



Polissacarídeos amido e celulose enxertados com ácido tioglicólico com ação bactericida

Área temática: Saúde

Regiane da Silva Gonzales¹

Jéssica Fernanda da Silva²

Letícia Misturini Rodrigues²

Renan Luis Romano Gon²

Patrick Oliveira de Andrade³
Comunicação oral

Palavras- chave: filme, amido, celulose, bactericida.

Resumo: A necessidade de se obter materiais resistentes à ação de bactérias na indústria farmacêutica tem levado ao aumento de pesquisas no campo de biomateriais, principalmente no que diz respeito à obtenção de materiais de baixo custo. A celulose vem sendo utilizada com muita eficiência para fabricação de filmes, plásticos, espessantes dentre outros. Neste trabalho, propomos a modificação de filmes de celulose bacteriana e amido com ácido tioglicólico, sendo realizado teste da atividade bactericida dos mesmos. Foi observado que os filmes de celulose apresentaram uma considerável atividade bactericida frente à bactéria *Salmonella*, o que potencializa o seu uso como curativos.

Introdução

Segundo Cavalcanti (2002), os polissacarídeos são polímeros naturais encontrados com facilidade na natureza, dentre os quais podemos citar a celulose e o amido. São facilmente degradados pelo organismo, possuem baixo custo e são considerados inócuos. Devido a grande variabilidade e características é bastante

¹Doutora, COLIQ, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Regiane@utfpr.edu.br.

²Graduando, Engenharia de Alimentos - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

³Ensino médio, Técnico Integrado em Informática - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

usado em pesquisas industriais. Possuem características específicas como por exemplo, a modificação da liberação, o aumento da estabilidade e biodisponibilidade dos fármacos, o que aumentam o seu potencial para sua utilização na indústria farmacêutica (CAVALCANTI, 2002).

Os polissacarídeos são formados por grupos de monossacarídeos ligados entre si através de ligações glicosídicas e possui cadeias longas lineares ou ramificadas. Ao contrario dos mono e dissacarídeos, estas moléculas são insolúveis em água portanto não interferem no equilíbrio osmótico celular. Os polissacarídeos em geral, vêm sendo muito utilizado em diversas áreas científicas, especialmente na área da saúde, tendo como exemplo da sua utilização aplicações em sistemas de liberação controlada de fármacos (GIL; FERREIRA, 2006). E se tornam interessantes aos cientistas e outras áreas devido as suas características estruturais, propriedades reológicas e aplicabilidade (FILHO, 2009).

Este trabalho tem como objetivo a modificação dos polissacarídeos amido e celulose, através da enxertia de ácido tioglicólico, para emprego como substrato polimérico funcionalizado. O ácido tioglicólico pode ser reversivelmente nitrosado, formando os RSNOs que apresentam as propriedades biológicas atribuídas ao NO tais como relaxamento das células musculares lisas, controle imunológico através do controle da relação patógeno-hospedeiro, inibição da adesão e agregação plaquetária e consequente ação anti-trombogênica, ação bactericida, fungicida, etc (Lacaster, 1996).

Comercialmente os amidos são modificados para obter propriedades distintas deste material, resultando em uma diversidade de aplicações como na indústria química como papel e celulose (SILVA et al, 2006). A produção de filme a partir de amido se baseia nas propriedades físico-químicas e funcionais da amilose, para formação de géis e posterior formação de filmes. Dentre os processos de obtenção de materiais a partir de amido pode-se, citar a obtenção de filmes através da formação de uma solução aquosa sob aquecimento e subsequente evaporação do solvente (ZACARIAS et al, 2007) e, a síntese de redes poliméricas de amido através da gelatinização do amido em água deionizada à 100 °C e subsequente congelamento de 24h seguido de descongelamento de 2h (SILVA et al, 2011).

A celulose é um polissacarídeo polimérico linear predominante na parede da célula vegetal, podendo ser encontrado em tronco de arvores e em folhas como no sisal, ou dos frutos como no algodão. A molécula de celulose é composta por um carboidrato classificado como polissacarídeo, sendo utilizado com bastante eficiência em indústrias para fabricação de plásticos, filmes e fibras, também utilizados como espessantes em cosméticos e produtos alimentícios e, biomateriais (ANDREAS et al, 1994; REID, 1989, D'ALMEIDA, 2000). A celulose também pode ser produzida por bactérias, como por exemplo o biopolímero a base de celulose bacteriana produzido pela Bionext [Bionext® Produtos Biotecnológicos Ltda]. Este polímero foi desenvolvido para ser aplicado em lesões cutâneas e apresenta vantagem em relação aos métodos convencionais uma vez que não precisa de troca sequencial do produto o que pode acelerar em duas vezes o tempo de recuperação do tecido epitelial, já que a pele não fica exposta até a cicatrização. Alguns estudos tem demonstrado que a celulose, utilizada como biopolímero, pode ser enxertada com grupos hidrofílicos como polietileno glicol, passando a possuir propriedades de absorção de água próprias do material obtido podendo em alguns casos formar um gel (GOETZ et al, 2009) aumentando a biocompatibilidade. O tratamento de feridas cutâneas prioriza tanto a proteção das lesões contra a ação de agentes externos físicos, mecânicos ou biológicos como também liberação de fármaco que acelerem ou ativem o processo

