

Universidade Federal do Maranhão
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Doutorado

RAYANA LARISSA PINHEIRO SOARES FERREIRA

**DESENVOLVIMENTO DE UM FILME DE GOMA
XANTANA INCORPORADO COM NANOEMULSÃO
DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha piperita* L. COM
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA CONTRA
*Pseudomonas aeruginosa***

São Luís
2025

RAYANA LARISSA PINHEIRO SOARES FERREIRA

**DESENVOLVIMENTO DE UM FILME DE GOMA
XANTANA INCORPORADO COM NANOEMULSÃO
DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha piperita* L. COM
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA CONTRA
*Pseudomonas aeruginosa***

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências da
Saúde da Universidade Federal do
Maranhão, para obtenção do título
de Doutora em Ciências da Saúde.

Orientador (a): Prof. Dr. Afonso
Gomes Abreu

Co-orientador (a): Prof. Dr. Luís
Claudio Nascimento da Silva

São Luís
2025

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Ferreira, Rayana Larissa Pinheiro Soares.

DESENVOLVIMENTO DE UM FILME DE GOMA XANTANA INCORPORADO
COM NANOEMULSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha piperita* L.
COM ATIVIDADE ANTIBACTERIANA CONTRA *Pseudomonas aeruginosa*
/ Rayana Larissa Pinheiro Soares Ferreira. - 2025.

84 p.

Coorientador(a) 1: Luís Claudio Nascimento da Silva.

Orientador(a): Afonso Gomes Abreu.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em
Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,
São Luís, 2025.

1. Biopolímeros. 2. Cicatrização. 3. Curativos. 4.
Feridas. 5. Óleo Essencial. I. Abreu, Afonso Gomes. II.
Silva, Luís Claudio Nascimento da. III. Título.

RAYANA LARISSA PINHEIRO SOARES FERREIRA

**DESENVOLVIMENTO DE UM FILME DE GOMA
XANTANA INCORPORADO COM NANOEMULSÃO
DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha piperita* L. COM
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA CONTRA
*Pseudomonas aeruginosa***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciências da Saúde.

Aprovada em / /

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Afonso Gomes Abreu (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr^a. Joicy Cortez de Sá Sousa
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Wellyson da Cunha Araújo Firmo
Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão

Prof^a. Dr^a. Marliete Carvalho da Costa
Universidade CEUMA

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	15
2.	REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1	Pele	17
2.1.1	Feridas na pele	17
2.2	Curativos	20
2.2.1	Filmes e Bioadesivos	21
2.3	Biopolímeros	21
2.4	Goma xantana	22
2.5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24
2.6	Óleos essenciais	26
2.6.1	<i>Mentha piperita</i>	27
3.	OBJETIVOS	29
3.1	Objetivo Geral.....	29
3.2	Objetivos específicos	29
4.	MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1	Obtenção do Óleo Essencial de <i>Mentha piperita</i> L.	30
4.2	Formulação da nanoemulsão contendo Óleo Essencial de <i>Mentha piperita</i> L.	31
4.3	Obtenção do microrganismo	31
4.4	Concentração Inibitória Mínima (CIM)	32
4.5	Preparações dos filmes com planejamento por delineamento composto central rotacional (DCCR)	32
4.6	Análise dos parâmetros morfológicos e físico-químicos realizados dos filmes	33
4.6.1	Análise morfológica em Microscopia Eletrônica de Varredura	33
4.6.2	Cor	33
4.6.3	Rugosidade	34
4.6.4	Tração	34
4.6.5	Tempo de desintegração	34
4.6.6	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	35
4.7	Avaliação da atividade antimicrobiana dos filmes	35

