

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS**

LARISSA BRAGA PROENÇA

**Desenvolvimento e caracterização de bionanocompósitos de poli(ácido) lático e argila
montmorilonita incorporados com óleo essencial de melaleuca**

**São Carlos
2020**

LARISSA BRAGA PROENÇA

Desenvolvimento e caracterização de bionanocompósitos de poli(ácido) láctico e argila montmorilonita incorporados com óleo essencial de melaleuca

Versão corrigida

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Desenvolvimento, Caracterização e Aplicação de Materiais.

Orientadora: Márcia Cristina Branciforti

**São Carlos
2020**

**AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTES
TRABALHOS, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO,
PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da
EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

317d Proença, Larissa Braga
Desenvolvimento e caracterização de
bionanocompósitos de poli(ácido) láctico e argila
montmorilonita incorporados com óleo essencial de
melaleuca / Larissa Braga Proença; orientador Márcia
Cristina Branciforti. São Carlos, .

Dissertação (Mestrado) - Programa de
Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais e
Área de Concentração em Desenvolvimento, Caracterização
e Aplicação de Materiais -- Escola de Engenharia de São
Carlos da Universidade de São Paulo, .

1. agente antimicrobiano. 2. óleo essencial. 3.
nanoargila. 4. esfoliação. 5. curativo. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Engenheira **LARISSA BRAGA PROENÇA**.

Título da dissertação: "Desenvolvimento e caracterização de bionanocompósitos de poli(ácido) láctico e argila montmorilonita incorporados com óleo essencial de melaleuca".

Data da defesa: 09/12/2020.

Comissão Julgadora

Resultado

Profa. Associada **Marcia Cristina Branciforti**

Aprovada

(Orientadora)

(Escola de Engenharia de São Carlos – EESC/USP)

Profa. Dra. **Aline Bruna da Silva**

Aprovada

(Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais - CEFET-MG)

Profa. Dra. **Eliana Cristina da Silva Rigo**

Aprovada

(Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - FZEA/USP)

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais:

Prof. Associado **Marcelo Falcão de Oliveira**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Titular **Murilo Araujo Romero**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me dar saúde e energia para desenvolver os meus projetos de vida.

À minha orientadora, Prof. Márcia Cristina Branciforti, pela atenção, confiança e disponibilidade durante todo o mestrado.

À minha família pelo apoio emocional e financeiro, em especial no momento conturbado de mudança para São Carlos.

Às minhas amigas, Bárbara e Geisiane, que me incentivaram na busca de novas oportunidades e que sempre estavam presentes no meu dia a dia, ainda que distantes fisicamente.

Aos amigos de departamento por deixarem essa jornada mais leve e divertida, especialmente à Ana Beatriz Emílio, Camila Teixeira, Francisco Vieira, Higor Centurion, Johnata Cavalcanti, Lucas Fuscaldi, Lucas Soares, Thalles Lucas e Weverton Alison.

Ao grupo de pesquisa do Prof. Sérgio P. Campana Filho que disponibilizou o ultrassom de ponteira para realizar uma das etapas do projeto de mestrado.

Ao técnico José Augusto Lopes e a Prof. Yvonne Primerano Mascarenhas, do grupo de cristalografia, pelos ensaios de DRX.

Ao pessoal do grupo LEMiMo, chefiado pela Prof. Ilana L. B. C. Carmago, que me ajudaram com os ensaios de atividade antimicrobiana, especialmente à Gabriela Righetto que foi bastante prestativa e simpática todas as vezes que nos comunicamos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Ame a vida que tem enquanto cria a vida dos seus sonhos.
Não pense que precisa esperar pela última para começar a fazer a primeira”.

Hal Elrod

RESUMO

PROENÇA, L. B. **Desenvolvimento e caracterização de bionanocompósitos de poli(ácido) láctico e argila montmorilonita incorporados com óleo essencial de melaleuca.** 71p. Dissertação (Mestrado) –Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2020.

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 essencial de melaleuca (OE) foi avaliado quanto às suas propriedades antimicrobianas. Bionanocompósitos antimicrobianos foram preparados porsonicação seguida de intercalação por fusão. A argila montmorilonita (MMT), glicerol (Gli) e o poli (ácido láctico) (PLA) foram escolhidos para constituir obionanocompósitode polímero-argila para aplicação em curativos. A MMT é interessante para este uso uma vez que retém e promove uma liberação controlada do composto ativo no local da ferida. O PLA sintético foi aprovado pela Food and Drug Administration para aplicações em curativos. O glicerol foi adicionado aos bionanocompósitos com o intuito de avaliar o efeito deste na esfoliação e na dispersão da argila na matriz polimérica. O teste de disco difusão foi realizado para avaliar as propriedades antimicrobianas do óleo essencial. Ensaios de difração raio-x (DRX) e microscopia eletrônica de varredura (MET) foram realizados a fim de analisar a extensão da intercalação/esfoliação da argila. As propriedades mecânicas e térmicas dos bionanocompósitos produzidos foram avaliadas por meio da análise térmica dinâmico-mecânica (DMTA) e análise termogravimétrica (TGA). Por fim, a atividade antimicrobiana dos bionanocompósitos produzidos foi avaliada de acordo com a norma ISO221961. O óleo de melaleuca apresentou propriedades antimicrobianas às cepas *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Os resultados de DRX e MET revelaram que os bionanocompósitos produzidos apresentaram morfologias predominantemente intercaladas/esfoliadas. O ensaio da ISO221961 mostrou que os compostos orgânicos foram incorporados aos bionanocompósitos e o número de células viáveis de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foi reduzido significativamente nas amostras com adição de óleo essencial e glicerol.

Palavras-chave: agente antimicrobiano, óleo essencial, nanoargila, esfoliação, curativo.

ABSTRACT

PROENCA, L. B. **Development and characterization of poly(lactic acid) and montmorillonite clay bionanocomposites incorporated with tea tree oil.** 71p. Dissertation (M. Sc) – São Carlos School of Engineering, University of São Paulo, São Carlos, 2020.

The presence of microorganisms in skin wounds can lead to infections that hamper the healing process, therefore, growing interest has been given to the development of antimicrobial dressing. This study evaluated the ability of tea tree essential oil (EO) to eliminate resistant microorganisms. Antimicrobial bionanocomposites were prepared in two steps, namely sonication followed by melt intercalation. Montmorillonite clay (MMT), glycerol (Gly) and poly(lactic acid) (PLA) were chosen for constituting a polymer-clay bionanocomposite for application in wound dressing. MMT retains and promotes a controlled release of the drug into the wound. Synthetic PLA has been approved by Food and Drug Administration for wound dressing applications. Glycerol was added to bionanocomposites in order to evaluate its effect on exfoliation and clay dispersion into the polymer matrix. Disk diffusion tests evaluated the antimicrobial properties of tea tree oil. X-ray diffraction (XRD) and transmission electron microscopy (TEM) were performed to analyze the extent of clay intercalation/exfoliation. Mechanical and thermal properties of the produced bionanocomposites were evaluated by dynamic-mechanical analysis (DMTA) and thermogravimetric analysis (TGA). Finally, antimicrobial activity of the bionanocomposites was measured according to ISO221961 standard. Tea tree essential oil showed effective against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. XRD and TEM results indicated that intercalated/exfoliated morphologies were obtained in the produced bionanocomposites. ISO221961 test showed that organic compounds were incorporated into the bionanocomposites and the number of viable *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* cells was significantly reduced in the samples with the addition of essential oil and glycerol.

Keywords: antimicrobial agent, essential oil, nanoclay, exfoliation, wound dressing.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Correlação entre os diferentes perfis de liberação de droga e o tempo de ação. **Erro! Indicador não definido.**

Figura 2: Estrutura do poli(ácido)lático.....	28
Figura 3: Terpenos presentes no óleo de Melaleuca.....	32
Figura 4: Estrutura das argilas esmectitas.....	34
Figura 5: Caminho tortuoso do fármaco dentro do nanocompósito de polímero-argila.....	35
Figura 6: Representação esquemática de alguns tipos de interações entre argila-fármaco.....	36
Figura 7: Mecanismo do sistema de liberação controlada do complexo MMT/fármaco.....	37
Figura 8: Estruturas dos nanocompósitos: fase separada, intercalada e esfoliada.....	38
Figura 9: Representação esquemática das técnicas de preparação de nanocompósitos baseados em nanoargila e polímero: a) polimerização in situ, b) intercalação no polímero fundido, e c) intercalação por solvente (também conhecido como <i>solvente casting</i>).....	39
Figura 10: Representação das prováveis interações existentes nos nanocompósitos de EVA, Cloisite [®] 20A e glicerol a) antes e b) após o processo de mistura.....	41
Figura 11: Amostra de óleo de melaleuca com <i>E. coli</i> ATCC25922a) antes e b) após incubação de 24 h.....	47
Figura 12: Amostra de óleo de melaleuca com <i>S. aureus</i> ATCC29213 a) antes e b) após incubação de 24 h.....	47
Figura 13: Difratoogramas de raio-x da a) MMT pura e das amostras preparadas no ultrassom e b) ampliação dos difratogramas das amostras com maior percentual de OE.....	48
Figura 14: Corpos de prova dos bionanocompósitos processados.....	50
Figura 15: Difratoogramas de raio-x dos bionanocompósitos de a) PLA+MMT, b) PLA+MMT+Gli, c) PLA+MMT+OE10, d) PLA+MMT+EO20, e) PLA+MMT+OE10+Gli, e f) PLA+MMT+OE20+Gli.....	51
Figura 16: Micrografias de MET dos bionanocompósitos de a) PLA+MMT, b) PLA+MMT+Gli, c) PLA+MMT+OE20 e d) PLA+MMT+OE20+Gli.....	53
Figura 17: Curvas de a) módulo de armazenamento (E') e de b) $\tan(\delta)$ versus temperatura do	

PLA puro e dos bionanocompósitos.....	54
Figura 18: Curvas de a) TG e b) DTG do OE, do PLA puro e dos bionanocompósitos.....	57
Figura 19: Redução do número de células viáveis por cm ² (CFU/cm ²) nos bionanocompósitos inoculados com a) <i>S. aureus</i> ATCC 25923 e b) <i>E. coli</i> ATCC 25922.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Modelos cinéticos de liberação controlada.	Erro! Indicador não definido.
Tabela 2: Principais propriedades do PLA.	29
Tabela 3: Comparação das propriedades do PLA puro e do nanocompósito de PLA/4% MMT.	30
Tabela 4: Composição das amostras inicialmente produzidas no ultrassom.	43
Tabela 5: Ângulos de difração (2θ) e distâncias interlamelares ($d_{(001)}$) das amostras submetidas ao ultrassom.	49
Tabela 6: Módulo de armazenamento (E') e $\tan\delta$ do PLA puro e dos bionanocompósitos. O resultado entre parênteses indica o ganho (+) ou perda (-) de E' em relação ao PLA puro.	55
Tabela 7: Temperaturas de início ($T_{\text{início}}$) e máxima ($T_{\text{máx}}$) perda de massa e percentual de resíduo.	58

LISTA DE SIGLAS

ATCC: American Type Culture Collection

ATCC: American Type Culture Collection

CP: Corpos de prova

DMTA: Análise térmica dinâmico-mecânica

DRX: Difractometria de raio-x

E': Módulo de armazenamento

FDA: *Food and drug administration*

Gli: Glicerol

HDT: Temperatura de deflexão térmica

k: Constante de liberação cinética

MET: Microscopia eletrônica de transmissão

MMT: Argila montmorilonita

M_w: Peso molecular ponderal médio

n: Expoente característico da difusão

OE: Óleo essencial

PDLA: Poli (D-láctido)

PDLLA: Poli (DL-láctido)

PHA: Polihidroxialcanoato

PHB: Polihidroxibutirato

PLA: Poli(ácido) láctico

PLLA: Poli (L-láctido)

Q₀: Quantidade inicial de fármaco na solução

Q_t: Quantidade de fármaco liberada no tempo t

Tanσ: Razão entre o módulo de perda pelo módulo de armazenamento

T_g: Temperatura de transição vítrea

TGA: Análise termogravimétrica

T_{início}: Temperatura de início de perda de massa

T_{máx}: Temperatura de máxima perda de massa

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	21
1.1. Objetivo geral.....	22
1.1.1. Objetivos específicos	22
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	24
2.1. Feridas na pele.....	24
2.2. Curativos antimicrobianos.....	25
2.3. Sistema de liberação controlada de fármacos	Erro! Indicador não definido.
2.4. Biopolímeros e bionanocompósitos	27
2.5. Óleos essenciais.....	30
2.6. Argila montmorilonita.....	33
2.7. Obtenção de nanocompósitos.....	38
3. MATERIAIS E MÉTODOS	42
3.1. Materiais.....	42
3.2. Métodos.....	42
3.2.1. Ensaio antibacteriano	42
3.2.2. Incorporação do óleo essencial nas lamelas de argila.....	42
3.2.3. Difractometria de raio-x (DRX)	43
3.2.4. Produção dos bionanocompósitos.....	44
3.2.5. Microscopia eletrônica de transmissão (MET).....	44
3.2.6. Análise térmica dinâmico-mecânica (DMTA)	44
3.2.7. Análise termogravimétrica (TGA).....	45
3.2.8. Medida da atividade antimicrobiana em superfícies plásticas.....	45
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1. Ensaio antibacteriano do óleo de melaleuca	47
4.2. Difractometria de raio-x(DRX) das amostras preparadas no ultrassom	48
4.3. Caracterização dos bionanocompósitos	50

4.3.1.	Difratometria de raio-x	50
4.3.2.	Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	53
4.3.3.	Análise térmica dinâmico-mecânica (DMTA).....	54
4.3.4.	Análise termogravimétrica (TGA)	57
4.3.5.	Medida da atividade antimicrobiana em superfícies plásticas	60
5.	CONCLUSÕES	64
6.	REFERÊNCIAS.....	65

1. INTRODUÇÃO

As feridas na pele podem ser causadas por queimaduras, cortes, incisões cirúrgicas ou mesmo geradas por algum tipo de doença. Essas lesões levam a perda da função protetora da pele contra os microorganismos externos, propiciando um ambiente favorável para a colonização e crescimento de bactérias(LI; KNETSCH, 2018; SIMÕES et al., 2018). O microorganismo mais comum na ferida é o *Staphylococcus aureus*; porém grande parte dos casos a infecção tende a ser polimicrobial, com a presença de bactérias do tipo *Staphylococcusepidermidis*, *Escherichia coli* ou *Pseudomonasaeruginosa*(AUBERT-VIARD et al., 2019).

O poli(ácido) láctico (PLA) é um dos polímeros sintéticos mais usados na produção de curativos. Por ser biodegradável, este material é interessante para reduzir os danos causados pela troca da cobertura (LI; KNETSCH, 2018). A lenta taxa de degradação do PLA permite que o tecido lesado tenha tempo suficiente para passar pelo processo de reparação da pele (GHORBANI et al., 2018). Além disso, os produtos da degradação deste polímero não são tóxicos, sendo portanto, um ótimo material para ser usado em aplicações biomédicas (FARAH; ANDERSON; LANGER, 2016).

O desenvolvimento de coberturas antimicrobianas surgiu da necessidade de evitar a contaminação da ferida por esses microorganismos (SIMÕES et al., 2018). 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 (MIRANTE, 2015).

Óleos essenciais são interessantes para aplicação em coberturas antimicrobianas uma vez que apresentam uma mistura complexa de diversos componentes. Essa característica dos óleos naturais propicia uma melhor eliminação de bactérias resistentes do que os antibióticos, compostos de apenas uma entidade molecular(SOLÓRZANO-SANTOS; MIRANDA-NOVALES, 2012). 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, bacilos ácidos resistentes, leveduras e fungos; fato que tem permitido empregá-lo em antissépticos para a pele(CARSON et al., 2005; ZENG et al., 2018).

O avanço da nanomedicina e da nanotecnologia tem possibilitado a criação de

coberturas que entregam fatores de crescimento, terapias celulares, terapias genéticas e agentes antimicrobianos que estimulam a cicatrização(JAHROMI et al., 2018). A argila montmorilonita (MMT) é uma nanoargila bastante investigada para atuar como carregadora desses compostos ativos. Esta argila apresenta uma estrutura cristalina formada por duas camadas tetraédricas de Si-O e uma camada octaédrica central de óxido Al-O que, combinadas, constituem uma lamela(JAYRAJSINH et al., 2017; TORNUK et al., 2018). A distância existente entre essas lamelas é suficiente para acomodar diferentes compostos orgânicos na estrutura da argila, permitindo a formação de nanocompósitos ou incorporação de drogas(ALEXANDRE et al., 2016). Esse espaçamento interlamelar determina o grau de esfoliação da argila e o nível de interação molecular entre o composto orgânico e inorgânico (CHAUDHARY; LIU, 2013).

A introdução de óleo essencial entre as camadas de argila é interessante visto que dessa maneira o composto ativo pode ser liberado de forma controlada. Além disso, quando esse compósito argila-óleo essencial é inserido dentro de uma matriz polimérica, o composto ativo fica protegido contra as condições de processamento do polímero (GIANNAKAS et al., 2017).

A incorporação de nanoargila e óleo essencial em biopolímeros tem sido importantes nas aplicações voltadas para a indústria farmacêutica e biomédica uma vez que esta combinação propicia um material com propriedades térmicas e físico-mecânicas melhoradas; além de promover atividade antimicrobiana e antioxidante ao produto final(MISHRA et al., 2014; ALBOOFETILEH et al., 2018; GARRIDO-MIRANDA et al., 2018).

1.1. Objetivo geral

- Desenvolver e caracterizar bionanocompósitos a base de PLA, argila MMT, glicerol e óleo essencial de melaleuca para aplicação em coberturas antimicrobianas.

1.1.1. Objetivos específicos

- Avaliar as propriedades antimicrobianas do óleo essencial de melaleuca;
- Incorporar o óleo essencial de melaleuca na argila MMT;

- Produzir bionanocompósitos de PLA/MMT incorporados com o óleo de melaleuca;
- Avaliar as propriedades antimicrobianas do bionanocompósito produzido;
- Caracterizar os corpos de prova para avaliar propriedades mecânicas e térmicas;
- Investigar a atuação do glicerol na melhora da esfoliação e dispersão da argila na matriz polimérica.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Feridas na pele

As feridas na pele podem ser causadas por queimaduras, cortes, incisões cirúrgicas ou mesmo geradas por algum tipo de doença. São classificadas em feridas agudas quando apresentam sinais de cicatrização em menos de três meses e, em feridas crônicas, quando a cicatrização não acontece dentro desse intervalo(SIMÕES et al., 2018; ZENG et al., 2018).

As feridas crônicas normalmente são causadas por doenças como úlceras de pressão, úlceras do pé diabético, úlceras nas pernas e feridas fungosas(VIJAYAKUMAR et al., 2019). Esse tipo de lesão apresenta alto risco de infecção bacteriana devido ao ambiente ser pobre em oxigênio e rico em proteínas(DERAKHSHANDEH et al., 2018).

A colonização microbiana em feridas abertas causa o aumento do edema, calor, dor, exsudato, vermelhidão da pele e mau cheiro(FONDER et al., 2008). Além disso, as infecções provocam necrose do tecido, dificultando o processo de cicatrização e aumentando os danos ao paciente(AUBERT-VIARD et al., 2019).

