

Estudo da propriedade antibacteriana e da incorporação do óleo de melaleuca em bionanocompósito de PLA e argila montmorilonita.

L. B. Proença¹, M. C. Branciforti¹, C. A. P. Pena¹, G.V. da Silva², I. L. B. C. Camargo²

¹Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos, SP, Brazil

²Universidade de São Paulo, Instituto de Física de São Carlos, SP, Brazil
 e-mail: lbragap@usp.br

Resumo

A presença de microorganismos em feridas da pele pode acarretar em infecções que dificultam o processo de cicatrização. Com o objetivo de investigar novos agentes antimicrobianos capazes de eliminar microorganismos resistentes, o óleo de melaleuca foi avaliado quanto às suas propriedades antibacterianas. A argila montmorilonita (MMT) foi escolhida para atuar como reservatório do óleo de melaleuca e posteriormente, constituir um bionanocompósito de polímero-argila para aplicação em curativos antimicrobianos. O teste de disco difusão avaliou a propriedade antimicrobiana do óleo essencial. A incorporação do óleo e do glicerol na MMT e suas misturas no bionanocompósito com poli(ácido láctico) (PLA) foi avaliada por ensaios de difratometria de raio-x (DRX). O óleo de melaleuca apresentou propriedades antibactericidas às cepas *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Quanto aos resultados de DRX, estes revelaram que o óleo foi incorporado com sucesso na estrutura da argila visto que ocorreu o aumento da distância interlamelar do pico $d_{(001)}$ da argila.

Keywords: nanoargila; óleo essencial; agente antimicrobiano; curativo; liberação controlada.

Introdução

O desenvolvimento de curativos antimicrobianos surgiu da necessidade de evitar a contaminação da ferida por microorganismos [1]. Devido ao ritmo acelerado de surgimento de bactérias resistentes, diversas alternativas terapêuticas e agentes antimicrobianos, como óleos essenciais, têm sido investigados a fim de melhorar a eficiência desse tipo de cobertura [2].

Os óleos essenciais são constituídos de uma mistura de diversos componentes, o que os tornam mais eficientes na eliminação de bactérias resistentes do que os antibióticos, compostos de apenas uma entidade molecular [3]. O óleo de melaleuca apresenta diversas propriedades antibacteriana, antiviral e anti-inflamatória. Além disso, estudos mostram uma boa eficiência do óleo contra bactérias gram-positivas e gram-negativas [4,5].

A montmorilonita (MMT) é uma nanoargila que apresenta uma estrutura cristalina lamelar capaz de acomodar diferentes compostos orgânicos [6,7]. Essa característica permite que a MMT seja empregada em nanocompósitos ou em sistemas de liberação controlada [8].

Procedimento Experimental

Ensaio antibacteriano

Foram utilizadas as cepas da American Type Culture Collection (ATCC): *Escherichia coli* ATCC25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC29213. Na placa de Petri Ágar Müeller Hinton foi adicionado 7 µL do óleo essencial de melaleuca adquirido da empresa Amazon. O período de incubação foi de 24 horas. Os ensaios foram repetidos após 7 dias.

Incorporação do óleo essencial de Melaleuca na argila MMT

A incorporação do óleo essencial na argila foi feita utilizando o ultrassom de ponteira Hielscher UP400S, potência 400W, frequência de 20 KHz. Cinco amostras foram produzidas nas proporções mostradas na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição das amostras produzidas no ultrassom.

Amostra	MMT (%m/m)	Óleo (%m/m)	Glicerol (%m/m)	Tween 80 (%m/m)
MMT+O3	45	45	-	10
MMT+O6	29	58	-	13
MMT+Glicerol	25	-	75	-
MMT+O3+Glicerol	19	19	57	5
MMT+O6+Glicerol	15	30	45	10

Em todas as amostras foram adicionados 50ml de água. Cada mistura foi homogeneizada por 1 minuto com o Ultra-Turrax T25 IKA Labortechnik na velocidade de 19.000 rpm. Em seguida, a irradiação ultrassônica foi realizada por 30 minutos, com a sonda imersa na solução. Durante esse período, o recipiente contendo a solução foi mantido em agitação magnética, sendo resfriado continuamente a fim de manter a temperatura próxima a do ambiente. Posteriormente, todas as amostras foram secas a 110° C durante 24 horas.

Difratometria de Raio-X (DRX)

O ensaio foi realizado no difratômetro da marca Rigaku, modelo Ultima IV, utilizando tubo selado de Cu ($\lambda_{Cu - K\alpha} = 1,5405 \text{ \AA}$),

velocidade de varredura de 1°/min, no intervalo de 1,5°- 30° em passos de 0,02°/s, a 40 kV e 40 A.

Produção dos bionanocompósitos

Para a produção dos bionanocompósitos foi utilizada a extrusora de bancada AX Plásticos. A velocidade de rotação da rosca foi de 30 rpm e as temperaturas nas zonas de alimentação, compressão e dosagem foram de 185, 190 e 190 °C, respectivamente. Inicialmente, os pellets de PLA foram misturados com as amostras obtidas após a etapa de ultrassom (3% m/m em relação ao polímero). Além disso, outras duas amostras foram produzidas contendo apenas montmorilonita (3% m/m) e polímero puro. Em seguida, essa mistura foi adicionada na extrusora, gerando filamentos que foram resfriados a temperatura ambiente e cortados em pellets. Essa etapa visava também propiciar maior esfoliação e dispersão da argila. Por fim, os bionanocompósitos foram obtidos por termoprensagem a 180 °C e resfriados lentamente até a temperatura ambiente.

