



Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto
Departamento de Materiais Dentários e Prótese



SHEILA PRATES RODRIGUES DA SILVA

**Avaliação das propriedades da resina acrílica após
incorporação de extratos naturais de banana, uva e romã**

Orientadora: Cláudia Helena Lovato Da Silva

RIBEIRÃO PRETO

2023

SHEILA PRATES RODRIGUES DA SILVA

**Avaliação das propriedades da resina acrílica após
incorporação de extratos naturais de banana, uva e romã**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade Odontologia de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos
para obtenção do grau de Cirurgiã-Dentista.

Orientadora: Cláudia Helena Lovato Da Silva

RIBEIRÃO PRETO

2023

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à Deus, por ter me guiado em direção ao meu sonho e ter me dado forças na minha trajetória, para continuar nos momentos tão difíceis em que estive durante esses anos. Sem Ele, eu não estaria vivenciando essa etapa da minha vida e não seria capaz de ter chegado tão longe.

Meus eternos agradecimentos ao meus pais, por todo o sacrifício que fizeram para me proporcionar uma vida segura, com recursos que estavam dentro de suas possibilidades. Agradeço imensamente por incentivarem meus estudos e a cursar uma faculdade pública, mesmo eu não acreditando que seria capaz dessa conquista, por todo o suporte e apoio que sempre me oferecem e por terem sido os melhores apoiadores na minha mudança para Ribeirão Preto.

Às minhas orientadoras Cláudia Helena Lovato da Silva, Adriana Barbosa Ribeiro e Carolina Arruda, meus agradecimentos pela oportunidade que me concederam, de iniciar uma Iniciação Científica, que foi meu primeiro contato no mundo da pesquisa, por todo apoio que recebi, pela assistência, atenção, dedicação, as horas trabalhadas para o projeto e em laboratório. Agradeço também por toda a paciência que tiveram comigo.

À minha maravilhosa e melhor amiga Priscila, que é a minha maior torcedora e apoiadora que já pude ter na vida. Obrigada Pri, por não desistir de mim quando estive sumida devido aos vestibulares e nas semanas caóticas da faculdade, eu sei que sempre posso contar com você, não importa o lugar em que eu esteja no mundo. Eu não sei viver em um mundo sem a sua amizade.

À minha amiga Cris, a primeira pessoa da turma que Deus colocou na minha vida para começar uma amizade e ser minha dupla de clínica. Muito obrigada Rafaela pela amizade, parceria e por ter sido um grande apoio nessa cidade.

Para minhas amigas da graduação Daira, Milena, Gabriela, e Letícia, meu carinho e agradecimento a vocês por fazer da minha vida mais leve e divertida em meio a tantas situações, principalmente durante a pandemia 2020, estivemos muito unidas, nos dando todo apoio e força. Obrigada por sempre estarem comigo quando precisei e por terem me amparado em dias difíceis.

À Clarinha e Camila pela amizade e por termos nos tornados mais próximas. Vocês se tornaram amigas especiais para mim e sou grata pela forma que nos aproximamos. Obrigada por tudo! 보라해!!

Agradeço as minhas amigas do pensionato Sara, Jenifer, Ana Flávia, Jaqueline, Ally e Rafa, por serem minha família em Ribeirão Preto. Nós chegamos no mesmo ano nessa cidade e passamos por muitas dificuldades, mas sempre estivemos uma pelas outras, nos apoiando. Eu nunca esquecerei da família que nos tornamos.

Sou grata por fazer parte da turma 93, que é uma turma tão especial e que pude conhecer amigos tão preciosos. Agradeço aos meus colegas e amigos (Marcos Ito, Nicole Bernal, Livia Uehara, Thiago Miura, Beatriz Martins, Gilberto Junior, Helena Aguiar, Vitória Januário, Gustavo Rodrigues), por toda ajuda nos momentos em que precisava. Ficará no meu coração para sempre!

Por fim, gratidão aos docentes da FORP/USP, por terem me apresentado a Odontologia e por me ensinarem a como me tornar uma cirurgiã-dentista. Aos técnicos de laboratório que me deram grande suporte, especialmente ao Júlio e Zé Carlos por me ajudarem nas técnicas das próteses e na ortodontia. A todos, meu eterno agradecimento por terem contribuído na minha formação profissional e desenvolvimento pessoal. Muito obrigada por tanto!

PRATES RODRIGUES DA SILVA, Sheila. **Avaliação das propriedades da resina acrílica após incorporação de extratos naturais de banana, uva e romã**. Ribeirão Preto, 2023. 52 p. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar propriedades antimicrobianas e o efeito da incorporação de extratos comerciais e experimentais de banana, uva e romã sobre as propriedades mecânicas da resina acrílica termopolimerizável. Inicialmente, foi feita a avaliação da concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos pelo método das microdiluições sucessivas em placas de cultura celular com 96 poços e pelo método de diluição em ágar. Em seguida, foi realizada a avaliação da ação antimicrobiana dos extratos contra *C. albicans*, *C. glabrata*, *S. aureus* e *S. mutans*, pelo método do poço difusão. Os extratos comerciais e experimentais de romã e uva apresentaram maior efetividade na inibição de crescimento dos microrganismos e foram incorporados na resina acrílica para obtenção dos corpos de prova (n=10). As variáveis de resposta foram resistência à flexão em máquina de ensaios mecânicos, rugosidade de superfície por meio de rugosímetro e dureza de superfície com microdurômetro. Os dados foram comparados utilizando teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Bonferroni, $p < 0,05$. Houve alteração na resistência à flexão ($p = 0,001$) da resina acrílica com a incorporação dos extratos experimentais de romã (ER=73,3) e uva (EU=73,2) quando comparado ao controle (C=107,9), entretanto, essas alterações foram maiores para os extratos comerciais (CR=35,6; CU=27,9). Quanto à rugosidade de superfície ($p = 0,001$), os extratos experimentais (ER=0,2; EU=0,2) promoveram menor rugosidade de superfície que os extratos comerciais (CR=0,9; CU=1,2), e maior rugosidade quando comparado ao controle (0,04). Os extratos experimentais promoveram médias de dureza de superfície semelhantes ao grupo controle (ER=18,1; EU=16,9; C=16,9) e maiores que a dos extratos comerciais (CR=7,8; CU=7,1). Pode-se concluir que o extrato experimental obtido da casca de romã apresentou os melhores resultados em relação às variáveis analisadas, seguido pelo extrato experimental de uva, e os extratos comerciais promoveram alterações significativas em todos os parâmetros.

Palavras-chave: Produto Natural. Ação Antimicrobiana. Agente Antimicrobiano.

PRATES RODRIGUES DA SILVA, Sheila. **Evaluation of the properties of acrylic resin after the incorporation of natural extracts of banana, grape and pomegranate.** Ribeirão Preto, 2023. 52 p. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate antimicrobial properties and the effect of incorporating commercial and experimental banana, grape and pomegranate extracts on the mechanical properties of thermopolymerizable acrylic resin. Initially, the evaluation of the minimum inhibitory concentration (MIC) of the extracts was carried out using the method of successive microdilutions in cell culture plates with 96 wells and the method of dilution in agar. Then, the evaluation of the antimicrobial action of the extracts against *C. albicans*, *C. glabrata*, *S. aureus* and *S. mutans* was carried out using the well diffusion method. The commercial and experimental pomegranate and grape extracts were more effective in inhibiting the growth of microorganisms and were incorporated into the acrylic resin to obtain the specimens (n=10). The response variables were flexural strength in a mechanical testing machine, surface roughness using a rugosimeter and surface hardness using a microdurometer. Data were compared using the Kruskal-Wallis test, followed by the Bonferroni test, $p < 0.05$. There was a change in the flexural strength ($p = 0.001$) of the acrylic resin with the incorporation of the experimental extracts of pomegranate (ER=73.3) and grape (EU=73.2) when compared to the control (C=107.9), however, these alterations were greater for the commercial extracts (CR=35.6; CU=27.9). As for surface roughness ($p = 0.001$), the experimental extracts (ER=0.2; EU=0.2) promoted less surface roughness than the commercial extracts (CR=0.9; CU=1.2), and greater roughness when compared to the control (0.04). The experimental extracts promoted surface hardness averages similar to the control group (ER=18.1; EU=16.9; C=16.9) and higher than the commercial extracts (CR=7.8; CU=7, 1). It can be concluded that the experimental extract obtained from pomegranate peel showed the best results in relation to the analyzed variables, followed by the experimental grape extract, and the commercial extracts promoted significant changes in all parameters.

Keywords: Natural product. Products with Antimicrobial Action. Antimicrobial Agent.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. PROPOSIÇÃO	10
3. REVISÃO DE LITERATURA	11
4. MATERIAL E MÉTODO	14
5. RESULTADOS	35
6. DISCUSSÃO	42
7. CONCLUSÃO	46
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

INTRODUÇÃO

A resina acrílica é amplamente utilizada na Odontologia, principalmente para a confecção de diferentes tipos de próteses, uma vez que é de fácil manipulação, baixo custo, estética agradável e biocompatibilidade com os tecidos orais (Anusavice, Shen, Rawls; 2012). São muito utilizadas como materiais constituintes de próteses totais, próteses parciais removíveis e próteses buco-maxilo-faciais. Apesar de apresentar diversas vantagens, a resina acrílica apresenta micro porosidades que favorecem o acúmulo de biofilme e deposição de micro-organismos, o que pode ser agravado pelo fato de grande parte da população usuária dessas próteses serem idosos, e muitas vezes, apresentam menor destreza manual, o que dificulta e prejudica a realização da higienização (Dills et al., 1988; Murtomaa; Meurman, 1992; Kulak-Ozkan et al., 2002). Além disso, existem algumas situações em que o acesso à higienização é dificultado, como no caso de próteses obturadoras, em que apesar do controle de micro-organismos no local ser de extrema importância, nem sempre é passível de ser alcançado.

O desenvolvimento de biofilme rico em micro-organismos, independente da causa, leva ao desenvolvimento de doenças locais e sistêmicas (Couthwaite, Verran 2007; Inuma et al., 2015) e assim, torna-se importante encontrar formas para garantir o controle da carga microbiana presente nas próteses quando em função (Badaró et al., 2021).

Neste sentido, a incorporação de agentes antimicrobianos nos materiais utilizados em Odontologia vem sendo avaliada, com o objetivo de controlar o biofilme através da liberação desses agentes pelo próprio material (Heidrich et al., 2019; Dwivedi et al., 2020; Loyaga-Castillo et al., 2020). Alguns extratos naturais têm sido estudados por apresentarem efeitos antimicrobianos com a vantagem de serem de baixo custo, ecologicamente corretos e seguros para uso terapêutico em humanos (Kumar; Yadav, 2009). Esses extratos podem ser obtidos a partir das cascas ou sementes de frutas (Han, 2003; Bankar, Joshi, Kumar, & Zinjarde, 2010; Prathna, Chandrasekaran, Raichur, Mukherjee, 2011) e raízes (Ahmad et al., 2010).

As cascas de bananas são ricas em ingredientes ativos como a lignina, celulose, hemicelulose, pectinas, fibras dietéticas e carotenoides, que apresentam benefícios terapêuticos (Emaga, et al., 2007; Apostolopoulos et al., 2017). A literatura mostra que um extrato alcoólico de casca de banana apresentou atividade antimicrobiana contra *Porphyromonas gingivalis* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Kapadia et al., 2015), e também apresentou ação antifúngica frente *Candida albicans* (Loyaga-Castillo et al., 2020). Além das cascas de banana, componentes da bananeira como folhas, pseudocaule, raízes e flores são comumente utilizados na medicina tradicional e muito utilizado na cultura indígena como forma de tratamentos para

infecções, feridas, cortes, picadas de inseto, curativo alternativo e problemas intestinais. O sulco extraído do pseudocaule é utilizado para tratamento oral de aftas e úlceras, demonstrando sua efetividade antimicrobiana e cicatricial (Jouneghani et al., 2020), o que torna interessante a incorporação de extrato natural provindo da banana à resina acrílica.

O extrato de semente de uva tem também apresentado resultados interessantes em diversas áreas da Odontologia, principalmente devido às suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas (Reddy et al., 2013). A planta produz variedades de proteínas, incluindo as quitinases, que estão relacionadas a características antifúngicas e antibacterianas. Essas proteínas de defesa são encontradas nos caules, flores e sementes das uvas e seu maior composto antimicrobiano é o polifenol. Nas sementes das uvas, são extraíveis 60 a 70% dos polifenóis (Sabo et al., 2022). Há relatos na literatura de sua incorporação a reembasadores para próteses totais, mostrando resultados promissores em relação a sua efetividade frente a fungos, sem alterar a rugosidade de superfície (Aref, 2020), no entanto, de acordo com nosso conhecimento, ainda não há relatos na literatura sobre os efeitos da incorporação desse extrato na resina acrílica.

O extrato de Romã é um agente antimicrobiano e antioxidante natural (Fawole, Makunga, Opara, 2012), e tem mostrado efetividade frente a fungos relacionados a dermatites (Foss et al., 2014) e candidíase oral (Bassiri-Jahromi et al., 2018), pois foi analisado em estudo que o extrato da casca de romã inibi o crescimento de fungos de forma a comprometer a parede celular e a membrana citoplasmática. Esse efeito é consequência do componente orgânico polifenólico existir em seu material, principalmente o elagitanino hidrolisável e punicalagina, encontrados abundantemente nas cascas ou exocarpo da romã, o que torna a atividade antimicrobiana dessa fruta efetivamente positiva (Celiksoy et al., 2022). Dessa forma, a incorporação na resina acrílica e posterior liberação *in loco* poderia ser efetiva na manutenção da saúde oral de usuários de próteses. Além disso, atividade antifúngica deve ser um fator importante do agente a ser incorporado na resina acrílica, já que esses micro-organismos são frequentemente relacionados às doenças desenvolvidas em usuários de próteses (Couthwaite, Verran 2007; Iinuma et al., 2015). A incorporação de extratos naturais na resina acrílica pode ser uma forma efetiva do controle de biofilme nos dispositivos protéticos, proporcionando assim, não só a manutenção da saúde oral de indivíduos, mas também a manutenção da sua saúde geral.

