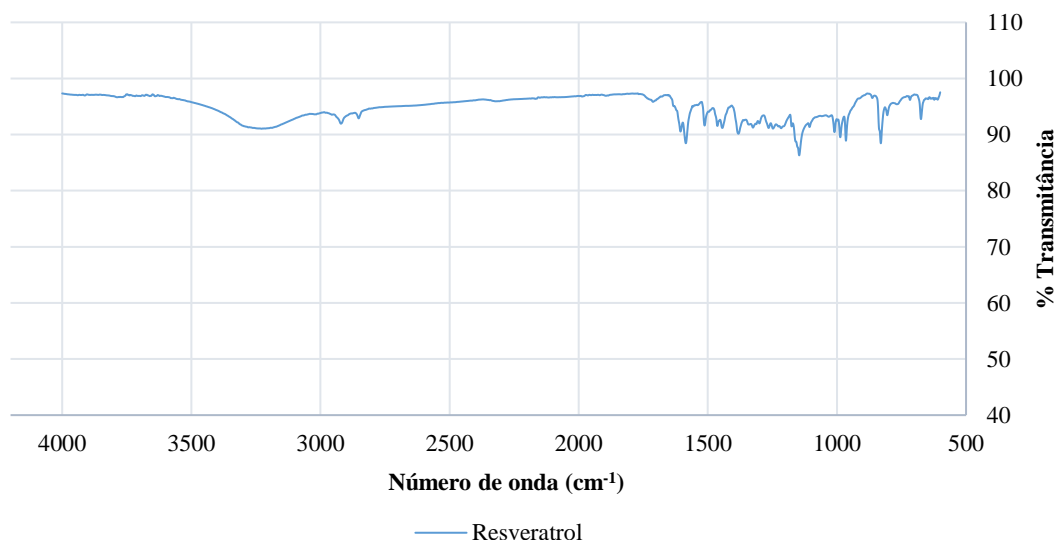


Gráfico 3. Espectro de FTIR-ATR do resveratrol.

De acordo com Nishihira e seus colaboradores (2013), foi possível observar bandas muito semelhantes às apresentadas no presente trabalho. No trabalho desenvolvido por estes autores, verificaram-se bandas a 3293cm^{-1} (vibração de alongamento OH), 1463cm^{-1} , 1513cm^{-1} , 1586cm^{-1} e 1606cm^{-1} (vibrações do esqueleto de benzeno) e 965cm^{-1} e 988cm^{-1} (vibrações de flexão de C=CH) (Nishihira *et al.*, 2013), pelo que está de acordo com os resultados obtidos no espectro FTIR-ATR do resveratrol do presente trabalho.

Outros estudos, também suportam os dados obtidos pelo espectro FTIR-ATR do resveratrol apresentado no gráfico 3. No estudo realizado por Trollope e seus

colaboradores (2014), verificou-se a presença de uma banda a 965cm^{-1} representativa de ligações C=CH, bandas nas zonas de 1581cm^{-1} , 1605cm^{-1} indicativas de ligações C=C (aromáticos) e 3194cm^{-1} representativa de ligações de grupos OH (associado) (Trollope *et al.*, 2014), confirmando os nossos resultados apresentados. Ansari, Vavia, Trotta e Cavalli (2011), também demonstraram a presença de algumas bandas características do resveratrol, apresentadas e identificadas no presente trabalho. Como exemplo, a banda apresentada no intervalo de 3200cm^{-1} a 3600cm^{-1} indicativa das ligações OH, alongamento, característica de grupos hidroxilo. Além disto, este grupo de investigação comparou os espectros de FTIR-ATR do resveratrol com os do complexo de inclusão. Na comparação destes dois espectros, foi possível verificar que existe uma grande alteração na região da impressão digital, isto é, no intervalo de bandas de 900cm^{-1} a 1400cm^{-1} . Foi verificada uma banda intensa devido às ligações de OH (alongamento), típica dos hidratos de carbono, no espectro das ciclodextrinas, que é deslocada para a banda 3273cm^{-1} no espectro FTIR-ATR do complexo de inclusão, indicando que há interação dos grupos OH das ciclodextrinas com o resveratrol (Ansari, Vavia, Trotta, & Cavalli, 2011).

4.2. Análise das β -ciclodextrinas

O gráfico 4 representa o espectro de FTIR-ATR das β -ciclodextrinas. Como se pode observar no espectro, verificou-se uma banda forte entre 3200cm^{-1} e 3600cm^{-1} , mais precisamente a 3328cm^{-1} , correspondente à vibração da ligação OH, alongamento, característico de grupos hidroxilo. A banda a 2921cm^{-1} é atribuída ao alongamento assimétrico e simétrico das vibrações de ligação CH e CH_2 , que aparece na região entre 2800cm^{-1} e 3000cm^{-1} . Quanto às bandas apresentadas a 1635cm^{-1} , 1153cm^{-1} e 1023cm^{-1} são representativas das ligações de C=O e C–O–C.

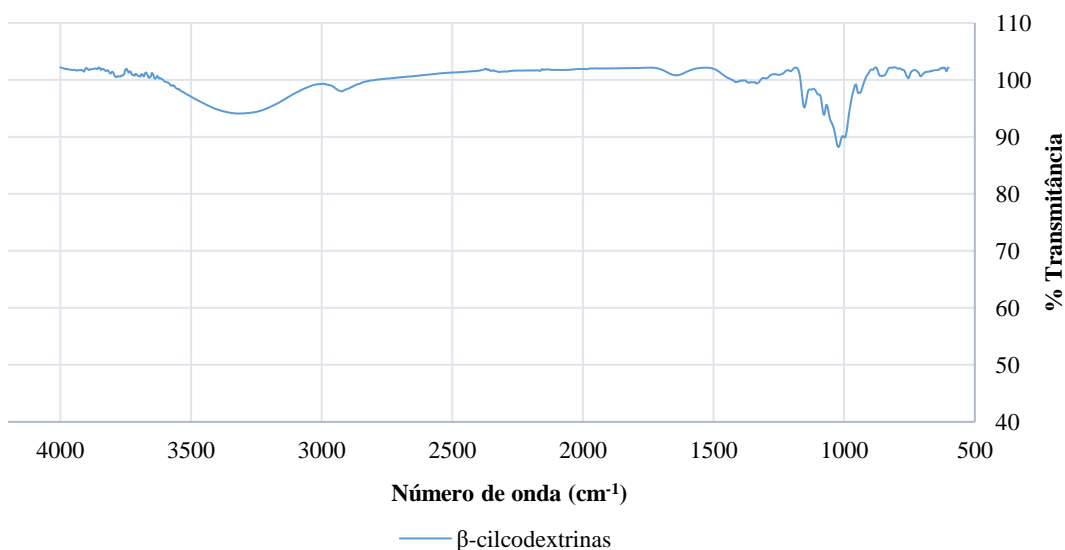


Gráfico 4. Espectro de FTIR-ATR das β -ciclodextrinas.

Cheng e seus colaboradores (2018), verificaram bandas características das β -ciclodextrinas muito semelhantes às apresentadas no presente trabalho. Estes autores observaram bandas a 1605cm^{-1} , 1419cm^{-1} e 1030cm^{-1} , 2937cm^{-1} e 3419cm^{-1} , atribuídas à deformação de alongamento de C=O e C–O–C, ao alongamento das vibrações de CH_2 nas amostras analisadas e ao pico maior e mais forte que é resultante do alongamento da vibração da ligação OH, respetivamente (Cheng *et al.*, 2018). Nicolescu, Aramă e Manciu (2010), verificaram que os espectros das β -ciclodextrinas são caracterizados por bandas intensas entre 3300cm^{-1} e 3500cm^{-1} devido a vibrações da ligação OH (alongamento), enquanto que, a vibração dos grupos CH e CH_2 estavam presentes na região entre 2800cm^{-1} e 3000cm^{-1} (Nicolescu, Aramă, & Manciu, 2010).

De acordo com outro estudo, a banda característica das β -ciclodextrinas que correspondente às ligações OH sobrepõem-se à banda da ligação OH da água. Com recurso à deconvolução das bandas, este grupo conseguiu provar a sobreposição das duas bandas, sendo mais intensa a banda dos grupos OH presentes nas ciclodextrinas e menos intensa a banda responsável pelas ligações OH das moléculas de água presentes no interior da cavidade das ciclodextrinas (Bratu *et al.*, 2004). Por outro lado, de acordo com Sharma e Sharma (2010) as restantes bandas apresentadas no espectro FTIR-ATR das β -ciclodextrinas são referentes às ligações C–O (alongamento) e C–C (alongamento). Apesar da banda C–O ser uma banda intensa, não é muito utilizada na caracterização das ciclodextrinas com outras moléculas, como por exemplo o resveratrol. No entanto, este mesmo grupo de investigação identificou uma banda a 1852cm^{-1} , como sendo a banda característica da ligação glicosídica presente nas ciclodextrinas, entre as moléculas de glucose que a compõe (Sharma & Sharma, 2010). Todavia, no presente trabalho, não se verificou nenhuma banda na zona dos 1852cm^{-1} .

Subramaniam, Mohamad e Alias (2010) e também Sambasevam, Mohamad, Sarih e Ismail (2013), dois grupos de investigação, apresentaram resultados muito semelhantes aos demonstrados pelo nosso estudo. Estes autores, verificaram bandas pronunciadas e amplas entre 3200cm^{-1} e 3600cm^{-1} , além das observadas entre 2800cm^{-1} e 3000cm^{-1} , representativas de ligações de alongamento de grupos OH e de vibrações de ligação CH e CH_2 , repectivamente. Foram também observadas bandas a 1157cm^{-1} e 1029cm^{-1} , representativas de ligações C–C e de vibrações de flexão OH, respetivamente (Sambasevam, Mohamad, Sarih, & Ismail, 2013; Subramaniam, Mohamad, & Alias, 2010), concordantes com os resultados obtidos no presente trabalho.

4.3. Análise dos substratos têxteis AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas

FTIR-ATR é uma técnica útil, usada para confirmar a formação do complexo de inclusão, e assim, provar a existência de moléculas hospedeiras impregnadas nos seus complexos de inclusão (Jiao, Goh, & Valiyaveetil, 2001; Sambasevam, Mohamad, Sarih, & Ismail, 2013). De acordo com o gráfico 5, podemos observar o espectro FTIR-ATR do substrato têxtil AMAJAW 18008 controlo ($H_2O/EtOH$), do substrato têxtil AMAJAW 18008 impregnado com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) $C=0,027g/L$ com 1% de glioxal e do substrato têxtil AMAJAW 18008 impregnado com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) $C=0,027g/L$, sendo estes dois últimos os substratos têxteis com os melhores resultados apresentados, de acordo com os ensaios anteriormente realizados.

Confirmou-se nestes espectros que, as bandas apresentadas são características de um substrato têxtil de algodão, uma vez que, este substrato têxtil apresenta uma composição de 95% algodão orgânico e 5% elastano. Importante referir que, as fibras de algodão contêm abundantes grupos hidroxilo, tornando a superfície da fibra têxtil altamente hidrofílica. Verificou-se bandas características dos três substratos têxteis a $3333cm^{-1}$ e a $3286cm^{-1}$ representativas de ligações de grupos OH (associado), alongamento, sendo estas bandas fortes, largas e resultantes de uma associação polimérica. Estas bandas apresentam intensidades diferentes, uma vez que os dois substratos têxteis AMAJAW 18008 impregnados com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas, para os mesmos números de onda, apresentam uma intensidade diferente em relação ao substrato têxtil AMAJAW 18008 controlo ($H_2O/EtOH$), indicativo do comportamento da ampla faixa intermolecular da ligação com o hidrogénio, estiramento OH, presente nos grupos fenol do resveratrol. Contudo, identificou-se uma banda a $2897cm^{-1}$ representativa de ligações CH, alongamento, e/ou vibração de estiramento do metileno (CH_2) apenas para o substrato têxtil AMAJAW 18008 controlo ($H_2O/EtOH$). Por outro lado, verificou-se a presença de uma banda característica a $2848cm^{-1}$ representativa de ligações CH (alifáticos), apenas presente nos espectros do substrato têxtil AMAJAW 18008 impregnado com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) $C=0,027g/L$ com 1% de glioxal e do substrato têxtil AMAJAW 18008 impregnado com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) $C=0,027g/L$, dado que, apenas estes dois substratos têxteis são impregnados com os complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas. Outras bandas características dos três substratos têxteis AMAJAW 18008 também foram verificadas, a $1641cm^{-1}$ característica de moléculas de água adsorvidas pelo substrato têxtil, a $1429cm^{-1}$ representativa de ligações CH e/ou vibração de flexão do metileno (CH_2), a $1364cm^{-1}$ representativa de ligações de flexão CH, a $1055cm^{-1}$ associada a ligações C–O de ésteres e a $1025cm^{-1}$ representativa de ligações C–O, alongamento, características de vibrações de alongamento de ligação de éteres (C–O–C).

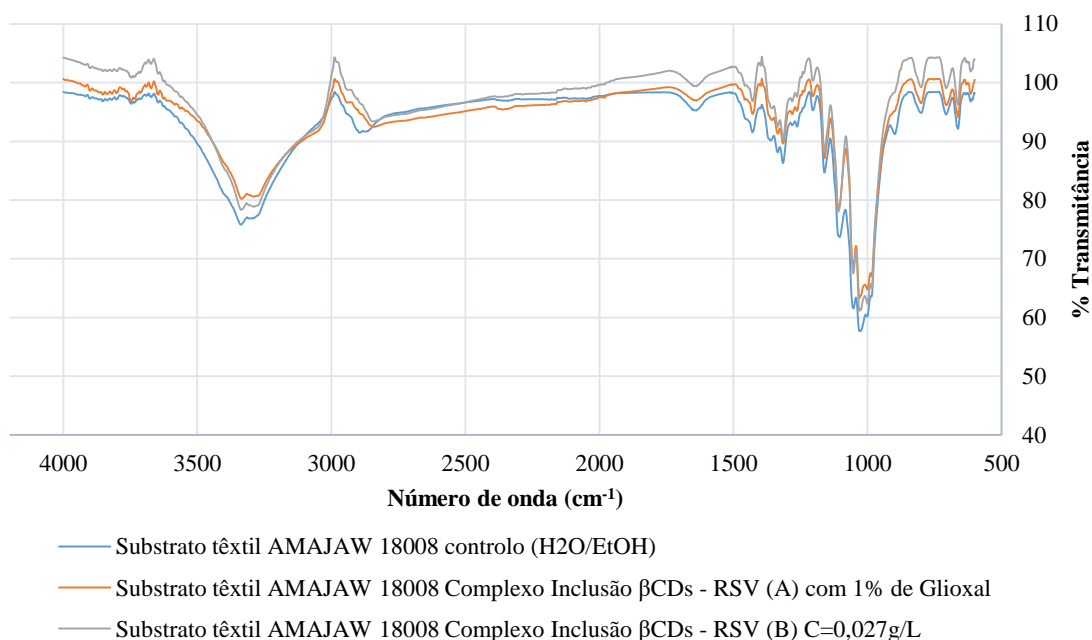


Gráfico 5. Espectro de FTIR-ATR do substrato têxtil AMAJAW 18008 controlo (H₂O/EtOH) e dos dois substratos têxteis AMAJAW 18008 selecionados com os melhores resultados, o substrato têxtil AMAJAW 18008 impregnado com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) C=0,027g/L com 1% de glioxal e o substrato têxtil AMAJAW 18008 impregnado com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) C=0,027g/L.

De acordo com Wang, Han e Feng (2007), a formação do complexo de inclusão pode ser confirmada por espectroscopia FTIR-ATR, porque as bandas resultantes da molécula hospede do complexo de inclusão são geralmente deslocadas ou as intensidades das bandas são alteradas. Segundo estes autores, a formação do complexo de inclusão com β -ciclodextrinas, tal como ocorreu no nosso estudo, irá fazer com que as interações não-covalentes, como interações hidrofóbicas, interações de *Van der Waals* e ligações de hidrogénio provoquem a diminuição da energia da molécula hospede do complexo de inclusão, reduzindo as intensidades de absorção das ligações correspondentes (Wang, Han, & Feng, 2007). De acordo com outros autores, é esperado observar-se que tanto o substrato têxtil como os produtos comerciais apresentem grupos OH na região entre 3700cm⁻¹ e 3000cm⁻¹, e que quando impregnadas microcápsulas no substrato têxtil, ocorra um favorecimento de mais grupos funcionais OH (Aracil *et al.*, 2015), como se observou no nosso estudo.

O estudo realizado por Chung, Lee e Choe (2004), analisou têxteis de algodão, tal como o presente estudo, e têxteis em cru, sem qualquer tipo de acabamento, não se tendo verificado diferenças entre os espectros FTIR-ATR destes substratos têxteis. Segundo estes autores, foi possível observar bandas características apenas da celulose, que é o principal componente da fibra de algodão. Foi observada uma banda larga a 3300cm⁻¹ correspondente a ligações OH (alongamento). Também foram observadas bandas amplas na região entre 3000cm⁻¹ e 2800cm⁻¹ representativas de ligações CH (estiramento). Estes autores referem que ceras e pectinas de componentes não-celulósicos estão localizadas na borda das fibras de algodão. A espectroscopia FTIR-ATR, que é uma técnica sensível à superfície, permite medir a presença de ceras e pectinas de forma semi-quantitativa.

Segundo estes mesmos autores, foi possível observar a presença de bandas a 2918cm^{-1} e 2849cm^{-1} correspondentes ao alongamento assimétrico e simétrico dos grupos metileno (CH_2) em cadeias alquílicas longas, permitindo comprovar a presença de ceras na superfície têxtil. Outras impurezas, como pectinas e proteínas, geralmente não têm estes grupos metileno de cadeia longa de alquila. De acordo com os nossos resultados apresentados no gráfico 5, a celulose apresenta grupos CH_2 na sua estrutura, devido à banda apresentada a 2897cm^{-1} . Por outro lado, e não indo de encontro com os nossos resultados apresentados, estes autores afirmam que as bandas correspondentes a estas ligações de alongamento simétrico e assimétrico nunca foram observadas nos seus resultados (Chung, Lee, & Choe, 2004). Os resultados observados por estes autores, estão concordantes com os apresentados no nosso estudo e com os do estudo realizado por Giesz e seus colaboradores (2017), que para além de se verificar todas as bandas observadas no nosso estudo, também observaram uma banda a 1640cm^{-1} , representativa de moléculas de água adsorvidas pelo substrato têxtil (Giesz *et al.*, 2017).

De acordo com o estudo de Ma e seus colaboradores (2009), têxteis de algodão com microcápsulas foram analisados. Estes investigadores mostraram que as bandas apresentadas pelos têxteis de algodão com microcápsulas eram semelhantes e apresentaram bandas características da celulose. Entre os resultados obtidos, foi possível observar bandas características de vibração de grupos hidroxilo (OH), de vibração de estiramento do metileno (CH_2), de vibração de flexão do metileno e de vibração de alongamento da ligação éter (C–O–C) a 3340cm^{-1} , 2917cm^{-1} , 1429cm^{-1} e 1058cm^{-1} , respetivamente (Ma *et al.*, 2009), concordantes com os resultados apresentados no presente estudo. El-Shishtawy, Asiri, Abdelwahed e Al-Otaibi (2011), também observaram bandas muito semelhantes às identificadas no presente trabalho. De acordo com este grupo de investigação, as principais bandas características do algodão, devido à macromolécula de celulose, surgem a 3334cm^{-1} , 2900cm^{-1} , 1430cm^{-1} , 1368cm^{-1} e 1029cm^{-1} (El-Shishtawy, Asiri, Abdelwahed, & Al-Otaibi, 2011), bandas estas concordantes com as apresentadas no gráfico 5, para os três substratos têxteis analisados.

Pinho e seus colaboradores (2010), verificaram que as diferenças entre os espectros de FTIR-ATR do substrato têxtil controlo e do substrato têxtil com resveratrol não eram muito notórias, comprovando os resultados do presente estudo. No entanto, de acordo com os espectros FTIR-ATR do substrato têxtil de seda e de algodão com o resveratrol, foi possível observar uma ligeira diminuição na intensidade da banda a 3274cm^{-1} , representativa do comportamento da ampla faixa intermolecular da ligação com o hidrogénio, estiramento OH, presente nos grupos fenol do resveratrol. Tais resultados estão concordantes com os resultados apresentados no presente trabalho. Assim, e de acordo com os resultados obtidos por estes autores, o resveratrol foi adsorvido nos substratos têxteis, sendo o algodão e a seda as fibras às quais o resveratrol apresenta maior afinidade (Pinho *et al.*, 2010).

Outros estudos, que comprovam os nossos resultados, são os desenvolvidos por Sambasevam, Mohamad, Sarih e Ismail (2013). De acordo com estes autores, o espectro de FTIR-ATR para o complexo de inclusão parece quase similar ao apresentado pelas β -ciclodextrinas, o que coincide com os nossos resultados apresentados no gráfico 4 e no gráfico 5. Esta coincidência entre os espectros de FTIR-ATR apresentados, indica a formação do complexo de inclusão, semelhante a um fenómeno observado por Li e seus

colaboradores (Li *et al.*, 2007). Além disso, verificou-se que a ampla banda a 3370cm^{-1} indicativa de grupos hidroxilo, no espectro FTIR-ATR das β -ciclodextrinas, era relativamente mais estreita no espectro de FTIR-ATR do complexo de inclusão, o que é uma boa indicação da formação do mesmo. Este, é um fenómeno comum observado por muitos pesquisadores na síntese do complexo de inclusão entre β -ciclodextrinas e moléculas hóspedes (Li *et al.*, 2007; Sambasevam, Mohamad, Sarih, & Ismail, 2013), como por exemplo o resveratrol, utilizado no presente estudo.

Os espectros do substrato têxtil AMAJAW 18008 impregnado com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) $C=0,027\text{g/L}$ com 1% de glioxal e do substrato têxtil AMAJAW 18008 impregnado com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) $C=0,027\text{g/L}$ não revelaram bandas novas nem diferentes em relação ao espectro do substrato têxtil AMAJAW 18008 controlo ($\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$), exceto uma. A única banda diferente apresentada pelos dois substratos têxteis AMAJAW 18008 com os complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas foi a 2848cm^{-1} , o mesmo pico apresentado pelo espectro de FTIR-ATR do resveratrol no gráfico 3. A presença da banda característica a 2848cm^{-1} permite inferir que estamos perante uma banda representativa e característica do resveratrol, associada a ligações CH (alifáticos). É possível observar no gráfico 5, que as bandas apresentadas pelos substratos têxteis AMAJAW 18008 com os complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas, apresentaram uma intensidade diferente quando comparados com o substrato têxtil AMAJAW 18008 controlo ($\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$), ou seja, ocorreu a ligação entre o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas e o substrato têxtil de algodão. Estes resultados apresentados, sugerem a ligação do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas com o O do substrato têxtil AMAJAW 18008, mais precisamente com as macromoléculas de celulose, características do algodão. Por outro lado, os espectros dos substratos têxteis AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas não revelaram mais nenhuma banda nova nem diferente quando comparados com os do substrato têxtil AMAJAW 18008 controlo ($\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$), além da referida anteriormente. Isto significa que, não ocorreu nenhuma reação química na celulose e na estrutura do substrato têxtil durante a impregnação, não prejudicando estes mesmos substratos têxteis, mantendo-se assim a sua integridade, justificando a elevada semelhança entre os espectros FTIR-ATR dos diferentes substratos têxteis (Chinkap, Myunghee, & Eun, 2004; El-Shishtawy, Asiri, Abdelwahed, & Al-Otaibi, 2011).