O microorganismo mais comum na ferida é o *Staphylococcus aureus*; porém grande parte dos casos a infecção tende a ser polimicrobial, com a presença de bactérias como *Staphylococcusepidermidis*, *Escherichia coli* ou *Pseudomonasaeruginosa*(AUBERT-VIARD et al., 2019). No primeiro estágio de um processo infeccioso estão presentes organismos gram positivos como *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Streptococcuspyogenes* (*S. pyogenes*). Já nos estágios mais crônicos, espécies gram negativas como *Escherichia coli* (*E. coli*) e *Pseudomonasaeruginosa* (*P. aeruginosa*) tendem a invadir o local da ferida(SIMÕES et al., 2018).

A identificação do grau de severidade e do tipo de infecção presente na ferida é de extrema importância para o cuidado adequado da lesão(KIM et al., 2019). Após a avaliação inicial,efetuam-se as etapas de limpeza,desbridamento, fechamento primário ou intervenção secundária, tratamento antimicrobiano e anti-inflamatório e por fim, aplicação de cobertura (ZENG et al., 2018).

Curativos ideais são aqueles que apresentam boa compatibilidade biológica,

biodegradabilidade, capacidade antiaderente, baixa citotoxicidade e propriedades antibacterianas(KIM et al., 2019). Esses produtos devem ainda permitir as trocas gasosas, remover o excesso de exsudato e possibilitar a manutenção da umidade no local da ferida. Devido à complexidade de uma ferida crônica, dificilmente um curativo consegue atender a todos esses requisitos(FONDER et al., 2008). A fim de melhorar o bem estar do paciente, busca-se também a confecção de curativos que propiciem um tratamento de ferida com baixo custo e pouca frequência de troca da cobertura(SAGHAZADEH et al., 2018).

Os curativos têm sido produzidos com materiais sintéticos ou naturais. De acordo com o tipo de ferida, as coberturas podem apresentar forma física de esponja, hidrogel, hidrocolóide, filme ou membrana(SIMÕES et al., 2018). São classificadas como: 1) passivas, que são ditos tradicionais, como as compressas de gaze e tulle; 2) inativas, que geralmente são poliméricas, transparentes, impermeáveis às bactérias e permeáveis a água e oxigênio, como é o caso dos hidrocolóides e hidrogéis; e 3) bioativas, que fornecem substâncias importantes para a cicatrização de feridas (BUENO, 2015; BUKZEM, 2019).

O avanço mais recente no tratamento de feridas está relacionado com o emprego de materiais com substâncias biológicas capazes de contribuir para a cicatrização e funcionalidade do tecido regenerado. Os biopolímeros têm sido muito utilizados no desenvolvimento dessas novas coberturas, pois além de serem biocompatíveis e biodegradáveis, podem facilmente incorporar agentes antimicrobianos em sua estrutura e associar-se ao tecido danificado a fim de promover a cicatrização (BUENO, 2015).

Pesquisadores têm trabalhado no desenvolvimento de coberturas antimicrobianas a fim de prevenir infecções comuns nas feridas que ocasionam o aumento das taxas de morbidade e mortalidade. Muitos curativos já confeccionados se mostraram eficazes, porém a busca pelo curativo ideal está em andamento(BUENO, 2015; SIMÕES et al., 2018).

2.2. Coberturas antimicrobianas

As coberturas antimicrobianas são aquelas capazes de prevenir a penetração da bactéria ou evitar o crescimento de microorganismos no local da ferida. Esse tipo de cobertura pode ser produzida com materiais que apresentam uma atividade bactericida intrínseca ou que passaram por processos de modificação de superfície e incorporação de agentes antimicrobianos. Geralmente, as drogas inseridas na estrutura desse material são antibióticos,

nanopartículas e produtos naturais(SIMÕES et al., 2018).

O desenvolvimento de coberturas antimicrobianas surgiu da necessidade de lidar com a resistência das bactérias às drogas utilizadas no tratamento convencional do paciente(SARHEED et al., 2016). Mais de 70% das bactérias causadoras de infecção são resistentes a pelo menos um tipo de antibiótico (SIMÕES et al., 2018). As feridas mais difíceis de tratar são aquelas que apresentam bactérias gram positivas do tipo *Staphylococcus aureus* resistentes e sensíveis a meticilina(HALCÓN; MILKUS, 2004). Com o crescimento desses microorganismos, medidas locais passaram a ser adotadas uma vez que o desenvolvimento de novos fármacos é baixo e não consegue acompanhar o ritmo de surgimento de novas cepas resistentes(MIRANTE, 2015).

Tratamentos locais são interessantes pelo fato dos tecidos necróticos serem mal irrigados, o que faz com que a administração sistemática da droga seja pouco eficiente(AUBERT-VIARD et al., 2019). Assim, a liberação controlada do fármaco na região específica da ferida permite uma ação farmacológica mais acentuada (MIRANTE, 2015). Além disso, coberturas tópicas evitam os efeitos colaterais de uma administração sistêmica, como náuseas, diarreias, vômitos e reações alérgicas; que geralmente ocorrem quando o local da lesão necessita apenas de pequenas concentrações da medicação. Por fim, outra vantagem desse tipo de cobertura é o menor custo ao se comparar com os produtos orais(SARHEED et al., 2016).

Apesar dos benefícios dos curativos locais, estes também podem desenvolver bactérias resistentes caso o emprego dos agentes antimicrobianos ou antibióticos não seja específico ao microorganismo presente na infecção(SAGHAZADEH et al., 2018). Por causa disso, novas alternativas terapêuticas e diferentes agentes antimicrobianos têm sido investigados a fim de solucionar esse problema (MIRANTE, 2015).

O desenvolvimento da nanomedicina e da nanotecnologia tem possibilitado a criação de coberturas avançadas que entregam fatores de crescimento, terapias celulares, terapias genéticas e agentes antimicrobianos que estimulam a cicatrização. As estruturas mais utilizadas para tratamento de feridas são as nanofibras, nanopartículas, filmes e *scaffold* 3D. Essas nanoestruturas têm apresentado boa atividade antimicrobiana contra microorganismos resistentes, além de acelerar a regeneração da pele danificada(JAHROMI et al., 2018; SIMÕES et al., 2018).

2.3. Biopolímeros e bionanocompósitos

Biopolímeros são materiais derivados de fontes renováveis que podem ser divididos em três categorias: 1) polímeros extraídos da biomassa como o amido, a celulose e quitosana; 2) polímeros produzidos por síntese química usando monômeros de fonte renovável como é o caso do poli(ácido) láctico(PLA), sintetizado a partir de ácido láctico e monômero e 3) polímeros produzidos por microrganismos ou bactérias modificadas geneticamente como o polihidroxialcanoato(PHA) e o polihidroxibutirato (PHB)(COLTRO; SARANTÓPOULOS; JUNIOR, 2005).

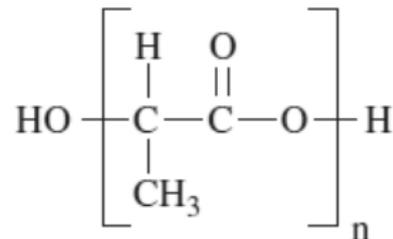
Os biopolímeros apresentam grande potencial para substituição de polímeros provenientes de fontes fósseis, sendo assim, interessantes para uma produção ecologicamente sustentável. Além disso, esses polímeros podem ser biodegradáveis sob ação de microrganismos e condições favoráveis de pressão, temperatura, umidade e luz(BRITO et al., 2011). A biodegradação completa dos biopolímeros resulta em produtos como dióxido de carbono e água, tornando-os vantajosos frente aos polímeros convencionais(RIBEIRO, 2014). Outra característica interessante dos biopolímeros é a capacidade de serem veículos de incorporação de aditivos como antioxidantes, agentes antimicrobianos e antifúngos, corantes, nutrientes, entre outros (MAFTOONAZAD; RAMASWAMY, 2018).

Apesar dessas vantagens, os biopolímeros apresentam propriedades mecânicas pobres e alto custo de produção(EMADIAN; ONAY; DEMIREL, 2017). Devido essas limitações, a nanotecnologia tem sido utilizada como uma ferramenta para melhorar as propriedades mecânicas, térmicas e de barreira (MAFTOONAZAD; RAMASWAMY, 2018). Uma das estratégias utilizadas é a incorporação de nanopartículas de reforços em matrizes de biopolímeros, gerando assim, os chamados bionanocompósitos (ALBOOFETILEH et al., 2018).

Os bionanocompósitos baseados em argilas e polímeros biodegradáveis possuem melhores propriedades que os compósitos convencionais, desde que pequenas quantidades de argila sejam utilizadas (<5% em peso) (ARAÚJO et al., 2014). Segundo Coelho (2008), as camadas de argila dificultam a movimentação das moléculas do polímero, promovendo assim, excelentes propriedades mecânicas ao bionanocompósito. É possível observar ganhos em módulo de elasticidade, resistência mecânica e térmica, menor permeabilidade a gás e maior degradação de polímeros biodegradáveis(OJJO; RAY, 2013). Em alguns casos, pode ser necessária a adição de compatibilizantes para permitir melhor interação entre a argila e a matriz polimérica (ARAÚJO et al., 2014).

O PLA é um poliéster alifático sintetizado a partir do ácido láctico obtido de fontes renováveis que contém amido ou açúcar. Este polímero é um termoplástico que pode ser semicristalino ou amorfo, biocompatível e biodegradável (BRITO et al., 2011). A estrutura molecular do PLA está representada na Figura 1.

Figura 1: Estrutura do poli(ácido)lático.



Fonte: (BRITO et al., 2011).

Três formas estereoquímicas são possíveis para o PLA: poli (L-láctido) (PLLA), poli (D-láctido) (PDLA) e poli (DL-láctido) (PDLLA) (NAMPOOTHIRI; NAIR; JOHN, 2010). Quanto à síntese, esse material pode ser obtido por diferentes processos de polimerização do ácido láctico, seja por policondensação, polimerização por abertura de anel ou por polimerização direta. Geralmente, a polimerização direta e a polimerização por abertura de anel são as técnicas de obtenção mais utilizadas (LASPRILLA et al., 2012).

A produção do PLA é vantajosa se comparada a de outros biopolímeros uma vez que envolve menos gastos de energia, melhor processabilidade térmica e ainda é oriunda de recursos renováveis. Esse material pode ser processado por moldagem de injeção, extrusão de filme, moldagem por sopro, termoformagem e fiação de fibra (FARAH; ANDERSON; LANGER, 2016).

Com relação às propriedades do PLA, estas dependem dos componentes isômeros, da temperatura de processamento, do tempo de recozimento e do peso molecular (FARAH; ANDERSON; LANGER, 2016). Características físicas como densidade e capacidade de calor são altamente influenciadas pela temperatura de transição vítrea (T_g) (LASPRILLA et al., 2012). Já a estereoquímica e a história térmica desse polímero afetam diretamente a cristalinidade e, conseqüentemente, as propriedades de modo geral (FARAH; ANDERSON; LANGER, 2016). A Tabela 1 revela algumas das propriedades do PLA.

Tabela 1: Principais propriedades do PLA.

Propriedade	Unidade
<i>Propriedades físicas</i>	
Índice de fluidez	4,3-2,4 g10min ⁻¹
Densidade	1,25 gcm ⁻³
<i>Propriedades mecânicas</i>	
Limite de escoamento	53 MPa
Alongamento	10-100 %
Módulo de flexão	350-450 MPa
<i>Propriedades térmicas</i>	
Temperatura de Deflexão Térmica (HDT)	40-45, 135 °C
Ponto de fusão	120-170 °C

Fonte: Adaptado de (NAMPOOTHIRI; NAIR; JOHN, 2010).

Quanto à degradação do PLA, esta ocorre por meio da hidrólise dos grupos ésteres, levando a redução do peso molecular ponderal médio (M_w). Em um segundo estágio, M_w é reduzido até que o ácido láctico e os oligômeros de baixo M_w sejam naturalmente eliminados por microorganismos na forma de dióxido de carbono e água (FARAH; ANDERSON; LANGER, 2016). A taxa de degradação depende de uma série de fatores como cristalinidade, peso molecular, temperatura, pH, permeabilidade a água e presença de grupos terminais carboxila ou hidroxila. Os produtos da degradação não são tóxicos, sendo o material aprovado, pela *FoodandDrugAdministration*(FDA), para atuar diretamente em contato com fluidos biológicos(NAMPOOTHIRI; NAIR; JOHN, 2010).

Por ser biocompatível e biodegradável, o PLA apresenta extensiva aplicação na área biomédica, sendo utilizado em implantes cirúrgicos, sistemas de administração de drogas e em suturas(BRITO et al., 2011). Também pode ser aplicado na produção de embalagens soltas, sacos de compostagem, embalagem de alimentos e utensílios de mesa descartáveis. Na forma de fibras, este material é empregado em estofados, toldos, fraldas e produtos de higiene(NAMPOOTHIRI; NAIR; JOHN, 2010).

Apesar dos pontos positivos, o PLA apresenta algumas desvantagens como

fragilidade e pobres propriedades mecânicas, o que limita seu uso em determinadas aplicações. Para viabilizar a utilização desse material, geralmente este passa por processos de modificação no qual é misturado com outros polímeros, formando as blendas poliméricas, ou é combinado com argila, gerando os micro ou nanocompósitos (ARAÚJO et al., 2014).

A distribuição de nanoargilas na matriz polimérica promove melhorias significativas no material em nível de propriedades mecânicas, óticas e de barreira a gás. As principais vantagens de empregar a MMT nos nanocompósitos deve-se ao fato da argila ser abundante na natureza, possuir alta área superficial e baixo custo (KARIMI; DAUD, 2017). Rhim et al. (2009) revela que o PLA apresenta uma boa compatibilidade com a montmorilonita Cloisite 20A. A Tabela 2 compara as propriedades do PLA puro e do nanocompósito de PLA/4% MMT com 4% em peso de montmorilonita.

Tabela 2: Comparação das propriedades do PLA puro e do nanocompósito de PLA/4% MMT.

Propriedade	PLA puro	Nanocompósito PLA/4% MMT
Módulo de armazenamento (GPa– 25°C)	1,63	2,32
Módulo de flexão (GPa - 25°C)	4,8	5,5
Resistência à flexão (MPa– 25°C)	86	134
HDT (°C)	76,2	94
Coefficiente de permeabilidade ao gás O ₂ (mL mm m ⁻² dia ⁻¹ MPa ⁻¹ - 25°C)	200	177

Fonte: Adaptado de (RAQUEZ et al., 2013).

2.4. Óleos essenciais

Óleos essenciais são compostos aromáticos obtidos de plantas como flores, sementes, folhas, galhos, frutas e raízes (GARRIDO-MIRANDA et al., 2018). Geralmente, apresentam constituintes derivados dos terpenos, álcoois, ácidos, ésteres, epóxidos, aldeídos, cetonas, aminas e sulfetos; o que os torna facilmente oxidáveis, hidrolisáveis, voláteis e termolábeis (CALO et al., 2015; MATOS; LUCCA; KOESTER, 2019). Diversos métodos podem ser utilizados para a obtenção dos óleos naturais: fermentação, expressão, enfleurage, extração (maceração) e destilação. Esta última técnica é a mais utilizada na produção comercial desse produto (BURT, 2004).

Por apresentarem propriedades antifúngicas, antivirais e antibacterianas, os óleos essenciais têm sido investigados como alternativa no tratamento de doenças infecciosas, na conservação dos alimentos e como fontes potenciais de novos compostos antimicrobianos(SOLÓRZANO-SANTOS; MIRANDA-NOVALES, 2012). O óleo pode ser incorporado aos polímeros a fim de conferir propriedades antimicrobianas ao material e permitir a aplicação em diversas áreas, principalmente em dispositivos médicos, higiene, saúde e em sistemas de purificação de água(SHEMESH et al., 2015).

O uso de óleos essenciais em estratégias terapêuticas antimicrobianas é interessante para evitar o desenvolvimento de bactérias resistentes. Como os óleos naturais possuem múltiplos componentes, estes tornam-se mais eficazes na eliminação do micro-organismo do que os antibióticos, compostos de apenas uma entidade molecular (SOLÓRZANO-SANTOS; MIRANDA-NOVALES, 2012).

O mecanismo de ação antimicrobiano dos óleos essenciais ainda não é bem entendido. Acredita-se que o óleo penetra a membrana bacteriana, inibindo as propriedades funcionais e lipofílicas da célula(CALO et al., 2015). Outro aspecto importante que pode explicar o mecanismo de ação é o caráter hidrofóbico dos líquidos oleosos. Essa característica permite aos óleos separarem os lipídeos da membrana celular e da mitocôndria, deixando a célula mais permeável. Esse fato acarreta no vazamento de conteúdos celulares levando a morte da célula antes mesmo da lise (BURT, 2004).

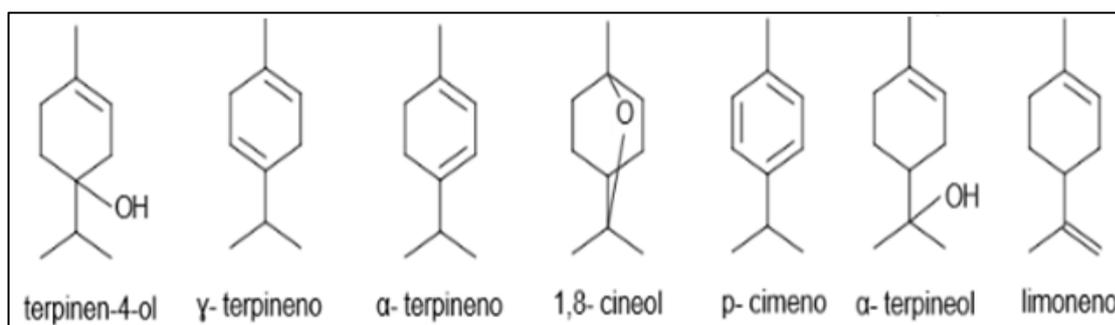
O grande desafio ao utilizar os óleos essenciais é controlar sua alta volatilidade que implica na rápida evaporação e perda das propriedades antimicrobianas. Uma forma de evitar esse problema é encapsular o óleo dentro de um material capaz de promover a liberação lenta do composto ativo. Algumas metodologias têm sido estudadas para melhorar a administração dos agentes antimicrobianos, entre elas estão: moldagem por injeção, extrusão, eletrofiação, revestimento de superfície, incorporação por mistura e a utilização de nanocompósitos poliméricos(KINNINMONTH et al., 2014; GARRIDO-MIRANDA et al., 2018).

O óleo de melaleuca, também conhecido como óleo da árvore de chá, é um líquido límpido que apresenta odor distinto (PIRES; MOURA, 2016). Em altas dosagens, pode ser altamente tóxico, causando irritação na pele, dermatite alérgica de contato e imunoglobulina linear(PAZYAR et al., 2013). Geralmente, o óleo é obtido por destilação a vapor de uma planta nativa da Austrália: *Melaleuca alternifolia* (*Myrtaceae*), porém pode ser

encontrado em diversas regiões do mundo(HAMMER, 2015).

O óleo da árvore de chá é rico em monoterpenos, sendo que dentre os mais de 100 constituintes, o terpinen-4-ol é o composto mais abundante(HAMMER, 2015; PIRES; MOURA, 2016). Devido a essa variedade de componentes voláteis, o óleo de melaleuca apresenta diversas propriedades antibacteriana, antiviral e anti-inflamatória(LIN et al., 2018). A Figura 2 ilustra alguns dos terpenos presentes no óleo de melaleuca.

Figura 2: Terpenos presentes no óleo de Melaleuca.



Fonte: (PIRES, 2016).