4.7.1	Formação de zona de inibição	35
4.7.2	Curva de Morte	35
4.8	Ensaio de toxicidade utilizando larvas de <i>Tenebrio molitor</i>	35
4.9	Potencial hemolítico	36
4.10	Ensaio antimicrobiano em modelo <i>ex vivo</i>	36
4.11	Modelo murino de feridas infectadas	37
4.11.1	Análise da carga bacteriana na ferida	38
4.12	Análise estatística	38
5.	RESULTADOS	39
5.1	Nanoemulsão do óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> L.	39
5.2	A nanoemulsão do óleo essencial de <i>M. piperita</i> L. apresentaram atividade antimicrobiana frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	39
5.3	Diferentes concentrações de goma xantana (GX) e propilenoglicol (PG) foram capazes de formar filmes contendo nanoemulsão do óleo essencial de <i>M. piperita</i> L.	39
5.4	Os filmes à base de goma xantana evidenciaram uma boa interação entre os compostos filmogênicos e antimicrobianos	41
5.5	O filme contendo nanoemulsão de <i>M. piperita</i> L. apresentou menor rugosidade quando comparado aos filmes controle e Neomicina	42
5.6	Filmes à base de goma xantana e propilenoglicol foram considerados resistentes	42
5.7	Filmes à base de goma xantana e antimicrobianos apresentaram tonalidade clara	43
5.8	Filmes à base de goma xantana possuem rápida desintegração quando em contato com a água	44
5.9	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier	45
5.10	Filmes de goma xantana contendo óleo essencial de <i>M. piperita</i> L. inibiram o crescimento de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45
5.11	A nanoemulsão de <i>M. piperita</i> L. reduziu o número de unidades formadoras de colônias de <i>Pseudomonas aeruginosa in vitro</i>	46
5.12	Goma xantana e propilenoglicol foram biocompatíveis e não apresentaram toxicidade para hemácias	47

5.13	Nanoemulsão de <i>M. Piperita</i> L. não possui efeito tóxico nas larvas de <i>Tenebrio Molitor</i>	48
5.14	Filme contendo a nanoemulsão de <i>M. piperita</i> L. apresentou um efeito antimicrobiano em modelo <i>ex vivo</i> de ferida.....	49
5.15	Filme contendo a nanoemulsão de <i>M. piperita</i> L. acelerou a cicatrização tanto de feridas infectadas como não infectadas	49
5.16	O tratamento com o filme contendo a nanoemulsão de <i>M. piperita</i> L. reduziu a gravidade da infecção em animais com feridas infectadas por <i>P. aeruginosa</i>	50
5.17	O filme contendo a nanoemulsão de <i>M. piperita</i> L. reduziu a carga bacteriana em feridas infectadas por <i>P. aeruginosa</i>	52
6.	DISCUSSÃO	53
7.	CONCLUSÃO	61
8.	REFERÊNCIAS	62
	ANEXOS	

RESUMO

Infecções causadas por *Pseudomonas aeruginosa* são comuns em feridas abertas e de longa duração, sendo o tratamento dessas feridas considerado um desafio. Os curativos são cruciais na cicatrização de feridas, pois possuem propriedades para absorver o exsudado, manter umidade e acelerar a cicatrização, e quando associados a óleos essenciais, podem possuir ação antimicrobiana. Sendo assim, este estudo teve como objetivo formular um filme à base de goma xantana incorporado com nanoemulsão do óleo essencial (OE) de *Mentha piperita* L. e avaliar sua atividade antimicrobiana *in vitro* contra *P. aeruginosa*. Neste estudo foi utilizada a cepa de *P. aeruginosa* ATCC 27853 e o teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi realizado para determinar a concentração de ação do óleo essencial de *Mentha piperita* L. . Após a obtenção da CIM, foram preparados três filmes à base de goma xantana e propilenoglicol: filme controle (GX), filme com a nanoemulsão do OE de *Mentha piperita* L. (GX+NMp) e neomicina (GX+Neo), baseado em um delineamento composto central rotacional (DCCR). Em seguida, os filmes foram submetidos aos testes de caracterização física, antimicrobiana e morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Além destes, espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), ensaio hemolítico e de toxicidade com larvas de *Tenebrio molitor*, bem como modelos experimentais *ex vivo* e *in vivo* de feridas infectadas foram realizados. Foi possível mostrar que o óleo essencial apresentou uma CIM de 0,9 mg/mL e a neomicina, 0,0078 mg/mL. Na microscopia eletrônica foi possível observar que os compostos testados foram bem distribuídos na matriz polimérica. A rugosidade média da GX, GX+NMp e GX+Neo foi de $1,316 \pm 0,179$, $0,906 \pm 0,137$ e $1,337 \pm 0,218$, respectivamente. Os filmes apresentaram estruturas elásticas que variaram de 107,6 a 114,2% e luminosidade mais próxima do branco, com tonalidades semelhantes. Na FTIR, houve a presença da goma xantana em todas os filmes, através do alongamento C-O de éteres alquílicos e ligações glicosídicas. Para o filme GX+NMp foi observada uma flexão no plano da ligação O-H. No teste de zona de inibição foi constatado que os filmes incorporados com 1% da nanoemulsão e 1% da neomicina apresentaram ação antimicrobiana. O filme GX+NMp mostrou efeito bacteriostático contra *P. aeruginosa* e reduziu a carga bacteriana em experimento *ex vivo*. Além disso, a nanoemulsão não teve efeito tóxico sobre larvas de *Tenebrio molitor*. A ação hemolítica dos filmes GX, GX+NMp e GX+Neo foi, respectivamente, 2,6%, 5,2% e 10,8%. O filme de GX+NMp acelerou a cicatrização das feridas infectadas *in vivo* com redução significativa da gravidade a partir do 4º dia de tratamento ($p < 0,0001$). A carga bacteriana também foi reduzida de maneira significativa pelo filme GX+NMp ($1,329 \pm 2,577$) quando comparada aos outros grupos, GX ($-0,8478 \pm 0,4458$) e GX+Neo ($-0,2606 \pm 0,9875$). Desta forma, os resultados obtidos neste estudo mostram que os filmes incorporados com a nanoemulsão de *M. Piperita* L. apresentaram ótima estabilidade, com características físico-químicas da formulação dentro dos padrões exigidos e com ação antimicrobiana e cicatrizante sobre feridas infectadas por *P. aeruginosa*, sendo, portanto, uma excelente alternativa como curativo voltado para o tratamento de feridas infectadas por este patógeno.