As fibras de celulose exibem uma superfície altamente polar devido à presença de grupos hidroxilo. Estes grupos hidroxilo permitem a formação de ligações de hidrogénio na interface de materiais compósitos (Bhatti *et al.*, 2012). De acordo com a ferramenta de comparação do FTIR-ATR, foi possível observar uma coincidência de 95,13% entre o substrato têxtil AMAJAW 18008 controlo ($\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$) e o substrato têxtil AMAJAW 18008 impregnado com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) $C=0,027\text{g/L}$ com 1% de glioxal e 95,01% entre o substrato têxtil AMAJAW 18008 controlo ($\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$) e o substrato têxtil AMAJAW 18008 impregnado com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) $C=0,027\text{g/L}$. Também se compararam os dois substratos têxteis AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas, tendo-se verificado uma coincidência de 98,39%. Podemos concluir que existe uma elevada semelhança entre os espectros de FTIR-ATR dos três substratos têxteis AMAJAW 18008 analisados, o que significa que não ocorreu nenhuma

reação química na celulose. Esta análise no FTIR-ATR não é quantitativa, pelo que apenas permite observar a presença e/ou ausência das bandas correspondentes ao número de onda de um determinado grupo funcional.

Considera-se normal não se detetarem alterações estruturais significativas nos substratos têxteis funcionalizados com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas. Aparentemente os espectros dos substratos têxteis funcionalizados com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas encontram-se semelhantes ao do substrato têxtil controlo, apenas com o surgimento de uma banda característica do resveratrol e com diferenças na intensidade das bandas. Isto ocorre, uma vez que as quantidades impregnadas de β -ciclodextrinas e de resveratrol, e consequentemente do complexo de inclusão, são muito pequenas, e, portanto, poder-se-ão encontrar abaixo do limite de deteção.

5. Análise da atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 (ABTS)

Para determinar o comprimento de onda (λ) ideal para a determinação da atividade antioxidante (%) do resveratrol pelo método do radical ABTS procedeu-se à elaboração de um espectro ultravioleta, através de um *scan* da solução de ABTS $^{\bullet+}$ diluída, 35 μ L da solução de ABTS $^{\bullet+}$ em 3000 μ L de tampão fosfato. De acordo com o gráfico 6, verificou-se que o comprimento de onda ideal para a determinação da atividade antioxidante do resveratrol pelo método do radical ABTS foi de 729nm, com um máximo de absorvância de 0,708.

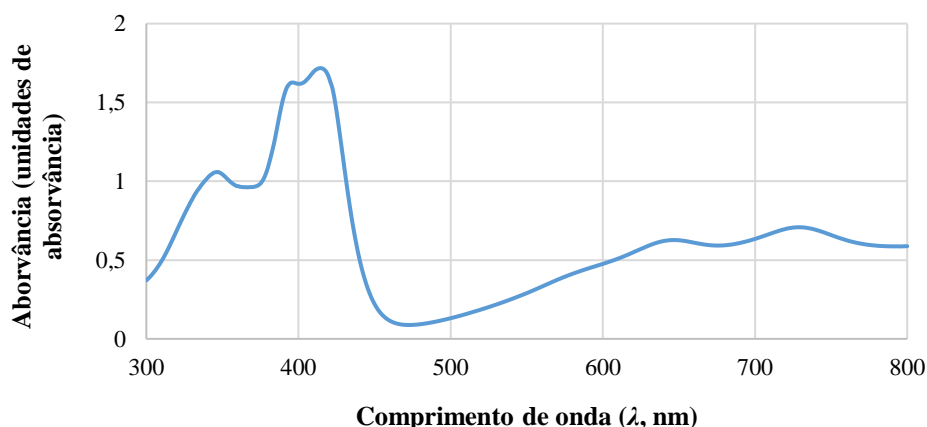


Gráfico 6. *Scan* da solução de ABTS $^{\bullet+}$ diluída. Determinação do comprimento de onda ideal para a determinação da atividade antioxidante do resveratrol pelo método do radical ABTS.

Para a análise da atividade antioxidante do resveratrol foi realizado o método do radical ABTS, que emprega uma absorvância específica a um comprimento de onda distante do domínio visível, sendo esta determinada pela descoloração do radical ABTS.

De acordo com Albouchi, Hassen, Casabianca e Hosni (2013), o comprimento de onda observado foi a 734nm (Albouchi, Hassen, Casabianca, & Hosni, 2013), enquanto que no presente estudo foi verificado comprimento de onda a 729nm. Este método é rápido, sensível e reprodutível, e requer equipamento laboratorial simples (Du, Li, Ma, & Liang, 2009). Pode ser usado em sistemas orgânicos e aquosos e também pode ser um excelente índice que reflete a atividade antioxidante das amostras de teste (Wang, Gan, Zhang, & Pan, 2010).

5.1. Análise da atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas

Para analisar a atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 e tendo em consideração os valores apresentados na tabela 19, traçaram-se retas de calibração com a relação dos valores da absorvância real de ABTS ($\lambda=729\text{nm}$) (y) com o número de ensaios realizados ao longo do tempo (x), e assim obter-se as respetivas equações das retas de calibração ($y = mx + b$) e coeficientes de determinação (R^2). De acordo com o gráfico 7, podemos verificar que para as retas de calibração traçadas, o coeficiente de determinação é sempre maior que 0,9900, o que significa que mais de 99,00% da variável dependente consegue ser explicada pelos regressores presentes no modelo. Assim, o modelo consegue explicar os valores observados, pois quanto maior o coeficiente de determinação, mais explicativo é o modelo e melhor se ajusta à amostra. Os resultados apresentados permitem inferir que das duas retas de calibração traçadas, a que apresenta o melhor coeficiente de determinação é a $y = -0,0023x + 0,5078$, com $R^2 = 0,9948$.

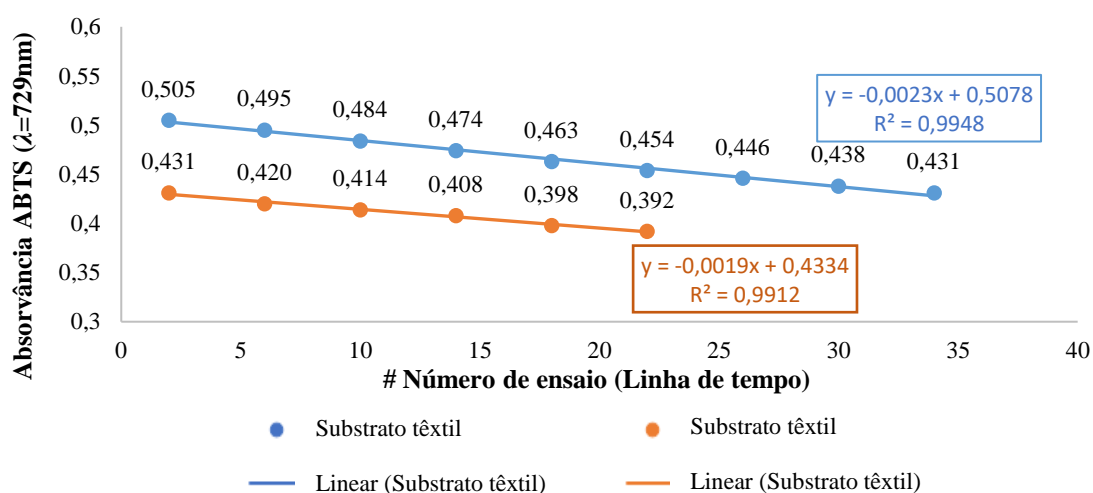


Gráfico 7. Atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas com as respetivas equações das retas de calibração e coeficientes de determinação pelo método do radical ABTS.

Quanto à análise da atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 (Tabela 19), podemos verificar que os resultados são diferentes entre si. Verificou-se que o valor mínimo para a atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 foi de $43,819\% \pm 4,164$ para o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) $C=0,027\text{g/L}$ e o valor máximo foi de $85,595\% \pm 7,461$ para o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) com 1% de glioxal. A análise da atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008, demonstrou valores sempre superiores a 43,000% para todas as amostras testadas. Os três valores da atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 mais elevados foram $85,595\% \pm 7,461$, $84,686\% \pm 2,689$ e $75,618\% \pm 4,404$, para o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) com 1% de glioxal, o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) com 1% de glutaraldeído e o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) com 1% de glioxal, respetivamente.

Os resultados apresentados na tabela 19 também permitem inferir que o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) $C=0,027\text{g/L}$ apresenta melhores resultados comparativamente ao complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) $C=0,027\text{g/L}$, resultados concordantes com os apresentados para o *wet pick up* na tabela 18. Quando adicionado um agente ligante, os resultados com 1% de glioxal do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) $C=0,027\text{g/L}$ são melhores quando comparados aos resultados com 1% de glutaraldeído e os resultados com 1% de glutaraldeído do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) $C=0,027\text{g/L}$ são melhores quando comparados aos resultados com 1% de glioxal, estando novamente concordantes com os resultados apresentados para o *wet pick up* na tabela 18. A maioria dos resultados observados para atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008, apresentaram um valor de normalização próximo de um.

Tabela 19. Atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas pelo método do radical ABTS.

# Número de ensaio	Amostra	Absorvância real ABTS ($\lambda=729\text{nm}$)	Média da atividade antioxidante (%) da absorvância corrigida (x)	Desvio Padrão (σ)	Normalização
1	ABTS diluído	0,708	n. a.	n. a.	n. a.
2	ABTS controlo	0,505	n. a.	n. a.	n. a.
	Controlo (-) H ₂ O/EtOH	n. a.	28,354	18,614	n. a.
6	ABTS controlo	0,495	n. a.	n. a.	n. a.
	Controlo (+) (B) Resveratrol H ₂ O/EtOH C=0,027g/L	n. a.	47,882	1,946	n. a.
10	ABTS controlo	0,484	n. a.	n. a.	n. a.
	Controlo (+) (B) Resveratrol H ₂ O/EtOH C=0,053g/L	n. a.	52,471	7,403	n. a.
14	ABTS controlo	0,474	n. a.	n. a.	n. a.

Desenvolvimento de têxteis com propriedades funcionais

	Controlo (+) (B) Resveratrol H ₂ O/EtOH C=0,100g/L	n. a.	62,945	6,745	n. a.
18	ABTS controlo	0,463	n. a.	n. a.	n. a.
	Controlo (+) (A) Resveratrol DMSO 1:1000 C=0,027g/L	n. a.	40,633	9,296	n. a.
22	ABTS controlo	0,454	n. a.	n. a.	n. a.
	Controlo (+) (A) Resveratrol DMSO 1:1000 C=0,053g/L	n. a.	44,716	3,420	n. a.
26	ABTS controlo	0,446	n. a.	n. a.	n. a.
	Controlo (+) (A) Resveratrol DMSO 1:1000 C=0,100g/L	n. a.	32,463	10,316	n. a.
30	ABTS controlo	0,438	n. a.	n. a.	n. a.
	Complexo Inclusão β CDs - RSV (A) C=0,027g/L	n. a.	43,819	4,164	1,078
34	ABTS controlo	0,431	n. a.	n. a.	n. a.
1	ABTS diluído	0,708	n. a.	n. a.	n. a.
2	ABTS controlo	0,431	n. a.	n. a.	n. a.
	Complexo Inclusão β CDs - RSV (A) com 1% de glioxal	n. a.	85,595	7,461	1,788
6	ABTS controlo	0,420	n. a.	n. a.	n. a.
	Complexo Inclusão β CDs - RSV (A) com 1% de glutaraldeído	n. a.	62,257	4,357	1,532
10	ABTS controlo	0,414	n. a.	n. a.	n. a.
	Complexo Inclusão β CDs - RSV (B) C=0,027g/L	n. a.	65,979	3,594	1,378
14	ABTS controlo	0,408	n. a.	n. a.	n. a.
	Complexo Inclusão β CDs - RSV (B) com 1% de glioxal	n. a.	75,618	4,404	1,861
18	ABTS controlo	0,398	n. a.	n. a.	n. a.
	Complexo Inclusão β CDs - RSV (B) com 1% de glutaraldeído	n. a.	84,686	2,689	1,769
22	ABTS controlo	0,392	n. a.	n. a.	n. a.

Legenda: n. a. – não aplicável.

5.2. Comparação da atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas

Como forma de comparação da atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008, e tendo em consideração os resultados apresentados nas equações das retas de calibração traçadas no gráfico 7 e os resultados mostrados na tabela 19, procedeu-se à elaboração de um gráfico de barras. De acordo com o gráfico 8, podemos verificar que, de um modo geral, a atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 é elevada, superior a 43,819%, para a maioria das amostras. Quando analisada a atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008, o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) C=0,027g/L apresentou a maior atividade antioxidante, com 65,979%, comparativamente ao complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) C=0,027g/L. Aquando da adição do agente ligante, a atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 para o melhor complexo de inclusão, o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) C=0,027g/L, apresentou os melhores resultados com 1% de glutaraldeído, com 84,686%. Contudo, para o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) C=0,027g/L, o melhor agente ligante foi com 1% de glioxal, com 85,595%.

Desenvolvimento de têxteis com propriedades funcionais

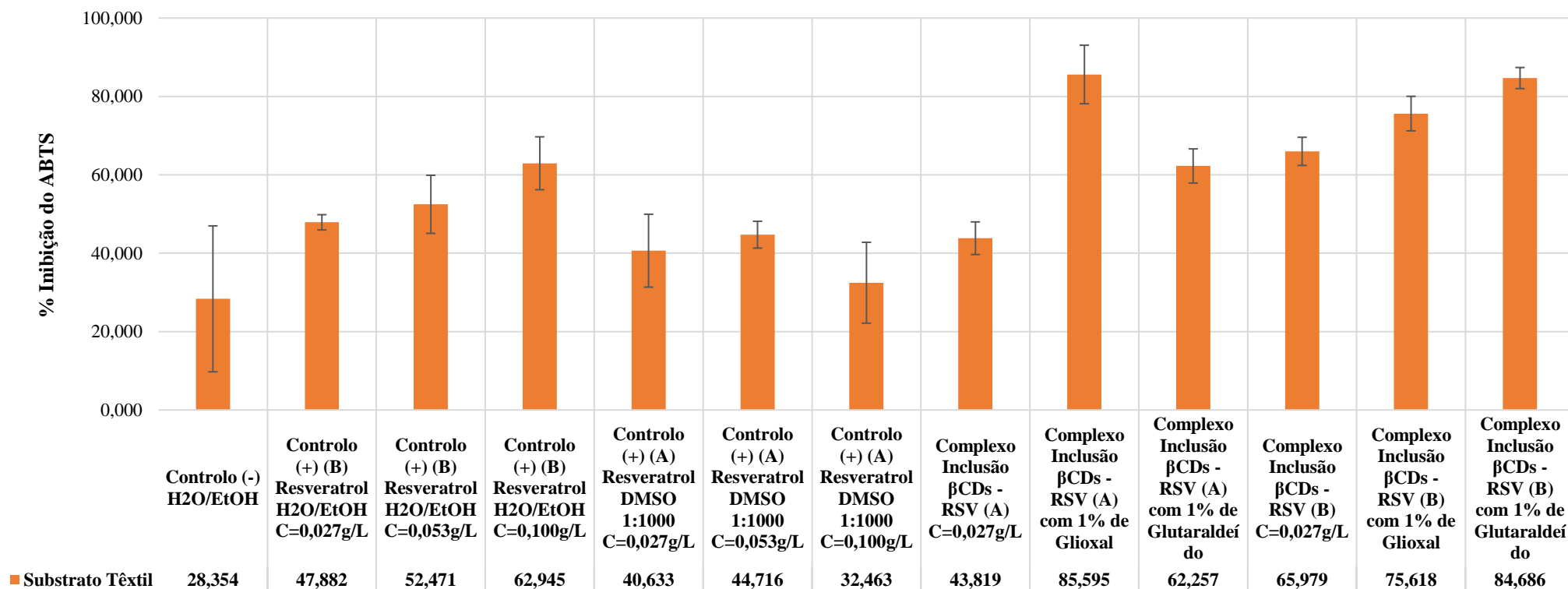


Gráfico 8. Comparação da atividade antioxidante (%) do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas com as respectivas barras de erro associadas pelo método do radical ABTS.

Segundo o estudo realizado por Oh e Shahidi (2017), quando analisada a atividade antioxidante pelo método do DPPH, verificou-se que os derivados do resveratrol apresentaram uma menor capacidade de eliminação do DPPH quando comparados com o resveratrol. Isto acontece, uma vez que a possível perda de um ou mais grupos hidroxilo promove um papel importante na diminuição da atividade antioxidante do resveratrol (Oh & Shahidi, 2017; Torres *et al.*, 2010). Ainda neste estudo, a atividade antioxidante foi analisada pelo método do ABTS, mesmo método utilizado no presente trabalho. De acordo com Oh e Shahidi (2017), o efeito de eliminação de catiões radicais ABTS dos derivados do resveratrol foi inferior ao do resveratrol, confirmando o observado na análise da atividade de eliminação do radical DPPH. Posto isto, estes autores concluem que a substituição do(s) grupo(s) hidroxilo parece afetar negativamente a atividade antioxidante dos derivados do resveratrol e que, no ensaio de eliminação de catiões radicais ABTS o resveratrol com ácidos gordos de cadeia curta apresentou melhor capacidade antioxidante que outros derivados. No ensaio de eliminação do radical DPPH o resveratrol com ácidos gordos de cadeia longa apresentou melhor atividade de eliminação de radicais do que com ácidos gordos de cadeia curta. Portanto, o resveratrol, tratando-se de um ácido gordo de cadeia curta tem melhor afinidade para o ensaio de eliminação de catiões radicais ABTS, em comparação com outros derivados (Oh & Shahidi, 2017).

O estudo realizado por Soares, Andrezza e Salvador (2003), verificou que o resveratrol foi eficiente na eliminação do radical DPPH. Quando analisada a eliminação de catiões radicais ABTS, o resveratrol apresentou resultados bastante positivos, concordantes com os apresentados no presente trabalho. Segundo estes mesmos autores, os bons resultados obtidos com os antioxidantes naturais, especialmente o resveratrol, sugerem que tais compostos possam ser adequados para substituir antioxidantes sintéticos tradicionalmente utilizados (Soares, Andrezza, & Salvador, 2003).

De acordo com Zhong e seus colaboradores (2009), o resveratrol apresentou uma forte atividade antioxidante, o que, em parte, corrobora com os resultados apresentados no presente trabalho. Além desta conclusão, estes autores, verificaram que a atividade sequestrante do complexo de inclusão do resveratrol com as hidroxipropil- β -ciclodextrinas é superior, quando comparada à do complexo de inclusão do resveratrol com β -ciclodextrinas. Contudo, as diferenças observadas por estes autores, na capacidade de eliminação entre o resveratrol livre e o resveratrol presente no complexo de inclusão formado são pequenas, o que sugere que o processo de inclusão tem pouca influência na atividade antioxidante do resveratrol (Zhong *et al.*, 2009).

Lange, Heberlé e Milão (2009), avaliaram a estabilidade e a atividade antioxidante de uma emulsão de base não-iônica contendo resveratrol. Estes autores verificaram que a atividade do resveratrol era elevada quando avaliada na sua forma de extrato seco. Posteriormente, quando incorporado o resveratrol numa emulsão, a sua atividade antioxidante manteve-se elevada (Lange, Heberlé, & Milão, 2009). Como podemos verificar nos resultados apresentados no nosso trabalho, o resveratrol apresenta uma atividade antioxidante considerável, o que é coincidente com os resultados apresentados por Lange, Heberlé e Milão (2009). Lucas-Abellán e seus colaboradores (2011), realizaram um estudo comparativo de diferentes métodos para medir a atividade antioxidante do resveratrol na presença de ciclodextrinas. De acordo com estes autores, à medida que as concentrações crescentes de ciclodextrinas eram adicionadas ao meio de

reação com diferentes concentrações de resveratrol, verificou-se um claro aumento na atividade antioxidante (Lucas-Abellán *et al.*, 2011). Assim, de acordo com o nosso estudo, a adição das β -ciclodextrinas e a consequente formação do complexo de inclusão induziu bons resultados, uma vez que os dois anéis aromáticos e as ligações duplas presentes na estrutura química do resveratrol encontram-se mais protegidas pelas β -ciclodextrinas, promovendo uma maior atividade antioxidante.

Quanto ao estudo desenvolvido por Lu e seus colaboradores (2009), os resultados vão de encontro com o presente trabalho, uma vez que a melhor atividade antioxidante do resveratrol é devida à formação dos complexos de inclusão de resveratrol com as ciclodextrinas. Deste modo, o resveratrol foi complexado, e assim, a atividade antioxidante de resveratrol permaneceu constante (Lu *et al.*, 2009b; Lucas-Abellán, Fortea, Gabaldón, & Núñez-Delicado, 2008; Lucas-Abellán *et al.*, 2011). De acordo com os nossos resultados, também se verificou que com a adição de um agente ligante, 1% de glioxal ou 1% de glutaraldeído, ao complexo de inclusão do resveratrol com β -ciclodextrinas, os resultados mostraram-se melhores, apresentando atividades antioxidantes bastante superiores às anteriores. Este efeito sobre a atividade antioxidante do resveratrol é devido à formação dos complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas, como verificado no nosso trabalho, e com as hidroxipropil- β -ciclodextrinas, como já descrito na literatura (Lu *et al.*, 2009b; Lucas-Abellán *et al.*, 2008; Lucas-Abellán, Fortea, Gabaldón, & Núñez-Delicado, 2008).

Quanto à atividade antioxidante dos complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas em substratos têxteis, a informação é escassa. Não encontramos, na bibliografia consultada, estudos que avaliassem a atividade antioxidante dos complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas em substratos têxteis. No entanto, alguns estudos que avaliaram a atividade antioxidante do resveratrol em substratos têxteis, foram encontrados e analisados. Segundo Alonso e seus colaboradores (2013), os mecanismos envolvidos durante a aplicação do resveratrol nos substratos têxteis são vários. O resveratrol pode interagir com o algodão, devido à grande quantidade de grupos hidroxilo, por ligações de hidrogénio e, com a poliamida, devido à sua lipofilia inerente, por interações hidrofóbicas. Estes autores verificaram que um conteúdo semelhante de resveratrol foi detectado em ambos os têxteis, apresentando, desta forma, atividade antioxidante devido ao resveratrol (Alonso *et al.*, 2013). Pinho e seus colaboradores (2010), afirmam que a extensão da ionização influencia a capacidade do extrato em estabelecer interações eletrostáticas e iónicas com os substratos têxteis e, conseqüentemente, influencia o processo de adsorção e a subsequente estabilidade do resveratrol nas próprias fibras. Os substratos têxteis e o resveratrol possuem carga elétrica, que influencia fortemente o processo de adsorção. No estudo realizado por estes autores, a pH ácido (5,0) foram obtidos os melhores resultados, onde se observou elevada quantidade de resveratrol adsorvida em menor tempo e consequente atividade antioxidante, para tecidos de algodão, bambu e seda. Os seus resultados mostraram que a pH ácido, 51,2% de resveratrol foi adsorvido pelo algodão e 28,1% pelo bambu em 15 minutos. Outros estudos, relataram que 69,4% do resveratrol foi adsorvido pelo algodão, a pH ácido (2,6), exibindo uma consequente atividade antioxidante (Pinho *et al.*, 2010).