biológico de cicatrização (NICOLOSI, 2005). Os curativos devem ter propriedades mecânicas que possibilitem a sua aplicação, e garantir a assepsia, uma vez que o mesmo será aplicado sobre a pele lesionada. Neste trabalho, foram obtidos filmes de celulose modificados com ácido tioglicólico, com ação bactericida. A propriedade antimicrobiana foi avaliada através do método de disco-difusão originário de Bauer et al., em 1966 (BARRY, 1991; JORGENSEN, 1999). Após a modificação da celulose foi avaliado a atividade bactericida de filmes de celulose bacteriana modificados com ácido tioglicólico e filmes de amido puro a fim de aplicação para curativos visando à cicatrização e proteção das lesões contra a ação de agentes externos físicos, mecânicos ou biológicos, e também foi proposto a modificação de amido com ácido tioglicólico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais utilizados no desenvolvimento dos filmes foram: água deionizada, amido de milho, goma Agar Mueller Hinton - Himedia, meio de cultura Mueller Hinton, peptona, ácido tioglicólico e papel celulose Bionext(R). Método de difusão em disco. Bactérias: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*.

Filme de celulose modificado com ácido tioglicólico

Modificação do filme de celulose bacteriana – Para modificação dos filmes foi preparada uma solução de 50 mL de DMSO com ácido tioglicólico 0,083 mol/L e HCl 0,012 mol/L. Os filmes foram inseridos dentro da solução de DMSO e submetidos ao aquecimento de 80°C por aproximadamente 30 minutos. Na sequência os filmes foram retirados da solução e lavados com água deionizada.

Elaboração dos filmes amido: inicialmente preparou-se uma solução de amido 4%. Em seguida, preparou-se 1 amostra de filme em placa de petri, totalizando um volume de 25 mL. Logo após a mesma foi congelada por 24 horas e depois descongelada e, então colocada em embrulho de papel alumínio e levada a uma estufa à 40°C por 48 horas.

Avaliação do potencial antibacteriano – A avaliação do potencial antibacteriano foi realizada pelo método de difusão em disco, conforme Bauer [4], com algumas modificações. O princípio do método fundamenta-se na difusão, através de gel de ágar, de um antimicrobiano impregnado em um disco de papel-filtro. A difusão do antimicrobiano leva à formação de um halo de inibição do crescimento bacteriano, cujo diâmetro é inversamente proporcional à concentração inibitória mínima [6]. Foram utilizadas as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*, provenientes do Laboratório de Microbiologia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR, Campus Campo Mourão. As bactérias foram incubadas em caldo nutriente a 37°C por 24 horas. Após o crescimento em caldo, as culturas foram diluídas até 10^{-3} bactérias por mililitro de solução salina peptonada 0,1%. Padronizou-se o inóculo de bactérias, comparando-o com o tubo 5 da escala de McFarland (0,5mL de cloreto de bário a 1,0% + 9,5mL de ácido sulfúrico a 1,0%) por meio da verificação espectrofotométrica das absorvâncias em 625nm, obtendo-se 1500×10^6 UFC/mL. As bactérias foram semeadas em placas de Petri com auxílio de alça de Drikalski (200µL) no meio ágar Miller Hinton. Foram aplicados sobre a placa com as bactérias os discos de filmes de celulose sem modificação, os modificados e os nitrosados (após modificação), com diâmetro de 7 mm. Os discos foram aplicados em cada quadrante das placas contendo as respectivas bactérias. O experimento foi realizado em triplicata para cada cultura

bacteriana. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas em estufa microbiológica. A leitura do tamanho dos halos foi realizada com auxílio de paquímetro.

Modificação de amido de milho

Síntese amido modificado com ácido tioglicólico: Foi feita a dissolução de 5g de amido em 50mL de DMSO a 60°C. Em seguida adição de 200uL de HCL e 300uL de ácido tioglicólico.