Resultados e Discussões

Os resultados do ensaio antibacteriano mostraram a formação de um halo inibitório de 16 e 18 mm nas placas de *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente. A Figura 1 mostra a placa de *E. coli* e o halo formado em destaque.

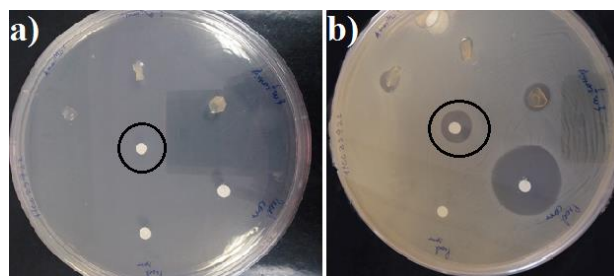


Figura 1 - Amostra de óleo com *E. coli* ATCC25922 a) antes e b) após incubação de 24 horas.

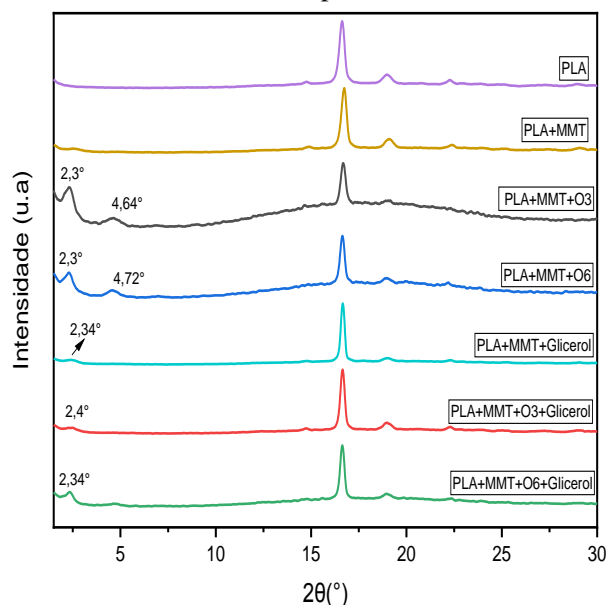
A Tabela 2 apresenta as distâncias interlamelares calculadas para as 5 amostras submetidas ao processo de ultrassom.

Tabela 2 - Distâncias interlamelares $d_{(001)}$.

Amostra	$d_{(001)}$ (nm)
MMT pura	2,55
MMT+Glicerol	3,06
MMT+O3	3,52
MMT+O6	4,03
MMT+O3+Glicerol	4,24
MMT+O6+Glicerol	4,67

Percebe-se que a adição de óleo essencial promove melhores resultados de esfoliação do que o glicerol puro. Porém, a combinação desses dois componentes acarreta em um deslocamento ainda maior do pico do plano $d_{(001)}$. Isso indica que a mistura de óleo essencial e glicerol é interessante para promover uma melhor esfoliação da argila. A Figura 2 apresenta os resultados de DRX do PLA puro e dos bionanocompósitos produzidos.

Figura 2 – DRX do PLA puro e dos bionanocompósitos.



Todas as amostras revelaram a presença do plano $d_{(001)}$ em ângulos de 2θ menores que o da argila pura, indicando que houve melhora

na esfoliação da MMT após o processamento. Um segundo pico também é observado nas amostras de PLA com apenas MMT e óleo. De acordo com a literatura [9], esse pico indica que houve aglomeração das partículas de MMT no nanocompósito produzido, já que foi formado em um ângulo 2θ maior que o da argila pura ($2\theta = 3,45^\circ$). A presença de glicerol resultou na ausência desse segundo pico, comprovando que esse composto auxilia na esfoliação e dispersão da argila com óleo incorporado.

Conclusões

As cepas analisadas apresentam suscetibilidade ao óleo de melaleuca de forma similar. A técnica de ultrassom mostrou-se eficaz para promover a incorporação do óleo e do glicerol entre as lamelas da argila. O glicerol auxiliou na dispersão e esfoliação da argila com óleo incorporado.

Agradecimentos

À CAPES, cód. financiamento 001 e ao Prof. S. Campana Filho do IQSC.

Referências

- [1] D. Simões; S. Miguel; M. Ribeiro; et al. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2018, 127, 130–141.
- [2] D. C. Mirante, Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2015.
- [3] F. Solórzano-Santos; M. G. Miranda-Novales. *Current Opinion in Biotechnology*. 2012, 23, 136.
- [4] R. Zeng, C. Lin, Z. Lin et al. *Cell and Tissue Research*. 2018, 374, 217.
- [5] C. F. Carson, T. V. Riley, B. D. Cooksont. *Journal of Hospital Infection*. 1998, 40, 175.
- [6] F. Tornuk; O. Sagdic; M. Hancer; et al. *Food Research International*. 2018, 107, 337.
- [7] S. Jayrajsinh; G. Shankar; Y. Agrawal et al. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2017, 39, 200.
- [8] J. Moraes, S. Bertolino, S. Cuffini et al. *International Journal of Pharmaceutics*. 2017, 534, 213.
- [9] Rhim, J.-W., Hong, S.-I., and Ha, C.-S., 2009, "Tensile, Water Vapor Barrier and Antimicrobial Properties of PLA/Nanoclay Composite Films," *LWT - Food Sci. Technol.*, **42**(2), pp. 612–617.