6. Análise da atividade antibacteriana do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 (ISO 20743:2013)

6.1. Análise da atividade antibacteriana do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas

A determinação da atividade antibacteriana do substrato têxtil funcional impregnado com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A e B), e assim, a realização da análise da atividade microbiológica para o teste da suscetibilidade aos antibacterianos, foi realizada de acordo com a *ISO 20743:2013 – Textiles - Determination of antibacterial activity of textile products (ISO 20743:2013)*. A suscetibilidade antibacteriana da estirpe Gram-positiva, *S. aureus* ATCC 6538, e da estirpe Gram-negativa, *E. coli* ATCC 25922, para os substratos têxteis com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas foi similar, apesar de a *S. aureus* ATCC 6538 apresentar uma suscetibilidade antibacteriana mais forte. Para ambas as estirpes, os substratos têxteis AMAJAW 18008 que apresentaram atividade antibacteriana, encontravam-se impregnados com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) com 1% de glioxal e com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) com 1% de glioxal, ambos com agente ligante, o que permitiu uma maior atividade antibacteriana. Para a *S. aureus* ATCC 6538 (Tabela 20), os valores da suscetibilidade antibacteriana foram elevados para as amostras que apresentavam agente ligante. Nesta estirpe, verificou-se atividade antibacteriana forte para o substrato têxtil AMAJAW 18008 impregnado com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) com 1% de glioxal (A=5,358) e para o substrato têxtil AMAJAW 18008 impregnado com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) com 1% de glioxal (A=5,263), sendo ligeiramente mais forte para o primeiro. Todas as outras amostras analisadas não apresentaram atividade antibacteriana. A *E. coli* ATCC 25922 (Tabela 21), apresentou resultados de suscetibilidade antibacteriana para as amostras que apresentavam agente ligante, no entanto, estes foram elevados apenas para uma delas. Verificou-se atividade antibacteriana forte para o substrato têxtil AMAJAW 18008 impregnado com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) com 1% de glioxal (A=3,266) e atividade antibacteriana significativa para o substrato têxtil AMAJAW 18008 impregnado com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) com 1% de glioxal (A=1,919). Todas as outras amostras analisadas não apresentaram atividade antibacteriana. O relatório dos resultados e das respectivas condições de ensaio da análise da atividade antibacteriana do substrato têxtil funcional impregnado com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A e B) encontra-se no Anexo C.

Tabela 20. Análise da atividade antibacteriana do substrato têxtil AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas contra a *S. aureus* ATCC 6538.

Amostra	Concentração do inóculo	Valor de crescimento branco	Valor de crescimento amostra	Atividade antibacteriana	Avaliação
	UFC/mL	<i>F</i>	<i>G</i>	$A=F-G$	
Controlo (-) H ₂ O/EtOH	$1,41 \times 10^5$	3,874	4,109	-0,236	Sem atividade antibacteriana
Controlo (+) (A) Resveratrol DMSO 1:1000 C=0,027g/L	$1,41 \times 10^5$	3,874	4,186	-0,312	Sem atividade antibacteriana
Controlo (+) (B) Resveratrol H ₂ O/EtOH C=0,027g/L	$1,41 \times 10^5$	3,874	4,030	-0,157	Sem atividade antibacteriana
Complexo Inclusão β CDs - RSV (A) C=0,027g/L	$1,28 \times 10^5$	3,268	3,933	-0,664	Sem atividade antibacteriana
Complexo Inclusão β CDs - RSV (A) com 1% de glioxal	$1,00 \times 10^5$	3,826	-1,532	5,358	Atividade antibacteriana forte
Complexo Inclusão β CDs - RSV (B) C=0,027g/L	$1,00 \times 10^5$	3,826	5,022	-1,196	Sem atividade antibacteriana
Complexo Inclusão β CDs - RSV (B) com 1% de glioxal	$1,00 \times 10^5$	3,826	-1,437	5,263	Atividade antibacteriana forte

Legenda: UFC – Unidade de formação de colónias; *F* – Valor de crescimento branco; *G* – Valor de crescimento amostra; *A* – Atividade antibacteriana.

Tabela 21. Análise da atividade antibacteriana do substrato têxtil AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas contra a *E. coli* ATCC 25922.

Amostra	Concentração do inóculo	Valor de crescimento branco	Valor de crescimento amostra	Atividade antibacteriana	Avaliação
	UFC/mL	<i>F</i>	<i>G</i>	$A=F-G$	
Controlo (-) H ₂ O/EtOH	$2,24 \times 10^5$	3,990	4,054	-0,064	Sem atividade antibacteriana
Controlo (+) (A) Resveratrol DMSO 1:1000 C=0,027g/L	$2,24 \times 10^5$	3,990	4,000	-0,010	Sem atividade antibacteriana
Controlo (+) (B) Resveratrol H ₂ O/EtOH C=0,027g/L	$2,24 \times 10^5$	3,990	4,008	-0,018	Sem atividade antibacteriana
Complexo Inclusão β CDs - RSV (A) C=0,027g/L	$1,01 \times 10^5$	4,827	4,354	-0,377	Sem atividade antibacteriana
Complexo Inclusão β CDs - RSV (A) com 1% de glioxal	$1,77 \times 10^5$	4,208	2,290	1,919	Atividade antibacteriana significativa
Complexo Inclusão β CDs - RSV (B) C=0,027g/L	$1,77 \times 10^5$	4,208	4,053	0,156	Sem atividade antibacteriana
Complexo Inclusão β CDs - RSV (B) com 1% de glioxal	$1,77 \times 10^5$	4,208	0,943	3,266	Atividade antibacteriana forte

Legenda: UFC – Unidade de formação de colónias; *F* – Valor de crescimento branco; *G* – Valor de crescimento amostra; *A* – Atividade antibacteriana.

O estudo realizado por Krishnaveni e Hamsamani (2010) é concordante com os resultados obtidos no presente trabalho. Estes autores extraíram vários compostos bioativos da planta de *Cassia senna*, entre eles o resveratrol, e impregnaram em substratos têxteis de algodão. Segundo estes autores, os substratos têxteis de algodão impregnados com resveratrol demonstraram uma elevada atividade antibacteriana contra as estirpes Gram-positivas e Gram-negativas, *S. aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, respetivamente (Krishnaveni & Hamsamani, 2010). O mesmo se verificou no presente estudo, uma vez que a *S. aureus* e a *E. coli* apresentaram suscetibilidade antibacteriana quando em contacto com os substratos têxteis analisados, no entanto, a estirpe Gram-positiva foi mais efetiva.

De acordo com Hong (2015), o extrato de arroz preto apresenta atividade antibacteriana quando impregnado em substratos têxteis de algodão e lã. Os substratos têxteis impregnados com o extrato de arroz preto apresentaram uma excelente atividade antibacteriana contra a *S. aureus*. Por outro lado, quando analisada a *K. pneumoniae*, a atividade antibacteriana dos substratos têxteis foi inferior, comparativamente à da *S. aureus* (Hong, 2015). Este estudo mostra-se concordante com os resultados do presente trabalho, uma vez que, no nosso estudo, a *S. aureus* apresentou uma suscetibilidade antibacteriana forte para dois dos substratos têxteis analisados. Os resultados da estirpe Gram-negativa analisada no presente estudo, *E. coli*, também estão concordantes com os apresentados por Hong (2015), uma vez que esta apresenta uma suscetibilidade antibacteriana inferior à da *S. aureus* para mesmos os substratos têxteis.

No estudo desenvolvido por Ben Fadhel e seus colaboradores (2012), analisaram-se as propriedades antibacterianas de substratos têxteis de lã e algodão impregnados com extrato de eucalipto. Os substratos têxteis de lã e algodão impregnados com extrato de eucalipto apresentaram atividade antibacteriana contra a *S. aureus* e a *E. coli* (Ben Fadhel *et al.*, 2012), o mesmo verificado no presente estudo. Outro estudo concordante com o estudo anterior e com o presente trabalho, foi o desenvolvido por Rajendran e seus colaboradores (2012). De acordo com estes autores, a sericina, proteína hidrofílica constituinte do casulo do bicho-da-seda, quando impregnada em substratos têxteis de algodão, apresentou uma elevada atividade antibacteriana contra a *S. aureus* e a *E. coli*. Estes autores sugerem que a sericina pode ser um composto bioativo valioso para o desenvolvimento de substratos têxteis funcionais com propriedades antibacterianas (Rajendran *et al.*, 2012), o mesmo verificado no presente estudo para o resveratrol. Quanto aos nossos resultados, para as mesmas estirpes avaliadas em ambos os estudos, o mesmo se verificou, uma vez que a *S. aureus* e a *E. coli* apresentaram suscetibilidade antibacteriana para os substratos têxteis analisados, sendo a *S. aureus* mais efetiva.

Para cada ensaio, foram efetuados controlos, que permitiram garantir que os resultados apresentados são dos complexos de inclusão e não dos solventes utilizados. De acordo com os resultados analisados, não se verificaram diferenças na atividade bacteriana, observadas entre estas estirpes, *S. aureus* e *E. coli*, uma vez que ambas apresentaram suscetibilidade antibacteriana. Contudo, as Gram-negativas são microrganismos mais complexos do ponto de vista estrutural e químico do que as Gram-positivas (Nazzaro *et al.*, 2013; Oonmetta-aree, Suzuki, Gasaluck, & Eumkeb, 2006).

E. Conclusão

O projeto de investigação desenvolvido no decorrer deste estágio consistiu no estudo e desenvolvimento de substratos têxteis inovadores para a prevenção e tratamento dermatológico de patologias através de têxteis funcionais com extratos naturais microencapsulados em β -ciclodextrinas. Assim, com o objetivo de auxílio no tratamento de tais doenças e de promoção de melhor qualidade de vida para o utente, neste trabalho, utilizaram-se três plantas medicinais e compostos naturais bioativos distintos. De acordo com as atividades antimicrobianas apresentadas pelos extratos, foi selecionado o extrato que apresentou melhores resultados, efetuado a encapsulação em β -ciclodextrinas, a impregnação nos substratos têxteis com composições de algodão diferentes, tendo-se analisado a atividade antioxidante e a atividade antibacteriana dos mesmos.

O composto que apresentou melhores resultados foi o resveratrol, pois obteve maiores halos de inibição. No resveratrol, os melhores resultados foram obtidos nos extratos concentrados, na extração etanólica realizada a 70°C e na extração aquosa realizada a 80°C. Esta inibição foi mais efetiva nos extratos concentrados do que nos respectivos extratos brutos. Os resultados do extrato etanólico concentrado são preferidos, dado que a extração etanólica permite uma maior extração de compostos fenólicos, logo irá permitir uma maior atividade antibacteriana. Os resultados dos extratos aquoso e etanólico do própolis e da camomila não apresentaram resultados satisfatórios, uma vez que o halo de inibição obtido foi inferior, demonstrando menor atividade antibacteriana. No entanto, para estes dois compostos, os extratos concentrados apresentaram maior inibição do que os extratos brutos, embora ambos apresentassem menor atividade antibacteriana. Além disso, os extratos apresentaram melhores resultados quando avaliada a atividade antibacteriana contra as estirpes Gram-positivas do que quando avaliada contra estirpes Gram-negativas. Assim, analisando a atividade antibacteriana de cada uma das plantas e compostos medicinais, verificou-se que estes interagem de maneira diferente contra as diferentes estirpes testadas, apresentando uma atividade antibacteriana maior ou menor, consoante a sua estrutura química e compostos bioativos presentes.

Na análise das diversas diluições do extrato com os melhores resultados de atividade antibacteriana, o extrato etanólico do resveratrol a 70°C concentrado, para as diversas estirpes Gram-positivas testadas verificou-se, em todas, resultados concordantes e similares para o meio de cultura líquido e sólido. Todas as estirpes testadas apresentaram inibição do crescimento bacteriano quando o extrato etanólico do resveratrol a 70°C concentrado estava diluído de 40% a 90%. Foi possível concluir que, quanto maior a percentagem de extrato utilizado, maior o efeito do mesmo nas estirpes testadas. A menor diluição do extrato que inibiu o crescimento das estirpes em meio de cultura líquido e inibiu o crescimento de colónias das estirpes em meio de cultura sólido, e, desta forma, apresenta um efeito bactericida, foi de 40%.

Na análise dos espectros UV-Vis, a solução de resveratrol (B) H₂O/EtOH apresentou, de forma similar, o pico máximo de absorvância característico do resveratrol, obtido pela solução de resveratrol C=0,0265g/L, apresentando os melhores resultados. Quando analisada a formação dos complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas,

verificou-se que a solução do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) C=0,027g/L foi a que obteve os melhores resultados, sendo a mais semelhante com o espectro obtido para a solução de resveratrol C=0,027g/L. Isto permite concluir que este complexo de inclusão formado, demonstrou uma elevada capacidade de aprisionar uma maior quantidade de solução de resveratrol no complexo de inclusão. Deste modo, e em concordância com os resultados anteriormente obtidos, o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) C=0,027g/L é melhor quando comparado com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) C=0,027g/L. Como os espectros da solução de resveratrol (B) H₂O/EtOH e do complexo de inclusão do resveratrol com β -ciclodextrinas (B) C=0,027g/L são muito similares ao da solução de resveratrol C=0,027g/L, conclui-se que a encapsulação do resveratrol nas β -ciclodextrinas foi efetuada com sucesso.

De acordo com os resultados obtidos, o *wet pick up* do substrato têxtil do AMAJAW 18019 e do AMAJAW 18008 foram diferentes, concluindo que a composição e a estrutura dos substratos têxteis, mais precisamente a percentagem de algodão, influencia a impregnação do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas. O AMAJAW 18008 foi o que apresentou melhores resultados, uma vez que apresenta uma maior percentagem de algodão. Quanto maior a percentagem de algodão, maior e mais efetiva é a impregnação do complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas. Na análise do *wet pick up*, o substrato têxtil AMAJAW 18008 com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) C=0,027g/L apresentou melhores resultados. Os três principais valores de *wet pick up* foram 70,906%, 70,311% e 70,168%, para o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) com 1% de glioxal, o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) com 1% de glutaraldeído e o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) com 1% de glutaraldeído, respetivamente. Os melhores valores de *wet pick up* observados para este substrato têxtil são os das soluções que apresentavam agentes ligantes, glioxal (1%) e glutaraldeído (1%).

Na caracterização FTIR-ATR, a amostra de resveratrol utilizada, apresentou as bandas características padrão do resveratrol. Quanto às β -ciclodextrinas o mesmo se observou, tendo sido identificadas as bandas características padrão das β -ciclodextrinas. Nos espectros referentes aos substratos têxteis AMAJAW 18008, as bandas são características de um substrato têxtil de algodão, uma vez que, este substrato têxtil apresenta uma composição de 95% algodão orgânico e 5% elastano. Existe uma elevada semelhança entre os espectros de FTIR-ATR dos três substratos têxteis AMAJAW 18008 analisados, acima de 95%, o que significa que não ocorreu nenhuma reação química na celulose. Não se detetaram alterações estruturais consideráveis nos substratos têxteis funcionalizados com os complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas. Aparentemente os espectros dos substratos têxteis funcionalizados com os complexos de inclusão encontram-se semelhantes ao do substrato têxtil controlo, apenas com o surgimento de uma banda característica do resveratrol, o mesmo pico apresentado pelo espectro de FTIR-ATR do resveratrol. Também podemos concluir que, a partir dos resultados apresentados, as bandas obtidas nos espectros dos substratos têxteis AMAJAW 18008 com os complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas, apresentaram intensidades diferentes quando comparadas com o substrato têxtil AMAJAW 18008

controlo, ou seja, ocorreu a ligação entre o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas e o substrato têxtil.

De acordo com a análise da atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008, o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) C=0,027g/L apresentou a maior atividade antioxidante. A adição de um agente ligante melhorou a atividade antioxidante do resveratrol. Aquando da adição do agente ligante, a atividade antioxidante do resveratrol no substrato têxtil AMAJAW 18008 com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) C=0,027g/L, os melhores resultados foram verificados quando adicionado 1% de glutaraldeído. Por outro lado, com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) C=0,027g/L, os melhores resultados foram demonstrados quando adicionado 1% de glioxal.

Quanto à análise da atividade microbiológica do substrato têxtil AMAJAW 18008, verificou-se que os resultados foram bastante positivos. A suscetibilidade antibacteriana da *S. aureus* ATCC 6538 e da *E. coli* ATCC 25922, para os substratos têxteis com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas foi similar, apesar de a atividade antibacteriana ser mais forte contra a Gram-positiva. Os substratos têxteis AMAJAW 18008 impregnados com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A) com 1% de glioxal e com o complexo de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (B) com 1% de glioxal, ambos com agente ligante, apresentaram atividade antibacteriana. Assim, o agente ligante permitiu que os substratos têxteis com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas apresentassem uma maior atividade antibacteriana.

Durante o decorrer do presente estudo e no processo de elaboração da presente tese de mestrado, muitos foram os trabalhos desenvolvidos e publicados, resultantes da mesma. Antes da realização do presente estudo e como revisão da literatura bibliográfica, foi publicado e apresentado um poster intitulado “Infeções hospitalares contraídas através do uso inadequado de batas/uniformes” no *II Meeting of Medical Biotechnology* (Anexo D e E). Como posters resultantes do trabalho desenvolvido no decorrer do presente estudo foram publicados e apresentados posters intitulados “*Textiles development with functional properties*” no XI ENEBIOQ – Décima primeira edição do Encontro Nacional de Estudantes de Bioquímica (Anexo F e G) e “*Evaluation of the bacterial activity of natural compounds*” no *I Iberian Meeting of Medicinal Biotechnology* e *III Meeting of Medical Biotechnology* (Anexo H e I). Foi submetido e aceite para publicação um artigo intitulado “*Valérius 360: Co - creating a circular fashion system*” no *Global Fashion Conference 2018 – London* (Anexo J e K). Ainda, como resultados do presente trabalho, encontra-se em fase de aceitação para publicação dois artigos resultantes do estudo desenvolvido no decorrer da elaboração da mesma tese de mestrado. Posteriormente, foi lecionada uma aula na Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto, tendo como tema o trabalho desenvolvido no decorrer da elaboração da mesma tese de mestrado. Por último, foi também realizada uma reportagem televisiva, exibida na TVI e TVI24, sobre a presente tese de mestrado e sobre o seu carácter inovador.

Desta forma, acredita-se que, de acordo com os resultados obtidos e após a validação da atividade dos protótipos desenvolvidos neste estudo, se pode contribuir na prevenção e tratamento de problemas dermatológicos, promovendo uma melhor qualidade de vida para os indivíduos afetados por este tipo de patologias.

F. Perspetivas futuras

Estudos com plantas e compostos medicinais encapsulados e impregnados em substratos têxteis já foram e continuam a ser realizados, no entanto, ainda não são do conhecimento geral conclusões assertivas e confirmatórias sobre este tema. Além disso, não são do nosso conhecimento estudos e desenvolvimentos à escala industrial com substratos têxteis que apresentem estas propriedades e que possam ser utilizados para a terapêutica de patologias dermatológicas, e, assim, promoverem uma melhoria na qualidade de vida dos utentes.

Para uma melhor compreensão sobre o desenvolvimento de têxteis inovadores para a prevenção e tratamento de patologias dermatológicas, através de têxteis funcionais de origem natural com extratos naturais e compostos biologicamente ativos, seria interessante a comparação da encapsulação do extrato de resveratrol com β -ciclodextrinas com outros métodos de microencapsulação, permitindo avaliar qual seria o melhor método. Também seria interessante a comparação da encapsulação de outros extratos de plantas medicinais e compostos naturais bioativos, além do resveratrol, com β -ciclodextrinas, para estudar outras possíveis propriedades funcionais importantes para as patologias dermatológicas. O uso de uma maior diversidade de têxteis com composições diferentes e percentagens de celulose, e, consequentemente de algodão distintas, também seria um dos objetivos futuros, permitindo, a possibilidade de uma maior impregnação e afinidade entre os complexos de inclusão formados e os substratos têxteis escolhidos. Os testes de durabilidade adequada à lavagem para o tratamento e controlo de patologias dermatológicas é um dos objetivos futuros, bem como a libertação gradual e controlada dos compostos biologicamente ativos. Espera-se que as propriedades funcionais incorporadas prolongem durante os vários ciclos de lavagem e resistam a condições externas e internas, sejam elas ambientais ou não, físicas, químicas ou biológicas. Além disto, será importante, em análises futuras, avaliar a atividade antibacteriana das β -ciclodextrinas, para perceber se estas podem ou não influenciar a atividade do produto natural. Por fim, outro dos objetivos futuros, além dos anteriormente referidos, seria explorar a funcionalidade e a eficácia destes têxteis funcionais em ensaios laboratoriais em animais com patologias dermatológicas induzidas e, posteriormente, em contexto clínico com utentes voluntários com patologias dermatológicas. Seriam, assim, realizados ensaios laboratoriais e clínicos numa ampla série de amostragem, permitindo estudar a sua possível associação com a otimização e a promoção de tratamentos dermatológicos inovadores.

Todas estas perspetivas futuras fazem parte deste projeto, mas, devido à escassez de tempo, não foi possível efetuar a sua realização. No decorrer da elaboração deste estudo, foi realizada uma parte de todo o projeto idealizado, pelo que serão necessários estudos seguintes que englobem todas as perspetivas futuras, indo de encontro ao projeto inicialmente planeado.

G. Anexos

1. Anexo A

Ficha técnica de confecção do protótipo da *Sweatshirt* de homem de manga comprida *Raglan Sketch* de primeira camada, com o substrato têxtil AMAJAW 18008 funcional desenvolvido, com propriedades antioxidantes e antimicrobianas.