PROPOSIÇÃO

O objetivo geral deste estudo foi avaliar propriedades microbiológicas e o efeito da incorporação de extratos comerciais e experimentais de banana, uva e romã sobre as propriedades mecânicas da resina acrílica termopolimerizável.

Os objetivos específicos foram:

- Obter extratos naturais experimentais das frutas banana (casca), romã (casca e semente) e uvas Benitaka e Niágara (casca e semente);
- Avaliar a concentração inibitória mínima de extratos comerciais e experimentais de banana, romã e uva contra os micro-organismos *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*;
- Avaliar a ação antimicrobiana dos extratos comerciais e experimentais contra os micro-organismos *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*;
- Avaliar resistência à flexão, rugosidade e dureza da resina acrílica termopolimerizável após a incorporação dos extratos na CIM obtida.

A hipótese nula testada foi que a os extratos apresentariam propriedades antimicrobianas semelhantes aos controles e que incorporação dos extratos naturais não causaria alteração das propriedades analisadas.

REVISÃO DE LITERATURA

Extrato de Romã

O extrato de romã (*Punica granatum L.*) apresenta propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, cicatrizantes, antivirais e antimicrobianas com ações terapêuticas sobre feridas dérmicas, infecção vaginal, dislipidemia, gengivite em diabéticos e asma, podendo também ser adicionado a protetor solar (Borges, 2017).

Nesta perspectiva, o extrato pode ser indicado para o tratamento de diferentes patologias. Ramos et al., 2016 explica que:

“A romãzeira é bastante utilizada por possuir efeito anti-inflamatório, antimicrobiano e outros e isso se deve ao fato de o fruto apresentar vasta riqueza de nutrientes e de metabólitos secundários. [...] a atividade antimicrobiana da romã, apresentando, portanto, eficácia na utilização tanto para a melhora de sintomas quanto para a prevenção de determinadas patologias causadas por bactérias como o *S. aureus* e *S. pyogens*.”

A literatura ainda relata que esse extrato apresenta atividade antimicrobiana sobre o *S. mutans*, e é fonte de ácido elágico, polifenóis, vitamina C, B5 e potássio (Kasali et al., 2006; Lima Júnior e Dimenstein (2006).

Brambilla et al., (2021) relataram que o extrato de romã promoveu baixo crescimento bacteriano quando incorporado em enxaguatório bucal à 10% frente ao clorexidina 0, 12%, sendo, portanto, uma opção para a incorporação de enxaguatórios.

Estudo foi realizado para avaliar os efeitos de extratos de romã, menta (*Mentha piperita*) e coentro (*Coriandrum sativum*) em comparação a eficácia e resistência do fluconazol contra a *C. albicans*, por meio de testes de zona de inibição e concentração inibitória mínima. Os resultados mostraram que todos os três extratos promoveram propriedades antifúngicas comparáveis entre os extratos e todos foram significativamente superiores ao fluconazol. A romã não apresentou ação antifúngica potente contra a *C. glabrata*, porém mostrou atividade antifúngica superior em relação fluconazol, o que possibilita a utilização de extratos naturais como medida profilática em pessoas que estejam resistentes medicamentos antifúngicos, com predisposição a infecções superficiais e sistêmica por cândida, além da eficácia para usuários de próteses dentárias, devido frequência da colonização fúngica nesse material (Lekshmy et al., 2021).

A romã apresenta funcionalidade para a odontologia, visto que essa fruta tem ação contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, e efeito antioxidante e antisséptico (Soares, 2008). Ainda, de acordo com Pereira et al. (2005), o extrato da romã

apresentou ação bactericida sobre micro-organismos como *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus sanguis*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus mutans* e *Streptococcus mitis*.

Extrato de Uva

O extrato de semente de uva (*Vitis vinífera*) é composto de complexos oligoméricos de proantocianidina (Unusan, 2020), fibras, óleo essencial, proteínas, alto conteúdo fenólico superior aos da pele, açúcares, minerais e outras substâncias (Rockenbach et al., 2011), e apresenta ação antioxidante e antibacteriana. Tem sido utilizado para reverter os efeitos negativos do clareamento sobre os tecidos dentários (Azevedo, 2020), sendo um produto de grande importância clínica.

Para Leoncio (2016), a incorporação desse extrato no cimento ionômero de vidro promoveu melhoras na propriedade antibacteriana e inibição do desenvolvimento de bactérias, como *Streptococcus mutans* (*S. mutans*). Segundo Unusan (2020) a uva é uma fruta rica em carboidratos (17 g / 100 g), alto teor calórico (65 kcal / 100 g), índice glicêmico baixo, fonte fina de vitaminas B6, C, tiamina, além de conter fontes ricas de polifenóis.

Zodes Z. et. al. (2020) em sua pesquisa avaliou a atividade biológica do extrato de cana de uva (*V. vinífera*) e comparou com extrato de uva azul comercial, contra biofilme de *Candida*. Foi observado que o extrato de cana foi mais eficaz como inibidor de biofilme do que o extrato de uva azul comercial, uma vez que o extrato de cana de uva apresentou teor do grupo polifenol em uma quantidade três vezes maior e a presença do componente procianidina, este sendo capaz de promover a inibição bacteriana e formação biofilme.

Na odontologia, o uso do extrato da semente de uva tem sido utilizado na interface adesiva entre materiais resinosos, esmalte e dentina por proporcionar aumento da resistência adesiva ao promover o molhamento das fibras colágenas e ativação das metaloproteinases endógenas (Liu et al., 2014), demonstrando benefícios significativos à adesão (Azevedo, 2020). Ainda, seu efeito antimicrobiano impede a colonização de bactérias nas fendas formadas por retração ou contração da resina e, na interface adesiva, tendo efeito na prevenção de cáries secundárias (Nonato et al., 2019). Embora se tenha conhecimentos dos benefícios deste extrato na interface adesiva, a sua aplicabilidade na incorporação em resina acrílica visando o contato com outros substratos orais como a mucosa de assentamento de próteses totais pode contribuir na redução da formação de biofilme e conseqüentemente, no menor risco de doenças inflamatórias relacionadas à presença de *Candida albicans*.

Extrato de Banana

A banana verde consiste em polpa e casca com teor de amido (69,5% e 22,6%, respectivamente), ação antimicrobiana e antioxidante, e apesar dessas características, é comumente descartada em todo o mundo.

Ibrahim (2015) sintetizou, com sucesso, nanopartículas de prata (AgNPs) a partir de extrato de casca de banana, investigando a influência de alguns parâmetros de síntese cruciais (ou seja, concentração de prata, concentração de BPE, pH, temperatura de incubação e período de incubação) na formação de nanopartículas de prata. As nanopartículas sintetizadas demonstraram ação antibacteriana contra *E. coli* e moderada atividade antioxidante, porém, com baixa cristalinidade (Rigopoulos et al., 2019).

Vajpayee et al. (2020) investigaram a atividade antimicrobiana do extrato da casca da banana tratado com plasma de descarga de barreira dielétrica (DBD). O extrato foi exposto ao plasma de ar por tempos de tratamento variados de 1 a 5 minutos, seguido de revestimento com extratos de folhas de chá verde (*Camellia sinensis*) e tulsi (*Ocimum sanctum*) em cinco concentrações diferentes. O tecido tratado foi avaliado em termos de molhabilidade da superfície por uma série de testes, como análise de tempo de molhamento, teste de hidrofobicidade e medições de ângulo de contato. Os grupos funcionais formados no tecido tratado foram analisados por espectroscopia de refletância total atenuada – infravermelho com transformada de *Fourier* (ATRFTIR). A morfologia da superfície foi estudada usando microscopia de força atômica (AFM) e microscopia eletrônica de varredura (MEV), e a química da superfície foi estudada usando espectroscopia de fotoelétrons de raios X (XPS). Os resultados da análise FTIR e XPS indicam que o tecido tratado com plasma apresentou uma concentração mais alta de grupos polares ($-\text{COOH}$, $-\text{OH}$, $-\text{C}=\text{O}$) que melhorou a hidrofobicidade e funcionalidade da superfície. A atividade antimicrobiana da superfície do tecido tratado foi determinada qualitativa e quantitativamente pelo método da placa de ágar e teste de *Hoenstein* modificado, contra bactéria Gram-positivo (*Staphylococcus aureus*) e Gram-negativo (*Escherichia coli*). Uma melhora na propriedade antimicrobiana foi observada na banana tratada com plasma e tecido revestido com extratos naturais mesmo após quatro ciclos de lavagem. Este estudo sugere que o tratamento com plasma DBD de ar seguido pela absorção de extratos de folhas de chá/tulsi pode servir como uma ferramenta melhor para o desenvolvimento de têxteis antimicrobianos naturais, que podem servir a propósito nos setores médico e de saúde. Isso acabou levando a uma melhor absorção de extratos de plantas, aumentando assim, sua atividade antimicrobiana.

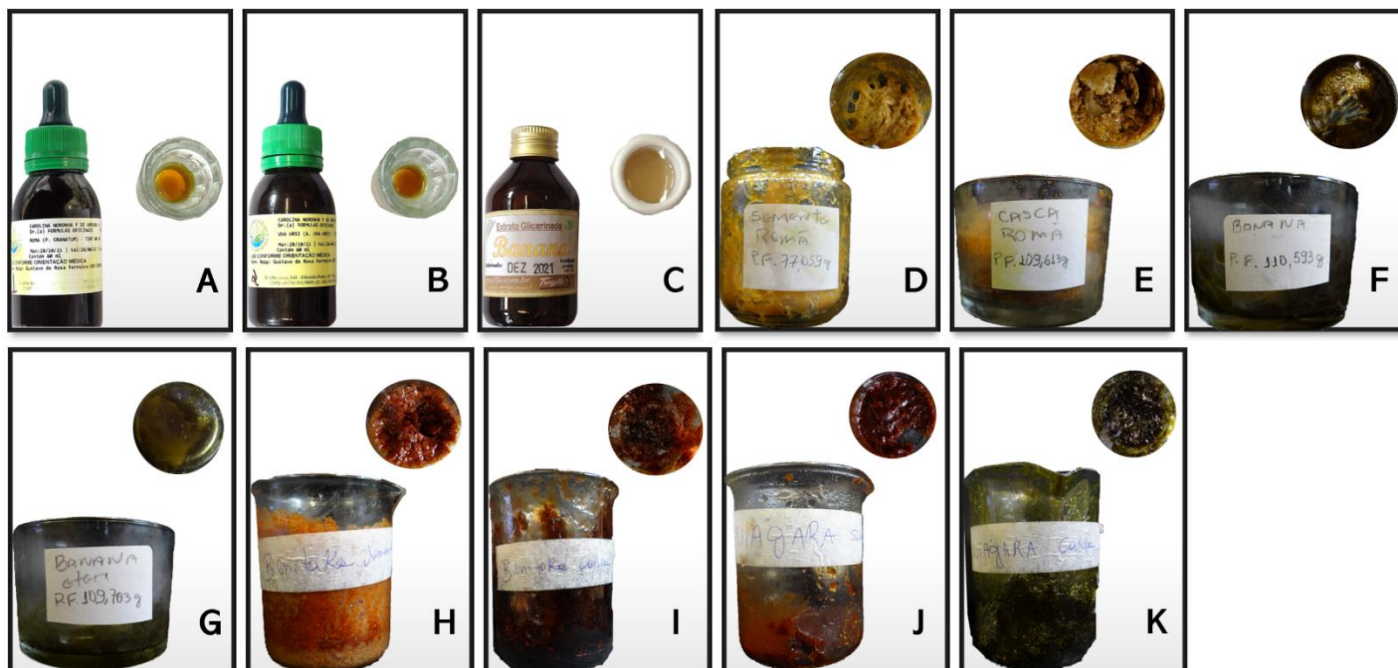
Owusu-Boadi et al. (2021) realizaram estudo baseado na extração do caule de bananeira (*M. paradisiaca*) para determinar a efetividade antimicrobiana e antifúngica, por meio de três frações de extração (aquoso, acetato de etila e etanólico), contra patógenos orais *L. acidophilus*, *A. actinomycetemcomitans* e *C. albicans*, visto que esses micro-organismos estão associados com doença cárie, periodontite e candidíase oral. Testes mostraram que as três frações obtiveram algum grau de inibição do crescimento contra os três diferentes micro-organismos, porém o acetato de etila promoveu maior efetividade antimicrobiana. Além dessas observações, foi ressaltado que o caule da bananeira contém alcalóides, terpenóides, glicosídeos cardíacos e fenóis (este último presente nas três frações dos extratos), dando margem de que esses compostos podem ser responsáveis pela atividade antimicrobiana analisada no estudo. Dessa forma, a utilização do pedúnculo do fruto é uma possibilidade para o mercado, uma vez que pode ser extraído vários compostos para diferentes finalidades.

