II Congresso Nacional de Microbiologia Clínica On-line

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOEMULSÃO A BASE DE GORDURA ANIMAL

RESUMO

O óleo extraído do tecido subcutâneo da capivara apresenta propriedades cicatrizantes e fonte de vitaminas A e D, sendo raros os estudos que comprovem essas atividades. A Nanotecnologia é uma área multidisciplinar que tem avançado nos últimos anos em diversos setores, dentre eles, a indústria farmacêutica. Os sistemas nanoemulsionados apresentam uma alternativa segura e eficaz, apresentando propriedades importantes do ponto de vista farmacológico. Sob esse aspecto, destacam-se as nanoemulsões como veículo de fármacos que podem ser produzidas para uso tópico, que apresentam alta absorção na pele. Tratam-se de sistemas constituídos por glóbulos bastante reduzidos, em escala nanométrica variando entre 20 a 500 nanômetros (nm), que podem veicular princípio ativo permitindo melhor penetração e aderência cutânea, além de promover a biodisponibilidade aumentada de muitos medicamentos. O presente trabalho demonstrou a possibilidade de síntese de um sistema nanoestrutura estável, através da síntese de nanoemulsões óleo em água (O/A), a base de gordura de capivara associada a tensoativo Tween 80. Foram produzidas 11 amostras associadas ou não a nanopartículas metálicas de zinco e prata para estudos de estabilidade e antimicrobiano. As nanoemulsões foram sintetizadas por emprego da técnica de homogeneização a alta pressão, utilizando o homogeneizador Ultra Turrax. Foram realizados estudos das amostras por meio de Microscopia Eletrônica e Transmissão (MET) e testes antimicrobianos em bactérias Gram-positivas. Apesar da estabilidade das amostras, as mesmas não apresentaram atividade antimicrobiana para os dois tipos de bactérias estudadas, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae*, sendo a continuidade deste estudo necessária para comprovação de eficácia em outras espécies de microrganismos.

Palavras-chave: nanoformulação; capivara; bactérias Gram-positivas.

ABSTRACT

The oil extracted from the subcutaneous tissue of capybara has healing properties and a source of vitamins A and D, and studies that prove these activities are rare. Nanotechnology is a multidisciplinary area that has advanced in recent years in several sectors, including the pharmaceutical industry. Nanoemulsified systems present a safe and effective alternative, presenting important properties from a pharmacological point of view. In this regard, nanoemulsions stand out as a vehicle for drugs that can be produced for topical use, which have high absorption in the skin. These are systems made up of very small globules, on a nanometer scale ranging from 20 to 500 nanometers (nm), which can deliver active ingredient allowing better penetration and skin adherence, in addition to promoting increased bioavailability of many drugs. The present work demonstrated the possibility of synthesizing a stable nanostructure system, through the synthesis of oil-in-water (O/W) nanoemulsions, based on capybara fat associated with Tween 80 surfactant. Eleven samples were produced with or without metallic nanoparticles. of zinc and silver for stability and antimicrobial studies. The nanoemulsions were synthesized using the high-pressure homogenization technique, using the Ultra Turrax homogenizer. Samples were studied using Transmission Electron Microscopy (TEM) and antimicrobial tests on Gram-positive bacteria. Despite the stability of the samples, they did not show antimicrobial activity for the two types of bacteria studied, Staphylococcus aureus and Streptococcus pneumoniae, and the continuity of this study is necessary to prove their effectiveness in other species of microorganisms.

Key Words: nanoformulation; capybara; Gram-positive bacteria.