RDD

FICHA TÉCNICA CONFECCÃO

CÓDIGO: RDDM_018

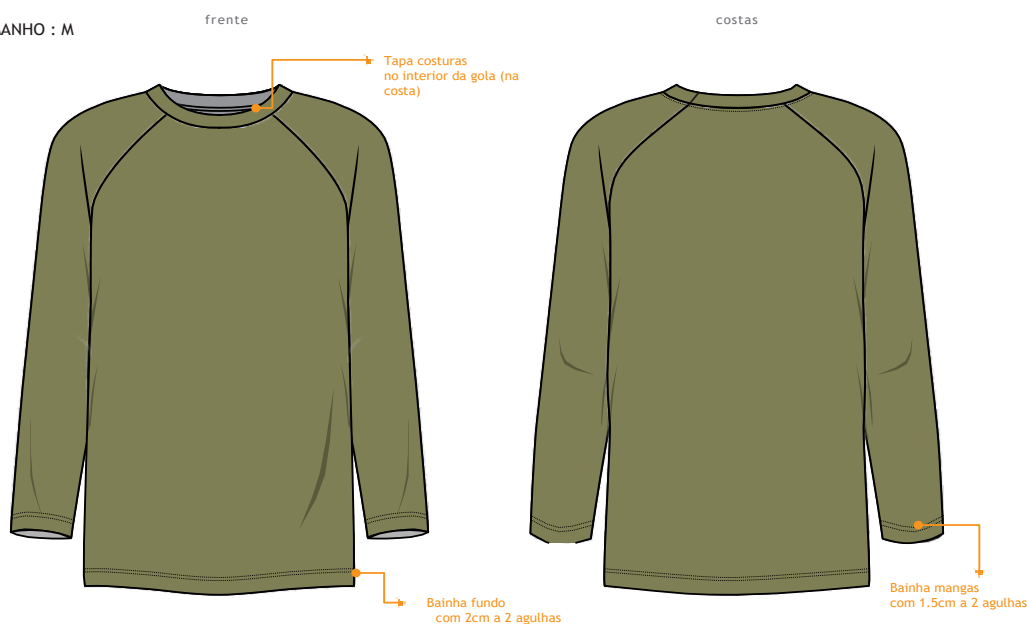
DATA: 16/08/2018

MODELO: SWEATSHIRT HOMEM MANGA COMPRIDA RAGLAN SKETCH

CLIENTE: RDD

QUANTIDADE : 1

TAMANHO : M



DESCRIÇÃO

- Sweatshirt de homem com manga comprida raglan.
- Slim fit.
- gola no mesmo material do corpo, costura da gola a casar com a cava (lado esquerdo), como a imagem.

ESPECIFICAÇÕES

COR

COR 1



MATERIAIS

FORNECEDOR: RDD
 REFERÊNCIA: AMAJAW18008
 ESTRUTURA: JERSEY
 COMPOSIÇÃO: 95%COORG 5%EL
 COR: HIKING GREEN

LARGURA ÚTIL: 1.77MT
 GRAMAGEM: 140GR/M2
 OBS: --

ACESSÓRIOS

A1
 Fornecedor: --
 Referência:
 Dimensão:
 Quantidade:
 Cor:

OUTRAS ESPECIFICAÇÕES

/ Todas a costuras à cor da malha

Desenvolvimento de têxteis com propriedades funcionais

CÓDIGO: RDDM_018

MODELO: SWEATSHIRT HOMEM MANGA COMPRIDA RAGLAN SKETCH

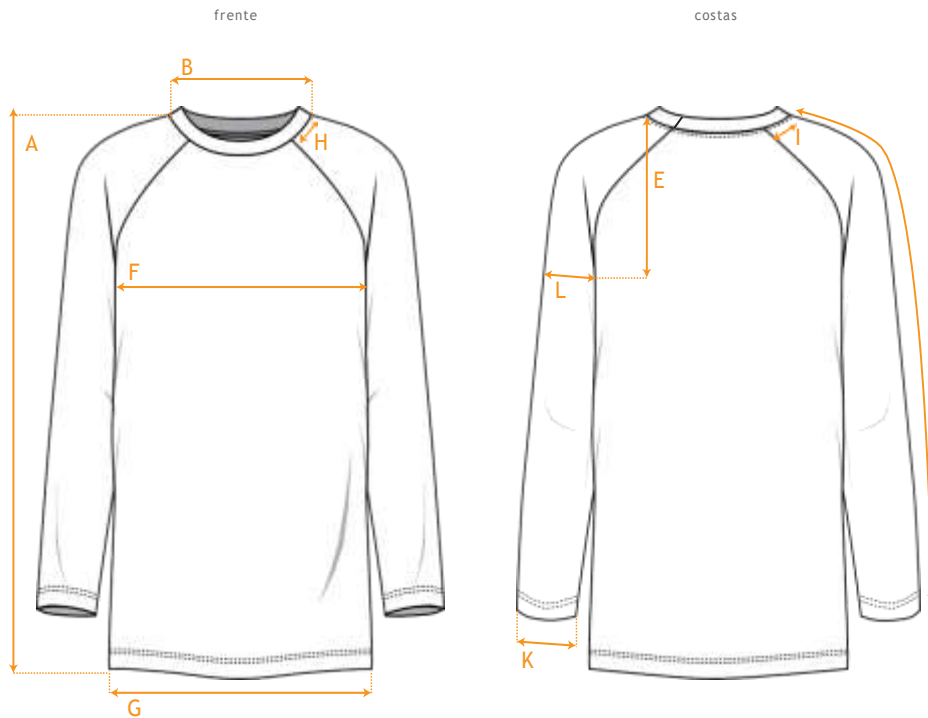
DATA: 16/08/2018

CLIENTE: RDD

QUANTIDADE : 1

SIZE: M

TAMANHO : M



Medidas		M							
A	Comprimento total desde o ponto mais alto	74cm							
B	Abertura do decote excluindo a gola	20cm							
C	Profundidade do decote da costa	3cm							
D	Profundidade do decote da frente	9cm							
E	Altura da cava desde o ponto mais alto na perpendicular	28cm							
F	Largura do peito a 2.5 cm da cava	52cm							
G	Largura no fundo	51cm							
H	Posição do encaixe do ombro na gola - frente	6.5cm							
I	Posição do encaixe do ombro na gola - costa	4cm							
J	Comprimento da manga	76cm							
K	Abertura da manga no fundo	12cm							
L	Musculo a 2.5 cm da cava	20cm							
M	Gola altura	2cm							

2. Anexo B

Ficha técnica de confecção do protótipo das *Leggings* de mulher de primeira camada, com o substrato têxtil AMAJAW 18008 funcional desenvolvido, com propriedades antioxidantes e antimicrobianas.

RDD

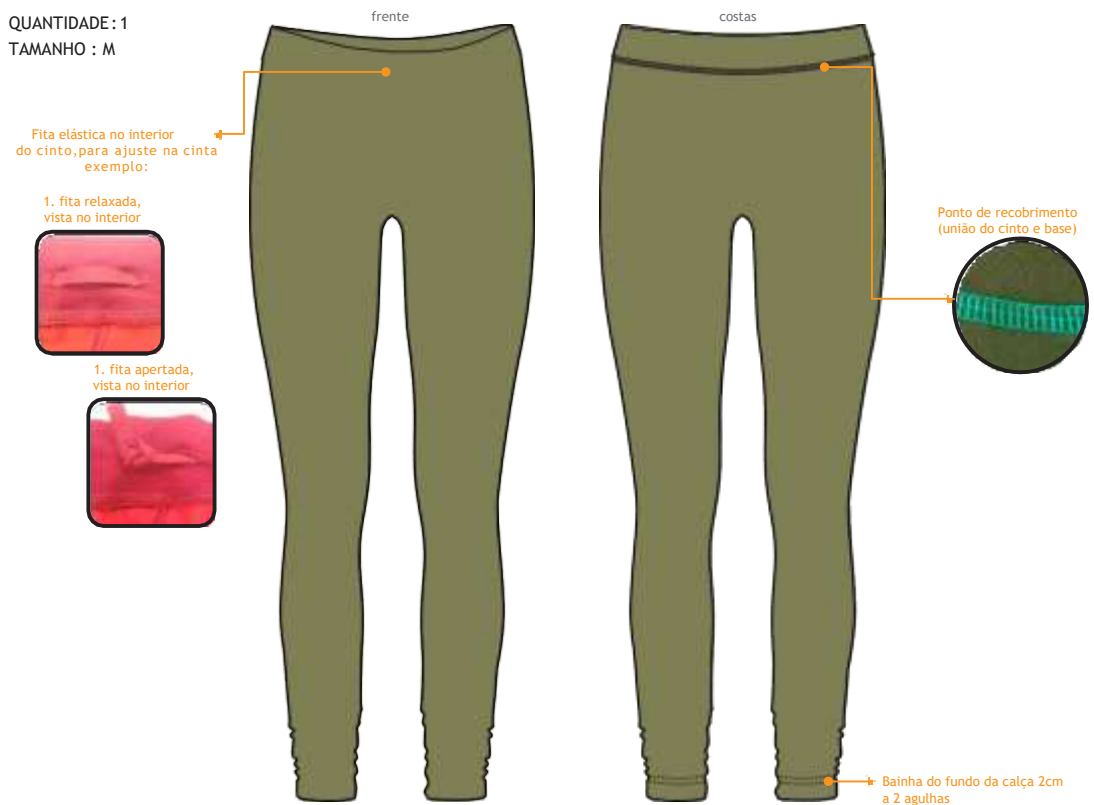
FICHA TÉCNICA CONFEÇÃO

CÓDIGO: RDDW017_LEGGINGS
 MODELO: LEGGINGS SRA

DATA: 17/08/2018
 CLIENTE: RDD

SKETCH

QUANTIDADE: 1
 TAMANHO : M



DESCRIÇÃO

- Leggings senhora.
- Slim fit.
- Costura de recobrimento, na união do cinto com a base.
- Costuras laterais perna a corte e cose.
- Bainha fundo com 2cm a 2 agulhas.

ESPECIFICAÇÕES

COR

COR 1



MATERIAIS

FORNECEDOR: RDD
 REFERÊNCIA: AMAJAW18008
 ESTRUTURA: JERSEY
 COMPOSIÇÃO: 95%COORG 5%EL
 COR: HIKING GREEN

LARGURA ÚTIL: 1,77MT
 GRAMAGEM: OBS:

ACESSÓRIOS

A1
 Fornecedor: ..
 Referência:
 Dimensão:
 Quantidade:
 Cor:

OUTRAS ESPECIFICAÇÕES

/ Todas a costuras á cor da malha

PAG.1

Desenvolvimento de têxteis com propriedades funcionais

CÓDIGO: RDDW017_LEGGINGS

MODELO: LEGGINGS SRA

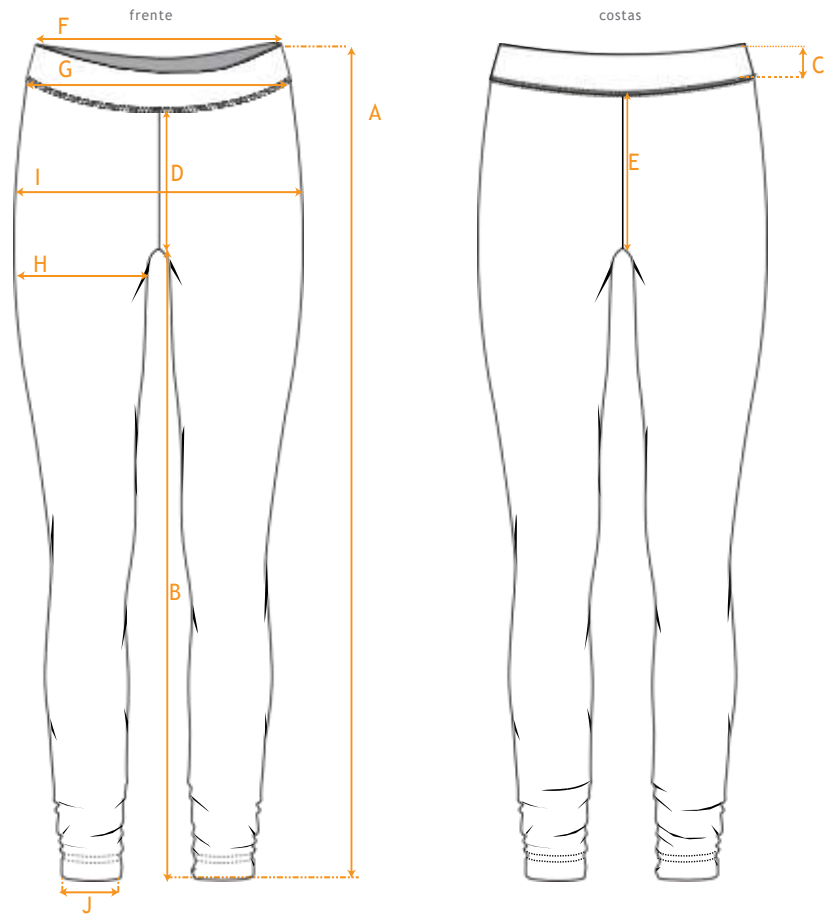
SKETCH

DATA: 17/08/2018

CLIENTE: RDD

SIZE: M

QUANTIDADE: 1
TAMANHO : M



Medidas		M												
A	comprimento total incluindo o cinto	94cm												
B	comprimento perna no interior	73cm												
C	altura cinto	5cm												
D	altura gancho da frente excluindo o cinto	20cm												
E	altura gancho das costas excluindo o cinto	24.5cm												
F	largura cinta no cinto	31cm												
G	largura cinta excluindo o cinto	34.5cm												
H	coxa a 2.5cm do gancho	26.5cm												
I	anca a 20cm do topo	44cm												
J	abertura perna no fundo	12.5cm												

3. Anexo C

Realatório de ensaios da análise da atividade microbiológica do substrato têxtil AMAJAW 18008 com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas (A e B) realizados nas instalações do CITEVE. O procedimento para a determinação da atividade antibacteriana do substrato têxtil funcional impregnado com complexos de inclusão de resveratrol com β -ciclodextrinas, e assim, a realização da análise da atividade microbiológica para o teste da suscetibilidade aos antibacterianos, foi realizado de acordo com a ISO 20743:2013 – *Textiles - Determination of antibacterial activity of textile products (ISO 20743:2013)*.

 <p>Centro Tecnológico das Indústrias Têxtil e do Vestuário de Portugal</p>	<p>RELATÓRIO DE ENSAIOS Nº 8793/2018 - 1</p>
	<p>À Firma RDD - TEXTILES, LDA RUAS DO ARRANJINHO, N.º 365 - FRACÇÃO P, PAVILHÃO VILA FRESCAÏNHA S. MARINHO 4750-806- BARCELOS</p>
<p>Entrada: 7698/2018</p>	<p>Data de Recepção das Amostras : 2018/07/11</p>
<p>Observações</p>	
<p>N. Amostras - V/Referência</p> <p>12485/2018 - AMAJAW18008 m1 12486/2018 - AMAJAW18008 m2 12487/2018 - AMAJAW18008 m5 12488/2018 - AMAJAW18008 m8 12489/2018 - AMAJAW18008 m9 12490/2018 - AMAJAW18008 m11 12491/2018 - AMAJAW18008 m12</p>	
<p>Ensaíos Requeridos Atividade Antibacteriana</p>	
<p>- Os ensaios foram realizados entre a data 2018/07/11 e 2018/08/09.</p>	
<p>V.N.FAMALICÃO, 13 de Agosto de 2018</p> <p>COORDENADOR DO LABORATÓRIO</p>  <p>(Pedro Santos)</p>	
<p>NOTAS:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Os resultados deste relatório foram obtidos segundo os procedimentos descritos no manual da Qualidade do CITEVE e referem-se apenas às amostras submetidas a ensaios, acima referenciadas. - O relatório de ensaios não pode ser parcialmente reproduzido sem autorização do CITEVE. - Os ensaios assinalados com * não estão incluídos no âmbito de acreditação deste laboratório - l.q - limite de quantificação l.d. - limite de deteção n.d. - não detectado - As amostras são armazenadas durante 6 meses, após a data de entrada, com exceção dos produtos químicos que são armazenadas por um mês. 	
<p>FAMALICÃO - Quinta da Mãe - Rua Fernando Pessoa, 2785 4750-034 Vila Nova de Famalicão Tel.: +351 252 300 300 Fax: +351 252 300 317 e-mail:citeve@citeve.pt COVILHÃ - Quinta do Corredouro 6201 - 607 Covilhã Tel.: +351 275 330 300 Fax: +351 275 330 327 e-mail:ativiteve.ativiteve@citeve.pt www.citeve.pt</p>	



Centro Tecnológico
das Indústrias Têxtil
e do Vestuário
de Portugal

RELATÓRIO DE ENSAIOS

Nº 8793/2018 - 1

LABORATÓRIOS - V.N.FAMALICÃO

<u>No. da Amostra</u>	<u>V/ Referência</u>	<u>Descrição da Amostra</u>
12485 /2018	AMAJAW18008 m1	1 Amostra de malha

Ensaio/Norma: DETERMINAÇÃO DA ACTIVIDADE ANTIBACTERIANA / ISO 20743:2013

Resultados

Staphylococcus aureus (ATCC 6538)	
Diferença dos log extremos para o tecido controlo (0/24h):	0,12 / 0,21
Valor de crescimento branco (F):	3,874
Valor de crescimento amostra (G):	4,109
Actividade antibacteriana (A=F-G):	-0,236
Avaliação (de acordo com anexo F):	Sem actividade
Escherichia coli (ATCC 25922)	
Diferença dos log extremos para o tecido controlo (0/24h):	0,03 / 0,04
Valor de crescimento branco (F):	3,990
Valor de crescimento amostra (G):	4,054
Actividade antibacteriana (A=F-G):	-0,064
Avaliação (de acordo com anexo F):	Sem actividade

Condições de Ensaio

Tempo de contacto:	24 horas
Concentração do inóculo (UFC/mL):	
S aureus:	1,41 x 10 ⁵
E coli:	2,24 x 10 ⁵
Método de inoculação:	Absorção
Método de medição:	Contagem em placa
Esterilização das amostras:	Não aplicável
Solução de neutralização:	SCDLP

<u>No. da Amostra</u>	<u>V/ Referência</u>	<u>Descrição da Amostra</u>
12486 /2018	AMAJAW18008 m2	1 Amostra de malha

Ensaio/Norma: DETERMINAÇÃO DA ACTIVIDADE ANTIBACTERIANA / ISO 20743:2013

Resultados

L-00307

Pág. :2 /8



LABORATÓRIOS - V.N.FAMALICÃO

Staphylococcus aureus (ATCC 8538)

Diferença dos log extremos para o tecido controlo (0/24h):	0,12 / 0,21
Valor de crescimento branco (F):	3,874
Valor de crescimento amostra (G):	4,030
Actividade antibacteriana (A=F-G):	-0,157
Avaliação (de acordo com anexo F):	Sem actividade

Escherichia coli (ATCC 25922)

Diferença dos log extremos para o tecido controlo (0/24h):	0,03 / 0,04
Valor de crescimento branco (F):	3,990
Valor de crescimento amostra (G):	4,008
Actividade antibacteriana (A=F-G):	-0,018
Avaliação (de acordo com anexo F):	Sem actividade

Condições de Ensaio

Tempo de contacto:	24 horas
Concentração do inóculo (UFC/mL):	
S aureus:	1,41 x 10 ⁵
E coli:	2,24 x 10 ⁵
Método de inoculação:	Absorção
Método de medição:	Contagem em placa
Esterilização das amostras:	Não aplicável
Solução de neutralização:	SCDLP

No. da Amostra	V/ Referência	Descrição da Amostra
12487 /2018	AMAJAW18008 m5	1 Amostra de malha

Ensaio/Norma: DETERMINAÇÃO DA ACTIVIDADE ANTIBACTERIANA / ISO 20743:2013

Resultados

Staphylococcus aureus (ATCC 6538)

Diferença dos log extremos para o tecido controlo (0/24h):	0,12 / 0,21
--	-------------

L-003/07

Pag: 3 / 8



LABORATÓRIOS - V.N.FAMALICÃO

Valor de crescimento branco (F):	3,874
Valor de crescimento amostra (G):	4,186
Actividade antibacteriana (A=F-G):	-0,312
Avaliação (de acordo com anexo F):	Sem actividade
Escherichia coli (ATCC 25922)	
Diferença dos log extremos para o tecido controlo (0/24h):	0,03 / 0,04
Valor de crescimento branco (F):	3,990
Valor de crescimento amostra (G):	4,000
Actividade antibacteriana (A=F-G):	-0,010
Avaliação (de acordo com anexo F):	Sem actividade

Condições de Ensaio

Tempo de contacto:	24 horas
Concentração do inóculo (UFC/mL):	
S aureus:	1,41 x 10 ⁵
E coli:	2,24 x 10 ⁵
Método de inoculação:	Absorção
Método de medição:	Contagem em placa
Esterilização das amostras:	Não aplicável
Solução de neutralização:	SCDLP

<u>No. da Amostra</u>	<u>VI Referência</u>	<u>Descrição da Amostra</u>
12488 /2018	AMAJAW18008 m8	1 Amostra de malha

Ensaio/Norma: DETERMINAÇÃO DA ACTIVIDADE ANTIBACTERIANA / ISO 20743:2013

Resultados

Staphylococcus aureus (ATCC 6538)	
Diferença dos log extremos para o tecido controlo (0/24h):	0,08 / 0,05
Valor de crescimento branco (F):	3,268
Valor de crescimento amostra (G):	3,933
Actividade antibacteriana (A=F-G):	-0,664

L-003/07

Pag. :4 /8



LABORATÓRIOS - V.N.FAMALICÃO

Avaliação (de acordo com anexo F):	Sem atividade
Escherichia coli (ATCC 25922)	
Diferença dos log extremos para o tecido controlo (0/24h):	0,06 / 0,07
Valor de crescimento branco (F):	4,287
Valor de crescimento amostra (G):	4,354
Actividade antibacteriana (A=F-G):	-0,377
Avaliação (de acordo com anexo F):	Sem atividade

Condições de Ensaio

Tempo de contacto:	24 horas
Concentração do inóculo (UFC/mL):	
S aureus:	1,28 x 10 ⁵
E coli:	1,01 x 10 ⁵
Método de inoculação:	Absorção
Método de medição:	Contagem em placa
Esterilização das amostras:	Não aplicável
Solução de neutralização:	SCDLP

<u>No. da Amostra</u>	<u>V/ Referência</u>	<u>Descrição da Amostra</u>
12489 /2018	AMAJAW18008 m9	1 Amostra de malha

Ensaio/Norma: DETERMINAÇÃO DA ACTIVIDADE ANTIBACTERIANA / ISO 20743:2013

Resultados

Staphylococcus aureus (ATCC 6538)	
Diferença dos log extremos para o tecido controlo (0/24h):	0,14 / 0,07
Valor de crescimento branco (F):	3,826
Valor de crescimento amostra (G):	-1,532
Actividade antibacteriana (A=F-G):	5,358
Avaliação (de acordo com anexo F):	Atividade Forte
Escherichia coli (ATCC 25922)	

L-003/07



Pag. :5 /8



LABORATÓRIOS - V.N.FAMALICÃO

Diferença dos log extremos para o tecido controlo (0/24h):	0,09 / 0,14
Valor de crescimento branco (F):	4,208
Valor de crescimento amostra (G):	2,290
Actividade antibacteriana (A=F-G):	1,919
Avaliação (de acordo com anexo F):	Atividade significativa

Condições de Ensaio

Tempo de contacto:	24 horas
Concentração do inóculo (UFC/mL):	
S aureus:	1,00 x 10 ⁵
E coli:	1,77 x 10 ⁵
Método de inoculação:	Absorção
Método de medição:	Contagem em placa
Esterilização das amostras:	Não aplicável
Solução de neutralização:	SCDLP

<u>No. da Amostra</u>	<u>V/ Referência</u>	<u>Descrição da Amostra</u>
12490 /2018	AMAJAW18008 m11	1 Amostra de malha

Ensaio/Norma: DETERMINAÇÃO DA ACTIVIDADE ANTIBACTERIANA / ISO 20743:2013

Resultados

Staphylococcus aureus (ATCC 6538)	
Diferença dos log extremos para o tecido controlo (0/24h):	0,14 / 0,07
Valor de crescimento branco (F):	3,826
Valor de crescimento amostra (G):	5,022
Actividade antibacteriana (A=F-G):	-1,196
Avaliação (de acordo com anexo F):	Sem atividade
Escherichia coli (ATCC 25922)	
Diferença dos log extremos para o tecido controlo (0/24h):	0,09 / 0,14



Centro Tecnológico
das Indústrias Têxtil
e do Vestuário
de Portugal

RELATÓRIO DE ENSAIOS

Nº 8793/2018 - 1

LABORATÓRIOS - V.N.FAMALICÃO

Valor de crescimento branco (F):	4,208
Valor de crescimento amostra (G):	4,053
Actividade antibacteriana (A=F-G):	0,156
Avaliação (de acordo com anexo F):	Sem atividade

Condições de Ensaio

Tempo de contacto:	24 horas
Concentração do inóculo (UFC/mL):	
S aureus:	$1,00 \times 10^5$
E coli:	$1,77 \times 10^5$
Método de inoculação:	Absorção
Método de medição:	Contagem em placa
Esterilização das amostras:	Não aplicável
Solução de neutralização:	SCDLP

No. da Amostra	V/ Referência	Descrição da Amostra
12491 /2018	AMAJAW18008 m12	1 Amostra de malha

Ensaio/Norma: DETERMINAÇÃO DA ACTIVIDADE ANTIBACTERIANA / ISO 20743:2013

Resultados

Staphylococcus aureus (ATCC 6538)	
Diferença dos log extremos para o tecido controlo (0/24h):	0,14 / 0,07
Valor de crescimento branco (F):	3,826
Valor de crescimento amostra (G):	-1,437
Actividade antibacteriana (A=F-G):	5,263
Avaliação (de acordo com anexo F):	Atividade Forte
Escherichia coli (ATCC 25922)	
Diferença dos log extremos para o tecido controlo (0/24h):	0,09 / 0,14
Valor de crescimento branco (F):	4,208
Valor de crescimento amostra (G):	0,943
Actividade antibacteriana (A=F-G):	3,266

L-003107


 Pag. :7 /8



Centro Tecnológico
das Indústrias Têxtil
e do Vestuário
de Portugal

RELATÓRIO DE ENSAIOS

Nº 8793/2018 - 1

LABORATÓRIOS - V.N.FAMALICÃO

Avaliação (de acordo com anexo F):

Atividade Forte

Condições de Ensaio

Tempo de contacto:	24 horas
Concentração do inóculo (UFC/mL):	
S aureus:	1,00 x 10 ⁵
E coli:	1,77 x 10 ⁵
Método de inoculação:	Absorção
Método de medição:	Contagem em placa
Esterilização das amostras:	Não aplicável
Solução de neutralização:	SCDLP

4. Anexo D

Abstract do poster intitulado “Infeções hospitalares contraídas através do uso inadequado de batas/uniformes” submetido no *II Meeting of Medical Biotechnology*.