MATERIAL E MÉTODO

Extratos naturais comerciais e experimentais

As tinturas dos extratos naturais comerciais de romã a 20% (Oficina das Ervas, Farmácia Fitoterápica, Ribeirão Preto, SP, Brasil), de uva ursi a 20 % (Oficina das Ervas, Farmácia Fitoterápica, Ribeirão Preto, SP, Brasil), o extrato natural comercial de banana a 40% (Amanter, Belo Horizonte, MG, Brasil) e os extratos naturais experimentais de romã, uva e banana estão apresentados na figura 1. Para os extratos experimentais, as cascas de banana verde foram retiradas e as cascas e as sementes das uvas e da romã foram extraídas separadamente, visando identificar a melhor atividade antimicrobiana. Para uva, foram utilizadas duas espécies, sendo Benitaka e Niágara.

Figura 1. Extratos naturais comerciais e experimentais utilizados no estudo.



A: extrato comercial de romã; B: extrato comercial de uva ursi; C: extrato comercial de banana; D: extrato experimental de semente de romã; E: extrato experimental de casca de romã; F: extrato experimental de banana diluído em álcool; G: extrato experimental de banana diluído em éter; H: extrato experimental de semente de uva benitaka; I: extrato experimental de casca de uva benitaka; J: extrato experimental de semente de uva niágara; K: extrato experimental de casca de uva niágara.

Obtenção dos extratos naturais experimentais

A fabricação dos extratos experimentais naturais das frutas propostas foi desenvolvida em colaboração com Prof. Dr. João Luis Callegari Lopes da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, conforme descrito a seguir:

O extrato de romã foi obtido a partir das cascas e das sementes da fruta, que foram lavadas, secadas e posteriormente, levadas à estufa a 40°C durante 3 a 5 dias até a total desidratação, constatada visualmente (Figuras 2 e 3). Em seguida, as partes foram trituradas em mixer portátil (Mini Mixer Misturador Multiuso M150 Black + Decker café Whey) (figura 4) e o pó resultante foi pesado em balança de precisão e colocado em um Erlenmeyer com 200 mL de álcool destilado a 96% para o procedimento de extração. Uma quantidade de 79,16 g de sementes e 96,82 g de casca de romã foram utilizadas. As etapas de extração e filtragem (Figura 5) foram desenvolvidas de forma que houvesse 3 repetições em um intervalo de 48 horas. Após este período, o material foi levado ao destilador visando obter um extrato de alta pureza e concentração.

Para o extrato de uva, foram utilizadas as sementes e cascas das espécies Benitaka e Niágara com o mesmo processamento descrito para o extrato de romã. Para a uva Benitaka, foram utilizadas 113,18 g de casca e 54,49 g de semente. Já para a uva Niágara, foram utilizadas 54,1 g de casca e 46,64 g de semente. Após a trituração em mixer portátil (Figura 6), o pó dos extratos foi colocado em um Erlenmeyer contendo álcool destilado a 96% para o processo de extração (Figura 7).

Para obtenção do extrato da banana, bananas verdes foram selecionadas, lavadas e suas cascas foram desidratadas em estufa de secagem e esterilização (40°C/5 dias). O processo de extração foi realizado à semelhança do que foi descrito para o extrato de romã. Um volume de 280 mL de etanol destilado a 96% foi colocado em Erlenmeyer e 117,93 g de casca de banana triturada foram adicionadas, formando um precipitado. O processo também envolveu três extrações com intervalos de 48 horas entre cada uma, intercaladas pela filtragem com filtro de papel (Figura 8). Realizada essa etapa, o material foi levado a rota evaporadora para isolamento do composto de interesse, o fenol.

A imagem a seguir apresenta o processo de desidratação das cascas e sementes das frutas em uma estufa de secagem por 24, 48 e 96 horas (Figura 2), e a aparência final (Figura 3).

Figura 2. Cascas e sementes de romã, cascas de banana verdes e cascas e sementes de uva, em processo de desidratação em estufa a 40°C por um período de até cinco dias.

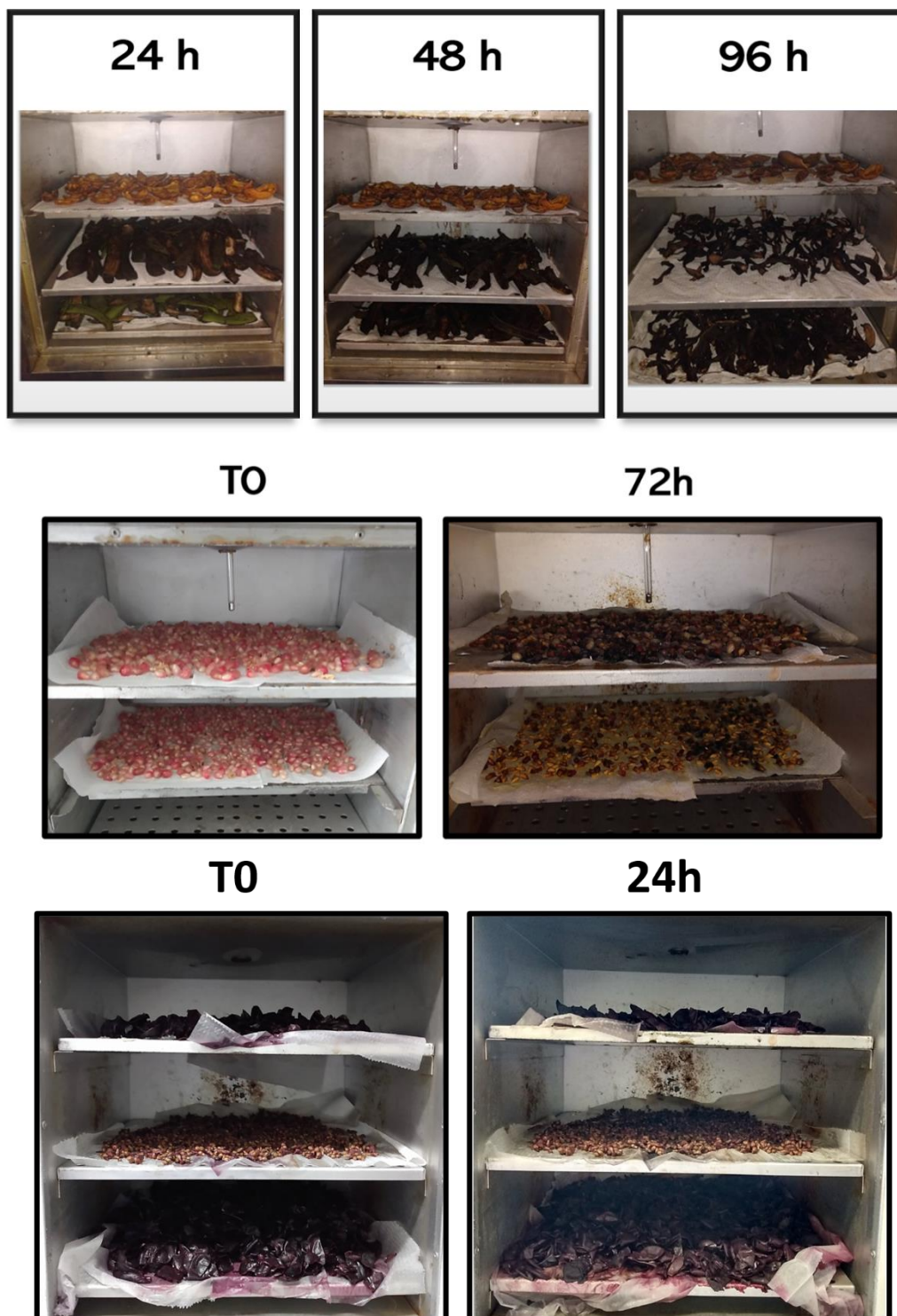
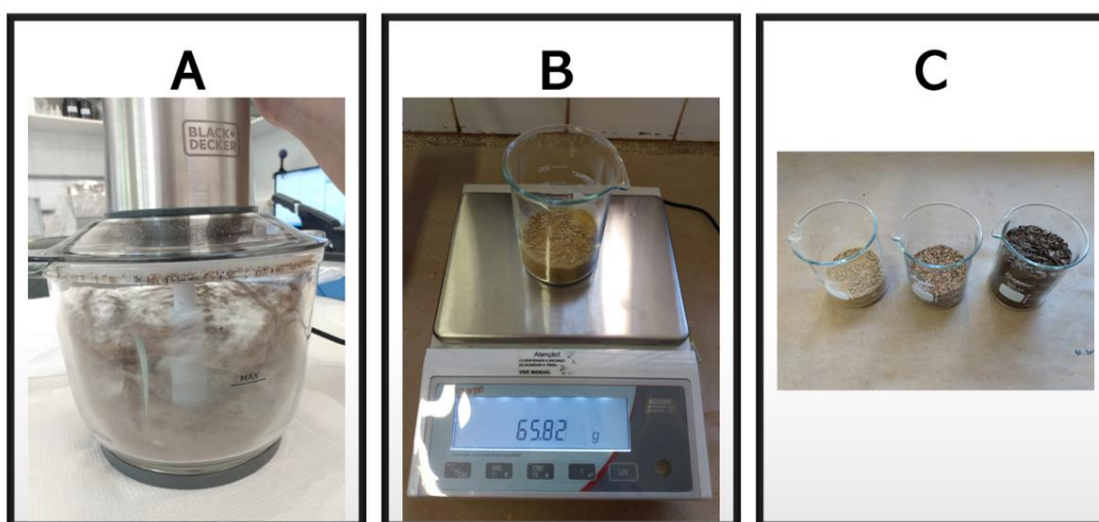


Figura 3. Aspectos das cascas de banana, casca e semente de romã desidratadas, respectivamente.



Figura 4. Uso do mixer portátil e pesagem das partículas de cada fruta desidratada.



A: Trituração das frutas com o auxílio de um mixer portátil.

B: Pesagem das partículas trituradas.

C: Partículas separadas em béquer para início do processo de extração.

Figura 5. Processo de extração e filtragem dos extratos experimentais nos períodos de 24 e 48 horas.

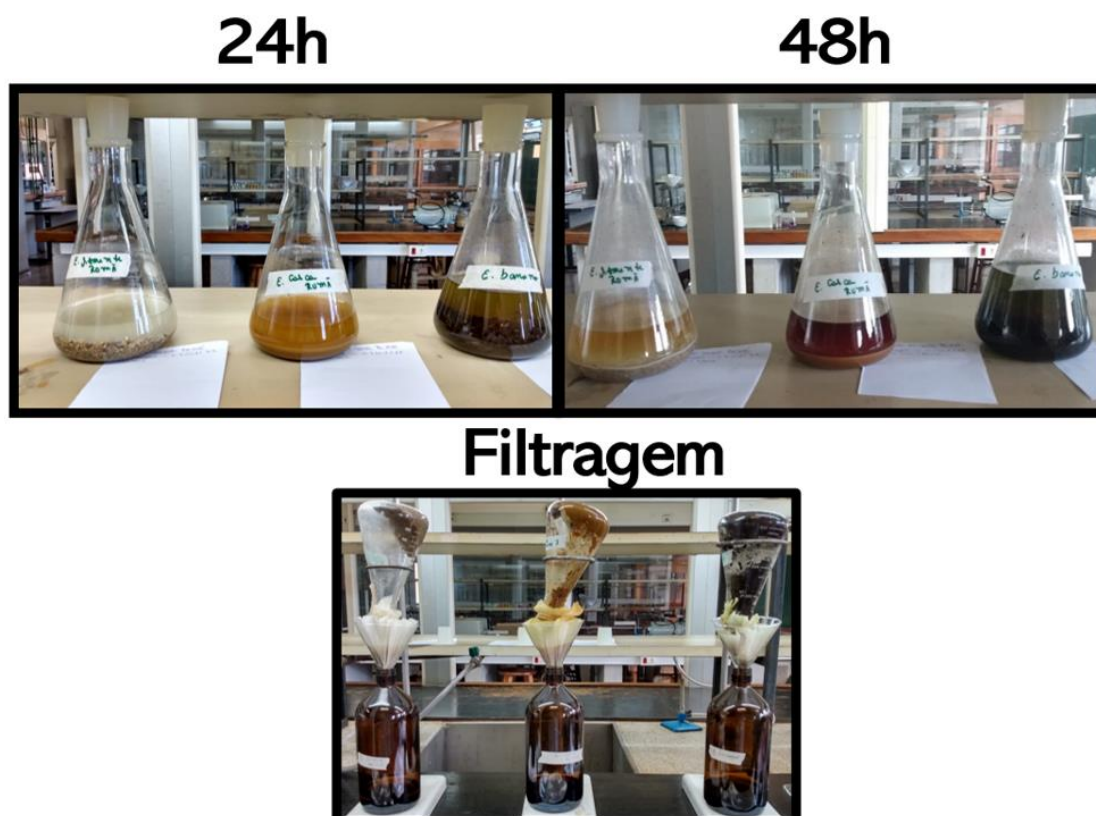
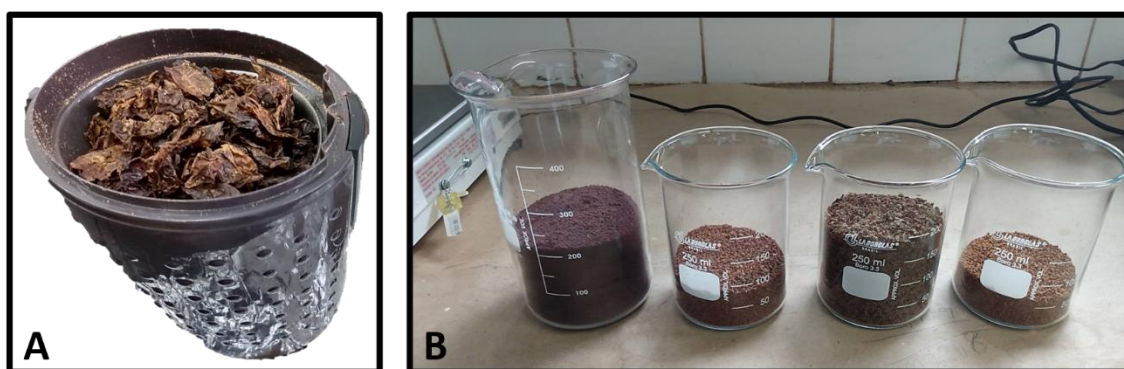


Figura 6. Partículas dos extratos de uva experimental separadas em béquer.