Estudos tem demonstrado a eficácia do óleo contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, bacilos ácidos resistentes, leveduras e fungos; fato que tem permitido o emprego deste em antissépticos de pele (CARSON; RILEY; COOKSON, 1998). Além disso, o óleo de melaleuca tem tido sucesso no tratamento de doenças como dermatofitose nos pés, acne, candidíase oral, caspa, piolho, gengivite crônica, seborreia e cicatrização de feridas(HALCÓN; MILKUS, 2004; PIRES, 2016). No processo de cicatrização de feridas, o hidrogel feito com óleo de melaleuca atua imediatamente no resfriamento de queimaduras e no aumento da taxa de cicatrização(PAZYAR et al., 2013).

Um fator limitante para o emprego do óleo em determinadas aplicações está relacionado com o fato dos óleos essenciais serem lipofílicos, apresentando problemas quanto à solubilidade no meio aquoso. Devido a essa limitação, o óleo essencial pode ser incorporado à nanopartículas por meio de nanoemulsões, isto é, emulsões em escala nanométrica, formadas por duas fases imiscíveis unidas por um tensoativo(YUKUYAMA et al., 2016; ALBOOFETILEH et al., 2018). O Polissorbato 80 (Tween 80) é um exemplo de tensoativo não iônico que tem sido bastante utilizado na área de cosméticos, na indústria farmacêutica e alimentícia, sendo usado neste trabalho com o intuito de promover a interação do óleo essencial com a água e assim permitir a incorporação do óleo na argila

montmorilonita (GRIPPA et al., 2010).

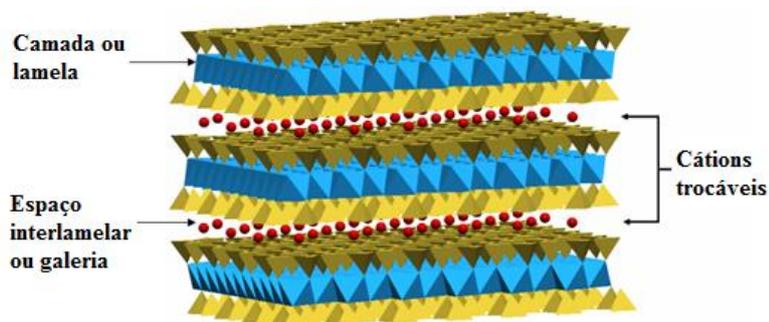
Os tensoativos podem agir antagonicamente ou sinergicamente aos componentes do óleo essencial. Altas concentrações de Tween podem aumentar a atividade antimicrobiana, produzindo resultado falso-positivo, ou diminuir a bioatividade do óleo ao formar micelas que dificultam o contato direto do óleo com os microorganismos. Para evitar esses problemas, alguns autores propõem o uso de concentrações de Tween entre 0,5 – 20% em massa em soluções com óleo (NASCIMENTO et al., 2007).

A quantidade de óleo essencial que pode ser incorporada em nanoemulsões varia de 30 – 40% do total da composição (MATOS; LUCCA; KOESTER, 2019). Não foi retratada na literatura a quantidade de composto orgânico que pode ser inserido à argila. Para fazer essa análise, muitos trabalhos investigam a concentração de óleo na solução por meio da técnica de espectroscopia de ultravioleta. Eusepi et al. (2020) produziu híbridos de argila montmorilonita com três drogas inativas distintas de carvacrol na proporção de 1:1. A mistura foi colocada em uma solução aquosa e agitada durante 24h. Em seguida, a suspensão foi centrifugada por 30min e o sobrenadante foi recuperado e filtrado por uma membrana Millipore® a fim de obter a quantidade de óleo adsorvida. A concentração da droga em solução foi calculada por meio de espectroscopia de ultravioleta, calculando a diferença de concentração de óleo na solução antes e após a agitação. Os autores observaram retenção de 22%, 24% e 32% para os três tipos de drogas estudadas, relatando que estes valores são similares aos revelados em outros estudos com mesma argila e diferentes drogas. Já Torin (2018) produziu híbridos de argila montmorilonita Cloisite 20A com óleos essenciais de carvacrol e eugenol para posteriormente incorporá-los ao polietileno de baixa densidade. O híbrido de argila-óleo foi adicionado na proporção de 1:2 em uma solução aquosa com Tween 80 e a mistura foi agitada no ultrassom. O trabalho mostrou uma possível saturação do sistema híbrido ao incorporar o dobro de óleo essencial em relação à argila.

2.5. Argila montmorilonita

A argila montmorilonita (MMT) é um aluminossilicato em camadas pertencente ao grupo das esmectitas, sendo constituído basicamente de $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 4\text{SiO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (FAN et al., 2018; HU et al., 2018). Apresenta estrutura cristalina formada por duas camadas tetraédricas de Si-O e uma camada octaédrica central de óxido Al-O (ALEXANDRE et al., 2016). A Figura 3 Tabela 3 apresenta uma representação esquemática da estrutura das argilas esmectitas.

Figura 3: Estrutura das argilas esmectitas.



Fonte: (COELHO, 2008).

Cada camada possui espessura nanométrica e permanecem empilhadas por forças de van der Waals. Entre as camadas existe um espaço interlamelar que é preenchido por cátions metálicos, como sódio (Na^+) ou cálcio (Ca^{2+}), a fim de suprir a deficiência de cargas na estrutura das esmectitas (COELHO, 2008). A distância interlamelar de 0,9 - 1,2 nm é suficiente para acomodar diferentes compostos orgânicos na estrutura da argila, permitindo a formação de nanocompósitos (JAYRAJSINH et al., 2017).

Na produção de nanocompósitos poliméricos obtidos com argila, o aumento da afinidade entre argila e polímero é altamente desejável uma vez que a interação físico-química entre compostos orgânicos e inorgânicos é fraca e resulta em propriedades pobres (COELHO, 2008). Como as moléculas de MMT são naturalmente polares, estas necessitam de processos de modificação superficial para que possam interagir com a maioria dos polímeros orgânicos.

O procedimento pelo qual as argilas obtêm melhor compatibilidade com matrizes poliméricas é chamado de organofilização e consiste na troca de cátions inorgânicos localizados dentro das galerias por sais de amônio ou fosfônio. A quantidade de intercalante ligado à argila é limitada pela capacidade de troca catiônica da MMT (SILVA; DAHMOUCHE; SOARES, 2011).

ACloisite[®]20A é uma montmorilonita com distância basal de 22,4Å que foi modificada por um surfactante apolar: di(alquil de sebo hidrogenado) dimetil amônio. Portanto, possui alto grau de hidrofobicidade, sendo indicada para aplicação em compostos de baixa polaridade (GÓMEZ; PALZA; QUIJADA, 2016).

Alguns trabalhos mostram que nanoargilas organicamente modificadas apresentam forte efeito antimicrobiano contra bactérias gram positivas e gram negativas devido aos grupos de amônio quaternário dos modificadores de superfície. Estes rompem as

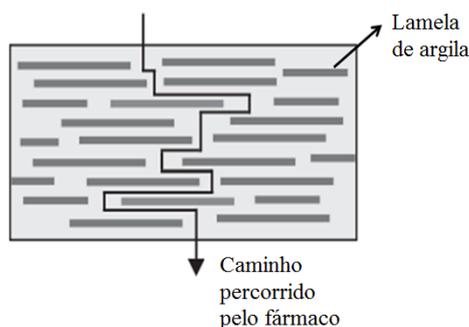
membranas bacterianas, causando a lise das células. No entanto, as bactérias gram negativas tendem a ter maior resistência a este composto. Outro aspecto que tem sido observado na melhora da atividade antimicrobiana é o aumento do caráter hidrofílico dessas argilas (DARIE et al., 2014; BUMBUDSANPHAROKE; KO, 2019).

A modificação superficial das camadas de argila propicia a separação total ou parcial das lamelas, através do enfraquecimento das forças de van der Waals e das ligações eletrostáticas (COELHO, 2008). Normalmente, o maior nível de desorganização das lamelas de argila é alcançado em meio líquido por meio da aplicação de cisalhamento, agitação mecânica ou com uso do ultrassom (HU et al., 2018; ZHU et al., 2019).

O ultrassom é uma forma de vibração que gera bolhas e cavitação energética que colapsam em jatos de alta energia, quebrando o empilhamento das lamelas de MMT. Dessa forma, a distância basal entre as camadas de argila aumenta, permitindo a inserção de compostos orgânicos no interior das lamelas ou mesmo viabilizando a produção de um sistema de liberação de drogas (MORAES et al., 2017; ZHU et al., 2019).

Nos últimos anos, as argilas minerais têm sido utilizadas como portadores de fármacos que podem ser adsorvidos e liberados em locais alvos do corpo humano (MORAES et al., 2017). A principal vantagem desse material para aplicação em sistemas de liberação controlada deve-se a estrutura lamelar da argila, que combinada com polímeros, melhora as propriedades de barreira do nanocompósito. Uma vez dispersa no material polimérico, as lamelas de argila geram um caminho longo e complexo para a passagem da droga, o que dificulta a difusão desta para fora do nanocompósito e propicia uma entrega controlada do medicamento (AZEREDO, 2013). A Figura 4 ilustra o caminho tortuoso percorrido pelo fármaco dentro do material.

Figura 4: Caminho tortuoso do fármaco dentro do nanocompósito de polímero-argila.

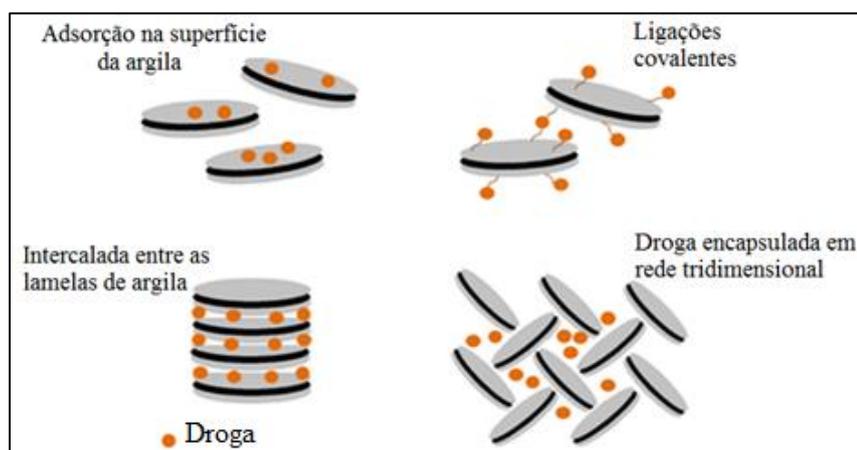


Fonte: Adaptado de (CAMPOS-REQUENA et al., 2015).

Em geral, a preparação do complexo argila-fármaco envolve a dispersão das partículas de argila em uma solução aquosa da droga. Após tempo adequado de estabilidade da dispersão, a fase sólida é filtrada, lavada várias vezes para remoção do fármaco adsorvido fisicamente, sendo por fim, secada e recuperada (SURESH et al., 2010). Esse método de dissolução é bastante utilizado para encapsular drogas hidrofílicas. Para drogas hidrofóbicas, a produção do híbrido argila-fármaco tem sido feito a seco, aquecendo a mistura acima do ponto de fusão da droga ou por meio da moagem de ambos os compostos (PARK et al., 2016).

A interação entre argila e fármaco depende do tipo de mineral, dos grupos funcionais e das propriedades físico-químicas da droga, podendo envolver interações hidrofílicas e hidrofóbicas, ligações de hidrogênio, ligações covalentes, troca iônica etc (BARBOSA et al., 2020). Quando se trata da incorporação de óleos essenciais, estes podem interagir por meio de ligações de hidrogênio com os grupos hidroxílicos do sal de amônio quaternário usado na organofilização da argila (POLA et al., 2016). A Figura 5 mostra os principais tipos de interações envolvidas na formação do híbrido argila-fármaco.

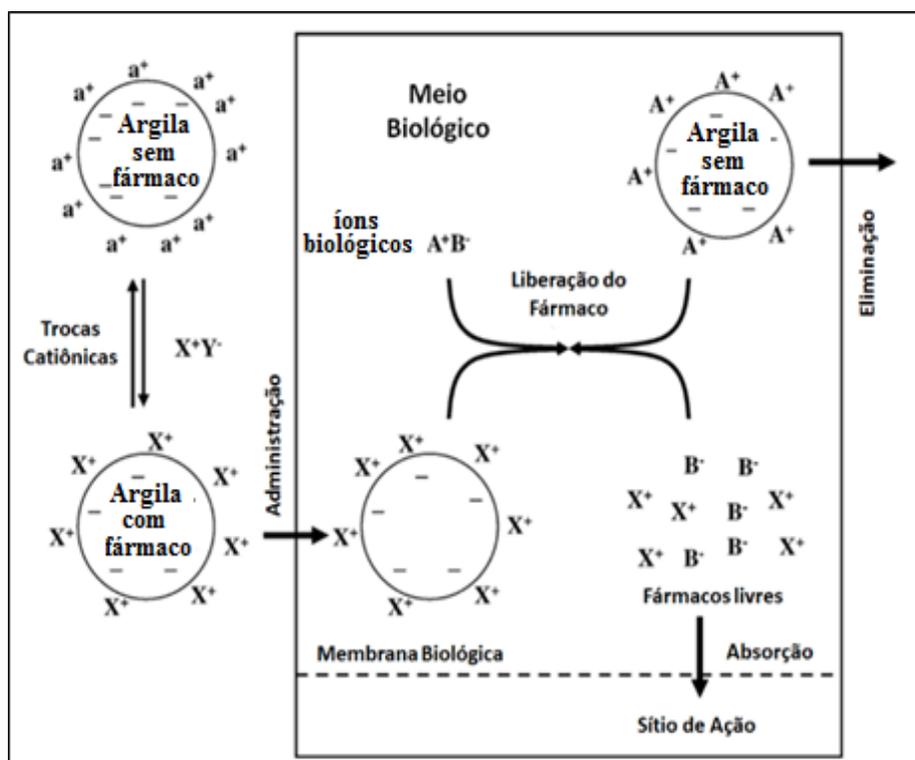
Figura 5: Representação esquemática de alguns tipos de interações entre argila-fármaco.



Fonte: Adaptado de (BARBOSA et al., 2020).

As argilas pertencentes ao grupo mineral das esmectitas, como é o caso da montmorilonita, apresentam uma estrutura que permite a inserção de fármacos no interior das lamelas. Essas nanopartículas possuem alta capacidade de troca catiônica, extensa área superficial e habilidade de inchamento. Por meio da troca catiônica, a droga presente no espaço interlamelar é liberada para o meio biológico (BARBOSA et al., 2020). A Figura 6 revela o mecanismo de um sistema carreador de fármaco formado pela MMT, quando administrada no organismo.

Figura 6: Mecanismo do sistema de liberação controlada do complexo MMT/fármaco.



Fonte: Adaptado de (AGUZZI et al., 2007).

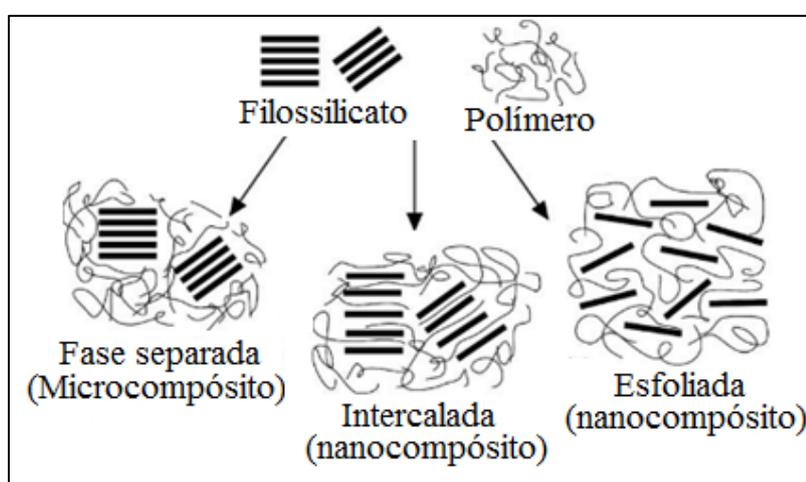
A liberação do composto ativo incorporado à argila depende de fatores como temperatura, taxa de difusão das moléculas de água capazes de transportar contra-íons para dentro das lamelas e da concentração e dispersão da argila na matriz polimérica (TORIN et al., 2018). De acordo com a literatura, o processo de liberação controlada de sistemas MMT/fármaco acontece em duas etapas: a primeira associada a uma rápida dessorção da droga absorvida na superfície externa da argila e a segunda relacionada a uma lenta liberação das moléculas intercaladas. Porém, a porcentagem de liberação das drogas não atingiam 100% devido à reação de dessorção ser um processo de equilíbrio no qual a troca iônica não ocorre em todas as moléculas da droga (EUSEPI et al., 2020).

Além de ser empregada em sistemas de liberação controlada, a MMT é também aplicada em produtos que visam à proteção e limpeza de pele, adsorção de bactérias (*Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*), imobilização de toxinas celulares, atividade antibacteriana e cicatrização e coagulação do sangue sem causar efeitos colaterais (MISHRA et al., 2014).

2.6. Obtenção de nanocompósitos

Em nanocompósitos de polímero/argila são possíveis três estruturas termodinamicamente viáveis: a estrutura de fase separada, a estrutura intercalada e a estrutura esfoliada (SOHANI; PHATAK; CHAUDHARI, 2015). Geralmente, a estrutura esfoliada é a mais desejável uma vez que promove uma melhor adesão interfacial (FAN et al., 2018). A Figura 7 revela os três tipos de estruturas dos nanocompósitos.

Figura 7: Estruturas dos nanocompósitos: fase separada, intercalada e esfoliada.

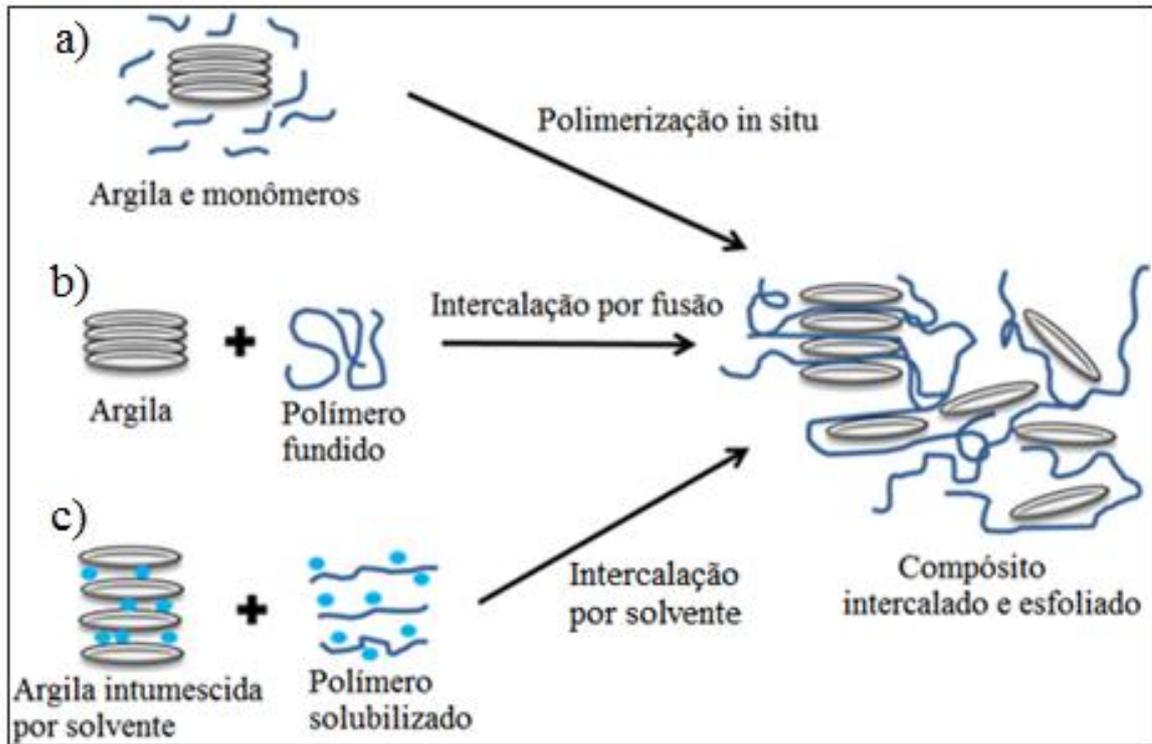


Fonte: (AZEREDO, 2009).