Infeções hospitalares contraídas através do uso inadequado de batas/uniformes

Autores e Afiliações

Andreia Allen¹, Joana Neves¹, Miguel Costa¹, Artemisa R. Dores^{1,2}, Cristina Prudêncio^{1,3}

¹ Mestrado de Bioquímica em Saúde da Escola Superior de Saúde, Politécnico do Porto; ² Ciências Sociais e Humanas da Escola Superior de Saúde, Politécnico do Porto; ³ Ciências Químicas e das Biomoléculas da Escola Superior de Saúde, Politécnico do Porto

Introdução. As infeções hospitalares são difíceis de controlar e eliminar pelo que a utilização de tecidos funcionais poderia diminuir a propagação de microrganismos. Este trabalho teve como objetivo estudar as práticas associadas à utilização de batas/uniformes em contexto hospitalar e perceber se os estudantes estão conscientes dos comportamentos inapropriados que poderão ser uma das causas da transmissão de microrganismos.

Materiais e métodos. Participaram neste estudo 60 estudantes da Escola Superior de Saúde do Politécnico do Porto a realizar estágio em hospitais. Destes 93% são do género feminino, 93,3% das licenciaturas de Análises Clínicas e Saúde Pública; Anatomia Patológica, Citológica e Tanatológica; Farmácia; Neurofisiologia; Radiologia e 6,7% do mestrado de Bioquímica em Saúde. Foi administrado um questionário de avaliação de necessidades (Banu et al., 2012; traduzido e adaptado pela equipa), disponibilizado via *online*, autorizado pela Comissão de Ética local.

Resultados e conclusão. Os estudantes portugueses desta instituição parecem mais conscientes dos riscos associados à utilização da bata/uniforme em meio hospitalar e revelaram práticas mais adequadas na sua manipulação. No entanto, existem ainda áreas deficitárias onde seriam necessárias intervenções psicoeducacionais com vista à modificação comportamental, bem como a necessidade do desenvolvimento de materiais que reduzissem a proliferação de microrganismos, minimizando possíveis infeções hospitalares. Assim, pretendemos alertar os profissionais de saúde para as consequências da inadequada utilização e higienização das batas ou uniformes e incentivar a cooperação entre a indústria têxtil e os hospitais, através do desenvolvimento e utilização de tecidos funcionais que reduzam a proliferação microbiana.

Palavras-chave: infeções hospitalares, prevenção, biotecnologia

5. Anexo E

Certificado de apresentação do poster intitulado “Infeções hospitalares contraídas através do uso inadequado de batas/uniformes” submetido no *II Meeting of Medical Biotechnology*.



6. Anexo F

Abstract do poster intitulado “*Textiles development with functional properties*” submetido no XI ENEBIOQ – Décima primeira edição do Encontro Nacional de Estudantes de Bioquímica.

Textiles development with functional properties

Authors and Affiliations

Costa M^{1,2,3*}, Prudêncio C^{1,3,4}, Parente E², Vieira M^{1,3,4}

¹ Chemistry and Biomolecules Sciences, School of Health, Polytechnic of Porto, Porto, Portugal; ² RDD - Research Design and Development, Barcelos, Portugal; ³ CISA - Center for Research in Health and Environment, School of Health, Polytechnic of Porto, Porto, Portugal; ⁴ i3S - Institute for Research and Innovation in Health, University of Porto, Porto, Portugal

*miguelcosta1995@hotmail.com

Abstract

In a context where functional textiles for cosmetic, pharmaceutical and medical applications are an area of growing interest, it is important to find advanced technologically and environmentally sustainable solutions. Considering the chemical, biological and pharmacological potential of many natural medicinal plants and biologically active compounds, the research and development of functional textiles with natural compounds is highly promising.

Nanotechnology consists of the characterization and manipulation of materials at an atomic and molecular scale, being responsible for the characterization, production and application of structures and systems to control the shape and size of the particles. The term "nanotechnology" is a relatively recent topic in the fields of engineering, textiles and medicine and therefore studies are still being developed to see how harmful and/or beneficial they can be to health and the environment. This type of technology allows to implement new technological and scientific characteristics in the textile sector in fibers, yarns and fabrics, but also for the development of intelligent and functional textile fabrics in the most diverse areas, mainly in health. The modification of the textile surface is an alternative that allows to incorporate in the material new properties, without harming the comfort and the mechanical resistance of the same, giving the consumer the possibility to take of these advantages and functionalities.

In the production of functional fibers and textiles, the use of molecular materials at a nanoscale induces a breakthrough in the textile industry. The definition of functional textiles is not consensual. According to some authors, these are originated through a process that provides functional properties to the textile materials, through the addition of chemical, physical and/or biological products. On the other hand, there are authors who define functional textiles as fibers that present a new or unconventional characteristic. On

the other hand, there are authors who define functional textiles as fibers that present a new or unconventional characteristic. The purpose of these first layer textiles (direct contact with the skin) with functional properties is to obtain a greater comfort and a better quality of life for the human being. Its functions can be diverse, among them textiles with thermoregulation, humidity control, antibacterial, antifungal, antiviral, healing, anti-odor, anti-UV, anticancer, anti-ulcerogenic, antidiabetic, moisturizing, among many other applications obtained by the integration of active principles of substances of natural origin.

One of the most widely used techniques for the production of textiles with functional properties is microencapsulation, which has the advantage of being one of the most economical methods. Through this technology, solid, liquid or gaseous substances are encapsulated, being released later gradual and controlled way to the skin, where they will be absorbed later. This is one of the best methods to promote durability and stability in textile fabric and protect extracts of natural medicinal plants and biologically active compounds against volatility and instability in the presence of air, light, moisture and high temperatures. The entry of nanomaterials into the skin is being widely used to facilitate local therapies since they have been shown to reach greater depths across the skin layers.

Microencapsulation enables the active compounds to be isolated through a natural spherical biopolymer membrane. Although very small in size, the microcapsules provide a relatively large application area, which allows a uniform, controlled and adequate release of the extracts of natural medicinal plants and the biologically active compounds. These microcapsules can be applied in textile fabrics by conventional methods, such as immersion/impregnation in aqueous dispersion, with the help of a binding agent, among others. Within microencapsulation there are a number of methods that can be used, among them liposomes, cyclodextrins, polymer nanoparticles, emulsions and dendrimers, among many others.

One of the most widely used methods is cyclodextrins, which are a family of three-dimensional, cone-shaped macrocyclic oligosaccharides, about 1nm in height. Most are characterized by the high number of hydroxyls (OH). The interior of the cyclodextrins is hydrophobic while its surface is hydrophilic, being used to solubilize biologically active liposoluble compounds. In the group of cyclodextrins, β -cyclodextrin is the most used, since it has greater affinity for most of the compounds and is responsible for the durability and controlled release of extracts of natural medicinal plants and biologically active compounds. These structures have been widely used for the production of textiles with functional properties, by the fixing of β -cyclodextrins with the biologically active compound in certain textiles, more precisely in cotton fibers. These provide a better quality of life for humans by applying compounds in cyclodextrins with antimicrobial, anti-inflammatory and other properties that are safe and non-toxic to humans and the environment.

Thus, the main objective of the production and subsequent use of functional textiles has been the investigation of properties related to the comfort and safety of users, promoting welfare and improving the quality of life. The development of innovative textiles allows the prevention and dermatological treatment of pathologies through functional textiles of natural origin with extracts of natural medicinal plants or

biologically active compounds. Functional textiles thus enable innovation in the field of health and biomedicine, since the topical administration of these bioactive compounds is very effective. Through topical administration, these compounds don't need to cross the gastrointestinal system and undergo the action of the gastric acid, avoiding the side effects and systemic and the first pass effect. This type of administration exerts a local action on the cutaneous tissues, with the absorption of a certain quantity of active principle into the blood circulation, so as not to exert effects on the rest of the organism, reason why we obtain a treatment faster, continuous, safe, innovative, comfortable and sustainable.

The use of nanotechnology associated with the textile industry, and more specifically of functional textiles with chemical and biological properties, has become more frequent in health and biomedical and biotechnology science, both in the development of diagnostics and in clinical therapeutics.

Key words: functional textiles, nanotechnology, microencapsulation and natural compounds.

7. Anexo G

Certificado de apresentação do poster intitulado “*Textiles development with functional properties*” submetido no XI ENEBIOQ – Décima primeira edição do Encontro Nacional de Estudantes de Bioquímica.



Certifica-se que **Miguel Costa** participou, com o poster intitulado *Desenvolvimento de têxteis com propriedades funcionais*, no Concurso de Posters Científicos integrado no *XI ENEBIOQ - décima primeira edição do Encontro Nacional de Estudantes de Bioquímica*, que decorreu, nos dias 23, 24, 25 e 26 de março de 2018, no Porto.

Pela Comissão Organizadora do XI ENEBIOQ

[Adriana Órfão Nobre]

8. Anexo H

Abstract do poster intitulado “*Evaluation of the bacterial activity of natural compounds*” submetido no *I Iberian Meeting of Medicinal Biotechnology e III Meeting of Medical Biotechnology*.

Evaluation of the bacterial activity of natural compounds

Authors and Affiliations

Costa M^{1,2*}, Cunha S^{3,4,5}, Prudêncio C^{3,4,6}, Parente E², Vieira M^{3,4,6}

¹Mestrado Bioquímica em Saúde, Escola Superior de Saúde, Instituto Politécnico do Porto, Porto, Portugal; ²RDD - *Research Design and Development*, Barcelos, Portugal; ³Ciências Químicas e das Biomoléculas, Escola Superior de Saúde, Instituto Politécnico do Porto, Porto, Portugal; ⁴Centro de Investigação em Saúde e Ambiente, Escola Superior de Saúde, Instituto Politécnico do Porto, Porto, Portugal; ⁵Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud, Universidad de Vigo, Vigo, España; ⁶i3S - Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, Universidade do Porto, Porto, Portugal

*10160669@ess.ipp.pt

Introduction: Medicinal plants with therapeutic properties are an important source of new biologically active compounds. They present great potential for therapeutics and prevention applications. The use of plant extracts and phytochemical products, both with known antimicrobial properties, is of great importance in the treatment of infectious diseases, where resveratrol, propolis and chamomile stand out.

Material and methods: The bacterial activity of resveratrol, propolis and chamomile was assessed. Firstly, was performed the compounds extraction in ethanolic medium at 70 and 30°C and in aqueous medium at 100 and 80°C. The crude extract was dried in a rotary evaporator at 40°C for ethanolic extractions and at 60°C for aqueous extractions. Bacterial activity was evaluated based on CLSI methods for antimicrobial susceptibility tests with modifications, using 5 strains, one gram-negative and 4 gram-positive strains, for both crude and concentrated extracts. It was assessed the size of the inhibition halo after 24h at 37°C.

Results: Resveratrol extract presented the highest inhibition halos, indicating increased anti-bacterial activity. The anti-bacterial effect was higher in concentrated extracts, in both ethanolic and aqueous extracts, than in the respective crude extracts. The results of the aqueous and ethanolic extracts of propolis and chamomile were not satisfactory, since the inhibition halo was inferior than the resveratrol extracts, demonstrating a lower anti-bacterial activity. However, for these two compounds, the concentrated extracts showed a higher inhibition than the crude extracts.

Conclusion: Thus, resveratrol was the compound that showed a higher anti-bacterial activity, demonstrating its potential for the use at an industrial scale.

Keywords: anti-bacterial activity, medicinal plants, natural compounds, resveratrol.

9. Anexo I

Certificado de apresentação do poster intitulado “*Evaluation of the bacterial activity of natural compounds*” submetido no *I Iberian Meeting of Medicinal Biotechnology* e *III Meeting of Medical Biotechnology*.



10. Anexo J

Abstract do artigo intitulado “Valérius 360: Co - creating a circular fashion system” submetido no Global Fashion Conference 2018 – London.



Abstract Submission Form GFC2018, Centre for Sustainable Fashion, London College of Fashion, University of the Arts London

TESTIMONIAL or PRESENTATION

Please submit your abstract before 31st March 2018 to globalfashionconference@gmail.com

The title of the abstract should be no longer than 12 words, and the abstract itself should have between 250 and 400 words. The abstract should accurately reflect what is being proposed and indicate clearly the objectives to be achieved. Only testimonials relevant in terms of innovation and related to the main 4 topics of the conference: Power, Nature, Culture and Society will be accepted, e.g. experiences or projects carried out, new products or processes development.

The abstract should include:

1. Statement of the issue/problem, and the relevant background in terms of theory and/or practice.
2. Description of how the issue/problem is approached, methodology
3. Summary findings, conclusions and implications for theory and practice.
4. Key words (maximum of 5)

Accepted testimonials will be invited to be made into papers and digitally published.

Abstracts will be reviewed by the Scientific Committee of GFC2018. The language of the conference is English and oral presentations are limited to 15 minutes. The papers will be bundled in written form as academic papers and published as the conference proceedings.

AUTHOR INFORMATION

First Name: Elsa; Dolores; Miguel

Last Name: Parente; Gouveia; Costa

Institution: Valérius – Têxteis, SA

Function: Business development manager; Marketing and design manager; Research trainee

Mailing address: Rua Industrial do Aldão, Apartado 219 – Vila Frescaíña S. Martinho

City: Barcelos

Country: Portugal
State/Region: Braga
ZIP/Post code: 4750-078 – Vila Frescaíña S. Martinho – Barcelos
Phone: (+351) 253802750
Fax: (+351) 253802769
Email address: elsa.parente@rddtextiles.pt ; elsa.parente@valerirusgroup.pt ; dolores.gouveia@rddtextiles.pt ;

TESTIMONIAL OR PRESENTATION OF INNOVATIVE WORK/PROJECT

Title:

Valérius 360: Co - creating a circular fashion system

Abstract (up to 400 words):

Valérius, established 1987, offers its customers creative and technical skills for the accomplishment of high quality products at a competitive price. Closeness, adaptability, flexibility, trust, social responsibility and environmental awareness are some of key features valued and implemented by Valérius to achieve the high standards quality of products and services. Valérius has as main market Europe namely contemporary fashion and ready to wear global top brands.

Valérius 360 project is innovative and wants to achieve a superior “quality” dimension in textile recycling, starting from the conventional six steps process – garment collecting, sorting, grinding, re-born yarn, knit and apparel. Valérius 360 process intends to develop yarns with thinner counts and high-performance – presenting increased durability and resistance – at competitive prices to satisfy the new conscious customer expectations. Throughout the recycling conventional technologies and proceedings for textiles, some wastage can’t be return to this industry, so this project introduces the idea of reusing these pre-consumer short fibers textile materials for the paper industry. Valérius 360 includes as partners, international technological companies – LaRoche, Trutzschler and Schlafhorst – and Portuguese academic institutions – Minho University. This project main goals are: to give an eco-friendly solution for our own textile waste and brand’s over stocks; to reduce substantially the use of raw materials, energy, water and chemicals; to design and produce an ethical premium jersey collection at affordable prices and an inspirational garment capsule collection; to produce sustainable paper, with the waste from the textiles recycling process. Accordingly, Valérius 360, 10 years investment project with a budget 20 Million Euros, pretends create 50 new employments. This project was born in 2017 and had as main stages the research about the processes/technologies with possible partners. The first stages of industrial testing for each phase of the process in the respective partners, as well as their validation, are and will be performed between 2018-2019. Between 2020-2021 will be carried out the acquisition of all the equipment and

implementation of the industrial process. In the 2020-2024 period new R&D projects are planned and will be carried out with Portuguese universities for the research and innovation of textiles yarns and paper processes. The overall project will be consolidated between 2024-2027. Valérius 360 intends to co-create a circular fashion system with their stakeholders, encouraging to building a greener future and sustainable environment.

Keywords (up to 5 words):

circular economy, sustainability, fashion system, textile industry, case study.

All Proposals are submitted to Blind Peer Review and therefore they must be sent in Word Format, in order to allow for the identification of Authors to be removed and kept in a separate file.



11. Anexo K

Certificado de aceitação do *abstract* para publicação do artigo intitulado “*Valérius 360: Co - creating a circular fashion system*” submetido no *Global Fashion Conference 2018 – London*.



6th GLOBAL FASHION CONFERENCE

What’s Going On? A discourse on Fashion, Design and Sustainability

London, October 31st and November 1st 2018

CERTIFICATE OF ACCEPTANCE

I **hereby certify that** the Scientific Committee of the Global Fashion **has accepted and will publish the paper** in the Proceedings of GFC2018, once all the required modifications will have been made and your final paper been sent before the 15th of September.

“VALÉRIUS 360: CO - CREATING A CIRCULAR FASHION SYSTEM”

written by

ELSA PARENTE, DOLORES GOUVEIA and MIGUEL COSTA

This paper has been evaluated through a double blind review process by 2 anonymous readers who are both professors with high academic standards and members of the Scientific Committee. The authors’ names will appear on the programme, the authors will present their paper and their participation will greatly contribute to the success of the Congress that will take place in London, on the 31st of October and 1st of November 2018.

London, 9th July 2018

Isabel Cantista

Chair of the Scientific Committee

H. Bibliografia

Abdel-Halim, E. S., Al-Deyab, S. S., & Alfaifi, A. Y. A. (2014). Cotton fabric finished with β -cyclodextrin: inclusion ability toward antimicrobial agent. *Carbohydrate Polymers*, 102: 550–556. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.11.074>.

Abdel-Halim, E. S., Fouda, M. M. G., Hamdy, I., Abdel-Mohdy, F. A., & El-Sawy, S. M. (2010). Incorporation of chlorohexidin diacetate into cotton fabrics grafted with glycidyl methacrylate and cyclodextrin. *Carbohydrate Polymers*, 79: 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.07.050>.

Abramiuc, D., Ciobanu, L., Muresan, R., Chiosac, M., & Muresan, A. (2013). Antibacterial finishing of cotton fabrics using biologically active natural compounds. *Fibers and Polymers*, 14(11): 1826–1833. <https://doi.org/10.1007/s12221-013-1826-4>.

Acquaviva, R., Russo, A., Campisi, A., Sorrenti, V., Giacomo, C., Barcellona, M. L., Avitabile, M. & Vanella, A. (2002). Antioxidant activity and protective effect on DNA cleavage of resveratrol. *Journal of Food Science*, 67(1): 137–41.

Adomavičiūtė, E., Pupkevičiūtė, S., Juškaitė, V., Žilius, M., Stanys, S., Pavilionis, A., & Briedis, V. (2017). Formation and Investigation of Electrospun PLA Materials with Propolis Extracts and Silver Nanoparticles for Biomedical Applications. *Journal of Nanomaterials*, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2017/8612819>.

Akgul, C., & Saglikoglu, G. (2005). Antibacterial activity of crude methanolic extract and its fractions of aerial parts of *Anthemis tinctoria*. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, 42: 395–397.

Albouchi, F., Hassen, I., Casabianca, H. & Hosni, K. (2013). Phytochemicals, antioxidant, antimicrobial and phytotoxic activities of *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle leaves. *South African Journal of Botany*, 87: 164–174. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2013.04.003>.

Ali, F. H., Kassem, G. M., & Atta-Alla, O. A. (2010). Propolis as a natural decontaminant and antioxidant in fresh oriental sausage. *Veterinaria italiana*, 46(2): 167–172.

Almeida, L. (2005). *Functional Finishes*. Proceedings of 5 th World Textile Conference Autex 2005, Slovenia, Portorož, 77–82.

Alonso, C., Martí, M., Martínez, V., Rubio, L., Parra, J. L., & Coderch, L. (2013). Antioxidant cosmeo-textiles: Skin assessment. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 84(1): 192–199. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2012.12.004>

Alvarez-Román, R., Naik, A., Kalia, Y. N., Guy, R. H., & Fessi, H. (2004). Enhancement of topical delivery from biodegradable nanoparticles. *Pharmaceutical Research*, 21(10), 1818–1825.