A: Trituração das uvas com auxílio de um mixer portátil

B: Partículas separadas em béquer

Figura 7. Imagens do primeiro dia de extração e do primeiro processo de filtragem dos extratos de uva experimental.



Figura 8. Imagem após as 48 horas após a primeira filtragem.



Depois das etapas de extração e filtragem, os extratos foram submetidos a processos para atingir a concentração desejada e produção final desses extratos. As figuras 9, 10 e 11 mostram o aspecto final de cada extrato experimental natural produzido.

Figura 9. Aspecto final dos extratos naturais experimentais da semente e casca de romã.



Figura 10. Aspecto final dos extratos naturais experimentais de semente e casca da uva Niágara.



Figura 11. Aspecto final dos extratos naturais experimentais de semente e casca da uva Benitaka.



Concentração inibitória mínima dos extratos naturais comerciais e experimentais

A concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos foi determinada com base no método das diluições sucessivas em placas de cultura celular (TPP, Trasadingen, Unterklettgau, Suíça) contendo 96 poços e em duplicata (Leite et al., 2014). As placas foram preparadas contendo o meio de cultura suplementado com concentrações crescentes dos extratos.

Cada um dos poços foi inoculado com *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans* e após o período de incubação, o crescimento microbiano foi avaliado por meio da turbidez da cultura. A CIM é avaliada mediante a ação de um agente antimicrobiano em que pode ser medida estabelecendo a quantidade mínima da atividade desse agente necessário para inibir o crescimento de um microrganismo.

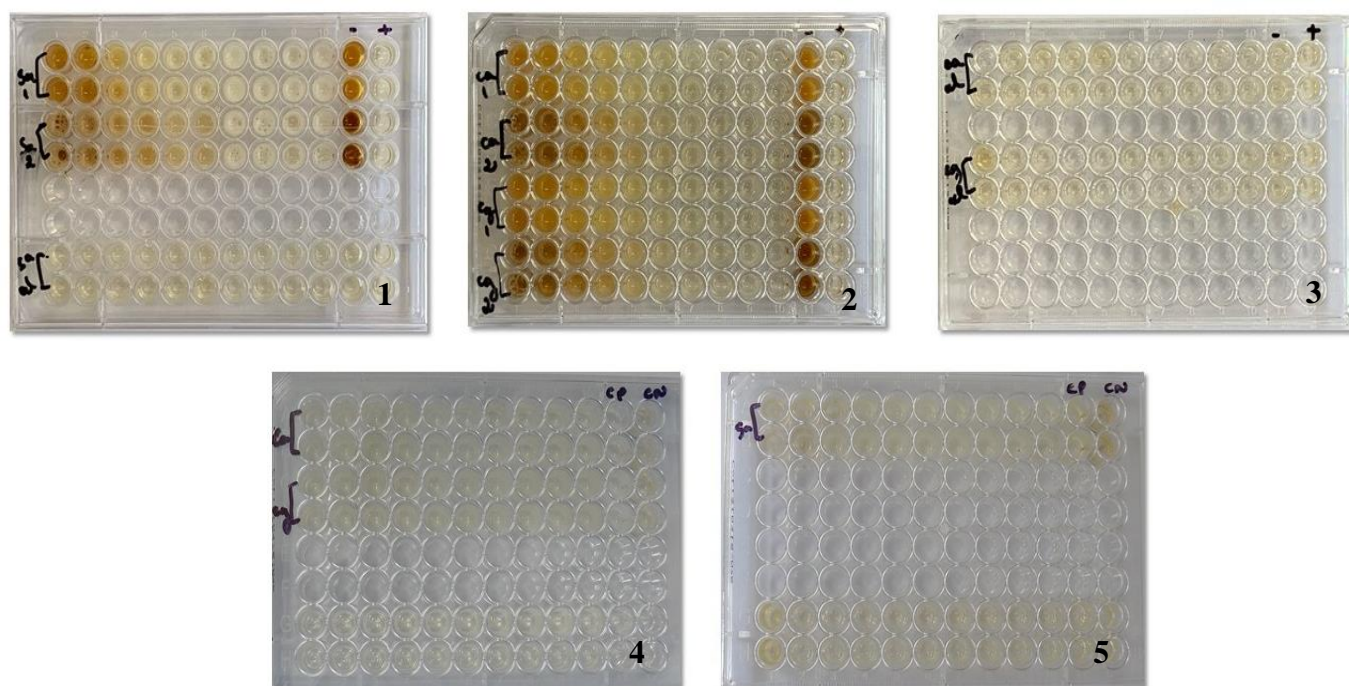
Como meio de cultura foi utilizado o *Tryptic Soy Agar* (Difco, Sparks, MD, USA). Para padronização dos inóculos, as cepas dos *C. albicans*, *C. glabrata*, *S. aureus* e *S. mutans* foram centrifugadas a 4000 rpm (centrífuga 5430R, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) por 5 minutos, lavadas e ressuspensas em *Phosphate Buffered Saline* (PBS). A concentração da suspensão microbiana foi obtida em espectrofotômetro e das espécies de *Candida*, em câmara de Neubauer (HBG, Alemanha). Em seguida, o meio de cultura foi inoculado a uma concentração de 1×10^3 células/ mL de bactérias e 1×10^5 células de levedura.

A CIM dos extratos foi testada em 10 concentrações, variando entre 10 e 0,0195%. Como controle positivo foram colocados 50 μ L de meio de cultura, 50 μ L de solução salina e 5 μ L de inóculo; como controle negativo foram colocados 50 μ L de meio de cultura e 50 μ L dos extratos comerciais ou experimentais. Além disso, também foi realizado um controle com álcool a 20% e um controle com água, uma vez que o álcool foi o veículo utilizado na fabricação dos extratos comerciais.

Após o preparo das placas com o meio de cultura, em duplicata, as mesmas, foram incubadas à 37°C por 24 horas, em estufa microbiológica. Os resultados foram analisados com base na turvação do meio, identificado a olho nu. A presença de turvação nos dois poços de cada concentração indicou crescimento microbiano (Figura 12).

Para a análise da CIM dos extratos naturais experimentais, foram empregadas 12 concentrações de extratos (10% a 0,0048%) e controles com álcool a 100%, 90% e 40%, água e éter (somente para o extrato de banana).

Figura 12. Poços para avaliação da concentração inibitória mínima para cada micro-organismo testado.



Placa 1: micro-organismos *S. aureus* (*S.a.*), álcool (al), controles positivo e negativo;

Placa 2: micro-organismos *C. albicans* (*C.a.*), *C. glabrata* (*C.g.*), controles positivo e negativo;

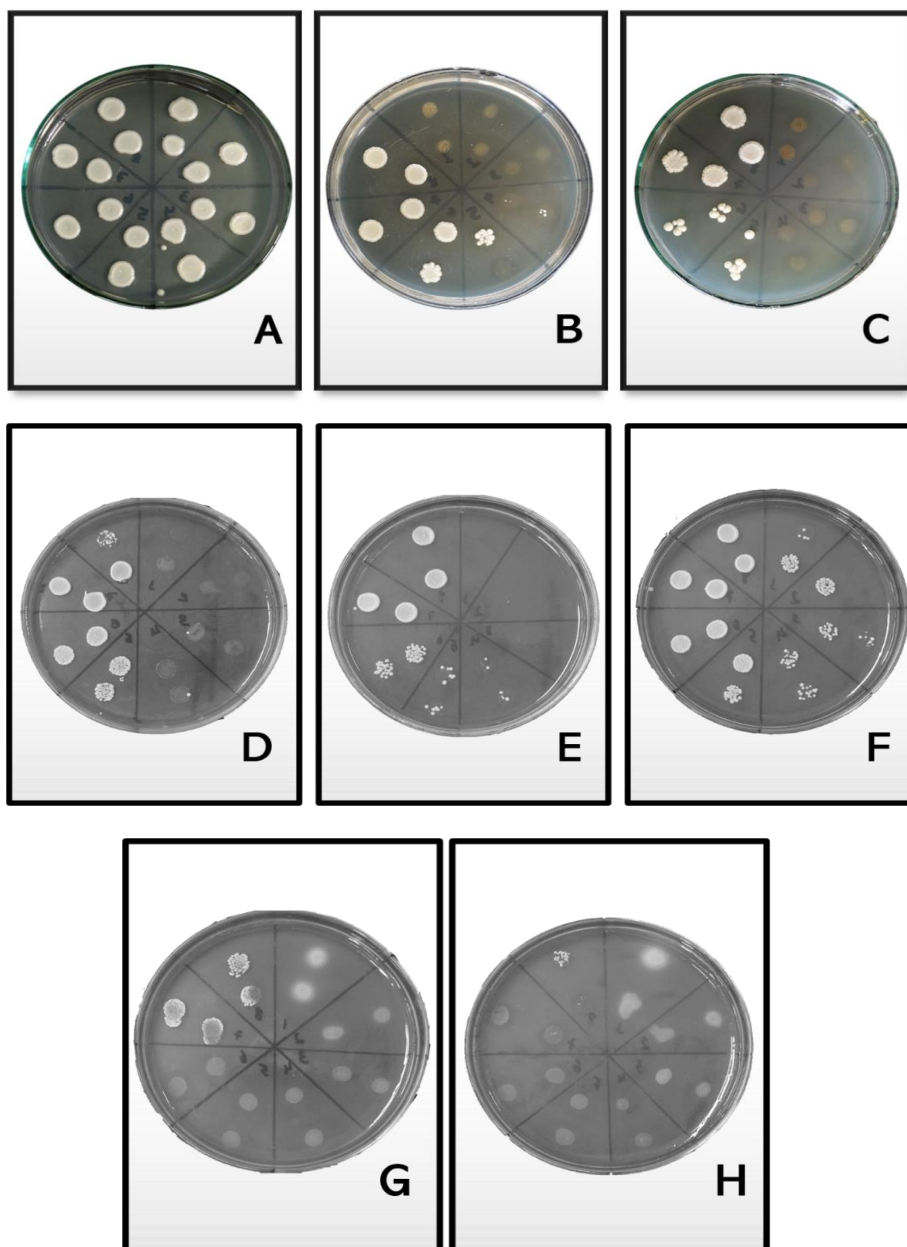
Placa 3: micro-organismos *C. albicans* (*C.a.*), álcool (al) e *C. glabrata* (*C.g.*), álcool (al), controles positivo e negativo;

Placa 4: micro-organismos *C. albicans* (*C.a.*), *C. glabrata* (*C.g.*), controles positivo e negativo

Placa 5: micro-organismos *S. aureus* (*S.a.*), controles positivo e negativo.

Ainda, uma análise da concentração inibitória mínima dos extratos naturais comerciais e experimentais de banana, romã e uva foi realizada pelo método de diluição em ágar (Figura 13). Este ensaio foi adicionado a fim de confirmar a CIM sem qualquer interferência da pigmentação dos extratos, uma vez que, os extratos comerciais apresentavam pigmentação que dificultavam a visualização da turvação do meio.

Figura 13. Atividade antimicrobiana dos extratos naturais comerciais e experimentais por meio do método de difusão em ágar.



A: concentração inibitória mínima do veículo (álcool etílico) contra *Candida albicans*, porém sem presença de extrato (Controle).

B: concentração inibitória mínima do extrato comercial de romã contra *Candida albicans*.

C: concentração inibitória mínima do extrato comercial de uva ursi contra *Candida albicans*.

D: concentração inibitória mínima do extrato experimental de banana (éter) contra *Candida albicans*

E: concentração inibitória mínima do extrato experimental de banana contra *Candida albicans*

F: concentração inibitória mínima do extrato experimental de semente de romã contra *Candida albicans*

G: concentração inibitória mínima do extrato experimental de casca de romã contra *Candida albicans*

H: concentração inibitória mínima do extrato experimental de casca de romã (álcool) contra *Candida albicans*

A análise da ação antimicrobiana dos extratos comerciais e experimentais foi realizada por meio do método de poço difusão em ágar em placa de Petri com meio específico para as espécies de *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*. Com o auxílio de um canudo, foram feitas doze perfurações iguais correspondendo à 5 mm de diâmetro e uma perfuração ao centro da placa para controle. Os extratos foram inseridos em concentração de 20% (20 g de extrato para 100 mL de veículo), em triplicata ou quadruplicata, para cada extrato e o grupo controle variando entre álcool 40%, 90%, 100%, água e éter (somente para o extrato da banana, pois foi um dos veículos utilizados para sua extração), como demonstrado nas figuras 14, 15 e 16, respectivamente.

As placas foram incubadas em estufa à 37° C por 24 horas. Os halos foram avaliados como halo de concentração inibitória mínima e halo de traço de inibição que foram medidos, em milímetros, com auxílio de uma régua e microscópio. O resultado foi definido pelo cálculo da média do tamanho de cada halo em cada grupo de extrato, em milímetros.