Em estruturas de nanoargilas em camadas, o espaçamento interlamelar indica o grau de intercalação e esfoliação da argila, além de determinar o nível de interação molecular entre o composto inorgânico e a matriz polimérica (CHAUDHARY; LIU, 2013). A esfoliação completa da argila em plaquetas individuais dentro do polímero é essencial para sucesso do nanocompósito, porém é bastante difícil de ser atingida por causa da forte atração eletrostática entre as camadas de silicato e os cátions interlamelares (SOUZA, 2006; OJJO; RAY, 2013).

Basicamente, três técnicas podem ser utilizadas na obtenção dos nanocompósitos: (a) polimerização *in situ*, (b) intercalação no polímero fundido, e (c) intercalação por solvente (também conhecido como *solvente casting*). A combinação de mais de um dos métodos também pode ser utilizada (COELHO, 2008). A Figura 8 ilustra as diferentes técnicas de preparo de nanocompósitos baseados em nanoargila e polímero.

Figura 8: Representação esquemática das técnicas de preparação de nanocompósitos baseados em nanoargila e polímero: a) polimerização in situ, b) intercalação no polímero fundido, e c) intercalação por solvente (também conhecido como *solvente casting*).



Fonte: Adaptado (BARBOSA et al., 2020).

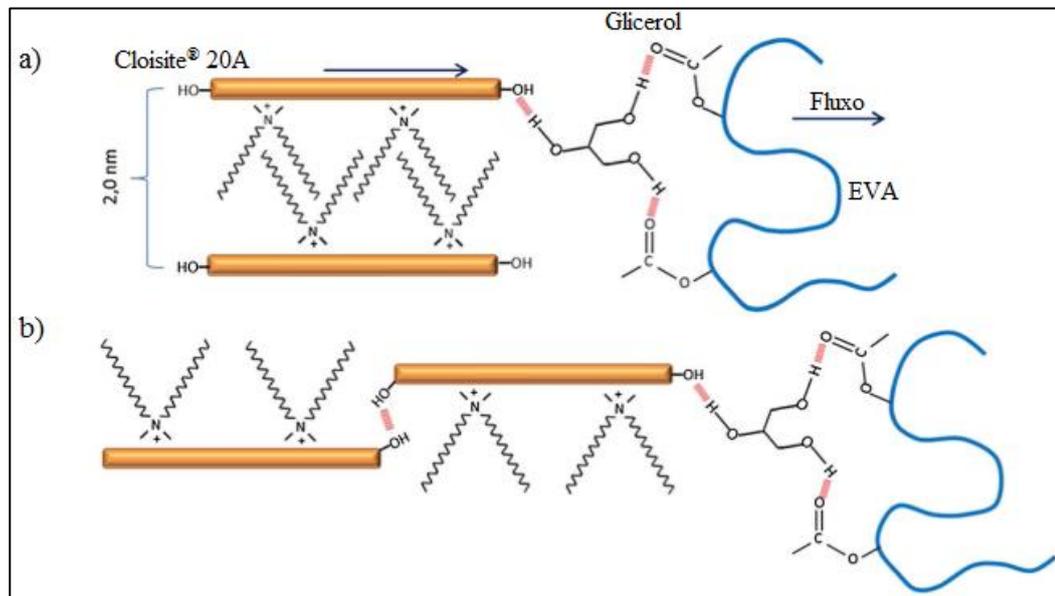
A escolha de uma das técnicas de preparação dos bionanocompósitos dependerá do tipo de biopolímero e da nanopartícula em questão. Geralmente, o método de intercalação por fusão é o mais utilizado nos processos industriais e apresenta a vantagem de não utilizar solventes orgânicos sendo, portanto, uma técnica mais amigável ecologicamente(OJIJO; RAY, 2013). Além disso, o processo é bastante simples e permite uma produção contínua e em larga escala (COELHO, 2008). Quanto à desvantagem do método de intercalação por fusão, sabe-se que certos biopolímeros podem ser facilmente degradados pelas forças de cisalhamento ou pela temperatura de processamento. Essa degradação pode ser ainda maior no caso de nanocompósitos com argilas modificadas organicamente. Devido a esse fator, torna-se necessário à otimização da pressão e da temperatura de processamento(OJIJO; RAY, 2013). Outra desvantagem desse método é que alguns estudos mostram que o nível de dispersão de cargas obtido com esse processamento não é tão bom

quanto os métodos de polimerização *in situ* e intercalação por solução (ARAUJO, 2016).

Na técnica de intercalação por fusão, a argila é misturada com o polímero no estado fundido. O processo consiste em aquecer a mistura a uma temperatura acima do ponto de amolecimento do polímero, mantendo-a estática ou sob cisalhamento a fim de propiciar a intercalação ou a esfoliação das nanopartículas (MAFTOONAZAD; RAMASWAMY, 2018). Durante o recozimento, as cadeias de polímero difundem-se nas galerias das camadas de silicato (KARIMI; DAUD, 2017). Geralmente, o nível de dispersão das nanopartículas dentro do polímero depende basicamente das condições de processamento e da interação entálpica entre os dois componentes(OJJO; RAY, 2013).

Alguns estudos constataram que a adição de glicerol pode aumentar a esfoliação e a dispersão da argila na matriz polimérica durante o processo de mistura, implicando em melhorias no desempenho do nanocompósito(ZHU et al., 2019).Beauvalet (2013) estudou a influência do glicerol nas propriedades e morfologias de nanocompósitos de PLA/MMT, com 5% em massa de argila e concentração entre 2 a 5 % em massa de glicerol. O autor observou que no nanocompósito com maior percentual em massa de argila e glicerol,a morfologia apresentou-se mais homogênea, com maior grau de esfoliação e maior dispersão da MMT na matriz polimérica. Além disso, as lamelas de argila mostraram-se mais orientadas, provavelmente devido ao melhor deslizamento das camadas de MMT durante o processamento. Visentini et al. (2015) produziu nanocompósitos de EVA/MMT com 2 a 5% em massa de MMT Cloisite 20A e utilizou 1% em massa de glicerol para auxiliar na esfoliação e na melhora das interações entre polímero argila. De acordo com os autores, o glicerol interage preferencialmente com os grupos hidroxilas presentes nas bordas das lamelas de argila do que com o surfactante presente no interior das lamelas. Assim, durante o processo de extrusão do material, as camadas de argila são carregadas junto com o glicerol e o fluxo de cadeias poliméricas, promovendo um deslizamento das lamelas umas sobre as outras. Estas permanecem nesta configuração devido às ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila existentes nas bordas das lamelas de argila. A Figura 9 ilustra as interações que ocorrem durante o processo de extrusão do nanocompósito de EVA/Cloisite[®] 20A/Glicerol.

Figura 9: Representação das prováveis interações existentes nos nanocompósitos de EVA, Cloisite® 20A e glicerol a) antes e b) após o processo de mistura.



Fonte: Adaptado de (VISENTINI; LIBERMAN; MAULER, 2015).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Materiais

PLA, Ingeo™ Biopolymer 2003D, foi adquirido da Nature Works, EUA. Possui temperatura de fusão de 210 °C, densidade de 1,24 g cm⁻³ e índice de fluidez de 6 g 10 min⁻¹(210 °C / 2,16 kg). A nanoargila escolhida para este trabalho é uma montmorilonita modificada organicamente (MMT), Cloisite® 20A, da Southern Clay Products Inc., EUA. O óleo essencial de melaleuca (OE) foi adquirido da empresa Amazon, Brasil. O glicerol (Gli) foi usado como plastificante e o Tween 80 como emulsificante não iônico, ambos adquiridos da empresa Sigma-Aldrich, Brasil.

3.2. Métodos

3.2.1. Ensaio antibacteriano

O método de disco-difusão foi utilizado para avaliar a suscetibilidade de certos microorganismos ao óleo essencial de melaleuca. Para esse experimento foram utilizadas as cepas gram negativa e gram positiva da American Type Culture Collection (ATCC): *Escherichia coli* ATCC25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC29213, respectivamente. Essas bactérias foram cultivadas em caldo BHI por 18 h a 35 °C. Posteriormente, um pré-inóculo foi ajustado para MacFarland 0,5 em solução salina a 0,9% e semeado no meio de cultura Agar Müeller Hinton em placa de Petri. Nos discos de papel previamente esterilizados foi adicionado um volume de 7µL do óleo essencial de melaleuca. Por fim, os discos foram incubados por 24 h a temperatura de 35 °C. A atividade antimicrobiana das amostras foi determinada, em duplicata, medindo o diâmetro do halo de inibição formado ao redor dos discos de papel.

3.2.2. Incorporação do óleo essencial nas lamelas de argila

Amostras com composições distintas foram preparadas pela mistura de MMT, glicerol e diferentes frações de óleo essencial de melaleuca. O Tween 80 foi adicionado na proporção de 0,25g / 1g de óleo essencial. A adição de glicerol nas amostras teve como objetivo avaliar o efeito deste na esfoliação da argila, já que em estudo anterior este componente promoveu melhor dispersão e esfoliação da MMT durante o processo de mistura com o polímero (PAZ et al., 2008). A Tabela 3 mostra a composição das cinco amostras

produzidas.

Tabela 3: Composição das amostras inicialmente produzidas no ultrassom.

Amostra	MMT(g)	OE(g)	Gli(g)
MMT+Gli	10	-	30
MMT+OE10	10	10	-
MMT+OE20	10	20	-
MMT+OE10+Gli	10	10	30
MMT+OE20+Gli	10	20	30

Os componentes de cada amostra foram dispersos em 50 mL de água deionizada e agitados por 1 min em um Ultra-Turrax T25 IKA Labortechnik na velocidade de 19.000 rpm. Em seguida, a irradiação ultrassônica foi realizada por 30 min, com a sonda imersa na solução. Durante esse período, o recipiente contendo a solução foi mantido sob agitação magnética, sendo resfriado continuamente a fim de manter a temperatura próxima a do ambiente. Por fim, todas as amostras foram secas em estufa a 110°C durante 24 h. Como parte do óleo essencial poderia evaporar nessa temperatura de secagem, excesso de óleo foi adicionado às misturas para evitar o comprometimento das amostras.

3.2.3. Difratometria de raio-x (DRX)

A técnica de difração de raio-x foi utilizada para avaliar a incorporação de óleo essencial e glicerol entre as lamelas da argila, além de observar a extensão da intercalação/esfoliação da argila na matriz polimérica. A análise de DRX foi realizada no difratômetro de raio-x da marca Rigaku, modelo Ultima IV, utilizando tubo selado de Cu ($\lambda_{\text{Cu} - \text{K}\alpha} = 1,54 \text{ \AA}$), velocidade de varredura de 1°min^{-1} , no intervalo de $1,5^\circ - 10^\circ$ em passos de $0,02^\circ \text{s}^{-1}$, a 40 kV e 40 A. A distância interlamelar do pico (001) foi calculada usando a Lei de Bragg, conforme mostrada na Equação 1.

$$\lambda = 2 d_{(001)} \text{sen } \theta \quad (1)$$

onde n é o número de difração, λ é o comprimento de onda da radiação, $d_{(001)}$ é a distância interlamelar em nm e θ é o ângulo de difração medido.

3.2.4. *Produção dos bionanocompósitos*

A produção dos bionanocompósitos foi feita usando a extrusora de bancada AX Plásticos de rosca simples ($D = 16$ mm e $L/D = 26$). 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 manualmente com as amostras produzidas após a etapa de ultrassom (Tabela 4). As misturas foram preparadas na proporção de 3% m/m em relação ao polímero. Além disso, outras duas amostras foram produzidas; uma contendo apenas o polímero puro (denominada PLA) e outra contendo PLA e montmorilonita (3% m/m) (denominada PLA+MMT). Em seguida, as misturas foram adicionadas 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 corpos de prova (CPs) foram obtidos por termoprensagem, sendo os pellets prensados nos moldes a 150 bar na temperatura de 180°C e resfriados lentamente até temperatura ambiente. Os CPs dos bionanocompósitos obtidos possuem dimensões de 100 x 10 x 1 mm (comprimento x largura x espessura).

3.2.5. *Microscopia eletrônica de transmissão (MET)*

A morfologia dos bionanocompósitos produzidos foi observada no microscópio eletrônico de transmissão, modelo CM120 da Philips, operado a uma tensão de aceleração de 120 kV. Amostras com espessura de 50 nm foram produzidas no micrótomo Leica, modelo Reichert Ultracut FC4, usando uma faca de diamante. Posteriormente, as amostras foram colocadas em grade de cobre de 400 mesh revestida com carbono.

3.2.6. *Análise térmica dinâmico-mecânica (DMTA)*

Os ensaios térmicos por DMTA foram realizados no equipamento Perkin-Elmer DMA 8000 a fim de avaliar o efeito da argila nas propriedades termomecânicas do bionanocompósito. A Análise foi feita em módulo de tração, com os corpos de prova na dimensão de 50 x 10 x 1 mm (comprimento x largura x espessura), sob atmosfera não controlada, taxa de aquecimento de 3°C min⁻¹, frequência de 1 Hz e faixa de temperatura entre 25 - 150 °C.

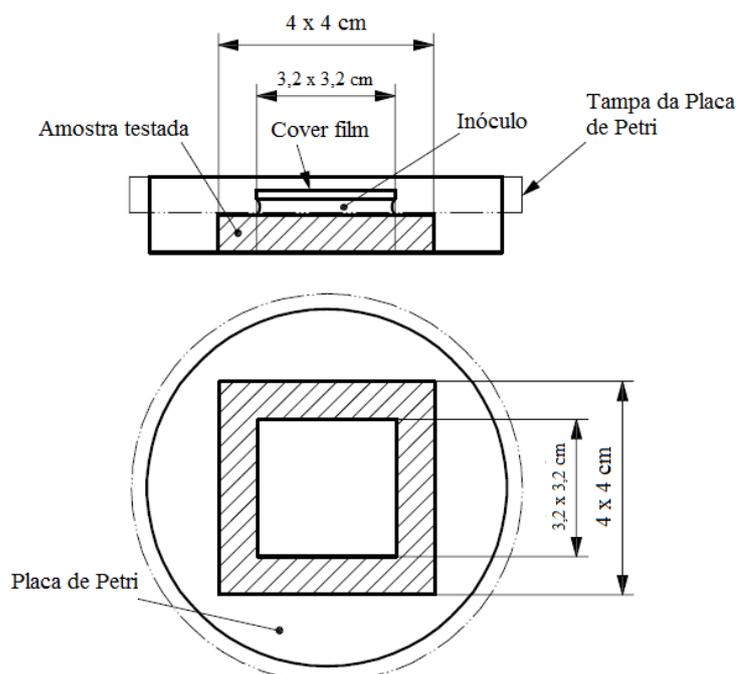
3.2.7. Análise termogravimétrica (TGA)

Os ensaios de TGA foram realizados no analisador térmico Pyris1 TGA da Perkin-Elmer, sob atmosfera inerte de gás nitrogênio (20 mL min⁻¹), aquecendo as amostras de 25°C até 600°C, a uma taxa de aquecimento de 20°C min⁻¹.

3.2.8. Medida da atividade antimicrobiana em superfícies plásticas

A análise quantitativa da atividade antimicrobiana dos bionanocompósitos produzidos foi feita de acordo com o preconizado pela norma ISO221961, com as seguintes modificações: foram utilizados filmes quadrados com dimensões de 4x4 cm. O cover film e o inóculo bacteriano foram reduzidos para 3,2 x 3,2 cm e 256 µl, respectivamente. A Figura 10 ilustra o esquema do ensaio com as determinadas especificações.

Figura 10: Esquema do ensaio com as especificações do corpo de prova.



Após esterilização dos bionanocompósitos com álcool 70%, a inoculação foi realizada colocando os filmes em placas de Petri e inserindo as suspensões de bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli* ATCC25922, ambas na concentração de 6×10^5 CFU. ml⁻¹. Cada bionanocompósito foi testado em triplicata para cada tipo de bactéria analisada. Posteriormente, o *cover film* de polipropileno com espessura de 0,1 mm foi

pressionado sobre a superfície dos corpos de provas inoculados. As placas de Petri contendo as amostras inoculadas foram incubadas a temperatura de 35°C por 24h.

Para cada bactéria testada, três amostras de PLA foram inoculadas com as suspensões bacterianas a fim de servir como grupo controle. Logo após a inoculação, essas amostras foram lavadas com a solução SCDLP (detalhada na norma) a fim de obter o número de células bacterianas inoculadas. Dessa forma, é possível saber a quantidade de bactérias presentes nas superfícies dos corpos de prova no início do ensaio e comparar com as que foram expostas ao polímero por um período prolongado de tempo. A comparação entre o número de células viáveis presentes nas amostras do grupo controle e o número de células viáveis presentes nos bionanocompósitos tratados é indicativo da intensidade do efeito antimicrobiano do óleo incorporado ao polímero.

Depois do período de incubação das demais amostras, o número de células viáveis em cada bionanocompósito foi calculado e reduções logarítmicas foram realizadas a fim de observar se os critérios da norma estavam sendo atendidos para que o teste fosse considerado válido. O teste ANOVA foi utilizado para comparar a $CFUcm^{-2}$ entre os filmes puros e os filmes incorporados com óleo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Ensaio antibacteriano do óleo de melaleuca

Os resultados do ensaio antibacteriano do óleo de melaleuca com bactérias *E. coli* e *S. aureus* estão apresentados nas Figuras 11 e 12, respectivamente. Os resultados foram destacados por círculos pretos, pois outras amostras foram também analisadas na mesma placa. Após o período de incubação de 24 h, observa-se na placa com *E. coli*, Figura 11, a formação de um halo inibitório de 16 mm na amostra de disco que contém apenas o óleo de melaleuca (Figura 11b). Na placa com *S. aureus*, Figura 12, o disco com o óleo apresentou halo inibitório de 18 mm (Figura 12b). Esses resultados mostram que as cepas analisadas apresentam suscetibilidade ao óleo de melaleuca de forma similar.

Figura 11: Amostra de óleo de melaleuca com *E. coli* ATCC25922a) antes e b) após incubação de 24 h.