1 INTRODUÇÃO

A capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) é o maior roedor existente e está amplamente distribuída na América do Sul. Possui um grande potencial econômico devido ao seu couro, carne e óleo (FEDERICO; CANZIANI, 2005). O óleo extraído da gordura da capivara contém 19,6% de AGs (Ácidos Graxos) linoleico e 17,9% alfa-linolênico (FUKUSHIMA, et al., 1997), que correspondem aos AGs essenciais ômega 6 e 3 respectivamente. O óleo também é constituído por AGs oléico (35,6 a 39,8%) e palmítico (20,7% a 24,3%), (PINHEIRO, 2001). Baseado na medicina tradicional, estudos têm demonstrado melhora no processo de cicatrização com o emprego de produtos naturais (GHADERI, et al., 2010), entre esses produtos estão os óleos de origem vegetal e animal. O aumento do interesse em terapias complementares tem conduzido a investigação de produtos tradicionais aos quais se atribuem um efeito benéfico na cicatrização de feridas (MARINHO, 2012). Em relação à utilização tópica de AGs, já foi demonstrado que eles podem acelerar a cicatrização de feridas modulando eventos como inflamação, migração de células, angiogênese, remodelamento da MEC (ROJO, 2010). Também são empregados com êxito no tratamento de lesões abertas, com ou sem infecção, na espécie humana, principalmente em países da América Latina (MARINHO, 2012). Sabe-se que o curativo úmido oleoso, característico da aplicação de AGs, serve como barreira protetora contra micro-organismos, evita a desidratação tecidual, mantém a temperatura corpórea local e diminui os traumatismos durante a substituição dos curativos (HATANAKA, CURI, 2007).

As nanoemulsões apresentam-se promissoras na indústria cosmética devido à sua estabilidade, poder de hidratação e caráter sensorial agradável proporcionada pelo tamanho das partículas (LOPES, 2018). Um material utilizado na forma de nanoemulsões tem suas propriedades físicas e químicas melhoradas, além de suas atividades biológicas aumentadas, devido a uma melhor distribuição de partículas (LOPES, 2018). As nanoemulsões são uma classe de emulsões cujo tamanho de glóbulos está na escala nanométrica, particularmente em torno de 20 - 500 nm (SOLÉ et al., 2006a), apresentando aparência translúcida quando o tamanho do glóbulo é inferior a 200 nm, ou leitosa quando o tamanho está entre 200 - 500 nm (CAPEK, 2004). Diversos componentes (óleos, tensoativos e adjuvantes) e vários métodos de preparo são empregados no desenvolvimento de nanoemulsões (BRUXEL et al., 2012). São escassos os estudos que envolvem a síntese de nanoemulsão a base de óleos de origem animal. O presente estudo busca o desenvolvimento de um sistema nanoemulsionado a base de óleo de capivara e avaliação da atividade antimicrobiana.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O óleo animal (capivara) foi adquirido em casa de produtos naturais e foram incorporados a tensoativos (homogeneizadas por agitação mecânica). As NPs de zinco e prata foram sintetizadas pelo método da Reação por combustão e posteriormente calcinadas em mufla para aumentar a pureza das nanoestruturas. A fase aquosa (água destilada) foi adicionada a para homogeneização por meio do agitador mecânico Turrax em temperatura ambiente (25±2 ºC). A quantificação do óleo foi determinada pelo EHL (equivalente hidrofílico lipofílico) e proporções específicas obtidas em amostras incorporadas às demais composições. Como surfactante, foi utilizado o Tween 80, água destilada para fase aquosa e a gordura da capivara para fase oleosa. Amostras de nanopartículas (NPs) de zinco e prata foram adicionadas a composição, já que são elementos considerados cicatrizantes e antibacterianas,

respectivamente. Foram avaliados o diâmetro e morfologia das nanogotas por meio de Microscopia Eletrônica de Transmissão, realizadas no laboratório de Microscopia da Universidade de Brasília. Foi avaliado o pH das amostras como critério de estabilidade. A avaliação antimicrobiana em duas espécies de bactérias, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae* realizado no laboratório da Rede Bionorte/ Acre.

2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado por MET indicou nano gotas apresentam-se homogêneas, com morfologias esféricas (Figura 1) e dimensão variando entre 10 a 250 nm. Os diferentes componentes das amostras não influenciaram na dimensão ou morfologia esférica dos glóbulos. Através da avaliação visual das amostras, todas apresentaram estabilidade nas formulações, sem divisão de fases, por um período de 2 meses.