Figura 14. Imagem do ensaio de Poço Difusão dos extratos comerciais.

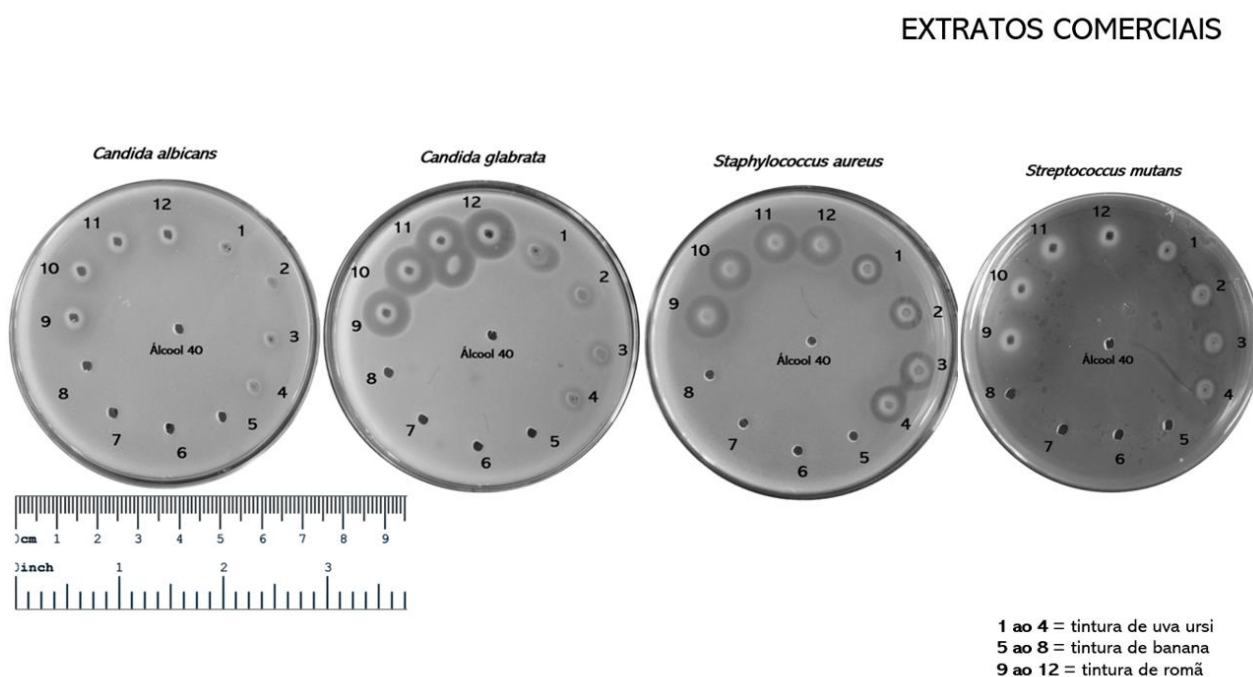


Figura 15. Imagem do ensaio do Poço Difusão dos extratos experimentais.

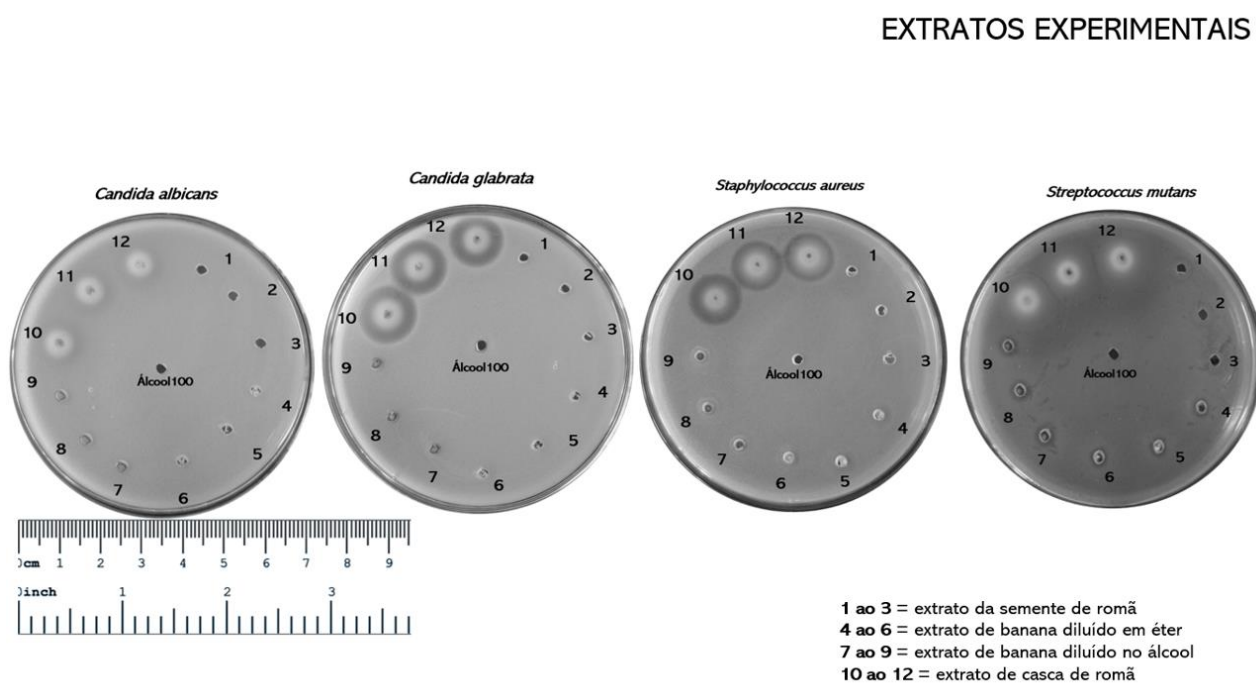
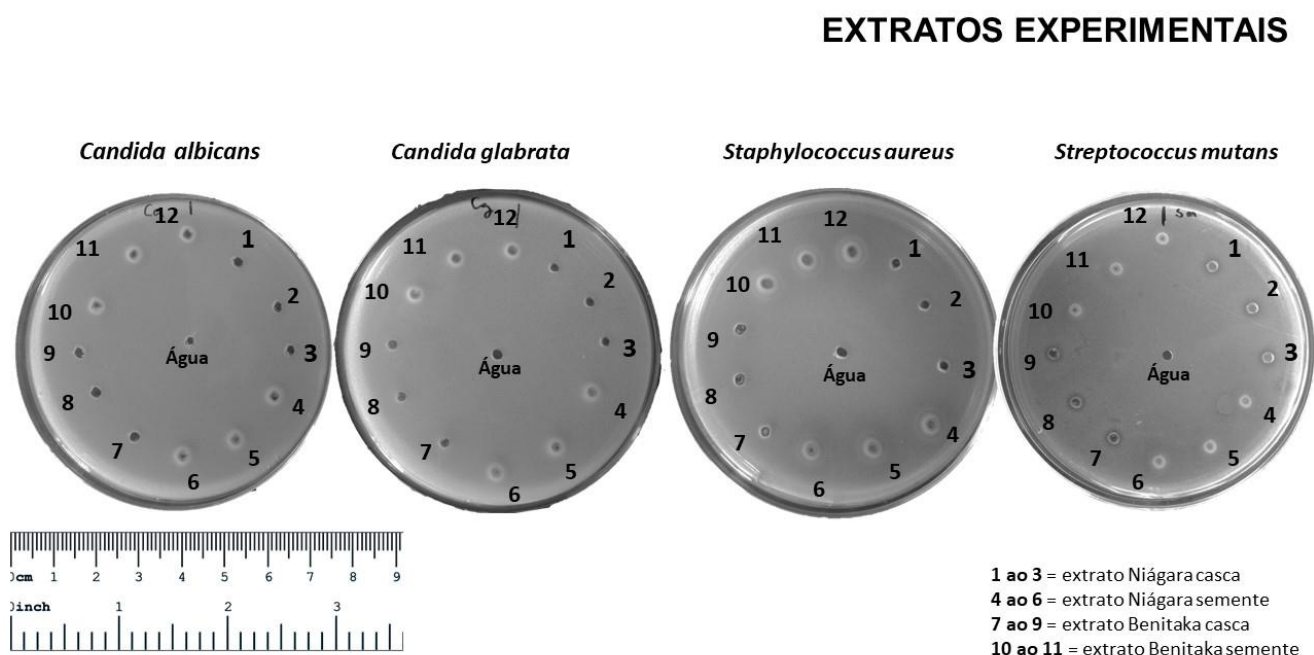


Figura 16. Imagem do ensaio do poço de difusão dos extratos experimentais de uva



Confecção dos corpos de prova em resina acrílica sem e com a incorporação dos extratos naturais comerciais e experimentais

A manipulação da resina acrílica (Clássico, Artigos Odontológicos Clássico Ltda., São Paulo, SP, Brasil) foi realizada de acordo com as proporções indicadas pelo fabricante, sendo 1:3 de monômero/polímero. Foram empregados corpos de prova em formato retangular para análises de rugosidade superficial, microdureza e resistência à flexão. As amostras foram obtidas a partir de moldes criados por matrizes metálicas (Seção de Oficinas de Precisão-Mecânica-USP, Ribeirão Preto-SP, Brasil), com 65 x 10 x 3,3 mm (Figura 17) incluídas em muflas e gesso.

Figura 17. Matriz retangular metálica para obtenção dos corpos de prova em resina acrílica.



A concentração a ser incorporada à resina acrílica foi definida após a análise da concentração inibitória mínima. Para as tinturas dos extratos comerciais de Romã e Uva, foi empregada a porcentagem em peso de 5%, e dessa forma, foi realizada uma redução proporcional de 2,5% para o polímero, sendo adicionado 10,47 g de pó, e redução de 2,5% do monômero (adicionou 5,25 mL de líquido), sendo, portanto, incorporado 5% de tintura dos extratos comerciais, equivalente a 4,5 g de tintura (Figura 18).

Figura 18. Balança utilizada para pesagem e medida demarcada do polímero, respectivamente.



Após isso, o material foi manipulado (figura 19), prensado (prensa hidráulica Protecni-Protectni equip. méd., Araraquara-SP) e polimerizado, segundo as instruções dos fabricantes (Imersão em água a temperatura ambiente, elevação da temperatura até 100° C por 90 minutos e manutenção a 73° C por 30 minutos), em polimerizadora elétrica (Termocycler T100, Ribeirão Preto-SP). Terminada a polimerização, aguardou-se o resfriamento das muflas em bancada e após a desinclusão, os corpos de prova receberam acabamento e polimento em politriz horizontal (Struers - DP 9, Copenhagen, Dinamarca) com lixas d'água de diferentes granulações (320, 400, 600 e 1200 - Norton Abrasivos Brasil, Saint-Gobain, França), seguido de polimento com pano de polimento (Fortel Ind. Com, São Paulo-SP) (figura 21) e branco de Espanha (Branco Rio – Orlando Antonio Bussioli-ME, Rio Claro-SP, Brasil) em baixa velocidade.

A manipulação da resina acrílica para os extratos experimentais seguiu a proporção indicada pelo fabricante 1:3 (monômero/polímero) de forma que os extratos foram acrescentados ao polímero, no momento da manipulação. Seguindo os resultados da CIM, foram adicionados 0,325% em peso de extrato experimental da casca da Romã e 0,652% em peso de extrato da semente de Uva. Os extratos experimentais foram, inicialmente, macerados em Gral com Pistilo e depois, o polímero foi adicionado até a obtenção de uma mistura homogênea (Figura 20). Em seguida, a mistura foi transferida para um pote do tipo Paladom com tampa de vidro (Nova Ogp Indústria e Comércio, Bragança Paulista - SP) para

adição do monômero e manipulação de acordo com o fabricante. A prensagem, o acabamento e polimento seguiram os mesmos processos descritos anteriormente para os extratos comerciais.

Figuras 19. Manipulação da resina acrílica para obtenção do corpo de prova controle.



Figuras 20. Processo de manipulação da resina acrílica com os extratos naturais experimentais



Figuras 21. Mufla empregada e muflas com resina acrílica sendo prensada



Figura 22. Corpo de prova sendo polido em politriz com lixa d'água.