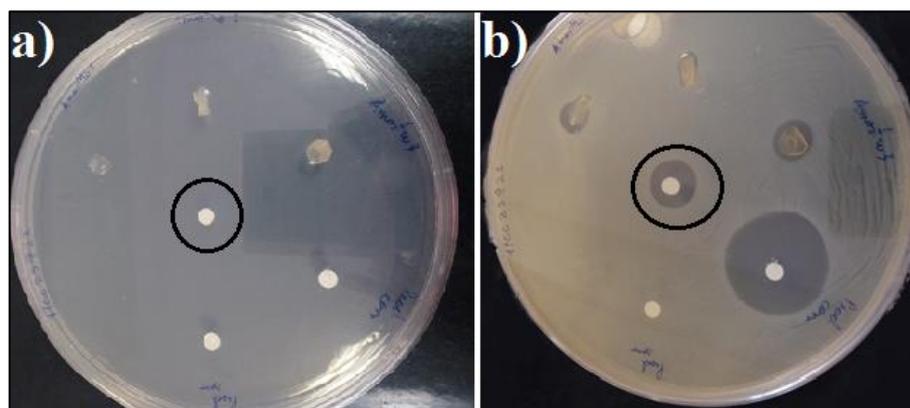
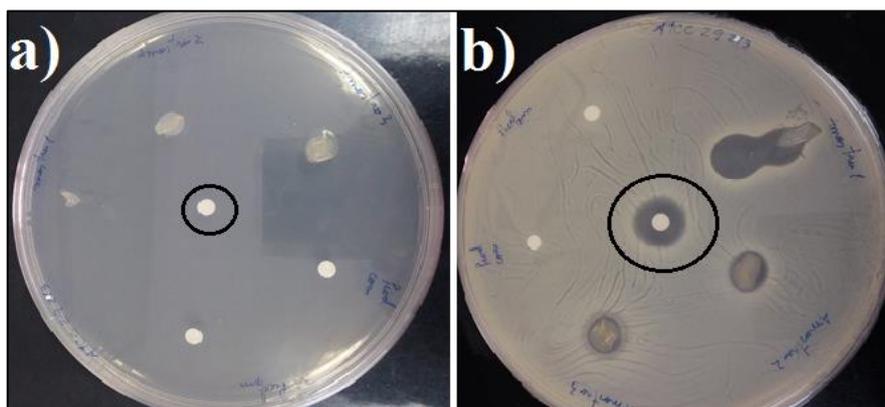


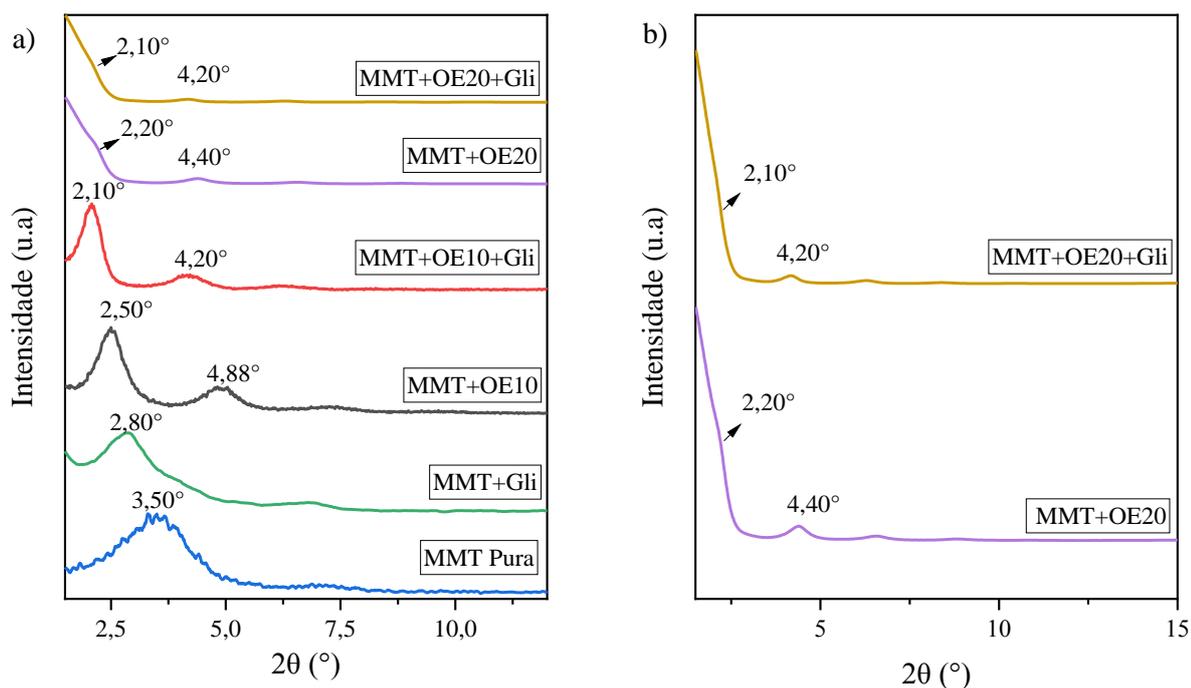
Figura 12: Amostra de óleo de melaleuca com *S. aureus* ATCC29213 a) antes e b) após incubação de 24 h.



4.2. Difratometria de raio-x(DRX) das amostras preparadas no ultrassom

Os ensaios de DRX foram realizados nas amostras apresentadas na Tabela 3 para avaliar o efeito do uso do ultrassom de ponteira na esfoliação da MMT. O ensaio possibilitou avaliar o processo de esfoliação da argila pelo aumento da distância interlamelar (d_{001}), indicando assim a possível incorporação do óleo de melaleuca e do glicerol entre as lamelas de argila. A Figura 13 mostra os difratogramas obtidos para a MMT pura e para as amostras preparadas no ultrassom com argila e glicerol (MMT+Gli), com argila e óleo de melaleuca (MMT+OE10 e MMT+OE20), e com a mistura de argila, óleo e glicerol (MMT+OE10+Gli e MMT+OE20+Gli).

Figura 13: Difratomogramas de raio-x da a) MMT pura e das amostras preparadas no ultrassom e b) ampliação dos difratogramas das amostras com maior percentual de OE.



Analisando a Figura 13a, percebe-se que a argila original apresenta um pico de difração em 2θ igual a $3,50^\circ$, correspondente a distância interlamelar de 2,55nm, característico da MMT Cloisite[®] 20A. De acordo com a literatura, a capacidade da argila de receber moléculas orgânicas pode ser avaliada pelo aumento da distância interlamelar (ALBOOFETILEH et al., 2018; GARRIDO-MIRANDA et al., 2018; ZHU et al., 2019).

Quando a argila é misturada com os componentes orgânicos (OE e Gli), nota-se a diminuição do ângulo 2θ para valores menores e, conseqüentemente, maiores valores de distância interplanar. Este fato deve-se à incorporação dos componentes orgânicos, óleo essencial e glicerol, entre as camadas de argila. A Tabela 4 mostra os ângulos de difração (2θ) medidos no ensaio de DRX e os valores das distâncias interlamelares ($d_{(001)}$), calculada pela Equação 1, das amostras submetidas ao processo de ultrassom.

Tabela 4: Ângulos de difração (2θ) e distâncias interlamelares ($d_{(001)}$) das amostras submetidas ao ultrassom.

Amostra	2θ[°]	$d_{(001)}$[nm]
MMT	3,50	2,55
MMT+Gli	2,80	3,15
MMT+OE10	2,50	3,53
MMT+OE20	2,20	4,01
MMT+OE10+Gli	2,10	4,20
MMT+OE20+Gli	2,10	4,20

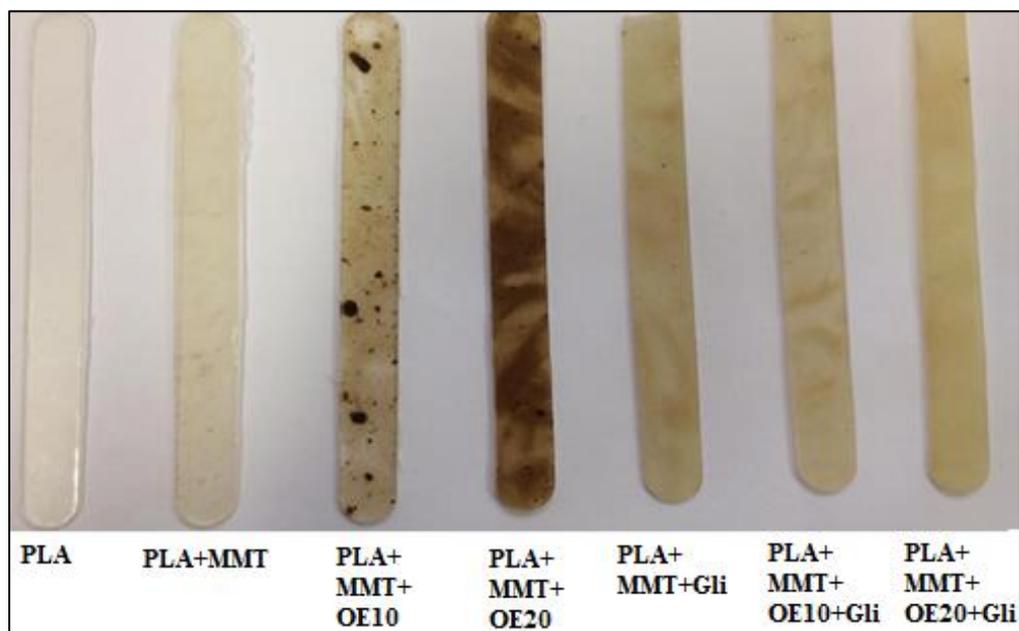
Observa-se que a presença de óleo em menor proporção (OE10) e em maior proporção (OE20) provocou o aumento da distância interlamelar para 3,53nm e 4,01nm, respectivamente. Na amostra com apenas glicerol (MMT + Gli) a distância interlamelar foi de 3,15nm. Assim, percebe-se que a adição de óleo essencial promove melhores resultados de intercalação do que o glicerol puro. Além disso, nota-se também que a maior proporção de óleo implica em um maior grau de intercalação.

A combinação dos componentes orgânicos (OE e Gli) também acarretou no maior deslocamento do pico do plano $d_{(001)}$, como pode ser evidenciado para as amostras MMT+OE10+Gli e MMT+OE20+Gli (Tabela 4). Apesar da quantidade de óleo ser distinta nessas composições, nenhuma alteração no grau de intercalação é observada, indicando que o máximo grau de intercalação foi atingido nessas amostras. Dessa forma, os ensaios de DRX demonstram que o emprego do ultrassom e a combinação de óleo essencial e glicerol são interessantes para promover melhores resultados de esfoliação da argila.

4.3. Caracterização dos bionanocompósitos

A Figura 14 mostra os corpos de prova dos bionanocompósitos obtidos após os processos de extrusão e de termoprensagem. A análise visual dos CPs revela que a incorporação de glicerol à argila propiciou uma melhor homogeneização da amostra. Já nos CPs com apenas MMT e óleo, observa-se uma maior heterogeneidade do material dada à aparição de domínios de argila ao longo da amostra. A amostra PLA+MMT+OE10 mostrou nítidos aglomerados de MMT, indicando a má dispersão da argila na matriz polimérica. Sabe-se que as variáveis de extrusão como perfil da rosca, velocidade da rosca e taxa de alimentação são importantes para promover uma boa interação entre polímero e argila (TORNUK et al., 2018). Como a extrusora utilizada neste trabalho apresentava baixo potencial de mistura, aglomerações foram observadas nesta amostra. Analisando os CPs sem glicerol, percebe-se que a presença de óleo em maior proporção (OE20) implicou na melhor distribuição e dispersão da MMT no material do que a amostra com menor proporção de óleo essencial (OE10).

Figura 14: Corpos de prova dos bionanocompósitos processados.

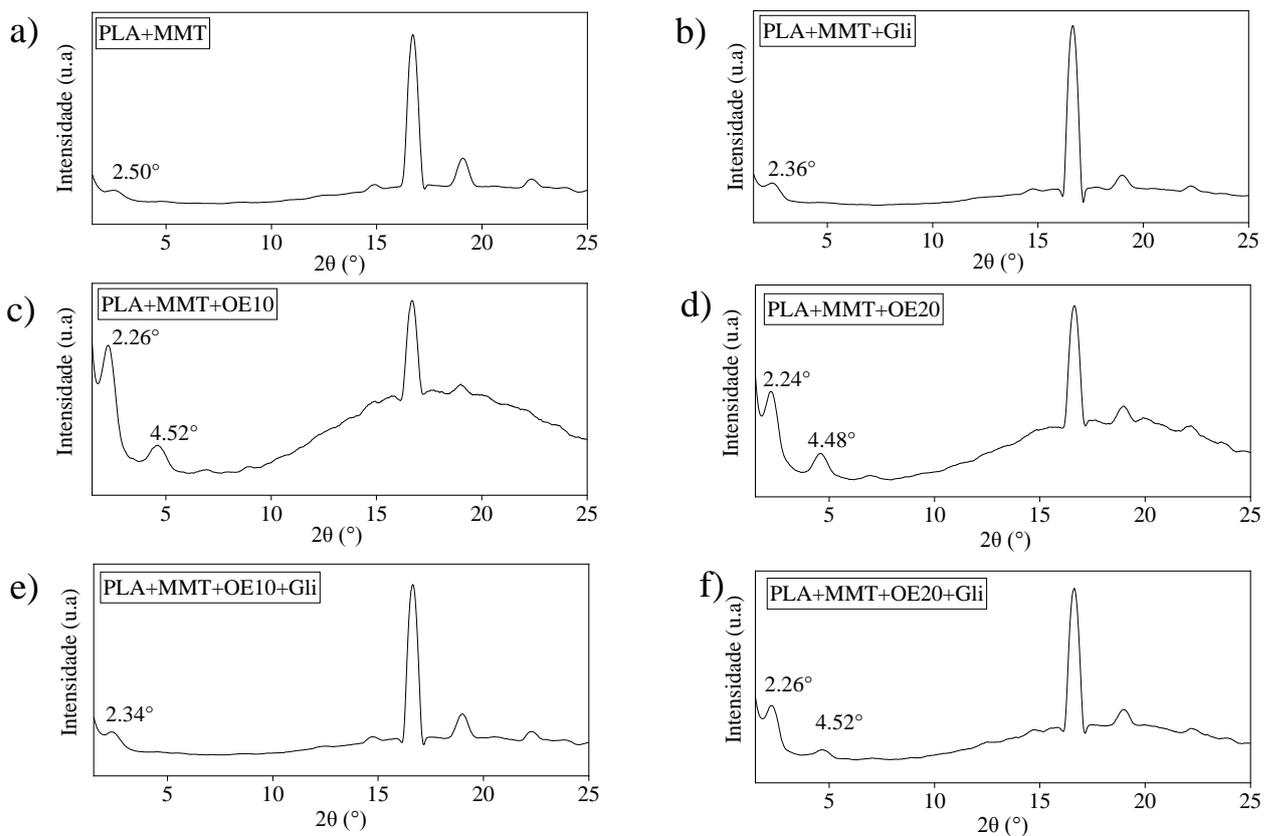


4.3.1. Difractometria de raio-x

A técnica de difração de raio-x foi empregada a fim de identificar a possível esfoliação da argila dentro da matriz polimérica após as etapas de extrusão e

termoprensagem. A Figura 15 apresenta os difratogramas dos bionanocompósitos obtidos após o processamento.

Figura 15: Difratogramas de raio-x dos bionanocompósitos de a) PLA+MMT, b) PLA+MMT+Gli, c) PLA+MMT+OE10, d) PLA+MMT+EO20, e) PLA+MMT+OE10+Gli, e f) PLA+MMT+OE20+Gli.



Conforme mostrado na Tabela 4, a MMT pura apresenta um pico no plano (001) ao redor de $2\theta = 3,50^\circ$, correspondente a distância interlamelar de 2,55 nm. No difratograma da amostra de PLA+MMT (Figura 15a) observa-se o deslocamento deste pico para $2\theta = 2,50^\circ$, indicando que a distância interlamelar da argila aumentou de 2,55 nm para 3,53 nm devido a penetração das cadeias poliméricas no espaçamento interlamelar da MMT. Esse resultado sugere que as etapas de processamento promoveram a formação de uma estrutura intercalada no bionanocompósito de PLA+MMT.

Analisando os difratogramas da amostra com apenas glicerol

(PLA+MMT+Gli), observa-se que a adição desse composto promoveu o deslocamento do pico do plano (001) de $2\theta = 2,80^\circ$ para $2\theta = 2,36^\circ$, associado a um aumento na distância interlamelar de 3,15 nm para 3,74 nm. Esse resultado indica que o glicerol atua como plastificante, favorecendo a obtenção de uma estrutura ainda mais intercalada do que as amostras de PLA+MMT. O mesmo fato foi observado no estudo de Visentini et al. (2015) o qual descreve que a adição de glicerol diminui a aglomeração e favorece o aumento da intercalação da argila na fase polimérica durante o processo de mistura.

Quando o óleo essencial é adicionado à mistura, a distância interlamelar do pico (001) aumenta nos difratogramas dos bionanocompósitos de PLA+MMT+OE10 (Figura 15c), PLA+MMT+OE20 (Figura 15d), PLA+MMT+OE10+Gli (Figura 15e) e PLA+MMT+OE20+Gli (Figura 15f). De acordo com Zhu et al. (2019), a interação efetiva entre a argila e o óleo essencial promove um inchaço no empilhamento de lamelas de argila levando ao aumento da dispersão da MMT na matriz polimérica. Além disso, o óleo essencial pode atuar como plastificante no bionanocompósito. Visentini et al. (2015) afirma que esse tipo de composto favorece a mobilidade das cadeias poliméricas por meio do enfraquecimento das interações intermoleculares, permitindo assim, a penetração do polímero no espaçamento interlamelar da MMT. Nos difratogramas dos bionanocompósitos de PLA+MMT+OE10 (Figura 14c) e PLA+MMT+OE20 (Figura 15d) nota-se uma forte intensidade no pico (001), o que estaria relacionada com a presença de uma morfologia altamente intercalada e ordenada. Quanto aos picos de segunda ordem ao redor de $2\theta = 4,58^\circ$ e $4,48^\circ$, Mclauchlin e Thomas (2009) afirmam que estes aparecem devido à alta intensidade do pico de primeira ordem.