Ansari, K. A., Vavia, P. R., Trotta, F., & Cavalli, R. (2011). Cyclodextrin-based nanosponges for delivery of resveratrol: *in vitro* characterisation, stability, cytotoxicity

and permeation study. *Journal of American Association of Pharmaceutical Sciences*, 12: 279–286. <http://doi.org/10.1208/s12249-011-9584-3>.

Antonio, J. R., Antônio, C. R., Cardeal, I. L. S., Ballavenuto, J. M. A., & Oliveira, J. R. (2014). Nanotechnology in Dermatology. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 89(1): 126–136. <http://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20142228>

Aracil, M. A. B., Monllor, P., Capablanca, L., Gisbert, J., Díaz, P. & Montava, I. (2015). A comparison between padding and bath exhaustion to apply microcapsules onto cotton. *Cellulose*, 22(3): 2117–2127. <https://doi.org/10.1007/s10570-015-0600-8>.

Araújo, M. D., & Melo e Castro, E. M. (1984). *Manual de Engenharia Têxtil I*. Fundação Calouste Gulbenkian, Portugal, Lisboa.

Artero, A., Artero, A., Tarín, J. J., & Cano, A. (2015). The impact of moderate wine consumption on health. *Maturitas*, 80: 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2014.09.007>.

Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourra, A., & Legret, P. (1994). Standardisation dun extrait de propolis et identification des principaux constituants. *Journal de Pharmacie de Belgique*, 49: 462–468.

Asolini, F. C., Tedesco, A. M., & Carpes, S. T. (2006). Atividade antioxidante e antibacteriana dos compostos fenólicos dos extratos de plantas usadas como chás. *Brazilian Journal of Food Technology*, 9(3): 209–215.

Azarpazhooh, A., & Leake, J. L. (2006). Systematic review of the association between respiratory diseases and oral health. *Journal of Periodontology*, 77: 1465–1482. <https://doi.org/10.1902/jop.2006.060010>.

Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*. 117: 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>.

Azwanida, N. N. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 4(3): 1–6 <http://doi:10.4172/2167-0412.1000196>.

Babich, H., Reisbaum, A. G., & Zuckerbraun, H. L. (2000). *In vitro* response of human gingival epithelial S-G cells to resveratrol. *Toxicology Letters*, 114: 143–33. [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(99\)00288-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(99)00288-X).

Bankova, V. S., De Castro, S. L., Marcucci, M. C. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31: 3–15. <https://doi.org/10.1051/apido:2000102>.

Baril, M. B., Franco, G. F., Viana, R. S., & Zanin, S. M. W. (2012). Nanotecnologia aplicada aos cosméticos - Nanotechnology applied to cosmetics. *Visão Acadêmica*, 13(1): 45–54.

Barry, B. W. (2001). Novel mechanisms and devices to enable successful transdermal drug delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(2): 101–114. [https://doi.org/10.1016/S0928-0987\(01\)00167-1](https://doi.org/10.1016/S0928-0987(01)00167-1)

Bayoub, K., Baibai, T., Mountassif, D., Retmane, A., & Soukri, A. (2010). Antibacterial activities of the crude ethanol extracts of medicinal plants against *Listeria monocytogenes* and some other pathogenic strains. *African Journal of Biotechnology*, 9(27): 4251–4258.

Ben Fadhel, B., Aissi, A., Ladhari, N., Deghrigue, M., Chemli, R., & Joly, J. P. (2012). Antibacterial effects of two Tunisian eucalyptus leaf extracts on wool and cotton fabrics. *The Journal of The Textile Institute*, 103: 1197–1204. <https://doi.org/10.1080/00405000.2012.670946>.

Beninate, J. V., Boylston, E. K., Drake, G. L. & Reeves, W. A. (1968). Conventional Pad-Dry-Cure Process for Durable- Flame and Wrinkle Resistance With Tetrakis (Hydroxymethyl) Phosphonium Hydroxide (THPOH). *Textile Research Journal*, 38(3): 267–272. <https://doi.org/10.1177/004051756803800307>.

Bernhoft, A. (2010a). *A brief review on bioactive compounds in plants*. In: Proceedings from a symposium held at The Norwegian Academy of Science and Letters, Norway, Oslo.

Bernhoft, A. (2010b). *Bioactive compounds in plants - benefits and risks for man and animals*. In: Proceedings from a symposium held at The Norwegian Academy of Science and Letters, Norway, Oslo.

Bertacche, V., Lorenzi, N., Nava, D., Pini, E., & Sinico, C. (2006). Host–Guest Interaction Study of Resveratrol With Natural and Modified Cyclodextrins. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 55: 279–287. <https://doi.org/10.1007/s10847-006-9047-8>.

Bhatti, I. A., Zia, K. M., Ali, Z. Zuber, M. & Fazal-ur-Rehmanb. (2012). Modification of cellulosic fibers to enhance their dyeability using UV-irradiation. *Carbohydrate Polymers*, 89: 783–787. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.04.010>.

Bing, P., Jing, G., Linhua, Z., Xiyan, Z., Qiang, Z., & Xiaolina, T. (2016). Retrospective study of Traditional Chinese Medicine treatment of type 2 diabetes mellitus. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 36(3): 307–313. [https://doi.org/10.1016/S0254-6272\(16\)30042-5](https://doi.org/10.1016/S0254-6272(16)30042-5).

Bolzani, V. S., Valli, M., Pivatto, M., & Viegas, C. (2012). Natural products from Brazilian biodiversity as a source of new models for medicinal chemistry. *Pure and Applied Chemistry*, 84(9): 1837–1846. <http://dx.doi.org/10.1351/PAC-CON-12-01-11>.

Bonifácio, B. V., Silva, P. B., Ramos, M. A. S., Negri, K. M. S., & Bauab, T. T. M. (2014). Nanotechnology-based drug delivery systems and herbal medicines: a review. *International Journal of Nanomedicine*, 9: 1–15. <http://dx.doi.org/10.2147/IJN.S52634>.

Booij, L. H. D. J. (2009). Cyclodextrin and the emergence of sugammadex. *Anesthesia*, 64(S1): 31–37. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2044.2008.05868.x>.

Bratu, I., Veiga, F., Fernandes, C., Hernanz, A., & Gavira, J. M. (2004) Infrared spectroscopic study of triacetyl- β -cyclodextrin and its inclusion complex with nicardipine. *Spectroscopy*, 18(3): 459–467. <http://dx.doi.org/10.1155/2004/727869>.

Brusotti, G., Cesaria, I., Dentamaroa, A., Caccialanza, G., & Massolinia G. (2014). Isolation and characterization of bioactive compounds from plant resources: The role of analysis in the ethnopharmacological approach. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 87: 218–228. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2013.03.007>.

Budzinski, J. W., Foster, B. C., Vandenhoeck, S., & Arnason, J. T. (2000). An *in vitro* evaluation of human cytochrome P450 3A4 inhibition by selected commercial herbal extracts and tinctures. *Phytomedicine*, 7: 273–282. [https://doi.org/10.1016/S0944-7113\(00\)80044-6](https://doi.org/10.1016/S0944-7113(00)80044-6).

Butler, M. S., & Buss, A. D. (2006). Natural products - The future scaffolds for novel antibiotics?. *Biochemical Pharmacology*, 71: 919–929. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2005.10.012>.

Calabrese, E. J., Mattson, M. P., & Calabrese, V. (2010). Resveratrol commonly displays hormesis: occurrence and biomedical significance. *Human & Experimental Toxicology*, 29: 980–1015. <https://doi.org/10.1177/0960327110383625>.

Calhoun, J. H., Dowling, J. P. F., & Mader, J. T. (2000). Osteomyelitis of the diabetic foot. *Wounds*, 12: 34B–48B.

Calixto, J. B. (2003). Biodiversidade como fonte de medicamentos. *Ciência e Cultura*, 55(3): 37–39.

Camerlo, A., Vebert-Nardin, C., Rossi, R. M., & Popa, A. M. (2013). Fragrance encapsulation in polymeric matrices by emulsion electrospinning. *European Polymer Journal*, 49(12): 3806–3813. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2013.08.028>.

Carvalho, A. F., Silva, D. M., Silva, T. R. C., Scarcelli, E., & Manhani, M. R. (2014). Avaliação da atividade antibacteriana de extratos etanólico e de ciclohexano a partir das flores de camomila (*Matricaria chamomilla* L.). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 16(3): 521–526. http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/12_159.

Casquete, R., Castro, S. M., Jácome, S., & Teixeira, P. (2016). Antimicrobial activity of ethanolic extract of propolis in “Alheira”, a fermented meat sausage. *Cogent Food & Agriculture*, 2: 1–7. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1125774>.

Cassie, A. B. D., & Baxter, S. (1944). Wettability of Porous Surfaces. *Transactions of the Faraday Society*, 40: 546–551. <https://doi.org/10.1039/TF9444000546>.

Celimene, C. C., Smith, D. R., Young, R. A., & Stanosz, G. R. (2001). *In vitro* inhibition of *Sphaeropir rapinea* by natural stilbenes. *Phytochemistry*, 36: 161–163.

Chang, C. C., Yeh, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3): 178–182.

Chaudhari, Y. (2012). Nanoparticles – A paradigm for topical drug delivery. *Chronicles of Young Scientists*, 3(1): 82–85. <https://doi.org/10.4103/2229-5186.94311>.

- Chen, W., Yeo, S. C. M., Elhennawy, M. G. A. A., Xiang, X., & Lin, H. S. (2015). Determination of naturally occurring resveratrol analog trans-4, 4'-dihydroxystilbene in rat plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: application to a pharmacokinetic study. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407: 5793–5801. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8762-7>.
- Chen, W., Yeo, S. C. M., Elhennawy, M. G. A. A., & Lin, H. S. (2016). Oxyresveratrol: a bioavailable dietary polyphenol. *Journal of Functional Foods*, 22: 122–131. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.01.020>.
- Cheng, J. G., Tian, B. R., Huang, Q., Ge, H. R., & Wang, Z. Z. (2018). Resveratrol Functionalized Carboxymethyl β -cyclodextrin: Synthesis, Characterization and Photo-stability. *Journal of Chemistry*, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2018/6789076>.
- Chinkap, C., Myunghee, L., & Eun, K. C. (2004) Characterization of cotton fabric scouring by FTIR-ATR spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*, 58(4): 417–420. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.08.005>.
- Choudhary, R. K., & Swarnkar, P. L. (2011). Antioxidant activity of phenolic and flavonoid compounds in some medicinal plants of India, *Natural Product Research*, 25(11): 1101–1109. <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.498372>.
- Choudhury, H., Pandey, M., Hua, C. K., Mun, C. S., Jing, J. K., Kong, L., Ern, L. Y., Ashraf, N. A., Kit, S. W., Yee, T. S., Pichika, M. R., Gorain, B., & Kesharwani, P. (2017). An update on natural compounds in the remedy of diabetes mellitus: A systematic review. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2017.08.012>.
- Ciobanu, A., Mallard, I., Landy, D., Brabie, G., Nistor, D., & Fourmentin, S. (2013). Retention of aroma compounds from Mentha piperita essential oil by cyclodextrins and crosslinked cyclodextrin polymers. *Food chemistry*, 138(1): 291–297. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.106>
- Cockerill, F. R., Patel, J. B., Alder, J., Bradford, P. A., Dudley, M. N., Eliopoulos, G. M., Hardy, D. J., Hecht, D. W., Hindler, J. A., Powell, M., Swenson, J. M., Thomson, R. B., Traczewski, M. M., Turnidge, J. D., Weinstein, M. P., & Zimmer, B. L. (2013). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty third informational supplement. *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*. 33(1): 1–205.
- Coelho, A. G., Scio, E., Lima, I. V. A., & Nogueira, M. (2012). Atividades antimicrobiana e antioxidante da *Chamomilla recutita* L. *HU Revista*, 38: 61–65.
- Colomera, A., Copete, T., Tacies, A., Varela, N., & Cuevas, M. (2002). Microencapsulación para aplicaciones textiles: el concepto SKINTEX(R). *Revista de la Industria Textil*, 403: 20–26.
- Croteau, R., Kutchan, T. M., & Lewis, N. G. (2000). *Natural products (secondary metabolites)*. In: Buchanan, B., Grissem, W., Jones, R. (Eds.), *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, USA, Maryland, Rockville.

Crucho, C. I. C., & Barros M. T. (2017). Polymeric nanoparticles: A study on the preparation variables and characterization methods. *Materials Science and Engineering C*, 80(1): 771–784. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2017.06.004>.

Cushnie, T. P., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26: 343–356. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>.

D’Auria, F. D., Tecca, M., Scazzocchio, F., Renzini, V., & Strippoli, V. (2003). Effect of propolis on virulence factors of *Candida albicans*. *Journal of Chemotherapy*, 15: 454–460.

Davis, M. E., & Brewster, M. E. (2004). Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3: 1023–1035. <https://doi.org/10.1038/nrd1576>.

De Leeuw, J., De Vijlder, H. C., Bjerring, P., & Neumann, H. A. M. (2009). Liposomes in dermatology today. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 23(5): 505–516. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1468-3083.2009.03100.x>

Deng, Y., Yang, F., Zhao, X., Wang, L., Wu, W., Zu, C., & Wu, M. (2018). Improving the skin penetration and antifebrile activity of ibuprofen by preparing nanoparticles using emulsion solvent evaporation method. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 114: 293–302. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.12.024>.

Docherty, J. J., Fu, M. M., & Tsai, M. (2001). Resveratrol selectively inhibits *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47: 243–244.

Dogru, E., Demirbas, A., Altinsoy, B., Duman, F., & Ocsoy, I. (2017). Formation of Matricaria chamomilla extract-incorporated Ag nanoparticles and size-dependent enhanced antimicrobial property. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 174: 78–83. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.07.024>.

Dong, X., Zhu, Q., Dai, Y., He, J., Pan, H., Chen, J., & Zheng, Z. P. (2016). Encapsulation artocarpanone and ascorbic acid in O/W microemulsions: preparation, characterization, and antibrowning effects in apple juice. *Food Chemistry*, 192: 1033–1040. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.124>.

Dreno, B., Araviiskaia, E., Berardesca, E., Bieber, T., Hawk, J., Sanchez-Viera, M. & Wolkenstein, P. (2014). The science of dermocosmetics and its role in dermatology. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology: JEADV*, 28(11): 1409–1417. <https://doi.org/10.1111/jdv.12497>.

Du, G., Li, M., Ma, F., & Liang, D., 2009. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and vitamin C in *Actinidia* fruits. *Food Chemistry*, 113: 557–562. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.025>.

Duarte, A., Martinho, A., Luís, Â., Figueiras, A., Oleastro, M., Domingues, F. C., & Silva, F. (2015). Resveratrol encapsulation with methyl- b - Cyclodextrin for antibacterial and antioxidant delivery applications. *LWT – Food Science and Technology*, 63(2): 1254–1260. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.04.004>.

Dziworska, G., & Wilk, E. (2005). *Antimicrobial properties of silver content textiles*. In 5th Autex world textile conference, Slovenia, Portoroz.

Edmonds-Wilson, S. L., Nurinova, N. I., Zapka, C. A., Fierer, N., & Wilson, M. (2015). Review of human hand microbiome research. *Journal of Dermatological Science*, 80(1): 3–12. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdermsci.2015.07.006>.

El-Shishtawy, R. M., Asiri, A. M., Abdelwahed, N. A. M., & Al-Otaibi, M. M. (2011). *In situ* production of silver nanoparticle on cotton fabric and its antimicrobial evaluation. *Cellulose*, 18: 75–82. <http://dx.doi.org/10.1007/s10570-010-9455-1>.

Eser, F., Yaglioglu, A. S., Dolarslan, M., Aktas, E., & Onal, A. (2017). Dyeing, fastness, and cytotoxic properties, and phenolic constituents of *Anthemis tinctoria* var. *tinctoria* (Asteraceae). *The Journal of The Textile Institute*, 108(9): 1489–1495. <https://doi.org/10.1080/00405000.2016.1257348>.

EURATEX. (2006). *Research Priorities Proposed by the 9 Thematic Expert Groups*. EURATEX internal document. <http://euratex.eu/>

Falcão, S. I., Tomás, A., Vale, N., Gomes, P., Freire, C., & Vilas-Boas, M. (2013). Phenolic quantification and botanical origin of Portuguese própolis. *Industrial Crops and Products*, 49: 805–812. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.021>

Ferreira, S., & Domingues, F. (2016). The antimicrobial action of resveratrol against *Listeria monocytogenes* in food-based models and its antibiofilm properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96: 4531–4535. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7669>.

Fleischer, T., & Grunwald, A. (2008). Making nanotechnology developments sustainable. A role for technology assessment?. *Journal of Cleaner Production*, 16(8): 889–898. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2007.04.018>

Fluhr, J. W., Kowatzki, D., Bauer, A., Elsner, P., & Hipler, C. (2005). *Silver-loaded cellulose fibers with anti-bacterial and anti-fungal activity in vitro and in vivo on patients with atopic dermatitis*. 5th world textile conference, Autex, Slovenia, Portoroz.

Fouda, M. M. G., Abdel-Halim, E. S., & Al-Deyab, S. S. (2013). Antibacterial modification of cotton using nanotechnology. *Carbohydrate Polymers*, 92(2): 943–954. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.09.074>

Gacén Guillén, J. (2001). Fibras higiénicas: fibras saludables. "*Fibras higiénicas: fibras saludables*" en *Boletín Intexter*, 120: 49–54.

Gacén, J., & Gacén, I. (2003). Fibras de alta tecnologia. *Química Têxtil*, 71: 1–17.

Gao, Y., & Cranston, R. (2008). Recent advances in antimicrobial treatments of textiles. *Textile Research Journal*, 78(1): 60–72. <https://doi.org/10.1177/0040517507082332>.

Gawish, S. M., Helmy, H. M., Ramadan, A. N., Farouk, R., & Mashaly, H. M. (2016). UV Protection Properties of Cotton, Wool, Silk and Nylon Fabrics Dyed with Red Onion Peel, Madder and Chamomile Extracts. *Journal of Textile Science & Engineering*, 6(4): 1–13. <https://doi.org/10.4172/2165-8064.1000266>.

Ge, S., Wang, L., Ma, J., Jiang, S., & Peng, W. (2018). Biological analysis on extractives of bayberry fresh flesh by GC–MS. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25: 816–818. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.09.001>.

Ghayempour, S., & Montazer, M. (2016). Micro/nanoencapsulation of essential oils and fragrances: focus on perfumed, antimicrobial: mosquito-repellent and medical textiles. *Journal of Microencapsulation*, 33(6): 497–510. <https://doi.org/10.1080/02652048.2016.1216187>.

Ghayempour, S., Montazer, M., & Mahmoudi Rad, M. (2016). Tragacanth gumbiopolymer as reducing and stabilizing agent in biosynthesis of furchin-like ZnO nanorod arrays: a low cytotoxic photocatalyst with antibacterial and antifungal properties. *Carbohydrate Polymers*, 136: 232–241. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.001>.

Ghayempour, S., & Montazer, M. (2017). Tragacanth nanocapsules containing Chamomile extract prepared through sono-assisted W/O/W microemulsion and UV cured on cotton fabric. *Carbohydrate Polymers*, 170: 234–240. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.04.088>

Giacosa, A., Barale, R., Bavaresco, L., Faliva, M. A., Gerbi, V., La Vecchia, C., Negri, E., Opizzi, A., Perna, S., Pezzotti, M., & Rondanelli, M. (2016). Mediterranean way of drinking and longevity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(4): 635–640. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.747484>.

Gidwani, B., & Vyas, A. (2015). A comprehensive review on cyclodextrin-based carriers for delivery of chemotherapeutic cytotoxic anticancer drugs. *BioMed Research International*, 1–16. <http://doi.org/10.1155/2015/198268>.

Giesz, P., Mackiewicz, E., Nejman, A., Celichowski, G., & Cieslak, M. (2017). Investigation on functionalization of cotton and viscose fabrics with AgNWs. *Cellulose*, 24(1): 409–422. <https://doi.org/10.1007/s10570-016-1107-7>.

Giusti, F., Miglietta, R., Pepe, P., & Seidenari, S. (2004). Sensitization to propolis in 1255 children undergoing patch testing. *Contact Dermatitis*, 51: 255–258. <https://doi.org/10.1111/j.0105-1873.2004.00455.x>.

Grunlan, J. C., Mehrabi, A. R., Bannon, M. V., & Bahr, J. L. (2004). Water-Based Single-Walled-Nanotube-Filled Polymer Composite with an Exceptionally Low Percolation Threshold. *Advanced Materials*, 16(2): 150–153. <http://dx.doi.org/10.1002/adma.200305409>

Gugliuzza, A., & Drioli, E. (2013). A review on membrane engineering for innovation in wearable fabrics and protective textiles. *Journal of Membrane Science*, 446: 350–375. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2013.07.014>

Gülçin, İ. (2010). Antioxidant properties of resveratrol: A structure–activity insight. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1): 210–218. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.07.002>.

Gullo, V. P., McAlpine, J., Lam, K. S., Baker, L. D., & Peterson, F. (2006). Drug discovery from natural products. *Journal of Industry and Microbiology and Biotechnology*, 33(7): 523–531. <https://doi.org/10.1007/s10295-006-0107-2>.

Gupchup, G. V., & Zatz, J. L. (1997). Targeted delivery to pilosebaceous structures. *Cosmetics and Toiletries*, 112(3): 79–86.

Gupta, P., Bairagi, N., Priyadarshini, R., Singh, A., Chauhan, D., & Gupta, D. (2017). Bacterial contamination of nurses' white coats after first and second shift. *American Journal of Infection Control*, 45(1): 86–88. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2016.07.014>

Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., & Rakesh, D. D. (2008). *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. 1ª Edição. United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology, Italy.

Harifi, T., & Montazer, M. (2012). Past, present and future prospects of cotton cross-linking: New insight into nano particles. *Carbohydrate Polymers*, 88(4): 1125–1140. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.02.017>

Haroun, A. A., Diab, H. A., & Hakeim, O. A. (2016). Cellulosic fabrics printing with multifunctional encapsulated phthalocyanine pigment blue using phase separation method. *Carbohydrate Polymers*, 146: 102–108. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.03.039>.

Hartmann, K. C., & Onofre, S. B. (2010). Atividade antimicrobiana de óleos essenciais da camomila (*Matricaria chamomilla* L.). *Revista Saúde e Pesquisa*, 3(3): 279–284.