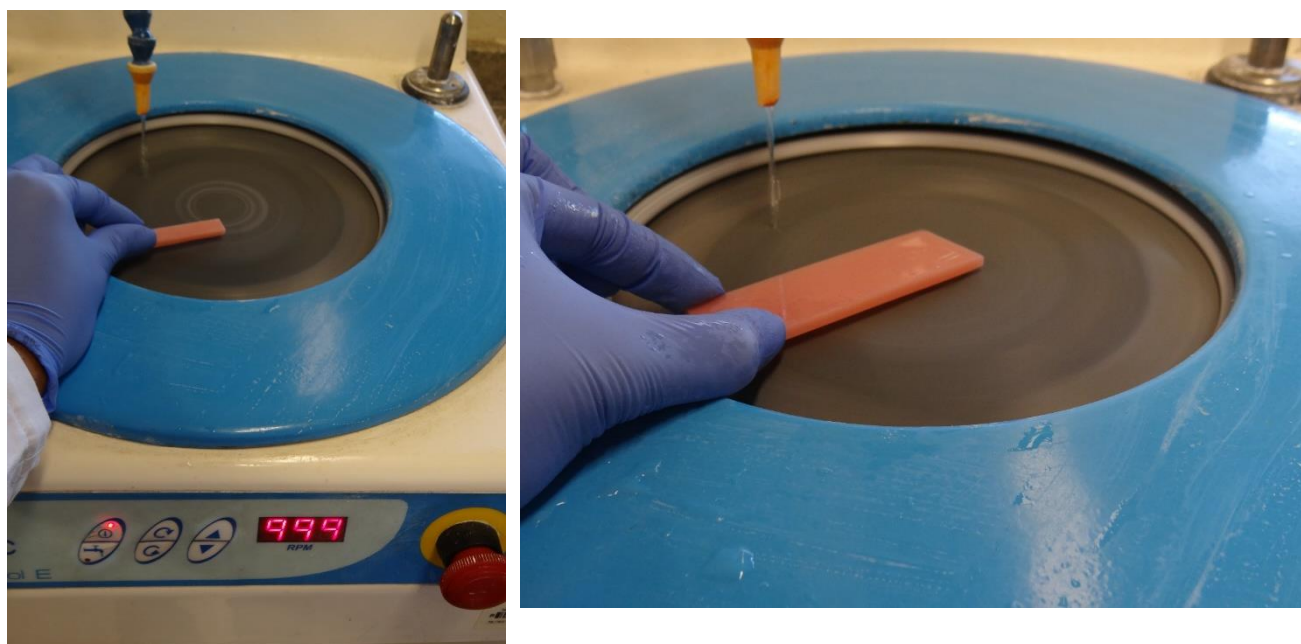


Figura 23. Corpos de prova do primeiro ensaio, com tintura de romã.



Figura 24. Corpos de prova do segundo ensaio, com tintura de uva ursi.



Figura 25. Corpos de prova do extrato de Romã experimental



Figura 26. Corpos de prova do extrato de Uva experimental



Desfechos

Propriedades mecânicas

Resistência à flexão

O ensaio seguiu a norma ISO 20795-1:2008. Os corpos de prova foram submetidos ao ensaio de flexão em 3 pontos (Figura 27), o qual consiste em dois apoios localizados a 50 mm um do outro e carga de flexão aplicada no centro, em Máquina de Ensaio mecânicos, modelo MEM 2000 (EMIC, São José dos Pinhais, PR, Brasil), com velocidade de deformação igual a 5 mm/min, sendo esses valores constantes.

Figura 27. Ensaio de resistência à flexão em Máquina de Ensaio mecânicos.



Rugosidade de Superfície

A rugosidade de superfície dos corpos de prova experimentais foi avaliada por meio de rugosímetro (Surftest SJ - 201P, Mitutoyo Corporation, Tokyo, Japão). Para cada corpo de prova foram realizadas três leituras na face polida (Figura 28), sendo uma no centro e as outras duas há 1 mm do centro) com 05 cut offs (λ_c) de 0,8 mm, com velocidade de 0,5 mm /s. Ao final foi calculada a média aritmética destas três medidas (μm).

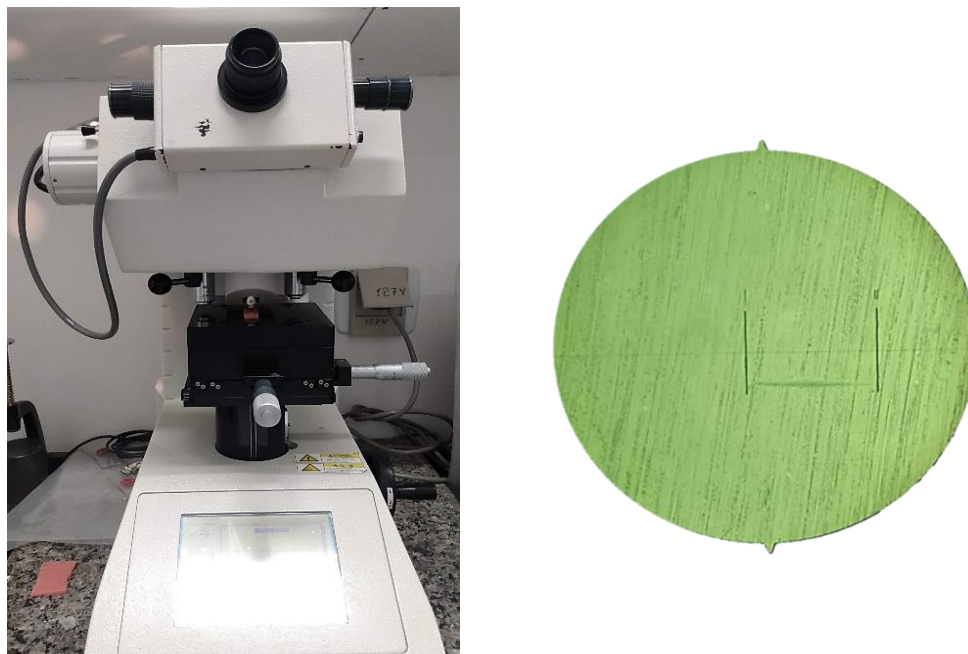
Figura 28. Ensaio de rugosidade de superfície através de Rugosímetro



Dureza de superfície

Para as leituras de dureza *Knoop*, a superfície dos corpos de prova foi dividida em quatro partes. Cada parte foi submetido à uma leitura de dureza (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão; figura 29) com carga de 25 g por 5 segundos (Peyton, 1975; Pisani et al., 2010, 2012). O valor de dureza final para cada corpo de prova foi o resultado da média dos 04 valores encontrados.

Figura 29. Imagens de ensaio de dureza em Microdurômetro e visão microscópica da leitura de dureza do corpo de prova por meio de traço em losango, respectivamente.



ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores obtidos das análises efetuadas foram submetidos a testes estatísticos apropriados com o auxílio de um programa estatístico (SPSS 25 for Windows; SPSS Inc, Chicago, Ill, USA). Verificada a distribuição não normal (Teste de Shapiro-Wilks), foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis de amostras independentes, corrigido pelo teste de Bonferroni ($p < 0,05$), considerando um intervalo de confiança de 95%.

RESULTADOS

Concentração inibitória mínima dos extratos comerciais e experimentais

A concentração inibitória mínima das tinturas dos extratos naturais comerciais de uva ursi e romã para todos os micro-organismos foi de 5%. O extrato de banana comercial testado não apresentou inibição nas concentrações avaliadas, e por isso, as demais avaliações não foram realizadas com este extrato. A concentração inibitória mínima (CIM) foi avaliada frente *C. albicans*, *C. glabrata*, *S. mutans* e *S. aureus*.

Tabela 5. Micro-organismos em meio ao álcool, veículo utilizado nas tinturas, para controle. CP= controle positivo. CN= controle negativo.

	20%	10%	5%	2,5%	1,25%	0,652%	0,312%	0,151%	0,078%	0,039%	CP	CN
<i>C. albicans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>C. albicans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>C. glabrata</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>C. glabrata</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>S. mutans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>S. mutans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+

A concentração inibitória mínima para os extratos naturais experimentais de casca e semente de romã e uvas Benitaka e Niágara, assim como o extrato experimental da casca de banana, foram avaliados frente aos mesmos micro-organismos avaliados para as tinturas de extratos naturais comerciais (Tabela 6). A CIM do extrato de casca de romã foi de 0,165% para *C. glabrata* e *S. mutans*, 0,325% para *C. albicans* e 0,039% para *S. aureus*. O extrato de banana foi eficiente em 2,5% para *C. albicans* e *S. aures*, 0,652% para *C. glabrata* e 0,325% para *S. mutans*. Banana éter promoveu inibição em 2,5% de *C. albicans* e *C. glabrata*, 5% de *S. aureus* e 0,652% de *S. mutans*. Semente de romã promoveu inibição apenas de *S. aureus* (5%) e *S. mutans* (10%). O extrato de semente de uva Benitaka causou inibição em 0,625% de *C. glabrata* e 0,156% de *S. aureus*; a casca de uva Benitaka apresentou CIM à 5% para *S. aureus* e 10% para *S. mutans*. O extrato da semente de uva Niágara causou inibição de *C. glabrata* a 1,25%, *S. aureus* e *S.mutans* a 0,165%; o extrato de casca de Niágara promoveu inibição apenas de *C. albicans* na concentração de 2,5%.

Os extratos de banana experimentais apresentaram mais efetividade comparado aos extratos de banana comerciais. Os resultados dos extratos de uva foram ineficazes para a *C. albicans*.

Tabela 6. Resultado da concentração inibitória mínima dos extratos experimentais naturais

	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>
Casca romã (água)	0,325%	0,156%	0,039%	0,156%
Banana (álcool)	2,5%	0,652%	2,5%	0,325%
Banana éter (álcool)	2,5%	2,5%	5%	0,652%
Romã semente (água)	S/E	S/E	5%	10%
Benitaka semente	S/E	0,652%	0,156%	S/E
Benitaka casca	S/E	S/E	5%	10%
Niágara semente	S/E	1,25%	0,156%	0,156%
Niágara casca	2,5%	S/E	S/E	S/E
Controle - álcool	0,325%	0,325%	1,25%	1,25%

S/E: sem efetividade

Atividade antimicrobiana dos extratos naturais

Os melhores resultados em relação à ação antimicrobiana foram apresentados pela tintura do extrato comercial de romã, o extrato experimental da casca da romã e os extratos experimentais das sementes das uvas Benitaka e Niágara (Tabela 7).

Tabela 7. Médias das mensurações dos halos de inibição (mm) e traços de inibição dos extratos pelo método de poço difusão em ágar.

	Halo de inibição (mm)				Halo de Traço de inibição (mm)			
	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>
Romã Comercial	Na	9,67	12,58	11,42	Na	23,17	18,58	17,08
Romã Experimental Casca	Na	10,67	18,22	12,22	10,44	26,11	23,33	Na
Romã Experimental Semente	Na	Na	Na	Na	Na	Na	9,22	Na
Banana Comercial	Na	Na	Na	Na	Na	Na	Na	Na
Banana Experimental Casca	Na	Na	Na	Na	Na	Na	10	8,33
Uva Ursi comercial	Na	Na	17	9,75	Na	9,92	Na	13
Uva Benitaka Experimental Semente	0,79	0,84	1,4	0,74	Na	Na	Na	Na
Uva Benitaka Experimental Casca	Na	Na	Na	0,89	Na	Na	Na	Na
Uva Niágara Experimental Semente	1,9	0,81	1,3	0,78	Na	Na	Na	Na
Uva Niágara Experimental Casca	Na	Na	Na	0,86	Na	Na	Na	Na

Na: não se aplica

Propriedades mecânicas

Resistência à flexão

A tabela 8 mostra os resultados encontrados de resistência à flexão da resina acrílica após a incorporação dos extratos naturais experimentais e comerciais após aplicação do teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Bonferroni.

Tabela 8. Comparação dos extratos naturais comerciais e experimentais para a resistência à flexão.

	CONTROLE	EXPERIMENTAIS		COMERCIAIS		<i>P</i>
	S/ EXTRATO	ROMÃ	UVA	ROMÃ	UVA	
Média	105,5	73,7	69,6	35,5	27,8	< 0,001
DP	8,4	7,8	13,1	7,5	3,2	
Mediana	107,875 ^a	73,3 ^b	73,2 ^b	35,6 ^c	27,9 ^c	
IC	99,5 - 111,5	68,1 - 79,3	60,2 - 79,0	30,1 - 40,8	25,5 - 30,0	

DP: Desvio-padrão; IC: Intervalo de Confiança; Letras iguais indicam igualdade estatística entre colunas

Pode-se observar que a incorporação dos extratos naturais comerciais e experimentais na resina acrílica promoveu valores de resistência à flexão inferiores aos do grupo controle. Os extratos naturais experimentais apresentaram valores intermediários, enquanto os extratos naturais comerciais apresentaram os menores valores para a resistência à flexão.

Rugosidade de Superfície

A tabela 9 mostra os resultados obtidos quanto à rugosidade de superfície para os extratos naturais experimentais e comerciais após a incorporação na resina acrílica.

Tabela 9. Dados de rugosidade de superfície (Ra, μm) dos corpos de prova do grupo controle e após a incorporação dos extratos naturais experimentais e comerciais de romã e uva.

	CONTROLE	EXPERIMENTAIS		COMERCIAIS		<i>P</i>
	S/ EXTRATO	ROMÃ	UVA	ROMÃ	UVA	
Média	0,04	0,2	0,2	0,9	1,2	< 0,001
DP	0,01	0,2	0,3	0,3	0,3	
Mediana	0,04 ^a	0,08 ^b	0,08 ^b	0,93 ^b	1 ^c	
IC	0,03 - 0,04	0,03 - 0,4	0,02 - 0,4	0,4 - 1,1	0,8 - 1,2	

DP: Desvio padrão; IC: Intervalo de Confiança; Letras iguais indicam igualdade estatística entre colunas

A adição da tintura do extrato natural comercial de uva Ursi, promoveu maior rugosidade de superfície que os demais. Os extratos naturais experimentais de romã e uva, e o extrato natural comercial de romã apresentaram valores semelhantes entre si e diferentes do controle, que apresentou menor média de rugosidade de superfície.

Dureza de superfície

A tabela 10 mostra os resultados obtidos de microdureza *Knoop* após incorporação dos extratos naturais experimentais e comerciais na resina acrílica. Os valores de dureza dos corpos de prova após a incorporação dos extratos naturais experimentais foram semelhantes aos valores encontrados para o grupo controle. Já a incorporação das tinturas dos extratos naturais comerciais promoveu valores menores quando comparado aos demais grupos.

Tabela 10. Dados de microdureza *Knoop* dos corpos de prova do grupo controle e após a incorporação dos extratos naturais comerciais e experimentais.