Ao comparar as amostras de PLA+MMT+OE20 e PLA+MMT+OE20+Gli, percebe-se que a presença de glicerol não promoveu nenhuma alteração significativa na distância interlamelar dessas amostras uma vez que ambas apresentaram $d_{(001)}$ de 3,94 e 3,91 nm, respectivamente. No entanto, no difratograma do bionanocompósito de PLA+MMT+OE10+Gli nota-se uma perda de intensidade e um leve alargamento dos picos do plano (001), além do desaparecimento do pico de segunda ordem da MMT. Segundo Molinaro et al. (2013) e Pavlidou e Papaspyrides (2008), esse decréscimo na intensidade deve-se a diminuição do grau de empilhamento das camadas de argila e a existência de um sistema mais desordenado ou parcialmente esfoliado. Pode-se dizer que a presença do glicerol nessas amostras favoreceu a obtenção desse tipo de morfologia. Esse fato corrobora com o trabalho de Beauvalet et al. (2013) que avaliou a influência do glicerol na morfologia do nanocompósito de PLA/MMT e constatou a melhora da dispersão da argila na matriz

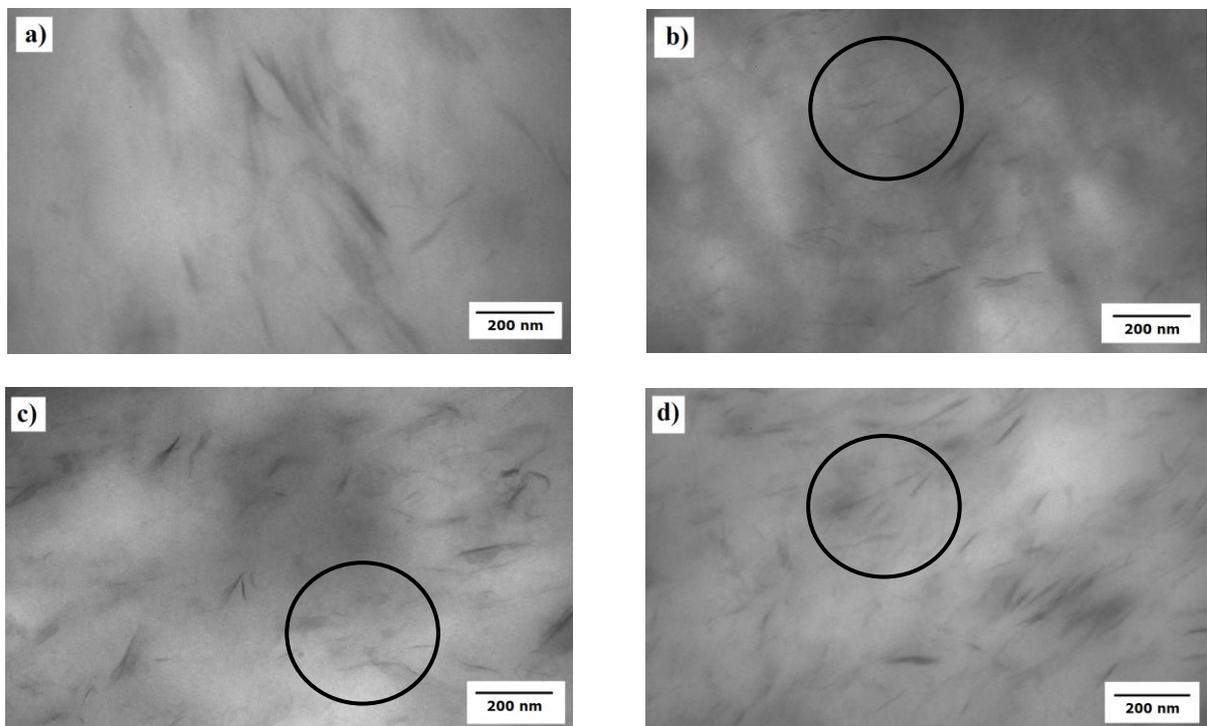
polimérica ao adicionar esse composto orgânico.

Por fim, os resultados de DRX demonstram que a nanoargila está predominantemente em configuração intercalada nos bionanocompósitos analisados, o que está de acordo com a literatura visto que a maioria dos nanocompósitos poliméricos apresentam nanoestruturas intercaladas ou mesmo a mistura das morfologias intercaladas/esfoliadas.

4.3.2. Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A Figura 16 mostra micrografias de TEM representativas obtidas para os bionanocompósitos com apenas argila e montmorilonita (PLA+MMT) e para as amostras de PLA+MMT+Gli, PLA+MMT+OE20 e PLA+MMT+OE20+Gli. O ensaio permitiu avaliar a distribuição das lamelas de argila dentro da matriz polimérica dos bionanocompósitos.

Figura 16: Micrografias de MET dos bionanocompósitos de a) PLA+MMT, b) PLA+MMT+Gli, c) PLA+MMT+OE20 e d) PLA+MMT+OE20+Gli.



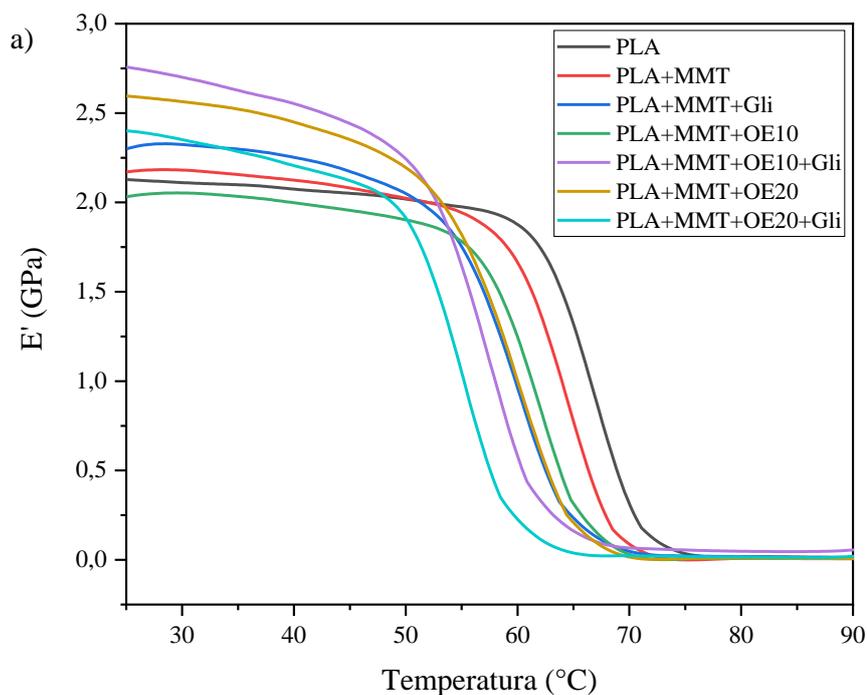
Analisando a Figura 16, observa-se que as micrografias de todos os bionanocompósitos analisados apresentaram morfologias intercaladas uma vez que as lamelas

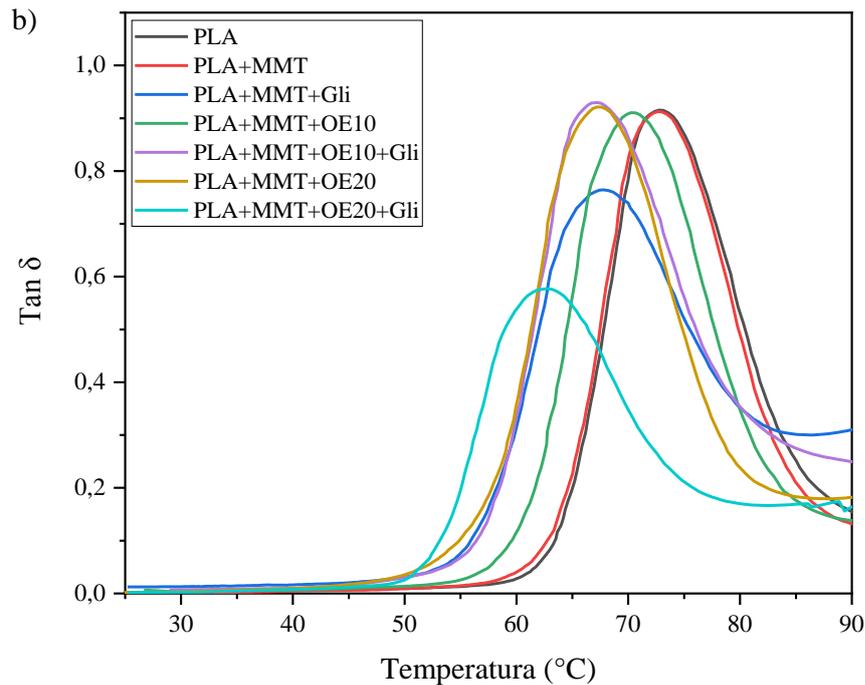
de argila encontram-se separadas, paralelas e ordenadas, o que corrobora com os resultados de DRX dessas mesmas amostras. Nos bionanocompósitos de PLA+MMT+Gli (Figura 16b), PLA+MMT+OE20 (Figura 16c), e PLA+MMT+OE20+Gli (Figura 16d) é possível ainda observar regiões com lamelas de argila isoladas, destacadas por círculos pretos, indicando que também houve a formação de uma estrutura esfoliada nesses bionanocompósitos. Esses resultados demonstram que a presença de óleo essencial e glicerol contribuíram para uma boa distribuição da argila no material. Além disso, a presença de estruturas parcialmente esfoliadas aumenta o efeito de tortuosidade, gerando propriedades de barreira que favorecem a liberação controlada da difusão do óleo essencial, o que é fundamental para aplicação em curativos antimicrobianos.

4.3.3. Análise térmica dinâmico-mecânica (DMTA)

As Figuras 17a e 17b apresentam os módulos de armazenamentos (E') e a $\tan\delta$, respectivamente, do PLA puro e dos bionanocompósitos produzidos.

Figura 17: Curvas de a) módulo de armazenamento (E') e de b) $\tan(\delta)$ versus temperatura do PLA puro e dos bionanocompósitos.





A Tabela 5 apresenta os módulos de armazenamento das amostras com o ganho e a perda percentual de E' em relação ao PLA puro na temperatura de 25°C , e os valores de $\tan\delta$, dados pelo máximo do pico, do PLA puro e dos bionanocompósitos produzidos.

Tabela 5: Módulo de armazenamento (E') e $\tan\delta$ do PLA puro e dos bionanocompósitos. O resultado entre parênteses indica o ganho (+) ou perda (-) de E' em relação ao PLA puro.

Amostra	E' (GPa)	$\tan\delta$ ($^{\circ}\text{C}$)
PLA	2,13	72,77
PLA+MMT	2,17(+1,88%)	72,69
PLA+MMT+Gli	2,30 (+7,98%)	67,72
PLA+MMT+OE10	2,03(-4,69%)	70,24
PLA+MMT+OE10+Gli	2,76 (+29,58%)	67,24
PLA+MMT+OE20	2,59(+21,60%)	67,21
PLA+MMT+OE20+Gli	2,40 (+12,68%)	62,70

Analisando a Figura 17a, percebe-se que na temperatura ambiente (25°C), a adição de MMT alterou o módulo de armazenamento em relação à amostra de PLA pura, mostrando a influência da argila na propriedade mecânica do polímero. Exceção foi observada

para a amostra PLA+MMT+OE10 que apresentou uma queda de -4,69% no módulo de armazenamento, provavelmente devido à má dispersão da MMT nesse bionanocompósito. Esse resultado corrobora com a análise visual dos corpos de prova (Figura 14).

Observa-se ainda uma diminuição no módulo de armazenamento à medida que a temperatura aumenta, indicando o início da transição da fase vítrea para a fase borrachosa. Acima da temperatura de transição vítrea (T_g), o efeito de reforço da argila torna-se inexistente e a rigidez dos bionanocompósitos passa a ser dependente do módulo da matriz polimérica. Esse mesmo resultado foi observado no estudo de Krikorian e Pochan (2003) que comparou as propriedades mecânicas do PLA puro com as de nanocompósitos de PLA/MMT com diferentes argilas modificadas organicamente. Pavlidou e Papaspyrides (2008) também citam outros autores que relataram esse comportamento em diferentes nanocompósitos.

Os maiores módulos de armazenamento foram obtidos nas amostras de PLA+MMT+OE10+Gli, PLA+MMT+OE20 e PLA+MMT+OE20+Gli, apresentando aumento de 29,58%, 21,60% e 12,68% em relação ao módulo do PLA puro, respectivamente. Segundo Oliveira et al. (2015), o módulo elástico é o melhor indicador do grau de intercalação/esfoliação da MMT uma vez que uma maior dispersão da argila propicia o aumento da sua área superficial, implicando na melhora do efeito de reforço da matriz polimérica. Nota-se que os bionanocompósitos com maiores módulos de armazenamento são os mesmos que apresentaram morfologia intercalada e parcialmente esfoliada nos resultados de DRX e MET, evidenciando o maior grau de intercalação/esfoliação nessas amostras.

A presença dos compostos orgânicos, OE e Gli, também parecem favorecer o aumento de E' . Por atuarem como plastificantes, normalmente espera-se que esses aditivos levem ao aumento do volume livre do sistema, causando a diminuição do módulo de armazenamento. Porém, os bionanocompósitos de PLA+MMT+Gli, PLA+MMT+OE10+Gli, PLA+MMT+OE20 e PLA+MMT+OE20+Gli apresentaram aumento no E' se comparado com as amostras de PLA puro e PLA+MMT (Figura 17a). Visentini et al. (2015) que estudou nanocompósitos de EVA/MMT com 1% em peso de glicerol explica que, na fase vítrea, os domínios cristalinos restringem o aumento do volume livre, impedindo a diminuição do módulo de armazenamento. Além disso, Lavorgna et al. (2010) afirma que o glicerol modifica as ligações de hidrogênio dentro do material, permitindo maior interação entre a argila e a matriz, o que facilita a transferência de tensão para a fase reforço e, conseqüentemente, melhora as propriedades mecânicas do bionanocompósito.

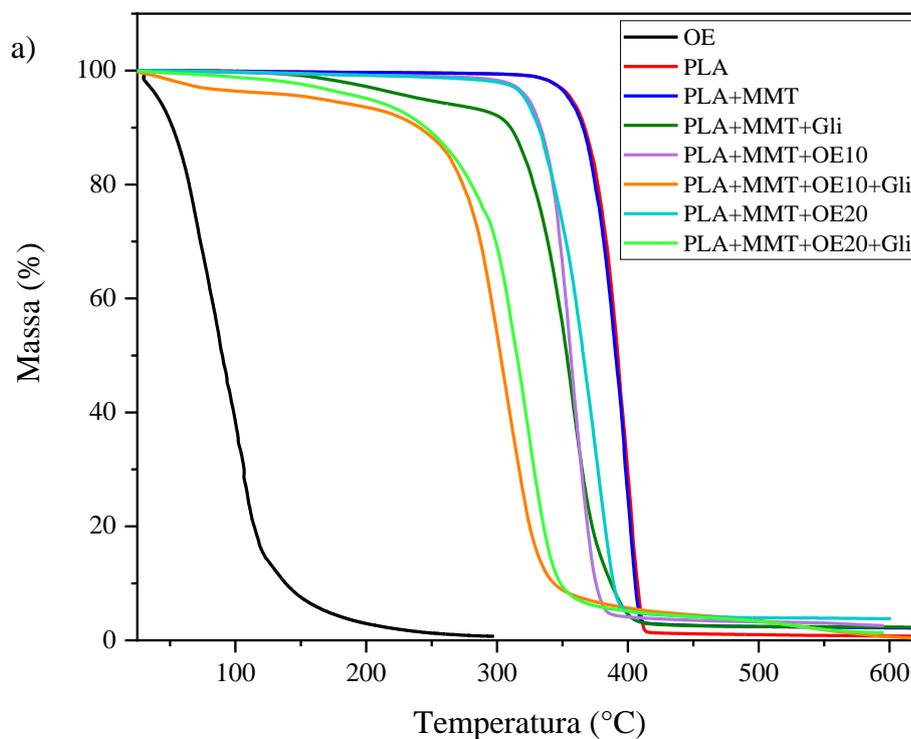
A Figura 17b apresenta as curvas de $\tan\delta$ em função da temperatura, nas quais

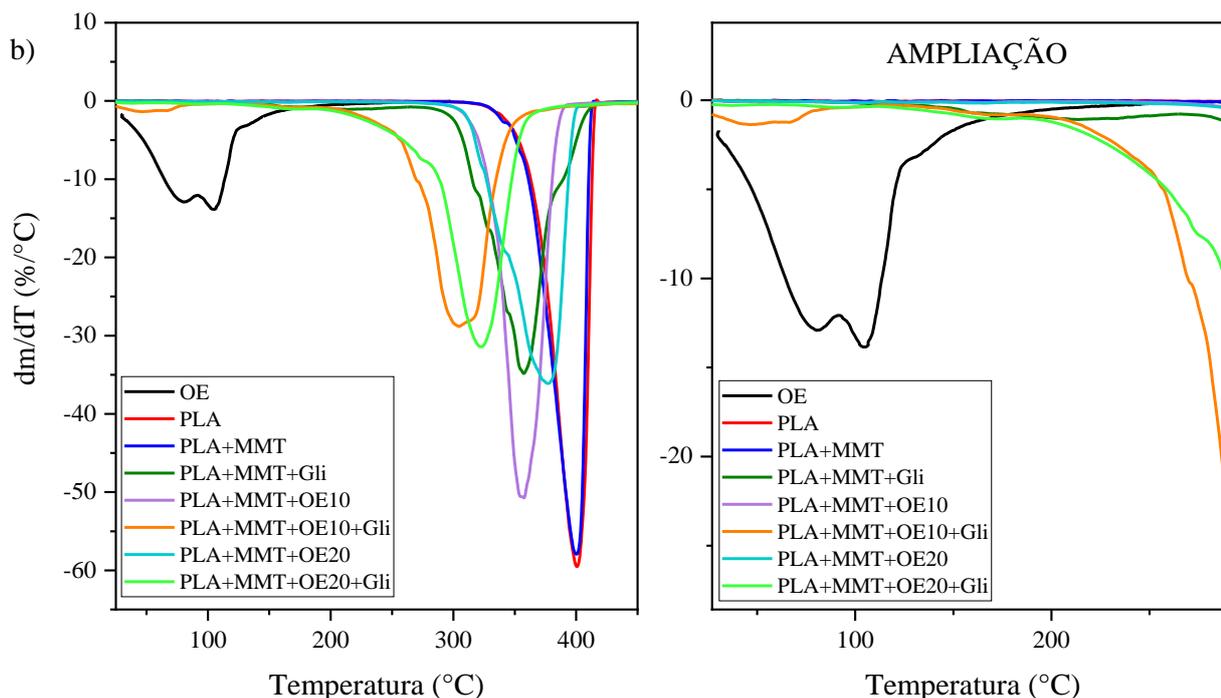
pode-se inferir a temperatura de transição vítrea das amostras, dada pelo pico de $\tan\delta$. A presença de MMT no bionanocompósito de PLA+MMT praticamente não alterou a T_g da matriz polimérica, o que também foi observado no trabalho de Krikorian e Pochan (2003). Por outro lado, nos bionanocompósitos com adição de óleo e glicerol, a temperatura de relaxação diminuiu em relação ao polímero puro. Esse dado indica maior mobilidade nessas cadeias poliméricas, o que era esperado visto que esses compostos orgânicos atuam como plastificantes no material.

4.3.4. Análise termogravimétrica (TGA)

A estabilidade térmica do óleo de melaleuca (OE), das amostras de PLA puro e dos bionanocompósitos foi avaliada por meio da análise termogravimétrica. A Figura 18 mostra as curvas a) TG e b) DTG para as amostras analisadas.

Figura 18: Curvas de a) TG e b) DTG do OE, do PLA puro e dos bionanocompósitos.





A Tabela 6 mostra os dados obtidos com as análises termogravimétricas das amostras analisadas, indicando as temperaturas nas quais ocorrem o início ($T_{\text{início}}$) e a máxima ($T_{\text{máx}}$) de perda de massa, assim como a porcentagem de resíduo a 550°C.

Tabela 6: Temperaturas de início ($T_{\text{início}}$) e máxima ($T_{\text{máx}}$) perda de massa e percentual de resíduo.