Hebeish, A., El-Shafei, A., Sharaf, S., & Zaghloul, S. (2014a). Development of improved nanosilver-based antibacterial textiles via synthesis of versatile chemically modified cotton fabrics. *Carbohydrate Polymers*, 113: 455–462. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.06.015>

Hebeish, A., El-Shafei, A., Sharaf, S., & Zaghloul, S. (2014b). *In situ* formation of silver nanoparticles for multifunctional cotton containing cyclodextrin. *Carbohydrate Polymers*, 103: 442–447. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.12.050>

Hebeish, A., Fouda, M. M. G., Hamdy, I. A., El-Sawy, S. M., & Abdel-Mohdy, F. A. (2008). Preparation of durable insect repellent cotton fabric: Limonene as insecticide. *Carbohydrate Polymers*, 74(2): 268–273. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.02.013>

Hebeish, A., Ramadan, M. A., El-Naggar, M. E., & El-Rafie, M. H. (2011). Rendering Cotton Fabrics Antibacterial Properties Using Silver Nanoparticle-based Finishing Formulation. *Research Journal of Textile and Apparel*, 15(2): 114–120. <https://doi.org/10.1108/RJTA-15-02-2011-B013>.

Hill, L. E., Gomes, C., & Taylor, T. M. (2013). Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (trans-cinnamaldehyde, eugenol, cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications. *LWT – Food Science and Technology*, 51(1): 86–93. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.11.011>

Hoefnagels, H. F., Wu, D., With, G. D., & Ming, W. (2007). Biomimetic superhydrophobic and highly oleophobic cotton textiles. *Langmuir*, 23(26): 13158–13163. <https://doi.org/10.1021/la702174x>.

Holian, O., & Walter, R. J. (2001). Resveratrol inhibits the proliferation of normal human keratinocytes *in vitro*. *Journal of Cellular Biochemistry*, 36: 55–62.

Hong, K. H. (2015). Preparation and properties of cotton and wool fabrics dyed by black rice extract. *Textile Research Journal*, 85(18): 1875–1883. <https://doi.org/10.1177/0040517515569520>.

Hu, J., Meng, H., Zhu, Y., Liu, Y., Lv, J., Ji, F. L., Liu, B., Yeung, L., Shen, L., Hu, Y., Han, J., Li, W., Kennedy, J. F., Onkaraiah, P., Liu, Y., Zen, W., Luo, H., Chen, S., Li, Y., Zhuo, H., Zheng, Y., & Zang, C. (2010). An Overview of Stimuli-responsive Polymers for Smart Textile Applications. *Carbohydrate Polymers*. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.02.044>.

Hu, J., Xiao, Z., Zhou, R., Ma, S., Wang, M., & Li, Z. (2011). Properties of aroma sustained-release cotton fabric with rose fragrance nanocapsule. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 19(3): 523–528.

Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. *American Society for Microbiology*, 1–23.

Huertas, R. A. P. (2010). Revisión: Microencapsulación de Alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 63(2): 5669–5684.

Hwang, D., & Lim, Y. (2015). Resveratrol antibacterial activity against *Escherichia coli* is mediated by Z-ring formation inhibition via suppression of FtsZ expression. *Nature, Scientific Reports*, 5: 10029. <https://doi.org/10.1038/srep10029>.

Ibrahim, N. A., Amr, A., Eid, B. M., Mohamed, Z. E., & Fahmy, H. M. (2012). Poly (acrylic acid)/poly (ethylene glycol) adduct for attaining multifunctional cellulosic fabrics. *Carbohydrate Polymers*, 89(2): 648–660. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.03.068>.

Islam, S., Shahid, M., & Mohammad, F. (2013). Perspectives for natural product based agents derived from industrial plants in textile applications – a review. *Journal of Cleaner Production*, 57: 2–18. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.06.004>.

Jackson, J. E., Kopecki, Z., & Cowin, A. J. (2013). Nanotechnological advances in cutaneous medicine. *Journal of Nanomaterials*, 16: 1–9. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/808234>.

Jahn, S., Seiwert, B., Kretzing, S., Abraham, G., Regenthal, R., & Karst, U. (2012). Metabolic studies of the Amaryllidaceous alkaloids galantamine and lycorine based onelectrochemical simulation in addition to *in vivo* and *in vitro* models. *Analytica Chimica Acta*, 756: 60–72. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.10.042>.

Jain, K., Kesharwani, P., Gupta, U., & Jain, N. K. (2010). Dendrimer toxicity: Let's meet the challenge. *International Journal of Pharmaceutics*, 394(1): 122–142. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.04.027>.

Jiao, H., Goh, S. H., & Valiyaveetil, S. (2001). Inclusion complexes of poly(neopentyl glycol sebacate) with cyclodextrins. *Macromolecules*, 34(23): 8138–8142. <https://doi.org/10.1021/ma0110507>.

Johnson, I., & Cohen, A. C. (2010). *Fabric Science*. 9ª Edição. Fairchild Publications, USA, New York.

Kareem, A. A., Abdzaid, N. Y., Salman, R. M., Mohamed, M. K., Dekel, A. J., & Abdul-Muhsen, R. S. (2015). Study of antibacterial activity in the local Iraqi propolis. *Journal of Contemporary Medical Sciences*, 1(2): 6–8.

Karthik, T., Rathinamoorthy, R., & Murugan, R. (2012). Enhancement of wrinkle recovery angle of cotton fabric using citric acid cross-linking agent with nano-TiO₂ as a co-catalyst. *Journal of Industrial Textiles*, 42(2): 99–117. <https://doi.org/10.1177/1528083711427481>.

Kashani, I. H. H., Hoseini, E. S., Nikzad, H., & Aarabi, M. H. (2012). Pharmacological properties of medicinal herbs by focus on secondary metabolites. *Life Science Journal*, 9: 509–519.

Kedzia, B., Geppert, B., & Iwaszkiewicz, J. (1990). Pharmacological investigations of ethanolic extract of propolis. *Phytothérapie*, 6: 7–10.

Kert, M., & Gorjanc, M. (2017). The study of colour fastness of commercial microencapsulated photoresponsive dye applied on cotton, cotton/polyester and polyester fabric using a pad-dry-cure process. *Coloration Technology*, 133(6): 491–497. <https://doi.org/10.1111/cote.12297>.

Kesavadev, J., Saboo, B., Sadikot, S., Das, A. K., Joshi, S., Chawla, R., Thacker, H., Shankar, A., Ramachandran, L., & Kalra, S. (2017). Unproven therapies for diabetes and their implications. *Advances in Therapy*, 34(1): 60–77. <https://doi.org/10.1007/s12325-016-0439-x>.

Khalid, H., Abdalla, W. E., Abdelgadir, H., Opatz T., & Efferth T. (2012). Gems from traditional north-African medicine: medicinal and aromatic plants from Sudan. *Natural Products and Bioprospecting*, 2: 92–103. <http://doi.org/10.1007/s13659-012-0015-2>.

Khemakhem, M., Sotiroudis, G., Mitsou, E., Avramiotis, S., Sotiroudis, T. G., Bouzouita, N., & Papadimitriou, V. (2016). Melanin and humic acid-like polymer complex from olive mill waste waters. Part II. Surfactant properties and encapsulation in W/O microemulsions. *Journal of Molecular Liquids*, 222: 480–486. <http://doi.org/10.1016/j.molliq.2016.07.065>.

Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*, 18: 2328–2375. <https://doi.org/10.3390/molecules18022328>.

Kittinaovarat, S., Hengprapakron, N., & Janvikul, W. (2012). Comparative multifunctional properties of partially carboxymethylated cotton gauze treated by the exhaustion or pad-dry-cure methods. *Carbohydrate Polymers*, 87: 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.08.072>.

Knapp, L., Amézquita, A., McClure, P., Stewart, S., & Maillarda, J. (2015). Development of a Protocol for Predicting Bacterial Resistance to Microbicides. *Applied*

and *Environmental Microbiology*, 81(8): 2652–2659. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.03843-14>.

Kolouchová-Hanzlíková, I., Melzoch, K., Filip, V., & Smidrkal, J. (2004). Rapid method for resveratrol determination by HPLC with electrochemical and UV detections in wines. *Food Chemistry*, 87: 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.028>.

Koo, H., Gomes, B. P. F. A., Rosalen, P. L., Ambrosano, G. M. B., Park, Y. K., & Curya, J. A. (2000). *In vitro* antimicrobial activity of propolis and *Arnica montana* against oral pathogens. *Archives of Oral Biology*, 45: 141–148. [https://doi.org/10.1016/S0003-9969\(99\)00117-X](https://doi.org/10.1016/S0003-9969(99)00117-X).

Kozak, M., Sobczak, P., & Żukiewicz-Sobczak, W. (2016). Health properties of selected herbal plants. *Health Problems of Civilization*, 2: 64–70. <https://doi.org/10.5114/hpc.2016.59635>

Krishnaveni, V., & Amsamani, S. (2010). *Development of herbal antimicrobial medicated products for skin diseases*. Proceedings of HEAT 2010 – International Conference on Health Care, Hygienic Textiles & Clothing, PSG College of Technology, India, Coimbatore.

Krol, W., Scheller, S., Shani, J., Pietsz, G., & Czuba, Z. (1993). Synergistic effect of ethanol extract of propolis and antibiotics in the growth of *Staphylococcus aureus*. *Drug Research*, 43(5): 607–609.

Kumazawa, S., Hamazaka, T., & Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*, 84: 329–339. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00216-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00216-4).

Kuršvietienė, L., Stanevičienė, I., Mongirdienė, A., & Bernatoniene, J. (2016). Multiplicity of effects and health benefits of resveratrol. *Medicina*, 52(3): 148–155. <https://doi.org/10.1016/j.medic.2016.03.003>.

Lange, M. K., Heberlé, G., & Milão, D. (2009). Avaliação da estabilidade e atividade antioxidante de uma emulsão base não-iônica contendo resveratrol. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45(1): 145–151. <https://dx.doi.org/10.1590/S1984-82502009000100018>.

Laschuk, T., Nascimento, J., & Oliveira, F. (2008). *Nanotechnologies as improvement of fashion textile design*. In Proceedings of 4th INTERNATIONAL TEXTILE, CLOTHING & DESIGN CONFERENCE – Magic World of Textiles, Croácia, Dubrovnik.

Lau, K. K. S., Bico, J., Teo, K. B. K., Chhowalla, M., Amaratunga, G. A. J., Milne, W. I., McKinley, G. H., & Gleason, K. K. (2003). Superhydrophobic carbon nanotube forests. *Nano Letters*, 3(12): 1701–1705. <https://dx.doi.org/10.1021/nl034704t>.

Li, N., Liu, J., Zhao, X., Gao, Y., Zhang, L., Zhang, J., & Yu, L. (2007). Complex formation of ionic liquid surfactant and β -cyclodextrin. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 292: 196–201. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2006.06.023>.

- Liang, L., Liu, X., Wang, Q., Cheng, S., Zhang, S., & Zhang, M. (2013). Pharmacokinetics, tissue distribution and excretion study of resveratrol and its prodrug 3, 5, 4'-tri-O-acetylresveratrol in rats. *Phytomedicine*, 20(6): 558–563. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.12.012>.
- Lim, S. H., & Hudson, S. M. (2004). Application of a fiber-reactive chitosan derivative to cotton fabric as an antimicrobial textile finish. *Carbohydrate Polymers*, 56(2): 227–234. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.02.005>.
- Lin, H. S., & Ho, P. C. (2011). Preclinical pharmacokinetic evaluation of resveratrol trimethyl ether in Sprague-Dawley rats: the impacts of aqueous solubility, dose escalation, food and repeated dosing on oral bioavailability. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 100: 4491–4500. <https://doi.org/10.1002/jps.22588>.
- Liu, Y., Zhou, J., Qu, Y., Yang, X., Shi, G., Wang, X., Hong, Y., Drlica, K., & Zhao, X. (2016). Resveratrol Antagonizes Antimicrobial Lethality and Stimulates Recovery of Bacterial Mutants. *PLoS ONE*, 11(4): e0153023. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0153023>.
- Livermore, D. M. (2007). Introduction: the challenge of multiresistance. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 29(3): 1–7. [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(07\)00158-6](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(07)00158-6).
- Lu, L. C., Chen, Y. W., & Chou, C. C. (2005). Antibacterial activity of propolis against *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Microbiology*, 102(2): 213–220. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.12.017>.
- Lu, Z., Chen, R., Liu, H., Hu, Y., Cheng, B., & Zou, G. (2009a). Study of the complexation of resveratrol with cyclodextrins by spectroscopy and molecular modeling. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 63: 295–300. <https://doi.org/10.1007/s10847-008-9522-5>.
- Lu, Z., Cheng, B., Hu, Y., Zhang, Y., & Zou, G. (2009b). Complexation of resveratrol with cyclodextrins: solubility and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 113(1): 17–20. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.042>.
- Lucas-Abellán, C., Fortea, M. I., Gabaldón, J. A., & Núñez-Delicado, E. (2008). Encapsulation of quercetin and myricetin in cyclodextrins at acidic pH. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 255–259. <https://doi.org/10.1021/jf0720640>.
- Lucas-Abellán, C., Mercader-Ros, M. T., Zafrilla, M. P., Fortea, M. I., Gabaldón, J. A., & Núñez-Delicado, E. (2008). ORAC-fluorescein assay to determine the oxygen radical absorbance capacity of resveratrol complexed in cyclodextrins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 2254–2259. <https://doi.org/10.1021/jf0731088>.
- Lucas-Abellán, C., Mercader-Ros, M. T., Zafrilla, M. P., Gabaldón, J. A., & Núñez-Delicado, E. (2011). Comparative study of different methods to measure antioxidant activity of resveratrol in the presence of cyclodextrins. *Food and Chemical Toxicology*, 49: 1255–1260. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.03.004>.

Lustosa, S. R., Galindo, A. B., Nunes, L. C. C., Randau, K. P., & Neto, P. J. R. (2008). Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 18(3): 447–454. <https://doi.org/10.1590/s0102-695x2008000300020>.

Ma, Z. H., Yu, D. G., Branford-White, C. J., Nie, H. L., Fan, Z. X., & Zhu, L. M. (2009). Microencapsulation of tamoxifen: Application to cotton fabric. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 69(1): 85–90. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2008.11.005>.

Macgowan, P. A. (2008). Clinical implications of antimicrobial resistance for therapy. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 62(2): 105–114. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn357>.

Madhu, A., & Pal, S. (2012). Low wet pick-up techniques in textile finishing. *Man-Made Textiles in India*, 40(1): 5–8.

Mahady, G. B., & Pendland, S. L. (2000). Resveratrol inhibits the growth of *Helicobacter pylori* in vitro. *The American Journal of Gastroenterology*, 93:1849. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2000.02146.x>.

Marcucci, M. C. (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26: 83–99. <https://doi.org/10.1051/apido:19950202>.

Marcucci, M. C. (1996). Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. *Química Nova*, 19(5): 529–535.

Marcucci, M. C., Ferreres, F., García-Viguera, C., Bankova, V. S., De Castro, S. L., Dantas, A. P., Valente, P. H. M., & Paulino, N. (2001). Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 74(2): 105–112. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00326-3](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00326-3).

Martins, M. D., Marques, M. M., Bussadori, S. K., Martins, M. A., Pavesi, V. C., Mesquita-Ferrari, R. A., & Fernandes, K. P. (2009). Comparative analysis between *Chamomilla recutita* and corticosteroids on wound healing. An *in vitro* and *in vivo* study. *Phytotherapy Research*, 23: 274–278. <https://doi.org/10.1002/ptr.2612>.

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 Química*, 7(4): 1119–1129. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150062>.

Mavridis, I. M., & Yannakopoulou, K. (2015). Anionic cyclodextrins as versatile hosts for pharmaceutical nanotechnology: Synthesis, drug delivery, enantioselectivity, contrast agents for MRI. *International Journal of Pharmaceutics*, 492(1): 275–290. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.06.004>.

Medronho, B., Andrade, R., Vivod, V., Ostlund, A., Miguel, M. G., Lindman, B., Voncina, B., & Valente, A. J. M. (2013). Cyclodextrin-grafted cellulose: Physico-chemical characterization. *Carbohydrate Polymers*, 93(1): 324–330. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.08.109>.

Menezes, H., Alvarez, J. M., & Almeida, E. C. (1999). Mouse ear edema modulation by different propolis ethanol extracts. *Arzneimittel-Forschung*, 49: 705–707. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1300486>.

Mihrianyan, A., Ferraz, N., & Strømme, M. (2012). Current status and future prospects of nanotechnology in cosmetics. *Progress in Materials Science*, 57(5): 875–910. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2011.10.001>.

Mikolajczyk, T., Boguń, M., & Rabiej, S. (2007). Comparative analysis of the structural parameters and strength properties of polyacrylonitrile fibers containing ceramic nanoadditives. *Journal of Applied Polymer Science*, 105(4): 2346–2350. <http://dx.doi.org/10.1002/app.25403>.

Ming, W., Wu, D., Van Benthem, R., & With, G. D. (2005). Superhydrophobic films from raspberry-like particles. *Nano Letters*, 5(11): 2298–2301. <https://doi.org/10.1021/nl0517363>.

Mishima, S., Inoh, Y., Narita, Y., Ohta, S., Sakamoto, T., Araki, Y., Suzuki, K. M., Akao, Y., & Nozawa, Y. (2005). Identification of caffeoylquinic acid derivatives from Brazilian propolis as constituents involved in induction of granulocytic differentiation of HL-60 cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 13(20): 5814–5818. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.05.044>.

Mohamed, M. H., Wilson, L. D., Pratt, D. Y., Guo, R., Wu, C., & Headley, J. V. (2012). Evaluation of the accessible inclusion sites in copolymer materials containing β -cyclodextrin. *Carbohydrate Polymers*, 87(2): 1241–1248. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.09.011>.

Monllor, P., Bonet, M. A., & Cases, F. (2007). Characterization of the behaviour of flavour microcapsules in cotton fabrics. *European Polymer Journal*, 43(6): 2481–2490. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2007.04.004>.

Montazer, M., & Kahali, P. (2015). A novel polyvinyl alcohol–tragacanth/nano silverhydrogel on polyester fabric through *in situ* synthesis method. *Journal of Industrial Textiles*, 45(6): 1635–1651. <https://doi.org/10.1177/1528083715569370>.

Montazer, M., & Parvinzadeh, M. (2007). Dyeing of wool with Marigold and its properties. *Fibers and Polymers*, 8(2): 181–185. <https://doi.org/10.1007/BF02875789>.

Morin-Crini, N., & Crini, G. (2013). Environmental applications of water-insoluble β -cyclodextrin–epichlorohydrin polymers. *Progress in Polymer Science*, 38(2): 344–368. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2012.06.005>.

Mukherjee, P. K., Maity, N., Nema, N. K., & Sarkar, B. K. (2011). Bioactive compounds from natural resources against skin aging. *Phytomedicine*, 19(1): 64–73. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.10.003>.

Mukherjee, S., Dudley, J. I., & Das, D. K. (2010). Dose-dependency of resveratrol in providing health benefits. *Dose Response*, 8: 478–500. <https://doi.org/10.2203/dose-response.09-015.Mukherjee>.

Mura, S., & Couvreur, P. (2012). Nanotheranostics for personalized medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64(13): 1394–1416. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.06.006>.

Nascimento, G. G. F., Locatelli, J., Freitas, P. C., & Silva, G. L. (2000). Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31(4): 247–256. <https://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822000000400003>.

Nasir, A. (2010). Nanotechnology and dermatology: Part II - risks of nanotechnology. *Clinics in Dermatology*, 28(5): 581–588. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clindermatol.2009.06.006>.

Nayak, B. S., Raju, S. S., & Rao, A. V. (2007). Wound healing activity of *Matricaria recutita* L. extract. *Journal of Wound Care*, 16(7): 298–302. <https://doi.org/10.12968/jowc.2007.16.7.27061>.

Nazi, M., Malek, R. M. A., & Kotek, R. (2012). Modification of β -cyclodextrin with itaconic acid and application of the new derivative to cotton fabrics. *Carbohydrate Polymers*, 88(3): 950–958. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.01.047>.

Nazi, M., Malek, R. M. A., & Moghadam, M. B. (2012). Effect of processing conditions on producing a reactive derivative from β -cyclodextrin with itaconic acid. *Starch-Stärke*, 64(10): 794–802. <http://dx.doi.org/10.1002/star.201100182>.

Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V. (2013). Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12): 1451–1474. <http://doi.org/10.3390/ph6121451>.

Nel, A., Xia, T., Meng, H., Wang, X., Lin, S., Ji, Z., & Zhang, H. (2013). Nanomaterial toxicity testing in the 21st century: use of a predictive toxicological approach and high-throughput screening. *Accounts of Chemical Research*, 46(3): 607–621. <http://doi.org/10.1021/ar300022h>.

Nel, A. E., Mädler, L., Velegol, D., Xia, T., Hoek, E. M. V., Somasundaran, P., Klaessig, F., Castranova, V., & Thompson, M. (2009). Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface. *Nature Materials*, 8(7): 543–557. <http://doi.org/10.1038/nmat2442>.

Nelson, G. (2002). Application of microencapsulation in textiles. *International Journal of Pharmaceutics*, 242(1): 55–62. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(02\)00141-2](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(02)00141-2).

Nicolescu, C., Aramă, C., & Manciu, C. M. (2010). Preparation and characterization of inclusion complexes between repaglinide and β -cyclodextrin, 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin and randomly methylated β -cyclodextrin. *Farmacia*, 58.

Nishihira, V. S. K., Fernandes, L. S., Mortari, S. R., Raffin, R. P., & Rech, V. C. (2013). Characterization of resveratrol/hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex for subsequent application in hyperglycemic rats. *Disciplinarum Scientia: Ciências Naturais e Tecnológicas*, 14(1): 67–72.

Nogueira, J. C., Diniz, M. F. M., & Lima E. O. (2008). *In vitro* antimicrobial activity of plants in Acute Otitis Externa. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 74(1): 118–124. [https://doi.org/10.1016/S1808-8694\(15\)30761-8](https://doi.org/10.1016/S1808-8694(15)30761-8).

Nowack, B., Krug, H. F., & Height, M. (2011). 120 years of nanosilver history: implications for policy makers. *Environmental Science & Technology*, 45(4): 1177–1183. <https://doi.org/10.1021/es103316q>.

Nunes, L. C. C. (2009). Variabilidade sazonal dos constituintes da própolis vermelha e bioatividade em *Artemia salina*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(2B): 524–529. <https://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2009000400003>.

Ong, E. S. (2004). Extraction methods and chemical standardization of botanicals and herbal preparations. *Journal of Chromatography B*, 812: 23–33. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2004.07.041>.

Oonmetta-aree, J., Suzuki, T., Gasaluck, P., & Eumkeb, G. (2006). Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. *LWT – Food Science and Technology*, 39(10): 1214–1220. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.06.015>.

Öztürk, F., Kurt, E., Çerçi, M., Emiroglu, L., İnan, Ü. Ü., Türker, M., & Ilker, S. S. (2000). The effect of propolis extract in experimental chemical corneal injury. *Ophthalmic Research*, 32(1): 13–18. <https://doi.org/10.1159/000055581>.

Öztürk, E., Arslan, A. K. K., Yerer, M. B., & Bishayee, A. (2017). Resveratrol and diabetes: A critical review of clinical studies. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 95: 230–234. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.08.070>.

Park, Y. K., Ikegaki, M., Abreu, J. A., & Alcici, N. M. F. (1998). Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 18(3): 313–318. <https://dx.doi.org/10.1590/S0101-20611998000300011>.