	CONTROLE	EXPERIMENTAIS		COMERCIAIS		<i>P</i>
	S/ EXTRATO	ROMÃ	UVA	ROMÃ	UVA	
Média	16,9	18,1	16,9	7,8	7,1	< 0,001
DP	0,8	1,8	1,6	0,5	1,5	
Mediana	17,055 ^a	18,22 ^a	17,03 ^a	7,8 ^b	6,5 ^b	
IC	16,3 - 17,5	16,8 - 19,3	15,7 - 18,0	7,5 - 8,3	5,8 - 8,3	

DP: Desvio padrão; IC: Intervalo de Confiança; Letras iguais indicam igualdade estatística entre colunas

DISCUSSÃO

Com o aumento da expectativa de vida, o envelhecimento da população é uma realidade em nosso país. Conseqüentemente, isso irá acarretar um aumento das demandas relacionadas à saúde dos pacientes idosos, incluindo os cuidados com a saúde bucal dessa população, em que ainda terá o edentulismo de forma muito presente (Maciel et al., 2015). Dessa forma, a utilização de próteses com base de resina acrílica ainda é e será uma opção recorrente, principalmente para a população com menores condições financeiras.

Entretanto, a utilização constante de próteses ou a sua má higienização mostram-se como um risco em potencial para o acúmulo de biofilme, que, quando associado a fatores como tempo de uso da prótese, quantidade e qualidade da saliva e tabagismo podem promover a ocorrência de infecções na cavidade oral, as quais são capazes de comprometer a saúde geral do indivíduo (Delaney et al., 2019). Diante desse quadro, a incorporação dos extratos naturais em resina acrílica termopolimerizável tem como objetivo inibir o crescimento de micro-organismos causadores de patologias orais mediante ao uso de próteses (Lisboa;Chianca, 2012).

O objetivo desse estudo foi avaliar propriedades antimicrobianas de extratos naturais comerciais e experimentais de romã, uva e banana e avaliar o efeito da incorporação destes

extratos à resina acrílica termopolimerizável contra micro-organismos que compõem o biofilme da prótese e sobre propriedades mecânicas da resina. Os resultados mostraram que a hipótese nula foi rejeitada, uma vez que para todas as análises, foram diferentes dos respectivos grupos controle.

Para a obtenção dos resultados, foram realizados testes de concentração inibitória mínima (CIM) pelo método das diluições sucessivas em placas de cultura celular, método da diluição em ágar e método do poço difusão para análise antimicrobiana. A CIM capaz de inibir os micro-organismos foi de 5% para os extratos comerciais, enquanto para os experimentais, a CIM foi de 0,325% para o extrato experimental da casca da Romã e 0,652% para o extrato da semente de Uva. A partir da concentração inibitória mínima obtida para cada extrato natural, foi possível realizar a incorporação desses extratos na resina acrílica.

O extrato de romã apresentou efetividade tanto na formulação comercial como na experimental. O extrato de romã comercial, desempenhou efetividade contra todos os micro-organismos avaliados, sendo 10% para *Candida glabrata*, 5% para *C. albicans* e 2,5% para *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*. Já o extrato experimental obtido da casca de romã promoveu melhores resultados, uma vez que atingiu menores concentrações de inibição para todos os micro-organismos, enquanto o extrato obtido pela semente de romã foi efetivo frente a um menor número de cepas, tendo ação frente a *S. aureus* e *S. mutans*. Esses resultados são semelhantes à estudos prévios que relatam que a casca de romã com seus efeitos anti-inflamatórios e antimicrobianos, podem ser indicadas para aplicações clínicas, como uma opção natural devido a ampla atuação contra patógenos bacterianos e fúngicos (Bassiri-Jahromi et al., 2018). Ainda, Pereira et al. (2005) mostraram que um dentifrício contendo o extrato de casca de romã foi eficaz quando comparando ao digluconato de clorexidina, sendo efetivo frente a micro-organismos do biofilme dental, sendo uma opção viável na prevenção da cárie e gengivite.

O extrato natural de uva foi o segundo extrato mais promissor nessa pesquisa. O extrato comercial de uva-ursi apresentou halo de concentração inibitória mínima de 17 mm para *S. aureus* e 9,75 mm para *S. mutans*. Já os extratos experimentais de semente das uvas Niágara e Benitaka, foram eficazes na CIM e apresentaram halos de inibição para todos os micro-organismos avaliados. Segundo Han (2003), o extrato de semente de uva mostrou mais uma ação profilática do que terapêutica contra a *C. albicans*, onde os ratos que receberam contaminação fúngica depois de submetidos ao extrato, apresentaram os melhores resultados. O resultado do presente estudo é importante uma vez que indica a possibilidade de explorar ainda mais a incorporação de extratos naturais em produtos odontológicos.

Dentre os extratos avaliados, os que não apresentaram efetividade frente aos micro-organismos durante a avaliação da CIM foram os extratos de banana, sendo importante ressaltar que sua concentração era de 40% para o comercial, maior do que as concentrações dos demais extratos comerciais (20%). Embora o extrato experimental obtido da casca de banana apresentou capacidade de inibição de todos os micro-organismos, sua ação antimicrobiana foi reduzida quando comparado aos demais extratos. Na ação antimicrobiana, as respostas foram menores, abrangendo somente *S. aureus* com halo de 10 mm e *S. mutans* com halo de 8,33 mm. Devido à baixa resposta na efetividade da avaliação antimicrobiana, optou-se pela não incorporação dos extratos de banana à resina acrílica. Os resultados encontrados no presente estudo corroboram com os resultados divulgados por Kapadia et al., (2015) que relataram que o extrato natural obtido pela casca de banana foi capaz de inibir e apresentou efetividade antimicrobiana para *S. aureus*, porém, não foi eficaz contra *C. albicans*.

Jouneghani et al. (2020) exploraram outras partes da planta da banana e obtiveram resultados positivos frente ao biofilme da *C. albicans*. Fabricaram extratos da folha e do pseudocaule, a partir da diluição em meios a diferentes soluções sendo etanol, acetona, hexano e água, obtendo assim inibição mínima de 60% de biofilme. Os extratos mais potentes relatados foram o extrato etanólico das folhas e do pseudocaule. Sua explicação para tal resultado é que o etanol é um dos solventes que melhor extrai o polifenol, principal responsável pela ação antimicrobiana dos extratos e além disso, o pseudocaule é produto que possui grande quantidade de fenóis, o que contribui para a efetividade desse extrato contra os micro-organismo.

Após as análises de CIM por meio do método de diluição em ágar e ação antimicrobiana pelo método do poço difusão em ágar, os extratos naturais comerciais e experimentais de romã e uva foram selecionados para a etapa de incorporação na resina acrílica e obtenção dos corpos de prova. Foram feitas avaliações em relação à resistência à flexão, rugosidade de superfície e dureza de superfície. Os resultados mostraram que a adição dos extratos naturais comerciais em forma de tintura influenciou negativamente a resistência à flexão quanto comparado ao grupo controle. A adição dos extratos naturais experimentais apresentou melhores resultados em comparação aos extratos comerciais, no entanto, os valores de resistência à flexão ainda foram menores aos do grupo controle. Isso provavelmente está relacionado à quantidade adicionada dos extratos comerciais, que de acordo com a CIM precisaram ser adicionados em maior quantidade do que os extratos experimentais.

Além disso, os extratos obtidos comercialmente tinham uma forma líquida, em que o álcool foi o veículo utilizado, enquanto os experimentais foram obtidos na consistência de pó, o que pode ter facilitado a mistura e manipulação da resina acrílica. Isso pode também ser visto em relação à qualidade dos corpos de prova, mostrados no material e métodos, em que os corpos de prova que tiveram a adição dos extratos comerciais, apresentaram maior quantidade de pigmentos e bolhas em sua forma final, o que pode ter influenciado nos piores resultados para os extratos comerciais líquidos.

A literatura mostra que a incorporação de agentes antimicrobianos na resina acrílica levou a reduções significantes nos valores de resistência à flexão (Shibata et al., 2007, Casemiro et al., 2008, Cunha et al, 2009, Oliveira Júnior et al. 2011, Rodriguez et al., 2011, Farias, 2017), apresentando resultados semelhantes ao presente estudo. Oliveira Júnior et al. (2011) acreditam que a incorporação do agente antimicrobiano na resina acrílica afetou o grau de conversão da resina, uma vez que foi adicionado um produto líquido, aumentando a quantidade de monômero residual. Da mesma forma, a alteração da proporção polímero/monômero para os testes iniciais com os extratos naturais comerciais, adicionados à adição de grande quantidade do extrato em sua forma líquida e com o álcool como veículo, pode ter influenciado nos menores valores de resistência à flexão.

A rugosidade de superfície foi prejudicada pela incorporação dos extratos em relação ao controle, para todos os extratos avaliados; porém, a incorporação dos extratos naturais comerciais deixou a resina acrílica mais rugosa do que a incorporação dos extratos naturais experimentais. Cabe ressaltar que os valores encontrados para os extratos naturais experimentais foram abaixo de 0,20 μm , valor considerado clinicamente aceitável pela literatura (Zissis et al., 2000). Farias (2017) verificou um aumento da rugosidade de superfície ao incorporar Nitrato de Cério à resina acrílica, resultados semelhantes com o presente estudo. Da mesma forma, Pero et al. (2013) incorporaram um polímero antimicrobiano em resina acrílica, com diferentes concentrações do agente e os resultados mostraram que conforme a concentração do polímero aumentava, aumentava também a rugosidade superficial, de forma que a incorporação do polímero na resina acrílica implicou na energia livre superficial, levando à alteração dessa propriedade.

A avaliação da dureza de superfície mostrou que a incorporação dos extratos naturais experimentais na resina acrílica não foi capaz de alterar essa propriedade, sendo um resultado importante encontrado pelo presente estudo. Já os resultados encontrados para os extratos naturais comerciais mostraram uma diminuição da dureza de superfície quando comparado aos demais grupos. Isso pode ter ocorrido pelas diferenças das formas de

apresentação dos extratos comerciais e experimentais, líquido e em pó, respectivamente. Com isso, quantidades diferentes foram incorporadas à massa de resina acrílica, e além disso, o extrato comercial possui álcool como veículo de sua formulação, e que pode ter interferido nos resultados encontrados, uma vez que a presença de solventes orgânicos, como o álcool, pode levar à degradação de plásticos e resinas (Youssif; Haddad, 2013).

O estudo da incorporação de agente antimicrobianos, principalmente aqueles obtidos de extratos naturais, tem grande potencial de desenvolvimento dentro da Odontologia. O presente estudo mostrou que é possível fazer a incorporação dos extratos naturais experimentais de casca de romã e semente de uva na resina acrílica, o que será de grande benefício para os usuários de próteses removíveis. Apesar disso, ainda existe um percurso longo para que essa incorporação seja feita da melhor forma, possibilitando um aumento da performance e qualidade deste material.

CONCLUSÃO

Diante desses resultados, concluiu-se que o extrato natural experimental de casca de romã apresentou a menor concentração inibitória mínima e maior efetividade de ação antimicrobiana, seguido do extrato natural experimental de uva.

Os extratos naturais comerciais de romã e uva promoveram alterações em todas as propriedades avaliadas, em relação ao grupo controle e os extratos naturais experimentais de romã e uva.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agostinho ACMG, Campos MLS, Silveira JLGC. Edentulismo, uso de prótese e autopercepção de saúde bucal entre idosos. Rev Odontol UNESP [online]. 2015; 44(2):74-9.
2. Ahmad N, Sharma S, Alam MK, Singh VN, Shamsi SF, Mehta BR, Fatma A. Rapid synthesis of silver nanoparticles using dried medicinal plant of basil. Colloids Surf B Biointerfaces. 2010 ;1;81(1):81-6.
3. Anusavice, KJ, Shen C, Rawls HR: Phillips' Science of Dental Materials (ed 12). St. Louis, MO, Saunders, 2012, pp 92-111
4. Apostolopoulos V, Antonipillai J, Tangalakis K, Ashton JF, Stojanovska L. Let's Go Bananas! Gren Bananas and their Health Benefits. Pril (Makedon Akad Nauk Umet Odd Med Nauki). 2017;38(2):147-151.