Palavras-chave: Biopolímeros; Cicatrização; Curativos; Feridas; Óleo essencial.

ABSTRACT

Infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* are common in open and long-standing wounds, and the treatment of these wounds is considered a challenge. Dressings are crucial in wound healing, as they have properties to absorb exudate, maintain moisture and accelerate healing, and when associated with essential oils, they can have antimicrobial action. Therefore, this study aimed to formulate a film based on xanthan gum incorporated with nanoemulsion of *Mentha piperita* L. essential oil (EO) and evaluate its in vitro antimicrobial activity against *P. aeruginosa*. In this study, the *P. aeruginosa* strain ATCC 27853 was used and the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) test was performed to determine the action concentration of *Mentha piperita* L. essential oil. After obtaining the MIC, three films based on xanthan gum and propylene glycol were prepared: control film (XG), film with *Mentha piperita* L. EO nanoemulsion (XG+NMp) and neomycin (XG+Neo), based on a central composite rotational design (DCCR). Then, the films were subjected to physical, antimicrobial and morphological characterization tests by scanning electron microscopy (SEM). In addition, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), hemolytic and toxicity assays with *Tenebrio molitor* larvae, as well as *ex vivo* and *in vivo* experimental models of infected wounds were performed. It was possible to show that the essential oil presented a MIC of 0.9 mg/mL and neomycin, 0.0078 mg/mL. In electron microscopy, it was possible to observe that the tested compounds were well distributed in the polymer matrix. The average roughness of XG, XG+NMp and XG+Neo was 1.316 ± 0.179 , 0.906 ± 0.137 and 1.337 ± 0.218 , respectively. The films presented elastic structures that varied from 107.6 to 114.2% and brightness closer to white, with similar tones. In the FTIR, there was the presence of xanthan gum in all films, through the C-O stretching of alkyl ethers and glycosidic bonds. For the XG+NMp film, a bending in the plane of the O-H bond was observed. In the inhibition zone test, it was found that the films incorporated with 1% of the nanoemulsion and 1% of neomycin presented antimicrobial action. The XG+NMp film showed bacteriostatic effect against *P. aeruginosa* and reduced the bacterial load in an *ex vivo* experiment. Furthermore, the nanoemulsion had no toxic effect on *Tenebrio molitor* larvae. The hemolytic action of the XG, XG+NMp and XG+Neo films was, respectively, 2.6%, 5.2% and 10.8%. The XG+NMp film accelerated the healing of infected wounds *in vivo* with a significant reduction in severity from the 4th day of treatment ($p < 0.0001$). The bacterial load was also significantly reduced by the XG+NMp film (1.329 ± 2.577) when compared to the other groups, XG (-0.8478 ± 0.4458) and XG+Neo (-0.2606 ± 0.9875). Thus, the results obtained in this study show that the films incorporated with the nanoemulsion of *M. Piperita* L. presented excellent stability, with physicochemical characteristics of the formulation within the required standards and with antimicrobial and healing action on wounds infected by *P. aeruginosa*, being, therefore, an excellent alternative as a dressing aimed at the treatment of wounds infected by this pathogen.

Keywords: Biopolymers; Healing; Dressings; Wounds; Essential oil.