Parthasarathi, V. (2008). Nanotechnology adds value to textile finishing. *The Indian Textile Journal*.

Patel, K. R., Brown, V. A., Jones, D. J., Britton, R. G., Hemingway, D., Miller, A. S., West, K. P., Booth, T. D., Perloff, M., Crowell, J. A., Brenner, D. E., Steward, W. P., Gescher, A. J., & Brown, K. (2010). Clinical pharmacology of resveratrol and its metabolites in colorectal cancer patients. *Cancer Research*, 70(19): 7392–7399. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-2027>.

Paulo, L., Ferreira, S., Gallardo, E., Queiroz, J. A., & Domingues, F. (2010). Antimicrobial activity and effects of resveratrol on human pathogenic bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26: 1533–1538. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0325-7>.

Pereira, E. M., Machado, T. B., Leal, I. C. R., Jesus, D. M., Damaso, C. R. A., Pinto, A. V., Giambiagi-de-Marval, M., Kuster, R. M., & Santos, K. R. (2006). *Tabebuia avellaneda* naphthoquinones: activity against methicillin-resistant staphylococcal strains, cytotoxic activity and *in vivo* dermal irritability analysis. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 5(5): 1–7.

Pesewu, G. A., Cutler, R. R., & Humber, D. P. (2008). Antibacterial activity of plants used in traditional medicines of Ghana with particular reference to *MRSA*. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(1): 102–111. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.11.005>.

Pezzolo, D. B. (2007). *Tecidos: história, tramas, tipos e usos*. 3ª Edição. SENAC, Brasil, São Paulo.

Pinho, E., Henriques, M., Oliveira, R., Dias, A., & Soares, G. (2010). Development of biofunctional textiles by the application of resveratrol to cotton, bamboo, and silk. *Fibers and Polymers*, 11(2): 271–276. <https://doi.org/10.1007/s12221-010-0271-x>.

Plésiat, P., & Nikaido, H. (1992). Outer membranes of Gram-negative bacteria are permeable to steroid probes. *Molecular Microbiology*, 6(10): 1323–1333. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1992.tb00853.x>.

Plumed-Ferrer, C., Väkeväinen, K., Komulainen, H., Rautiainen, M., Smeds, A., Raitanen, J. E., Eklund, P., Willför, S., Alakomi, H. L., Saarela, M., & Wright, A. V. (2013). The antimicrobial effects of wood-associated polyphenols on food pathogens and spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*, 164: 99–107. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.04.001>.

Prow, T. W., Grice, J. E., Lin, L. L., Faye, R., Butler, M., Becker, W., Wurm, E. M. T., Yoong, C., Robertson, T. A., Soyer, H. P., & Roberts, M. S. (2011). Nanoparticles and microparticles for skin drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63(6): 470–491. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.01.012>.

Raj, S., Jose, S., Sumod, U. S., & Sabitha, M. (2012). Nanotechnology in cosmetics: Opportunities and challenges. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 4(3): 186–193. <http://doi.org/10.4103/0975-7406.99016>.

Rajendran, R., Balakumar, C., Sivakumar, R., Amruta, T., & Devaki, N. (2012). Extraction and application of natural silk protein sericin from *Bombyx mori* as antimicrobial finish for cotton fabrics. *The Journal of The Textile Institute*, 103(4): 458–462. <https://doi.org/10.1080/00405000.2011.586151>.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).

Redondo, P., Jimenez, E., Perez, A., & Garcia-Foncillas, J. (2000). N-acetylcysteine downregulates vascular endothelial growth factor production by human keratinocytes *in vitro*. *Archives of Dermatological Research*, 292(12): 621–628.

Repetto, M. G., & Llesuy, S. F. (2002). Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 35: 523–534. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-879X2002000500003>.

Rhody, C. (2000). Bacterial infections of the skin. *Primary Care*, 27: 439–473.

Ríos, J. L., & Recio, M. C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100: 80–84. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.025>.

Ristivojević, P., Dimkić, I., Trifković, J., Berić, T., Vovk, I., Milojković-Opsenica, D., & Stanković, S. (2016). Antimicrobial Activity of Serbian Propolis Evaluated by Means of MIC, HPTLC, Bioautography and Chemometrics. *PLoS One*, 11(6): e0157097. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157097>.

Rossi, F., & Andreazzi, D. (2005). *Resistência bacteriana: interpretando o antibiograma*. Atheneu, Brasil, São Paulo.

Rossi-Bergmann, B. (2008). A nanotecnologia: da saúde para além do determinismo tecnológico. *Ciência e Cultura*, 60(2): 54–57.

Rukmani, A., & Sundrarajan, M. (2012). Inclusion of antibacterial agent thymol on β -cyclodextrin-grafted organic cotton. *Journal of Industrial Textiles*, 42(2): 132–144. <https://doi.org/10.1177/1528083711430244>.

Russell, A. D. (2004). Whither triclosan?. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53(5): 693–695. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh171>.

Sak, K., Nguyen, T. H., Ho, V. D., Do, T. T., & Raal, A. (2017). Cytotoxic effect of chamomile (*Matricaria recutita*) and marigold (*Calendula officinalis*) extracts on human melanoma SK-MEL-2 and epidermoid carcinoma KB cells. *Cogent Medicine*, 4(1): 1333218. <https://doi.org/10.1080/2331205X.2017.1333218>.

Salatino, A., Fernandes-Silva, C. C., Righi, A. A., & Salatino, M. F. L. (2011). Propolis research and the chemistry of plant products. *Natural Product Reports*, 28(5): 925–936. <https://doi.org/10.1039/C0NP00072H>.

Sambasevam, K. P., Mohamad, S., Sarih, N. M., & Ismail, N. A. (2013). Synthesis and Characterization of the Inclusion Complex of β -cyclodextrin and Azomethine. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(2): 3671–3682. <https://doi.org/10.3390/ijms14023671>.

Sanpa, S., Popova, M., Bankova, V., Tunkasiri, T., Eitssayeam, S., & Chantawannakul, P. (2015). Antibacterial compounds from Propolis of *Tetragonula laeviceps* and *Tetrigona melanoleuca* (Hymenoptera: Apidae) from Thailand. *PLoS One*, 10(5): e0126886. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126886>.

Santos, V. L., Souza, M. F. V., Batista, L. M., Silva, B. A., Lima, M. S., Souza, A. M. F., Barbosa, F. C., & Catão, R. M. R. (2011). Avaliação da atividade antimicrobiana de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 13(1), 68–72. <https://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722011000100010>.

Šarić, M. M., Stanić, G., Maleš, Z., & Šarić, S. (1997). Application of numerical methods to thin-layer chromatographic investigation of the main components of chamomile (*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert) essential oil. *Journal of Chromatography A*, 776(2): 335–360. [https://dx.doi.org/10.1016/s0021-9673\(97\)00352-x](https://dx.doi.org/10.1016/s0021-9673(97)00352-x).

Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., & Yoga Latha, L. (2011). Extraction, Isolation and Characterization of Bioactive Compounds from Plants' Extracts. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*, 8(1): 1–10. <https://dx.doi.org/10.4314/ajtcam.v8i1.60483>.

Satyanarayana, K. G., Pillai, R. M., Pai, B. C., Kestursatya, M., Rohatgi, P. K., & Kim, J. K. (2000). *Developments in cast metal matrix composites over last three and half decades*. In Proceedings of the Third International Conference, Advances in Composite Materials, Índia, Bangalore.

Savić-Gajić, I., Savić, I. M., Nikolić, V. D., Nikolić, L. B., Popsavin, M. M., & Rakić, S. J. (2017). The improvement of photostability and antioxidant activity of trans-veratrol by cyclodextrins. *Advanced technologies*, 6(2): 18–25. <https://doi.org/10.5937/savteh1702018S>.

Selvam, S., Gandhi, R. R., Suresh, J., Gowri, S., Ravikumar, S., & Sundrarajan, M. (2012). Antibacterial effect of novel synthesized sulfated β -cyclodextrin crosslinked cotton fabric and its improved antibacterial activities with ZnO, TiO₂ and Ag nanoparticles coating. *International Journal of Pharmaceutics*, 434(1): 366–374. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.04.069>.

Sforcin, J. M., & Bankova, V. (2011). Propolis: is there a potential for the development of new drugs?. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2): 253–260. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.10.032>.

Sforcin, J. M., Fernandes, J. R. A., Lopes, C. A. M., Bankova, V., & Funari, S. R. C. (2000). Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 73: 243–249. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00320-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00320-2).

Sharaf, S., Higazy, A., & Hebeish, A. (2013). Propolis induced antibacterial activity and other technical properties of cotton textiles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 59: 408–416. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.04.030>

Sharma, B., & Sharma, A. (2012). Future prospect of nanotechnology in development of anti-ageing formulations. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(3): 57–66.

Sharma, M. C., & Sharma, S. (2010). Studies on the preparation, characterization, solubility and stability of cefadroxil- β -cyclodextrin inclusion complexes. *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, 12(2): 411–415.

Sica, R. S., & Spencer, J. M. (2009). Prevalence of Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus* in the setting of Dermatologic Surgery. *Dermatologic Surgery*, 35(3): 420–424. <https://doi.org/10.1111/j.1524-4725.2008.01054.x>.

Silva, F., Figueiras, A., Gallardo, E., Nerín, C., & Domingues, F. C. (2014). Strategies to improve the solubility and stability of stilbene antioxidants: A comparative study between cyclodextrins and bile acids. *Food Chemistry*, 145: 115–125. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.034>.

Silva, N. C., Barbosa, L., Seito, L. N., & Fernandes, A. J. (2012). Antimicrobial activity and phytochemical analysis of crude extracts and essential oils from medicinal plants. *Natural Product Research*, 26(16): 1510–1514. <https://doi.org/10.1080/14786419.2011.564582>.

Silva, R. C., Teixeira, J. A., Nunes, W. D. G., Zangaro, G. A. C., Pivatto, M., Caires, F. J., & Ionashiro, M. (2017). Resveratrol: A thermoanalytical study. *Food Chemistry*, 237: 561–565. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.146>.

Skov, L., & Baadsgaard, O. (2000). Bacterial superantigens and inflammatory skin diseases. *Clinical and Experimental Dermatology*, 25(1): 57–61. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2230.2000.00575.x>.

Smoliga, J. M., & Blanchard, O. (2014). Enhancing the delivery of resveratrol in humans: if low bioavailability is the problem, what is the solution? *Molecules*, 19(11): 17154–17172. <https://doi.org/10.3390/molecules191117154>.

Soares, D. G., Andrezza, A. C., & Salvador, M. (2003). Sequestering ability of butylated hydroxytoluene, propyl gallate, resveratrol, and vitamins C and E against ABTS, DPPH, and hydroxyl free radicals in chemical and biological systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(4): 1077–1080. <https://doi.org/10.1021/jf020864z>.

Soto, M. L., Falqué, E., & Domínguez, H. (2015). Relevance of natural phenolics from grape and derivative products in the formulation of cosmetics. *Cosmetics*, 2(3): 259–276. <https://doi.org/10.3390/cosmetics2030259>.

Souza, J. R. P., Rocha, J. N., Melo, J. M., & Nixdorf, S. L. (2006). Ação do stress térmico na sobrevivência de mudas e produção de camomila originadas de sementes importadas e nacionais. *Horticultura Brasileira*, 24(2): 233–236. <https://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362006000200023>.

Srivastava, J. K., & Gupta, S. (2007). Antiproliferative and apoptotic effects of chamomile extract in various human cancer cells. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55(23): 9470–9478. <https://dx.doi.org/10.1021/jf071953k>.

Srivastava, J. K., Shankar, E., & Gupta, S. (2010). Chamomile: a herbal medicine of the past with a bright future. *Molecular Medicine Reports*, 3(6): 895–901. <https://dx.doi.org/10.3892/mmr.2010.377>.

Staggers, N., McCasky, T., Brazelton, N., & Kennedy, R. (2008). Nanotechnology: the coming revolution and its implications for consumers, clinicians, and informatics. *Nursing Outlook*, 56(5): 268–274. <http://dx.doi.org/10.1016/j.outlook.2008.06.004>.

Stefaniak, A. B., Duling, M. G., Lawrence, R. B., Thomas, T. A., LeBouf, R. F., Wade, E. E., & Virji, M. A. (2014). Dermal exposure potential from textiles that contain silver nanoparticles. *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 20(3): 220–234. <http://doi.org/10.1179/2049396714Y.0000000070>.

Subramaniam, P., Mohamad, S., & Alias, Y. (2010). Synthesis and Characterization of the Inclusion Complex of Dicationic Ionic Liquid and β -Cyclodextrin. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(10): 3675–3685. <http://doi.org/10.3390/ijms11103675>.

Szöke, É., Mádaya, E., Tyihák, E., Kuzovkina, I. N., & Lemberkovics, C. E. (2004). New terpenoids in cultivated and wild chamomile (*in vivo* and *in vitro*). *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, 800: 231–238. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2003.09.038>.

Tadić, V. M., Dobrić, S., Marković, G. M., Dorđević, S. M., Arsić, I. A., Menković, N. R., & Stević, T. (2008). Anti-inflammatory, Gastroprotective, Free-Radical-Scavenging, and Antimicrobial Activities of Hawthorn Berries Ethanol Extract. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56(17): 7700–7709. <https://doi.org/10.1021/jf801668c>.

Taiz, L., & Zeiger, E. (2002). *Plant physiology*. 3ª Edição. Sinauer Associates, Inc. Publishers, USA, Massachusetts, Sunderland.

Tang, E., Cheng, G., Pang, X., Ma, X., & Xing, F. (2006). Synthesis of nano-ZnO/poly (methyl methacrylate) composite microsphere through emulsion polymerization and its UV-shielding property. *Colloid and Polymer Science*, 284(4): 422–428. <http://dx.doi.org/10.1007/s00396-005-1389-z>.

Teli, M. D., & Chavan, P. P. (2016). Modified application process on cotton fabric for improved mosquito repellency. *The Journal of The Textile Institute*, 108(6): 915–921. <http://dx.doi.org/10.1080/00405000.2016.1204897>.

Tiwari, B. K., Valdramidis, V. P., O'Donnell, C. P., Muthukumarappan, K., Bourke, P., & Cullen, P. J. (2009). Application of natural antimicrobials for food preservation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57(14): 5987–6000. <http://dx.doi.org/10.1021/jf900668n>.

Torres, P., Poveda, A., Jimenez-Barbero, J., Ballesteros, A., & Plou, F. J. (2010). Regioselective lipase-catalyzed synthesis of 3-o-acyl derivatives of resveratrol and study of their antioxidant properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(2): 807–813. <http://dx.doi.org/10.1021/jf903210q>.

Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2003) *Microbiologia*. 6ª Edição. Artmed, Brasil, Porto Alegre.

Trollope, L., Cruickshank, D. L., Noonan, T., Bourne, S. A., Sorrenti, M., Catenacci, L., & Caira, M. R. (2014). Inclusion of trans-resveratrol in methylated cyclodextrins: synthesis and solid-state structures. *Journal of Organic Chemistry*, 10: 3136–3151. <http://doi.org/10.3762/bjoc.10.331>.

Troncoso, C., Becerra, J., Perez, C., Hernandez, V., San Martin, A., Sanchez-Olate, M., & Rios, D. (2012). Induction of Defensive Responses in Eucalyptus globulus (Labill) Plants, against Ctenarytaina eucalypti (Maskell) (Hemiptera: Psyllidae). *American Journal of Plant Sciences*, 3(5): 589–595. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2012.35071>.

Trotta, V., Lee, W. H., Loo, C. Y., Haghgi, M., Young, P. M., Scalia, S., & Traini, D. (2015). *In vitro* biological activity of resveratrol using a novel inhalable resveratrol spray-dried formulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 491: 190–197. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.06.033>.

Turner, R. S., Thomas, R. G., Craft, S., Van Dyck, C. H., Mintzer, J., Reynolds, B. A., Brewer, J. B., Rissman, R. A., Raman, R., & Aisen, P. S. (2015). A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of resveratrol for Alzheimer disease. *Neurology*, 85(16): 1383–1391. <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0000000000002035>.

Van Langenhove, L. (2007). *Smart textiles for medicine and healthcare: materials, systems and applications*. 1ª Edição. Elsevier, Woodhead Publishing.

Vargas, A. C., Loguercio, A. P., Witt, N. M., Costa, M. M., Silva, M. S., & Viana, L. R. (2004). Atividade antimicrobiana “*in vitro*” de extrato alcóolico de própolis. *Ciência Rural*, 34(1): 159–163. <https://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782004000100024>.

Vecchi, E. D., & Drago, L. (2007). Attività antimicrobica della propoli: cosa c'è di nuovo? (Propolis antimicrobial activity: what's new?). *Le Infezioni in Medicina*, 1: 7–15.

Ventura, S., Carneiro, N., & Souto, A. P. (2011). Acabamento de Têxteis Multifuncionais com nanocompósitos poliméricos. *Revista Nova Têxtil*.

Venugopal, R., & Liu, R. H. (2012). Phytochemicals in diets for breast cancer prevention: The importance of resveratrol and ursolic acid. *Food Science and Human Wellness*, 1(1): 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2012.12.001>.

Vilela Neto, O. P., & Pacheco, M. A. C. (2012). *Nanotecnologia computacional inteligente: concebendo a engenharia em nanotecnologia*. 1ª Edição. PUCRio, Interciência, Brasil, Rio de Janeiro.

Vries, K., Strydom, M., & Steenkamp, V. (2017). Bioavailability of resveratrol: Possibilities for enhancement. *Journal of Herbal Medicine*, 11: 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2017.09.002>.

Walgrave, S. E., Warshaw, E. M., & Glesne, L. A. (2005). Allergic contact dermatitis from propolis. *Dermatitis: contact, atopic, occupational, drug*, 16(4): 209–215.

Wang, H., Gan, D., Zhang, X., & Pan, Y. (2010). Antioxidant capacity of the extracts from pulp of *Osmanthus fragrans* and its components. *LWT — Food Science and Technology*, 43(2): 319–325. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.08.003>.

Wang, H. Y., Han, J., & Feng, X. G. (2007). Spectroscopic study of orange G- β -cyclodextrin complex and its analytical application. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 66(3): 578–585. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2006.03.035>.

Wang, Y., Tang, H., Nicholson, J. K., Hylands, P. J., Sampson, J., & Holmes, E. (2005). A metabonomic strategy for the detection of the metabolic effects of chamomile (*Matricaria recutita* L.) ingestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(2): 191–196. <https://doi.org/10.1021/jf0403282>.

Wenzel, R. N. (1936). Resistance of solid surfaces to wetting by water. *Industrial & Engineering Chemistry*, 28(8), 988–994. <https://doi.org/10.1021/ie50320a024>.

Wesgate, R., Grasha, P., & Maillard, J. (2016). Use of a predictive protocol to measure the antimicrobial resistance risks associated with biocidal product usage. *American Journal of Infection Control*, 44(4): 458–464. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2015.11.009>.

Wightman, E. L., Reay, J. L., Haskell, C. F., Williamson, G., Dew, T. P., & Kennedy, D. O. (2014). Effects of resveratrol alone or in combination with piperine on cerebral blood flow parameters and cognitive performance in human subjects: a randomised

doubleblind, placebo-controlled, cross-over investigation. *The British Journal of Nutrition*, 112(2): 203–213. <http://dx.doi.org/10.1017/S0007114514000737>.

Wightman, E. L., Haskell-Ramsay, C. F., Reay, J. L., Williamson, G., Dew, T., Zhang, W., & Kennedy, D. O. (2015). The effects of chronic trans-resveratrol supplementation on aspects of cognitive function, mood, sleep, health and cerebral blood flow in healthy, young humans. *The British Journal of Nutrition*, 114(9): 1427–1437. <http://dx.doi.org/10.1017/S0007114515003037>.

Wink, M. (2003). Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry* 64(1): 3–19. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00300-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00300-5).

Wright, E. L. (1981). Low Wet Pick-Up Finishing: A Review of Commercial Experience'. *Textile Research Journal*, 51(4): 251–255. <https://doi.org/10.1177/004051758105100405>.

Wu, Y., Sugimura, H., Inoue, Y., & Takai, O. (2002). Thin Films with Nanotextures for Transparent and Ultra Water-Repellent Coatings Produced from Trimethylmethoxysilane by Microwave Plasma CVD. *Chemical Vapor Deposition*, 8(2): 47–50.

Xiong, M., Gu, G., You, B., & Wu, L. (2003). Preparation and characterization of poly (styrene butylacrylate) latex/nano-ZnO nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science*, 90(7): 1923–1931. <http://dx.doi.org/10.1002/app.12869>.

Xu, L., Li, Y., Dai, Y., & Peng, J. (2018). Natural products for the treatment of type 2 diabetes mellitus: Pharmacology and mechanisms. *Pharmacological Research*, 130: 451–465. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.01.015>.

Xu, Q. B., Ke, X. T., Shen, L. W., Ge, N. Q., Zhang, Y. Y., Fu, F. Y., & Liu, X. D. (2018). Surface modification by carboxymethyl chitosan via pad-dry-cure method for binding Ag NPs onto cotton fabric. *International Journal of Biological Macromolecules*, 111: 796–803. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.091>.

Yeo, S. C. M., Ho, P. C., & Lin, H. S. (2013). Pharmacokinetics of pterostilbene in Sprague-Dawley rats: the impacts of aqueous solubility, fasting, dose escalation, and dosing route on bioavailability. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(6): 1015–1025. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201200651>.

Yoshizawa, H. (2004). Trends in microencapsulation research. *KONA Powder and Particle Journal*, 22: 23–31. <https://doi.org/10.14356/kona.2004009>.

Zemljič, L. F., Volmajer, J., Ristić, T., Bracic, M., Sauperl, O., & Kreže, T. (2014). Antimicrobial and antioxidant functionalization of viscose fabric using chitosan–curcumin formulations. *Textile Research Journal*, 84(8): 819–830. <https://doi.org/10.1177/0040517513512396>.

Zhang, G., Shuang, S., Dong, C., & Pan, J. (2003). Study on the interaction of methylene blue with cyclodextrin derivatives by absorption and fluorescence spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 59(13): 2935–2941. [https://doi.org/10.1016/S1386-1425\(03\)00123-9](https://doi.org/10.1016/S1386-1425(03)00123-9).

Zhang, Q. F., Jiang, Z. T., Guo, Y. X., & Li, R. (2008). Complexation study of brilliant cresyl blue with beta-cyclodextrin and its derivatives by UV-vis and fluorospectrometry. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 69(1): 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2007.03.009>.

Zhao, X., Hong, Y., & Drlica, K. (2015). Moving forward with reactive oxygen species involvement in antimicrobial lethality. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(3): 639–642. <https://doi.org/10.1093/jac/dku463>.

Zhong, L., Bo, C., Hu, Y., Zhang, Y., & Zou, G. (2009). Complexation of resveratrol with cyclodextrins: Solubility and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 113(1): 17–20. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.042>.

Zippel, E. (2004). Analysis of textile colorants and coloured textiles. *Review of Progress in Coloration and Related Topics*, 34(1): 1–11. <https://doi.org/10.1111/j.1478-4408.2004.tb00148.x>.