A solução foi mantida sob agitação e aquecimento a 60°C por 2h. Após deixou-se a solução esfriar e precipitou-se em acetona. O precipitado foi então lavado por 3x em acetona para remoção de DMSO. Deixou secar em estufa a 50°C por 48h.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Testes de solubilidade do filme de celulose foram realizados com objetivo de diluição do filme, onde foi observado que o mesmo não se dissolve em álcool metílico, álcool etílico, álcool isopropílico, álcool isobutílico, hexano, acetona, xilol e éter etílico. Neste caso o filme de celulose não pode ser modificado por formação de blenda com outros polímeros. A forma usada para modificar os filmes de celulose foi a enxertia, através da ligação do ácido tioglicólico na superfície do filme. Após a modificação o filme apresentou-se macio quando molhado e rígido quando seco. Com relação a modificação de amido, atualmente está sendo desenvolvido a modificação com ácido tioglicólico através de reações de condensação. A modificação de amido de milho com ácido tioglicólico pode ser comprovada através dos espectros de IV (Figura 1). Através da Figura 1, pode-se ver em (C), o pico em 1720 cm^{-1} correspondente a carbonila de ésteres, derivado do ácido tioglicólico (A) onde se observa em 1700 cm^{-1} o sinal para carbonila do ácido tioglicólico puro. Em 1650 cm^{-1} pode-se observar o sinal de carbonila (Fig. 1B) para o amido puro. Resultados similares foram obtidos para o filme de celulose, podendo também ser comprovada a enxertia com ácido tioglicólico.

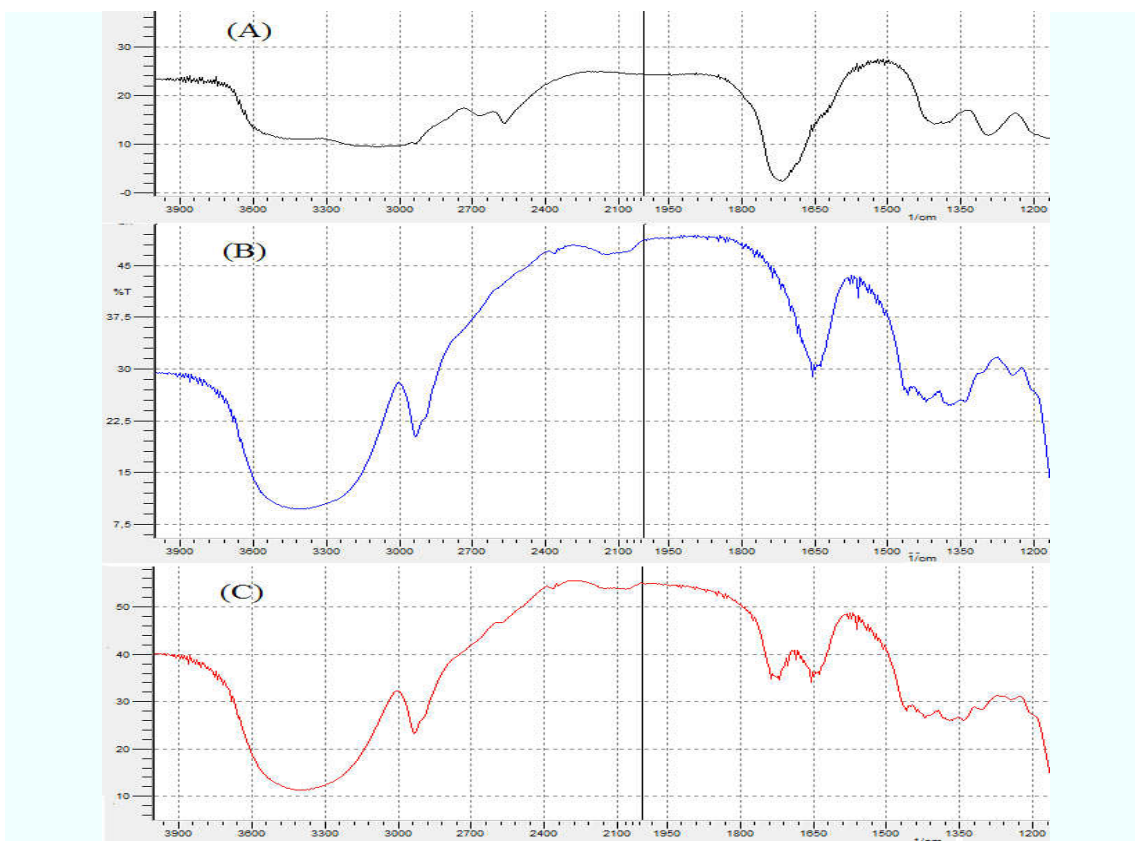


Figura 1. Espectros de infravermelho para (A) ácido tioglicólico, (B) amido puro e (C) amido modificado.

A propriedade antimicrobiana dos filmes de celulose foi avaliada através do método de disco-difusão originário de Bauer et al. (1966), é um dos métodos mais utilizados nos laboratórios de microbiologia no Brasil desde a sua descoberta em 1966 (BARRY, 1991; JORGENSEN, 1999). Os dados dos halos obtidos pelo método de disco- difusão frente a *Salmonella*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* estão apresentados nas Tabelas 1.