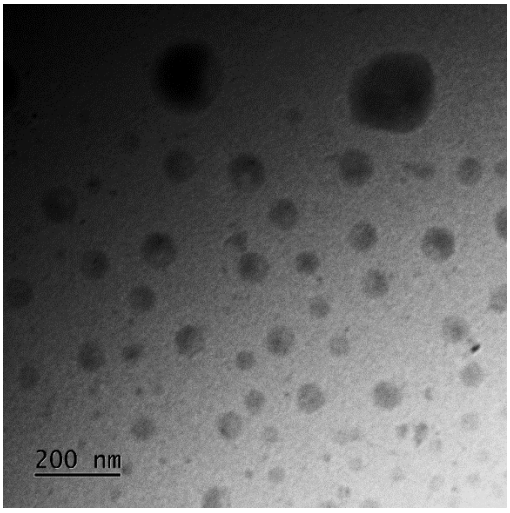

Figura 1: Morfologia das nanogotas por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).

De acordo com a figura 2, o pH das amostras se mantiveram ácidos. Estudos associando nanoemulsão a base de óleo vegetal e gelatina suína apresentaram variação de pH para ácido e básico nas amostras (FERREIRA, 2022). Valores de pH abaixo de 6,5 também foram indicadoras de estabilidade em nanoemulsões produzidas com água e óleo de semente de romã (Da Silva Júnior, 2013). O valor do pH oferece informações sobre a estabilidade do sistema, pois sua redução pode indicar a presença de ácidos graxos livres na formulação, provenientes da hidrólise do sistema tensoativo (fosfolipídeos), e dos triglicerídeos do núcleo oleoso, e pode sofrer influência devido as condições de armazenamento e processamento (KLANG, S.; BENITA; 1998; BRUXEL et al., 2012).

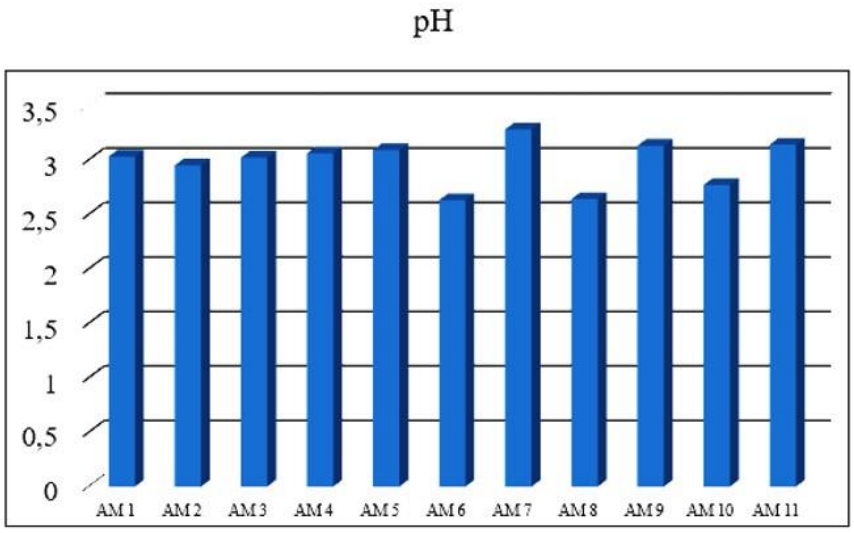

Figura 2: Determinação do pH das diferentes nanoformulações produzidas.

As nanoformulações não apresentaram atividade antimicrobiana nas duas espécies de bactérias Gram-Positivas estudadas, ao contrário de óleos essenciais de origem vegetal, que essenciais desestabilizam principalmente a arquitetura celular, de patógenos bacterianos, levando à quebra da integridade da membrana, interrompendo muitas atividades celulares, incluindo a produção de energia e o transporte da membrana. A ruptura da membrana induzida por óleos essenciais pode levar ao vazamento de componentes celulares e perda de íons (TARIQ et al., 2019).

4 CONCLUSÃO

Os óleos de natureza vegetal possuem uma extensa propriedade terapêuticas e atividade antimicrobiana e a gordura de natureza animal, apesar da escassez de estudos, apresenta potencial efeito cicatrizante. Neste estudo, apesar do desenvolvimento de nanoemulsões estáveis, as amostras não apresentaram atividade antimicrobiana para *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae*. No entanto, há necessidade da abrangência de espécies de bactérias para avaliação da atividade antimicrobiana das amostras produzidas.