Amostra	$T_{\text{início}}$ (°C)	$T_{\text{máx}}$ (°C)	Resíduo (%)
OE	55,94	104,29	0,72 (a 300 °C)
PLA	369,96	401,03	0,86
PLA+MMT	369,70	400,16	2,29
PLA+MMT+Gli	320,54	358,12	2,38
PLA+MMT+OE10	335,29	356,51	3,04
PLA+MMT+OE10+Gli	277,71	304,35	1,87
PLA+MMT+OE20	338,80	376,76	3,90
PLA+MMT+OE20+Gli	291,63	322,34	1,89

O resultado de TGA evidencia a alta volatilidade, mesmo a temperatura ambiente, e a baixa estabilidade térmica do óleo de melaleuca. A perda de massa ocorre na faixa de temperatura de 25 – 120 °C. A curva de DTG (Figura 18b) revela ainda dois estágios

máximos de perda de massa, sendo o primeiro a 77,20°C, e o segundo a 105,79°C; ambos referentes à volatilização dos componentes do óleo. Apesar da alta volatilidade observada nos resultados do óleo de melaleuca, a literatura tem mostrado que a utilização da argila como carregadora de compostos ativos pode fornecer proteção às moléculas voláteis durante as etapas de processamento (GIANNAKAS et al., 2017). Analisando os resultados de DTG dos bionanocompósitos de PLA+MMT+OE10, PLA+MMT+OE10+Gli e PLA+MMT+OE20, observa-se que nenhum pico significativo aparece na faixa de temperatura referente à evaporação do óleo essencial, Figura 18b amplificada, o que sugere que a argila tenha melhorado a estabilidade térmica do OE presente nessas amostras. Exceção foi observada no bionanocompósito de PLA+MMT+OE10+Gli que apresentou redução de massa de aproximadamente -3% em temperaturas inferiores à 100 °C, provavelmente referente a volatilização do excesso de OE não necessariamente incorporado na MMT.

Ao comparar as curvas TGA do PLA puro e do bionanocompósito de PLA com adição de 3% em massa de MMT (PLA+MMT), nota-se que a incorporação de argila não provocou nenhuma mudança significativa na estabilidade térmica do bionanocompósito. Ambas as amostras apresentaram uma única etapa de perda de massa com início em aproximadamente 370°C, referente à decomposição térmica do PLA. Apesar de a literatura reconhecer que a incorporação de argila melhora a estabilidade térmica do nanocompósito, alguns estudos mostraram resultados diferentes. Molinaro et al. (2013), por exemplo, observou uma diminuição de 3-4°C nas temperaturas de início de decomposição térmica em nanocompósitos de PLA com 4% em peso de MMT Cloisite®20A. O autor citando Chang et al. (2003) explica que a estabilidade térmica do nanocompósito diminui em altas temperaturas devido à baixa estabilidade do modificador orgânico da argila. Além disso, Paul et al. (2003) também afirma que a presença de MMT em baixo percentual na matriz polimérica favorece a intercalação/esfoliação, porém a quantidade de lamelas esfoliadas não é suficiente para melhorar a estabilidade térmica do nanocompósito.

Analisando as amostras com apenas óleo de melaleuca, PLA+MMT+OE10 e PLA+MMT+OE20, observa-se que a adição de óleo essencial diminui a estabilidade térmica dos bionanocompósitos. As temperaturas de início de perda de massa reduziram -34,41 °C e -30,90 °C nas amostras de PLA+MMT+OE10 e PLA+MMT+OE20, respectivamente. Com relação aos bionanocompósitos que tiveram a adição de glicerol, PLA+MMT+Gli, PLA+MMT+OE10+Gli e PLA+MMT+OE20+Gli, estas apresentaram dois eventos de perda de massa, sendo o primeiro com início por volta de 150 °C, e o segundo próximo de 320 °C.

Vieira (2016) afirma que a primeira perda de massa refere-se ao início da evaporação do glicerol. Já a segunda deve-se a decomposição térmica do glicerol e do PLA.

Quanto ao resíduo gerado após a decomposição térmica (Tabela 6), percebe-se que a maior parte dos bionanocompósitos apresentou quantidade residual próxima ou superior a 2%, a qual está relacionada principalmente com a presença de argila no material. De acordo com Souza et al. (2019), como a MMT atua como uma barreira térmica para os produtos voláteis gerados durante a decomposição, a perda de massa tende a ser dificultada, aumentando a quantidade de resíduo nas amostras em que esta é adicionada. O autor ao estudar filmes de quitosana incorporados com óleo essencial de gengibre relatou maior percentual de resíduo nas amostras que continham 2% em peso de MMT do que nos filmes em que o óleo foi diretamente incorporado ao polímero. Além disso, quando uma maior quantidade de óleo era adicionada nos bionanocompósitos, o percentual de resíduo não necessariamente era superior que o de bionanocompósitos com menor quantidade de óleo essencial. Isso mostra que não há uma relação entre o percentual de resíduo e as composições utilizadas na confecção desses corpos de prova.

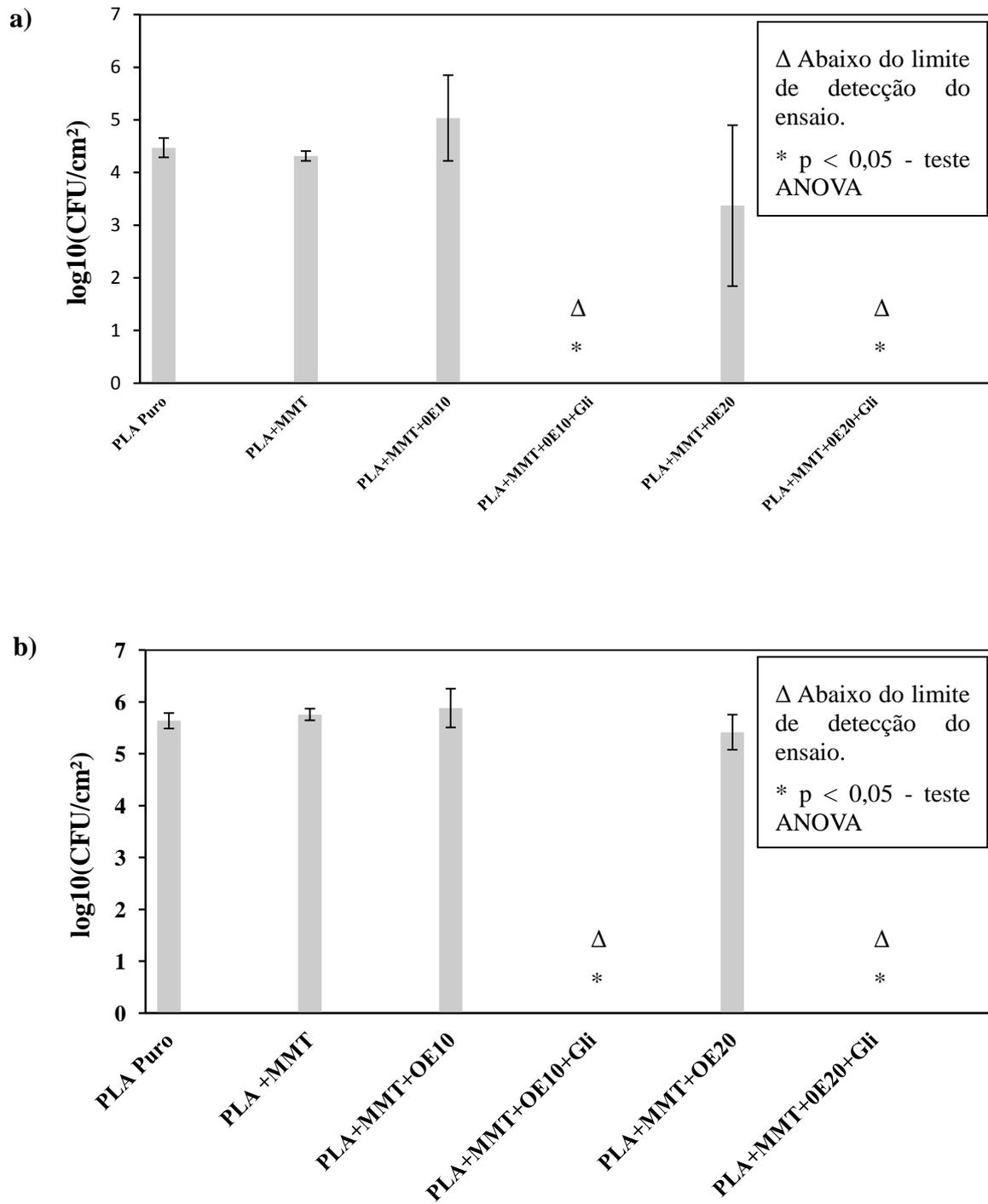
Analisando a Tabela 6, nota-se ainda que a quantidade residual foi menor nos bionanocompósitos de PLA+MMT+OE10+Gli e PLA+MMT+OE20+Gli. Isso pode ser justificado pelo fato do glicerol atuar melhorando a dispersão da MMT na matriz polimérica, o que resultaria em menor confinamento do óleo e do glicerol entre as lamelas de argila. Com isso, esses compostos passam a interagir melhor com a matriz de PLA, causando redução da temperatura de decomposição térmica. Esse resultado corrobora com o estudo de Shemesh et al. (2015) que avaliou bionanocompósitos de polietileno de baixa densidade e argila MMT incorporados com óleo essencial de carvacrol e compatibilizante. Este último composto melhorava a dispersão do híbrido de argila-óleo na matriz polimérica, levando a redução do conteúdo de óleo incorporado após o processamento. No entanto, a atividade antimicrobiana dos filmes recém-produzidos não era comprometida, vindo apenas a apresentar baixa resposta antimicrobiana após um mês de confecção dos filmes.

4.3.5. Medida da atividade antimicrobiana em superfícies plásticas

O ensaio feito com base na norma ISO221961 permitiu a avaliação quantitativa da atividade antimicrobiana dos bionanocompósitos analisados. As Figuras 19a e 19b mostram os resultados de redução do número de células viáveis por cm² obtidos para os bionanocompósitos inoculados com *S. aureus* ATCC 25923 e *E.coli* ATCC 25922,

respectivamente, tendo como grupo controle a amostra de PLA puro.

Figura 19: Redução do número de células viáveis por cm^2 (CFU/ cm^2) nos bionanocompósitos inoculados com a) *S. aureus* ATCC 25923 e b) *E. coli* ATCC 25922.



Analisando as Figuras 19a e 19b, observa-se que o bionanocompósito

PLA+MMT apresentou praticamente o mesmo comportamento do grupo controle (PLA puro) para ambas as bactérias testadas, o que não era esperado visto que a literatura afirma que a MMT apresenta atividade antimicrobiana, ainda que em pequena quantidade. Resultado semelhante foi obtido no estudo de Rhim et al. (2009). Os autores observaram a propriedade antimicrobiana nos pós de MMT Cloisite[®]20A, porém ao combiná-las com PLA nenhuma atividade foi detectada contra os microorganismos testados. A explicação estaria relacionada com o caráter hidrofóbico tanto da matriz polimérica como da própria argila. Essa característica mantém as bactérias adsorvidas na superfície do material, reduzindo a atividade antimicrobiana. Hong e Rhim (2008) perceberam também uma maior eficiência destas argilas contra bactérias gram positivas (*S. aureus*) do que contra bactérias gram negativas (*E. coli*). Esse fato pode estar relacionado com as diferentes estruturas celulares desses microorganismos. Segundo os autores, bactérias gram positivas apresentam parede celular espessa sem membrana externa, enquanto que as gram negativas possuem parede celular fina e a maioria das camadas são membranas externas. Como a propriedade antimicrobiana da MMT está relacionada com o modificador orgânico da argila, cada tipo de bactéria reage de uma forma a esse composto. Além disso, os autores observaram ainda que a MMT Cloisite[®]20A apresenta efeito bacteriostático contra bactérias gram positivas uma vez que esta impedia a proliferação dos microorganismos, porém não os matava. Isso justifica o fato do número de células viáveis no bionanocompósito de PLA+MMT ser muito semelhante a do grupo controle.

Com relação à amostra de PLA+MMT+OE10, o efeito antimicrobiano percebido foi pouco significativo se comparado com os bionanocompósito sem adição de óleo essencial (PLA+MMT). Em contrapartida, a amostra de PLA+MMT+OE20 apresentou o melhor resultado de atividade antimicrobiana nas amostras inoculadas com *S. aureus*. A diferença observada nessa propriedade pode estar relacionada com o nível de dispersão e orientação das camadas de silicato. De acordo com Lavorgna et al. (2010), quando as lamelas de argila estão mais alinhadas e floculadas, a redução da permeabilidade é maior do que quando estas estão orientadas aleatoriamente na matriz polimérica. Conforme visto no ensaio de DMTA e na análise visual da amostra de PLA+MMT+OE10, a má dispersão da argila nesse bionanocompósito pode ter contribuído para melhorar as propriedades de barreira, dificultando a migração do óleo para a superfície do material. Assim, se comparado com as amostras de PLA puro e PLA+MMT, praticamente nenhum ganho na atividade antimicrobiana foi observado com a adição de óleo essencial. Já no caso dos

bionanocompósitos de PLA+MMT+OE20 que apresentaram bons resultados de intercalação/esfoliação nos ensaios de DRX, MET e DMTA, a maior dispersão da MMT na matriz polimérica propiciou maior permeabilidade para a difusão do óleo dentro do material. Dessa forma, a medida da atividade antimicrobiana nesta amostra foi melhor que no bionanocompósito de PLA+MMT+OE10.

A mistura de óleo essencial e glicerol nos bionanocompósitos de PLA+MMT+OE10+Gli e PLA+MMT+OE20+Gli acarretou na diminuição da população bacteriana de *S. aureus* ATCC 25923e *E.coli* ATCC 25922 para valores abaixo do limite de detecção do ensaio. Novamente, a presença do glicerol mostrou-se interessante para a aplicação em curativos antimicrobianos uma vez que este composto favorece a dispersão aleatória das lamelas de argila, permitindo melhor permeabilidade dos componentes orgânicos dentro do material polimérico. Além disso, na revisão de Fluhr et al. (2008) é demonstrado que o glicerol apresenta atividade antimicrobiana pronunciada por volta de 35°C, temperatura esta utilizada no ensaio da norma ISO221961. Assim, é provável que a combinação de óleo essencial e glicerol promoveu um efeito sinérgico que implicou na eliminação de bactérias gram positivas e gram negativas, melhorando satisfatoriamente a atividade antimicrobiana desses bionanocompósitos.

5. CONCLUSÕES

O óleo de melaleuca apresentou propriedades antibactericidas às cepas *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, formando halos inibitórios de 16 e 18 mm, respectivamente.

Os resultados de DRX das amostras preparadas no ultrassom revelaram que tanto o óleo de melaleuca como o glicerol foram incorporados com sucesso na estrutura da argila uma vez que ocorreu o aumento da distância interlamelar do pico característico $d_{(001)}$ da MMT, indicando assim, a presença dos compostos orgânicos. Dessa forma, o método de preparo utilizado foi eficiente para promover a incorporação das substâncias ativas.

Os ensaios de DRX e MET indicaram que os bionanocompósitos apresentam predominantemente morfologias intercaladas/esfoliadas. Em geral, a maior dispersão das lamelas de argila foi observada nas amostras com glicerol. Conseqüentemente, as propriedades termo-mecânicas foram superiores nesses mesmos bionanocompósitos. Quanto à estabilidade térmica das amostras, observou-se que a presença de MMT não afeta as propriedades térmicas dos bionanocompósitos, apresentando resultados similares as das amostras de PLA puro. Já a presença de óleo essencial e glicerol resultaram na diminuição da estabilidade térmica dos bionanocompósitos.

A avaliação da atividade antimicrobiana dos bionanocompósitos produzidos mostrou que o óleo essencial e o glicerol permaneceram presentes nas amostras mesmo após as etapas de extrusão e termoprensagem. O ensaio revelou que a combinação desses compostos é interessante para propiciar a eliminação das bactérias *S. aureus* e *E.coli* e até mesmo inibir o crescimento desses microorganismos.

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Considerando os resultados obtidos neste trabalho e as informações encontradas na literatura, esta pesquisa pode ser incrementada investigando em futuros trabalhos os seguintes tópicos:

- Quantificar o óleo incorporado à argila por meio da solução sobrenadante;
- Utilizar temperatura mais baixa para secagem da solução sobrenadante contendo os híbridos de argila-óleo a fim de dificultar eliminação do composto volátil;
- Tentar o uso de misturadores com maior potencial de mistura a fim de obter melhores resultados de esfoliação e dispersão da argila;
- Realizar ensaio de disco difusão nos bionanocompósitos incorporados com o óleo essencial de melaleuca a fim de avaliar a atividade antimicrobiana;
- Realizar ensaio de liberação controlada a fim de avaliar como o óleo essencial é liberado da argila.

7. REFERÊNCIAS

AGUZZI, C. et al. Use of clays as drug delivery systems: Possibilities and limitations. **Applied Clay Science**, v. 36, n. 1–3, p. 22–36, 1 abr. 2007. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169131706001505>>. Acesso em: 5 set. 2019.

ALBOOFETILEH, M. et al. Morphological, physico-mechanical, and antimicrobial properties of sodium alginate-montmorillonite nanocomposite films incorporated with marjoram essential oil. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 42, n. 5, p. e13596, 1 maio 2018. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/jfpp.13596>>. Acesso em: 6 dez. 2018.

ALEXANDRE, E. M. C. et al. Gelatin-based films reinforced with montmorillonite and activated with nanoemulsion of ginger essential oil for food packaging applications. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 10, p. 87–96, 1 dez. 2016. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez67.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S2214289416301491>>. Acesso em: 6 dez. 2018.

ARAÚJO, A. P. M. et al. Bionanocomposite Obtained from Poly (lactic acid)/Biopolyethylene Blend and Clay. **Macromolecular Symposia**, v. 343, n. 1, p. 59–64, 1 set. 2014. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/masy.201300190>>. Acesso em: 6 dez. 2018.

ARAUJO, W. de. **Preparação e caracterização do nanocompósito fotossensível de acrílico/argila para manufatura aditiva**. [s.l.] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 26 set. 2016. Disponível em: <<http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/2540>>. Acesso em: 1 fev. 2019.

AUBERT-VIARD, F. et al. Evaluation of antibacterial textile covered by layer-by-layer coating and loaded with chlorhexidine for wound dressing application. **Materials Science and Engineering: C**, v. 100, p. 554–563, 1 jul. 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493118329515>>. Acesso em: 18 mar. 2019.

AZEREDO, H. M. C. de. Nanocomposites for food packaging applications. **Food Research International**, v. 42, n. 9, p. 1240–1253, nov. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S096399690900091X>>. Acesso em: 20 nov. 2019.

AZEREDO, H. M. C. de. Antimicrobial nanostructures in food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 30, n. 1, p. 56–69, 1 mar. 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224412002671>>. Acesso em: 20 fev. 2019.

BARBOSA, R. de M. et al. Nanoclays in drug delivery systems. In: **Clay Nanoparticles**. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 185–202.

BEAUVALET, M. S. et al. Influence of glycerol on morphology and properties of polylactide/montmorillonite nanocomposites. **Polymer Bulletin**, v. 70, n. 6, p. 1863–1873, 29 jun. 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00289-012-0884-x>>.

BRITO, G. F. B. et al. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros

Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 6, p. 127–139, set. 2011.

BUENO, C. Z. **Desenvolvimento e análise das propriedades de membranas de quitosana e alginato contendo polihexametileno biguanida para o tratamento de lesões de pele**. 2015. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/266039/1/Bueno_CeciliaZorzi_D.pdf>. Acesso em: 5 ago. 2019.

BUKZEM, A. de L. **Membranas porosas à base de carboximetilquitosana e poli (álcool vinílico) para o tratamento de lesões de pele**. 2019. Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75134/tde-14012019-101144/>>. Acesso em: 5 ago. 2019.

BUMBUDSANPHAROKE, N.; KO, S. **Nanoclays in food and beverage packaging** *Journal of Nanomaterials* Hindawi Limited, , 2019. .

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223–253, 1 ago. 2004. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160504001680>>. Acesso em: 24 jan. 2019.

CALO, J. R. et al. Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. **Food Control**, v. 54, p. 111–119, 1 ago. 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713515000456>>. Acesso em: 30 jan. 2019.