Tabela 1. Medidas dos halos para atividade antibacteriana de filmes de amido frente a *Salmonella*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, feitos em triplicata.

Filmes de amido					
Bactérias	Código	1	2	3	Media
<i>Salmonella</i>	2	--	10,0	8,0	8,3
<i>Escherichia coli</i>	2	--	9,0	9,0	8,3
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	--	12,0	10,0	9,7
Filmes de Celulose					
Bactérias	Código	1	2	3	Media
<i>Salmonella</i>	2	9,0	--	9,0	8,7
<i>Escherichia coli</i>	2	--	--	--	--
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	9,0	--	9,0	8,7

Os resultados representam o diâmetro do halo de inibição em milímetros. (--) Não houve inibição de crescimento.

Os resultados mostram halos para atividade antibacteriana de filmes de amido frente a *salmonella* e *Escherichia coli*, e apresentaram uma resposta de ação reduzida, uma vez que o diâmetro do filme é de 8 mm. Por outro lado podemos observar que todos os filmes apresentaram significativa ação bactericida frente a *Staphylococcus aureus*

Os resultados dos halos para atividade antibacteriana de filmes de celulose frente a *Salmonella* mostraram que houve significativa atividade bactericida para os filmes modificados com ácido tioglicólico (presença de grupos SH).

CONCLUSÃO

Os filmes de celulose bacteriana modificados com ácido tioglicólico, apresentaram atividade bactericida frente a *Staphylococcus aureus* e *salmonella*. Já os filmes de amido puro apresentaram atividade bactericida significativa apenas frente a *Staphylococcus aureus*. O que potencializa o uso dos filmes como curativos. É esperado melhores resultados para o amido modificado uma vez que o amido puro já apresenta ação bactericida e a concentração de ácido tioglicólico pode ser modulada potencializando a ação bactericida.

REFERÊNCIAS

- ANDREAS,B.; WERNER WERNER-MICHAEL; K., KLAUS, S.; RENÉ, K. Nuclear magnetic resonance spectroscopic characterization of carboxymethylcellulose. *Macromolecular Chemistry and Physics*, v.195, n.5, 1994.
- BAUER, A. W.; KIRBY, W. M., SHERRIS J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *Amer J Clin Pathol*, 1966.
- BARRY, A.L. Procedures and theoretical considerations for testing antimicrobial agents in agar media. In: Lorian, *Antibiotics in Laboratory Medicine*. 3. ed. Baltimore: The Williams &Wilkins Co., Md, 1991.

CAVALCANTI, O. A. Excipientes farmacêuticos: perspectivas dos polissacarídeos na pesquisa e desenvolvimento de novos sistemas de liberação Arquivo de ciências da saúde UNIPAR, vol. 6, p. 53-56, jan.-abr. 2002.

D'ALMEIDA, M. L. O. Celulose e Papel – Tecnologia da fabricação da pasta celulósica. São Paulo: Escola Senai, v.1, 1985.

FILHO, R. P. V. Aplicação de polissacarídeos em emulsão cosmética: análises reológicas. Disponível em: <http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/handle/1884/20027/Dissertacao%20Mestrado%20Ricardo%20Padilha%20Vianna%20Filho.pdf?sequence=1>. Acessado em 12 de março de 2011.

GIL, M. H.; FERREIRA, P. Polissacarídeos como biomateriais. **Boletim Sociedade Portuguesa de Química**, vol. 100, p. 72-74, 2006.

GOETZ, L.; MATHEW, A.; OKSMAN, K.; GATENHOLM, P.; RAGAUSKAS, A. J.; Carbohydr. Polym., 2009 .

JORGENSEN, J.H.; TURNIDGE, J.D. & WASHINGTON, J.A. Antimicrobial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods. In: Murray, R.P. et al. Manual of Clinical Microbiology. 7. ed. American Society for Microbiology, Washington DC, 1999.

Lancaster Jr., J., Ed. In Nitric Oxide - Principles and Action; Academic Press: New York, 1996.

NICOLOSI J. G; MORAES, AM: Biomateriais destinados à terapia de queimaduras: estudo entre o custo custo e o potencial de efetividade de curativos avançados. VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, 2005.

SILVA, G. de O., et al. Características físico-químicas de amidos modificados de grau alimentício comercializados no Brasil. Ciência e Tecnologia de Alimentos., Campinas, 26, jan.-mar. 2006.

SILVA, J. F. da. et al. Estudo da capacidade de hidratação de solo por hidrogéis. In: III Simpósio de Tecnologia e Engenharia de Alimentos UTFPR, Campo Mourão, 2011.

ZACARIAS, F. M; et al. **Obtenção de filmes poliméricos a partir de amido e lignina**. In: 30 a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007.