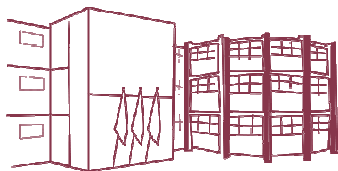
5. Aref NS. An In Vitro Assessment of Surface Roughness, Tensile Bond Strength and Antifungal Activity of Grape Seed Extract-modified Soft Liner. *J Contemp Dent Pract.* 2020;21(4):353-358.
6. Azevedo, R. H. DE. O Efeito Do Extrato De Semente De Uva Na Resistência Adesiva Ao Esmalte Branqueado. Universidade do Porto, 2020.
7. Badaró MM, Bueno FL, Makrakis LR, Araújo CB, Oliveira VC, Macedo AP, Paranhos HFO, Watanabe E, Silva-Lovato CH. Action of disinfectant solutions on adaptive capacity and virulence factors of the *Candida* spp. biofilms formed on acrylic resin. *J Appl Oral Sci.* 2021 Sep 3;29:e20210024.
8. Bankar A, Joshi B, Kumar AR, Zinjarde S. Banana peel extract mediated novel route for the synthesis of silver nanoparticles. *Colloids Surf, A Physicochem Eng Asp.* 2010; 368(1):58-63.
9. Bassiri-Jahromi S PhD, Pourshafie MR PhD, Mirabzade Ardakani E DVM, Ehsani AH MD, Doostkam A MD, Katirae F PhD, Mostafavi E PhD. In Vivo Comparative Evaluation of the Pomegranate (*Punica granatum*) Peel Extract as an Alternative Agent to Nystatin against Oral Candidiasis. *Iran J Med Sci.* 2018 May;43(3):296-304.
10. Bassiri-Jahromi S, Pourshafie MR, Mirabzade Ardakani E, Ehsani AH, Doostkam A, Katirae F, Mostafavi E. In Vivo Comparative Evaluation of the Pomegranate (*Punica granatum*) Peel Extract as an Alternative Agent to Nystatin against Oral Candidiasis. *Iran J Med Sci.* 2018;43(3):296-304.
11. Borges, Josiane Gonçalves. Incorporação de compostos ativos naturais em matrizes poliméricas para liberação oral utilizando a técnica de impressão. 2017. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.
12. Brambilla, G. et al. Estudo Comparativo Do Extrato Glicólico De Romã (*Punica Granatum* L.) À 10% Incorporado Em Enxaguatório Bucal Frente Ao Clorexidine 0,12%. *Odontologia: Serviços Disponíveis e Acesso*, p. 207–216, 2019.
13. Casemiro LA, Martins CHG, Pires-de-Souza FCP, Panzeri H. Antimicrobial and mechanical properties of acrylic resins with incorporated silver-zinc zeolite- part I. *Gerodontology.* 2008; 25: 187-94.
14. Celiksoy V, Moses RL, Sloan AJ, Moseley R, Heard CM. Synergistic activity of pomegranate rind extract and Zn (II) against *Candida albicans* under planktonic and biofilm conditions, and a mechanistic insight based upon intracellular ROS induction. *Sci Rep.* 2022 Nov 15;12(1):19560.

15. Coulthwaite L, Verran J. Potential pathogenic aspects of denture plaque. *Br J Biomed Sci.* 2007;64(4):180-9.
16. Cunha TR, Regis RR, Bonatti MR, Souza RF. Influence of incorporation of fluoroalkyl methacrylates on roughness and flexural strength of a denture base acrylic resin. *J Appl Oral Sci.* 2009;17:103-7.
17. Delaney C, O'Donnell LE, Kean R, Sherry L, Brown JL, Calvert G, Ramage G. Interkingdom interactions on the denture surface: Implications for oral hygiene. *Biofilm.* 2019;1:100002.
18. Dills SS, Olshan AM, Goldner S, Brogdon C. Comparison of the antimicrobial capability of an abrasive paste and chemical-soak denture cleaners. *J Prosthet Dent.* 1988;60(4):467-70.
19. Dwivedi M, Muralidhar S, Saluja D. Hibiscus sabdariffa Extract Inhibits Adhesion, Biofilm Initiation and Formation in *Candida albicans*. *Indian J Microbiol.* 2020 Mar;60(1):96-106.
20. Emaga TH, Andrianaivo RH, Wathelet B, Tchango JT, Paquot M. Effects of the stage of maturation and varieties on the chemical composition of banana and plantain peels. *Food Chemistry.* 2007;103:590-600.
21. Farias OR. Efeito da incorporação do Nitrato de Cério na resistência à flexão, rugosidade superficial e porosidade de uma resina acrílica termopolimerizável [dissertação]. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba; 2017.
22. Fawole OA, Makunga NP, Opara UL. Antibacterial, antioxidant and tyrosinase-inhibition activities of pomegranate fruit peel methanolic extract. *BMC Complement Altern Med.* 2012;12:200.
23. Foss SR, Nakamura CV, Ueda-Nakamura T, Cortez DA, Endo EH, Dias Filho BP. Antifungal activity of pomegranate peel extract and isolated compound punicalagin against dermatophytes. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2014;13:32.
24. Han Y. Grape Seed Extract Protects Mice against Disseminated Candidiasis. *Natural Product Sciences.* 2003;9(2):60-63.
25. Heidrich D, Fortes CBB, Mallmann AT, Vargas CM, Arndt PB, Scroferneker ML. Rosemary, Castor Oils, and Propolis Extract: Activity Against *Candida Albicans* and Alterations on Properties of Dental Acrylic Resins. *J Prosthodont.* 2019 Feb;28(2):e863-e868.

26. Ibrahim, H.M.M. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using banana peel extract and their antimicrobial activity against representative microorganisms. *J. Radiat. Res. Appl. Sci.* 2015;8(3):265-275.
27. Iinuma T, Arai Y, Abe Y, Takayama M, Fukumoto M, Fukui Y, Iwase T, Takebayashi T, Hirose N, Gionhaku N, Komiyama K. Denture wearing during sleep doubles the risk of pneumonia in the very elderly. *J Dent Res.* 2015 Mar;94(3 Suppl):28S-36S.
28. Jayan L, Priyadharsini N, Ramya R, Rajkumar K. Avaliação da atividade antifúngica de menta, romã e coentro em *Candida glabrata* resistente ao fluconazol. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2020;24:517-22.
29. Jayan L, Priyadharsini N, Ramya R, Rajkumar K. Evaluation of antifungal activity of mint, pomegranate and coriander on fluconazole-resistant *Candida glabrata*. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2020;24:517-22.
30. Jouneghani RS, Castro AHF, Panda SK, Swennen R, Luyten W. Antimicrobial Activity of Selected Banana Cultivars Against Important Human Pathogens, Including *Candida* Biofilm. *Foods.* 2020 Apr 4;9(4):435.
31. Kapadia SP, Pudakalkatti PS, Shivanaikar S. Detection of antimicrobial activity of banana peel (*Musa paradisiaca* L.) on *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: An in vitro study. *Contemp Clin Dent.* 2015;6(4):496-9.
32. Kasali K, Yoshimura M, Koga T, Arii M, Kawasaki S. Effects of oral administration of ellagic acid-rich pomegranate extract on ultraviolet-induced pigmentation in the human skin. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 2006;52(5): 383-88.
33. Kulak-Ozkan Y, Kazazoglu E, Arikan A. Oral hygiene habits, denture cleanliness, presence of yeasts and stomatitis in elderly people. *J Oral Rehabil.* 2002;29(3):300-4.
34. Kumar V, Yadav SK. Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. *J Chem Technol Biotechnol.* 2009;84(2):151-7.
35. Leite VM, Pinheiro JB, Pisani MX, Watanabe E, de Souza RF, Paranhos HFO, Lovato-Silva CH. In vitro antimicrobial activity of an experimental dentifrice based on *Ricinus communis*. *Braz Dent J.* 2014;25(3):191-6.
36. Leoncio, JSY. Estudo in vitro da atividade antibacteriana do cimento de ionômero de vídeo contendo extrato de semente de uva. Dissertação apresentada à UNOPAR, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Odontologia. Londrina, 2016.
37. Lima Júnior JF, Dimenstein MA. Fitoterapia na Saúde Pública em Natal/RN: visão do odontólogo. *Rev Saúde.* 2006;8(19):1937-44.

38. Lisboa, CR, Chianca, TCM. Epidemiological, clinical and of functional independence profile of an institutionalized elderly population. *Revista brasileira de enfermagem*. 2012;65(3):482–488.
39. Liu, Y. DUSEVICH, V. WANG, Y. Addition of grape seed extract renders phosphoric acid a collagen-stabilizing etchant. *J. Dent. Res*. 2014; 93:821–827
40. Loyaga-Castillo M, Calla-Poma RD, Calla-Poma R, Requena-Mendizabal MF, Millones-Gómez PA. Antifungal Activity of Peruvian Banana Peel (*Musa paradisiaca* L.) on *Candida albicans*: An In Vitro Study. *J Contemp Dent Pract*. 2020;21(5):509-514.
41. Maciel, A. C. et al. Edentulismo, uso de prótese e autopercepção de saúde bucal entre idosos. *Revista de Odontologia da UNESP*. 2015;44(2):74–79.
42. Murtomaa H, Meurman JH. Mechanical aids in the prevention of dental diseases in the elderly. *International dental journal*. 1992;42(5):365-72.
43. Nonato, C.N. Munoz, F.A.F. Domingos, P.A.S. Donato, H.A.R. Dinelli, W. Diferentes Materiais Associados A Sistemas Adesivos: Avaliação Do Efeito Antimicrobiano. *J Res Dent*. 2019;7(2):30-37.
44. Oliveira Júnior NM, Paleari AG, Rodriguez LS, Marin DOM, Pero NA, Compagnoni MA. Resistência à flexão de uma resina acrílica após a incorporação de um polímero antimicrobiano. *Revista de Odontologia da UNESP*. 2011;40(3): 131-135.
45. Owusu-Boadi E, Akuoko Essuman M, Mensah G, Ayamba Ayimbissa E, Boye a. Antimicrobial activity against oral pathogens confirms the use of *musa paradisiaca* fruit stalk in ethnodentistry. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2021 Sep 4;2021:8663210.
46. Pereira JV, Pereira MSV, Higino JS, Sampaio FC, Alves PM, Araújo CRF. Estudos com o extrato da *Punica granatum* Linn. (Romã): efeito antimicrobiano in vitro e avaliação clínica de um dentifrício sobre microrganismos do biofilme dental. *Revista Odonto Ciência*. 2005; 20(49):262–269
47. Pero AC, Ignácio J, Giro G, Mendoza-Marin DO, Paleari AG, Compagnoni MA. Surface properties and color stability of an acrylic resin combined with an antimicrobial polymer. *Revista de Odontologia da UNESP*. 2013; 40(4):237–242.
48. Prathna TC, Chandrasekaran N, Raichur AM, Mukherjee A. Biomimetic synthesis of silver nanoparticles by *Citrus limon* (lemon) aqueous extract and theoretical prediction of particle size. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2011; 82(1):152-9.
49. Ramos, Luana Andrade. Avaliação microbiológica do extrato de romã (*Punica granatum* L.). 2016. 50 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Faculdade Maria Milza, Governador Mangabeira, Bahia, 2016.

50. Reddy GV, Sen AR, Nair PN, Reddy KS, Reddy KK, Kondaiah N. Effects of grape seed extract on the oxidative and microbial stability of restructured mutton slices. *Meat Sci.* 2013;95(2):288-94.
51. Rigopoulos N, Thomou E, Kouloumpis A, Lamprou ER, Petropoulea V, Gournis D, Poullos E, Karantonis HC, Giaouris E. Optimization of Silver Nanoparticle Synthesis by Banana Peel Extract Using Statistical Experimental Design, and Testing of their Antibacterial and Antioxidant Properties. *Curr Pharm Biotechnol.* 2019; 20(10):858-873.
52. Rockenbach II, Gonzaga LV, Rizelio VM, Gonçalves AESS, Genovese MI, Fett R. Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) pomace from Brazilian winemaking. *Food Research International*, 2011; 44(4):897-901.
53. Rodriguez LS, Paleari AG, Oliveira Júnior NM, Marra J, Pero NA, Compagnoni MA. Caracterização química e resistência à flexão de uma resina acrílica após a incorporação de um polímero com atividade antimicrobiana. *Revista de Odontologia da UNESP.* 2011;40(5):228-235.
54. Shibata T, Hamada N, Kimoto K, Sawada T, Sawada T, Kumada H, et al. Antifungal effect of acrylic resin containing apatite-coated TiO₂ photocatalyst. *Dent Mater J.* 2007;26:437-44.
55. Soares, D.G.S. et al. Atividades antibacterianas de tinturas de plantas tropicais sobre microrganismos da cavidade bucal. *Rev. Odont. Araçatuba.* 2008;29(1):20-24.
56. Unusan, N. Proanthocyanidins in grape seeds: An updated review of their health benefits and potential uses in the food industry. *Journal of Functional Foods*, v. 67, n. November 2019, p. 103861, 2020.
57. Vajpayee M, Singh M, Ledwani L, Prakash R, Nema SK. Investigation of Antimicrobial Activity of DBD Air Plasma-Treated Banana Fabric Coated with Natural Leaf Extracts. *ACS Omega.* 2020;5(30):19034-19049.
58. Yousif E, Haddad R. Photodegradation and photostabilization of polymers, especially polystyrene: review. *Springerplus.* 2013;2:398.
59. Zissis AJ, Polyzois GL, Yannikakis SA, Harrison A. Roughness of Denture Materials: A Comparative Study. *Int J Prosthodont.* 2000;13(2):136-40.
60. Sabo J, Farkasová S, Droppa M, Žiarovská J, Kačániová M. Molecular Fingerprinting and Microbiological Characterisation of Selected *Vitis vinifera* L. Varieties. *Plants (Basel).* 2022 Dec 5;11(23):3375. doi: 10.3390/plants11233375. PMID: 36501415; PMCID: PMC9736876.



Folha de Informação

Em consonância com a Resolução CoCEx-CoG nº 7.497/2018, informamos que a Comissão de Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FORP/USP) em sua 531ª Reunião Ordinária, realizada em 03 de junho de 2024, **aprovou**, fundamentando-se na sugestão da Subcomissão para Avaliação dos Trabalhos de Conclusão de Curso (TCCs) da Unidade, **a inclusão deste trabalho na Biblioteca Digital de Trabalhos Acadêmicos da USP (BDTA).**

Cumpre-nos destacar que a disponibilização deste trabalho na BDTA foi autorizada pelos autores (estudante e docente orientador), conforme menção constante no trabalho e documentação existente no Serviço de Graduação da FORP.

Ribeirão Preto, 03 de junho de 2024.

Prof. Dr. Michel Reis Messoria
Presidente da Comissão de Graduação
FORP/USP