CAMPOS-REQUENA, V. H. et al. Polymer/clay nanocomposite films as active packaging material: Modeling of antimicrobial release. **European Polymer Journal**, v. 71, p. 461–475, 1 out. 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014305715004358>>. Acesso em: 20 fev. 2019.

CARSON, C. F. et al. Tea tree oil: a potential alternative for the management of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Australian Infection Control**, v. 10, n. 1, p. 32–34, 1 mar. 2005. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1329936016300876>>. Acesso em: 1 abr. 2019.

CARSON, C. F.; RILEY, T. V.; COOKSON, B. D. Efficacy and safety of tea tree oil as a topical antimicrobial agent. **Journal of Hospital Infection**, v. 40, n. 3, p. 175–178, nov. 1998. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195670198901359>>. Acesso em: 30 jan. 2019.

CHANG, J. H. et al. Poly(lactic acid) nanocomposites: Comparison of their properties with montmorillonite and synthetic mica (II). **Polymer**, v. 44, n. 13, p. 3715–3720, 30 maio 2003.

CHAUDHARY, D.; LIU, H. Ultrasonic treatment and synthesis of sugar alcohol modified Na⁺-montmorillonite clay. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 1, p. 63–68, 1 jan. 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S135041771200168X>>. Acesso em: 4 abr. 2019.

COELHO, C. P. D. **Obtenção e caracterização de nanocompósitos de**

poliestireno e argilas esmectíticas. 2008. Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3133/tde-05082009-165838/>>. Acesso em: 20 dez. 2018.

COLTRO, L.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; JUNIOR, I. A. J. Biopolímeros Usados Em Embalagem: Propriedades E Aplicações. In: Congresso Brasileiro de Polímeros, March, **Anais...2005.** Disponível em: <<https://www.ipen.br/biblioteca/cd/cbpol/2005/PDF/925.pdf>>.

DARIE, R. N. et al. Effect of nanoclay hydrophilicity on the poly(lactic acid)/clay nanocomposites properties. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 53, n. 19, p. 7877–7890, 2014.

DERAKHSHANDEH, H. et al. Smart Bandages: The Future of Wound Care. **Trends in Biotechnology**, v. 36, n. 12, p. 1259–1274, 1 dez. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167779918301987>>. Acesso em: 18 mar. 2019.

EMADIAN, S. M.; ONAY, T. T.; DEMIREL, B. Biodegradation of bioplastics in natural environments. **Waste Management**, v. 59, p. 526–536, jan. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2016.10.006>>. Acesso em: 17 jan. 2019.

EUSEPI, P. et al. Carvacrol Prodrugs with Antimicrobial Activity Loaded on Clay Nanocomposites. **Materials**, v. 13, n. 7, p. 1793, 10 abr. 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1996-1944/13/7/1793>>.

FAN, Q. et al. Effect of Intercalation Structure of Organo-Modified Montmorillonite/Poly(lactic Acid) on Wheat Straw Fiber/Poly(lactic Acid) Composites. **Polymers**, v. 10, n. 8, p. 896, 9 ago. 2018. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2073-4360/10/8/896>>. Acesso em: 20 dez. 2018.

FARAH, S.; ANDERSON, D. G.; LANGER, R. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 107, p. 367–392, 15 dez. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X16302058>>. Acesso em: 20 fev. 2019.

FLUHR, J. W.; DARLENSKI, R.; SURBER, C. Glycerol and the skin: holistic approach to its origin and functions. **British Journal of Dermatology**, v. 159, n. 1, p. 23–34, 1 jul. 2008. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2133.2008.08643.x>>. Acesso em: 8 out. 2020.

FONDER, M. A. et al. Treating the chronic wound: A practical approach to the care of nonhealing wounds and wound care dressings. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 58, n. 2, p. 185–206, 1 fev. 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0190962207015988>>. Acesso em: 18 mar. 2019.

GARRIDO-MIRANDA, K. A. et al. Antioxidant and antifungal effects of eugenol incorporated in bionanocomposites of poly(3-hydroxybutyrate)-thermoplastic starch. **LWT- Food Science and Technology**, v. 98, p. 260–267, dez. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.046>>. Acesso em: 23 jan. 2019.

GHORBANI, S. et al. Combined effects of 3D bone marrow stem cell-seeded wet-electrospun poly lactic acid scaffolds on full-thickness skin wound healing. **International**

Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials, v. 67, n. 15, p. 905–912, 13 out. 2018. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=gpom20>>. Acesso em: 5 fev. 2019.

GIANNAKAS, A. et al. A novel method for the preparation of inorganic and organo-modified montmorillonite essential oil hybrids. **Applied Clay Science**, v. 146, p. 362–370, 15 set. 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169131717302764>>. Acesso em: 30 jul. 2019.

GÓMEZ, M.; PALZA, H.; QUIJADA, R. Influence of Organically-Modified Montmorillonite and Synthesized Layered Silica Nanoparticles on the Properties of Polypropylene and Polyamide-6 Nanocomposites. **Polymers**, v. 8, n. 11, p. 386, 31 out. 2016. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2073-4360/8/11/386>>. Acesso em: 12 fev. 2019.

GRIPPA, G. de A. et al. Estudo genotóxico do surfactante Tween 80 em *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 23, p. 11–16, 2010. Disponível em: <<http://portal.revistas.bvs.br/index.php?issn=1415-2983&lang=pt>>. Acesso em: 26 ago. 2020.

HALCÓN, L.; MILKUS, K. Staphylococcus aureus and wounds: A review of tea tree oil as a promising antimicrobial. **American Journal of Infection Control**, v. 32, n. 7, p. 402–408, 1 nov. 2004. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.ez67.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0196655304003657>>. Acesso em: 28 jan. 2019.

HAMMER, K. A. Treatment of acne with tea tree oil (melaleuca) products: A review of efficacy, tolerability and potential modes of action. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 45, n. 2, p. 106–110, 1 fev. 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.ez67.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0924857914003458>>. Acesso em: 28 jan. 2019.

HONG, S.-I.; RHIM, J.-W. Antimicrobial Activity of Organically Modified Nano-Clays. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 8, n. 11, p. 5818–5824, 1 nov. 2008. Disponível em: <<https://www.ingentaconnect.com/content/10.1166/jnn.2008.248>>.

HU, Z. et al. Controlled synthesis of train-structured montmorillonite/layered double hydroxide nanocomposites by regulating the hydrolysis of polylactic acid. **Journal of Materials Science**, v. 53, n. 23, p. 15859–15870, 6 dez. 2018. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10853-018-2758-6>>. Acesso em: 20 dez. 2018.

JAHROMI, M. A. M. et al. Nanomedicine and advanced technologies for burns: Preventing infection and facilitating wound healing. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 123, p. 33–64, jan. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X17301291>>. Acesso em: 5 fev. 2019.

JAYRAJSINH, S. et al. Montmorillonite nanoclay as a multifaceted drug-delivery carrier: A review. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 39, p. 200–209, 1 jun. 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1773224717301004?via%3Dihub>>. Acesso em: 14 fev. 2019.

KARIMI, A.; DAUD, W. M. A. W. Materials, preparation, and characterization of PVA/MMT nanocomposite hydrogels: A review. **Polymer Composites**, v. 38, n. 6, p. 1086–1102, 1 jun. 2017. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/pc.23671>>. Acesso em: 20 dez. 2018.

KIM, H. S. et al. Advanced drug delivery systems and artificial skin grafts for skin wound healing. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 146, p. 209–239, jun. 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X18303181>>. Acesso em: 6 fev. 2019.

KINNINMONTH, M. et al. Nano-Layered Inorganic-Organic Hybrid Materials for the Controlled Delivery of Antimicrobials. **Macromolecular Symposia**, v. 338, n. 1, p. 36–44, abr. 2014. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/masy.201100109>>.

KRIKORIAN, V.; POCHAN, D. J. Poly (L -Lactic Acid)/ Layered Silicate Nanocomposite : Fabrication , Characterization , and Properties. **Chemistry of Materials**, n. 15, p. 4317–4324, 2003. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cm034369%2B>>.

LASPRILLA, A. J. R. et al. Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices — A review. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 1, p. 321–328, 1 jan. 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975011000954>>. Acesso em: 29 jan. 2019.

LAVORGNA, M. et al. Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 2, p. 291–298, 5 set. 2010. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861710003358>>. Acesso em: 15 jan. 2020.

LI, Z.; KNETSCH, M. Antibacterial Strategies for Wound Dressing: Preventing Infection and Stimulating Healing. **Current Pharmaceutical Design**, v. 24, n. 8, p. 936–951, 14 maio 2018. Disponível em: <<http://www.eurekaselect.com/159796/article>>. Acesso em: 5 fev. 2019.

LIN, G. et al. Preparation of Tea Tree Oil/Poly(styrene-butyl methacrylate) Microspheres with Sustained Release and Anti-Bacterial Properties. **Materials**, v. 11, n. 5, p. 710, 1 maio 2018. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/1996-1944/11/5/710>>. Acesso em: 1 fev. 2019.

MAFTOONAZAD, N.; RAMASWAMY, H. Novel techniques in food processing: bionanocomposites. **Current Opinion in Food Science**, v. 23, p. 49–56, out. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.05.010>>. Acesso em: 19 dez. 2018.

MATOS, S. P. de; LUCCA, L. G.; KOESTER, L. S. Essential oils in nanostructured systems: Challenges in preparation and analytical methods. **Talanta**, v. 195, n. July 2018, p. 204–214, abr. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.11.029>>.

MCLAUHLIN, A. R.; THOMAS, N. L. Preparation and thermal characterisation of poly(lactic acid) nanocomposites prepared from organoclays based on an amphoteric surfactant. **Polymer Degradation and Stability**, v. 94, n. 5, p. 868–872, maio 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141391009000160>>. Acesso em: 8 set. 2020.

MIRANTE, D. C. **Desenvolvimento Tecnológico e Avaliação da Atividade Antimicrobiana de Micropartículas de Polilisina e de Nanocápsulas contendo óleo essencial de Melaleuca Alternifolia Cheel (Myrtaceae)**. 2015. Universidade Estadual de Ponta Grossa- UEPG, Ponta Grossa, 2015. Disponível em: <[http://tede2.uepg.br/jspui/bitstream/prefix/87/1/Daiane Cristine Mirante.pdf](http://tede2.uepg.br/jspui/bitstream/prefix/87/1/Daiane%20Cristine%20Mirante.pdf)>. Acesso em: 6 maio. 2019.

MISHRA, R. K. et al. Antimicrobial and in vitro wound healing properties of novel clay based bionanocomposite films. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 25, n. 8, p. 1925–1939, 16 ago. 2014. Disponível em: <<https://link-springer-com.ez67.periodicos.capes.gov.br/content/pdf/10.1007%2Fs10856-014-5228-y.pdf>>. Acesso em: 6 fev. 2019.

MOLINARO, S. et al. Effect of nanoclay-type and PLA optical purity on the characteristics of PLA-based nanocomposite films. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 1, p. 113–123, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.021>>.

MORAES, J. D. D. et al. Clay minerals: Properties and applications to dermocosmetic products and perspectives of natural raw materials for therapeutic purposes—A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 534, n. 1–2, p. 213–219, dez. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517317310013>>. Acesso em: 13 fev. 2019.

NAMPOOTHIRI, K. M.; NAIR, N. R.; JOHN, R. P. An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 22, p. 8493–8501, 1 nov. 2010. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852410009508>>. Acesso em: 29 jan. 2019.

NASCIMENTO, P. F. C. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 108–113, mar. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2007000100020&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 2 fev. 2021.

OJJO, V.; RAY, S. S. Processing strategies in bionanocomposites. **Progress in Polymer Science**, v. 38, n. 10–11, p. 1543–1589, out. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2013.05.011>>. Acesso em: 19 dez. 2018.

OLIVEIRA, A. D. de et al. Influência da modificação da argila montmorilonita nas propriedades mecânicas, termo-mecânicas e morfológicas de nanocompósitos de blendas de poliamida 6/Acrilonitrila-EPDM-estireno. **Polímeros**, v. 25, n. 2, p. 219–228, abr. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282015000200219&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 2 out. 2019.

PARK, J. H. et al. Application of montmorillonite in bentonite as a pharmaceutical excipient in drug delivery systems. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 46, n. 4, p. 363–375, 1 jul. 2016.

PAUL, M.-A. et al. New nanocomposite materials based on plasticized poly(l-lactide) and organo-modified montmorillonites: thermal and morphological study. **Polymer**, v. 44, n. 2, p. 443–450, jan. 2003. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032386102007784>>.

PAVLIDOU, S.; PAPASPYRIDES, C. D. A review on polymer-layered silicate nanocomposites. **Progress in Polymer Science**, v. 33, n. 12, p. 1119–1198, dez. 2008. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079670008000701>>.

PAZ, R. A. da et al. Nanocompósitos de poliamida 6/Argila organofílica: efeito do peso molecular da matriz na estrutura e propriedades mecânicas e termomecânicas. **Polímeros**, v. 18, n. 4, p. 341–347, 3 abr. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282008000400014&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 30 set. 2019.

PAZYAR, N. et al. A review of applications of tea tree oil in dermatology. **International Journal of Dermatology**, v. 52, n. 7, p. 784–790, jul. 2013. Disponível em: <<https://onlinelibrary-wiley.ez67.periodicos.capes.gov.br/doi/pdf/10.1111/j.1365-4632.2012.05654.x>>. Acesso em: 4 fev. 2019.

PIRES, V. G. .; MOURA, M. R. de. Preparação de novos filmes poliméricos contendo nanoemulsões do óleo de melaleuca, copaíba e limão para aplicação como biomaterial. **Química Nova**, v. 40, n. 1, p. 1–5, 20 jul. 2016. Disponível em: <<http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/AR20160054.pdf>>.

PIRES, V. G. A. **Incorporação de nanoemulsões de óleos essenciais de melaleuca, copaíba e limão em filmes de alginato de sódio para utilização como curativo**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista (UNESP), 25 fev. 2016. . Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/138091>>. Acesso em: 1 fev. 2019.

POLA, C. C. et al. Cellulose acetate active films incorporated with oregano (*Origanum vulgare*) essential oil and organophilic montmorillonite clay control the growth of phytopathogenic fungi. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 9, p. 69–78, 1 set. 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214289416300734>>. Acesso em: 21 out. 2020.

RAQUEZ, J.-M. et al. Polylactide (PLA)-based nanocomposites. **Progress in Polymer Science**, v. 38, n. 10–11, p. 1504–1542, 1 out. 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S007967001300066X>>. Acesso em: 6 maio. 2019.

RHIM, J.-W.; HONG, S.-I.; HA, C.-S. Tensile, water vapor barrier and antimicrobial properties of PLA/nanoclay composite films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 2, p. 612–617, 1 mar. 2009. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643808000613>>. Acesso em: 14 fev. 2019.

RIBEIRO, P. L. L. **Efeito da glicerina residual do biodiesel e de estirpes microbianas (*Cupriavidus necator* IPT 027 e *Burkholderia cepacia* IPT 438) na produção, propriedades e composição de copolímeros de polihidroxicanoatos**. 2014. Salvador, 2014. Disponível em: <<https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/18621/3/Dissertação de Mestrado - Paulo Leonardo Lima Ribeiro - PPEQ - UFBA.pdf>>. Acesso em: 17 jan. 2019.

SAGHAZADEH, S. et al. Drug delivery systems and materials for wound healing applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 127, p. 138–166, 1 mar. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X18300607>>. Acesso em: 3 abr. 2019.

SARHEED, O. et al. Antimicrobial Dressings for Improving Wound Healing. In: **Wound Healing - New insights into Ancient Challenges**. [s.l.] InTech, 2016.

SHEMESH, R. et al. LDPE/clay/carvacrol nanocomposites with prolonged antimicrobial activity. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 2, p. 1–8, 10 jan. 2015. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/app.41261>>.

SILVA, A. A.; DAHMOUCHE, K.; SOARES, B. G. Nanostructure and dynamic mechanical properties of silane-functionalized montmorillonite/epoxy nanocomposites. **Applied Clay Science**, v. 54, n. 2, p. 151–158, 1 nov. 2011.

SIMÕES, D. et al. Recent advances on antimicrobial wound dressing: A

review. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 127, p. 130–141, 1 jun. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0939641117315023>>. Acesso em: 4 fev. 2019.

SOHANI, O. R.; PHATAK, A. A.; CHAUDHARI, P. D. Use of nanocomposites in drug delivery systems. **Pharma Times**, v. 47, n. 4, p. 33–35, 2015. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/316465029_Use_of_nanocomposites_in_drug_delivery_systems>.

SOLÓRZANO-SANTOS, F.; MIRANDA-NOVALES, M. G. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 136–141, 1 abr. 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958166911006732>>. Acesso em: 30 jan. 2019.

SOUZA, M. A. **Obtenção de nanocompósitos de poliamida 6/argila nacional com diferentes agentes compatibilizantes**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/762/1657.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 28 jan. 2019.

SOUZA, V. G. L. et al. Physical and Morphological Characterization of Chitosan/Montmorillonite Films Incorporated with Ginger Essential Oil. **Coatings**, v. 9, n. 11, p. 700, 26 out. 2019. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2079-6412/9/11/700>>. Acesso em: 22 out. 2020.

SURESH, R. et al. Nanoclay Drug Delivery System. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology**, v. 3, n. 2, 2010. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/265923657_Nanoclay_Drug_Delivery_System>. Acesso em: 5 mar. 2020.

TORIN, R. F. da S. et al. Effect of clay and clay/essential oil in packaging films. **Polymer Composites**, v. 39, n. 11, p. 4034–4040, 1 nov. 2018. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/pc.24457>>. Acesso em: 23 jan. 2019.

TORNUK, F. et al. Development of LLDPE based active nanocomposite films with nanoclays impregnated with volatile compounds. **Food Research International**, v. 107, p. 337–345, 1 maio 2018. Disponível em: <[https://www-sciencedirect.ez67.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0963996918301339](https://www.sciencedirect.ez67.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0963996918301339)>. Acesso em: 6 dez. 2018.

VIEIRA, G. A. **Síntese e Caracterização de Polímeros Verdes: Poliésteres do Glicerol e do Ácido Isoftálico**. 2016. UFVJM, 2016. Disponível em: <http://acervo.ufvjm.edu.br/jspui/bitstream/1/1670/1/gledsa_alves_vieira.pdf>. Acesso em: 19 ago. 2019.

VIJAYAKUMAR, V. et al. Recent advancements in biopolymer and metal nanoparticle-based materials in diabetic wound healing management. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 122, p. 137–148, 1 fev. 2019. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez67.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0141813018338923>>. Acesso em: 18 mar. 2019.

VISENTINI, C. B.; LIBERMAN, S. A.; MAULER, R. S. Glycerol: a promising agent for nanodispersion and compatibility of EVA/organomodified

montmorillonite nanocomposites. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 26, n. 4, p. 287–293, abr. 2015. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/pat.3427>>.

YUKUYAMA, M. N. et al. Nanoemulsion: process selection and application in cosmetics - a review. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 38, n. 1, p. 13–24, 1 fev. 2016. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/ics.12260>>. Acesso em: 26 ago. 2020.

ZENG, R. et al. Approaches to cutaneous wound healing: basics and future directions. **Cell and Tissue Research**, v. 374, n. 2, p. 217–232, 10 nov. 2018. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00441-018-2830-1>>. Acesso em: 4 fev. 2019.

ZHU, T. T. et al. Exfoliation of montmorillonite and related properties of clay/polymer nanocomposites. **Applied Clay Science**, v. 169, p. 48–66, mar. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169131718305088>>. Acesso em: 7 fev. 2019.