BRUXEL, Fernanda et al. Nanoemulsões como sistemas de liberação parenteral de fármacos. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1827-1840, 2012.

TARIQ, S. et al. A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drugresistant microbial pathogensMicrobial Pathogenesis, 2019.

CAPEK, I. Degradation of kinetically-stable o/w emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam vol.107, p. 125–155, 2004.

DA SILVA JUNIOR, Elvandi et al. Formação de nanoemulsões do tipo óleo em água contendo óleo de semente de romã. **Disciplinarum Scientia| Naturais e Tecnológicas**, v. 14, n. 1, p. 115-122, 2013.

FERREIRA, Victoria Azevedo Freire. **Avaliação das alterações satisfatórias nas características físicas e químicas na nanoemulsão de óleo de buriti em gelatina suína**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

FERNANDEZ, P. et al. Nanoemulsion formation by emulsion phase inversion. Colloids and surface A: **Physicochemical and Engineering Aspects,** vol.251, p.53- 58, 2004.

FEDERICO, P.; CANZIANI, G. A. Modeling the population dynamics of capybara *Hydrochaeris hydrochaeris*: a first step towards a management plan. **Ecological Modelling,** v.186, p.111–121, 2005.

FUKUSHIMA, M.; TAKAYAMA, Y.; HABAGUCHI, T. et al. Comparative hypocholesterolemic effects of capybara *(Hydrochoerus hydrochaeris dabbenei)* oil, horse oil, and sardine oil in cholesterol-fed rats. **Lipids,** v.32, p.391–395, 1997.

GHADERI, R.; AFSHAR, M.; AKHBARIE, H. et al. Comparison of the efficacy of honey and animal oil in accelerating healing of full thickness wound of mice skin. **Int. J. Morphol.,** v.28, n.1, p.193-198, 2010.

HATANAKA, Elaine; CURI, Rui. Ácidos graxos e cicatrização: uma revisão. **Rev Bras Farmacol**, v. 88, n. 2, p. 53-8, 2007.

KLANG, S.; BENITA, S. Em Design and evaluation of submicron emulsions as colloidal drug carriers for intravenous administration; Benita, S., ed.; **Overseas Publishers Association**: Amsterdam, 1998.

LOPES, J. A.; SILVA, A. C. B; MOREIRA, A. P. M.; NOVACK2, K. M.; QUINTÃO, C. M. F.. incorporação de nanoemulsões de óleo de moringa oleifera em filmes de alginato de sódio para a utilização como biomaterial. In: 23° CBECIMAT - **Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos materiais,** Foz do Iguaçu, Pr, Brasil: Cbecimat, 2018. p. 1-11. Disponível em: blob:https://web.whatsapp.com/cebc0a0d-996b-43d1-898e-19f3756bd04c. Acesso em: 15 jan. 2022.

MARINHO, P. C. Avaliação da intervenção terapêutica com produto natural na cicatrização de ferida cutânea: o uso de óleo de capivara. 2012. 57 f. Tese (Doutorado) - Curso de Fisiopatologia Clínica e Experimental, Centro Biomédico Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: file:///C:/Users/Mateu/Downloads/espelho%20disserta%C3%A7%C3%A3o%20capivara%20(1).pdf. Acesso em: 15 jan. 2022.

PINHEIRO, M. S.; SILVA, J. J. C.; RODRIGUES, R. C. Utilização sustentável e

domesticação da capivara. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, v 31, 86p, 2001.

ROJO, L. E; VILLANO, C. M.; JOSEPH G. et al. Wound-healing properties of nut oil from Pouteria lucuma. ***J Cosmet Dermatol.,*** v.9, n.3, p.185-95, 2010.

SOLÉ I.; MAESTRO, A.; GONZÁLEZ, C.; SOLANS, C.; GUTIÉRREZ, J.M. Optimization of nano-emulsion preparation by low-energy methods in an ionic surfactant system. Langmuir: the ACS **journal of surfaces and colloids**, Washington, p. 8326-8332, 2006a.

ZYDOWICZ, N. Synthesis and characterization of polyurethane and poly(ether urethane) nanocapsules using a new technique of interfacial polycondensation combined to spontaneous emulsification. **International Journal of Pharmaceutics.** vol.9, pg. 89- 100, 2004.