



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Vermiculitas modificadas com carvacrol aplicadas como material
antibacteriano**

José de Souza

João Pessoa - PB

Junho/2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Vermiculitas modificadas com carvacrol aplicadas como material antibacteriano

José de Souza

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de mestre em química, na área de química inorgânica.

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria Gardênnia da Fonseca

Coorientadora: Prof^a Dr^a Maria del Mar Orta Cuevas

João Pessoa – PB

Junho/2025

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S729v Souza, José de.

Vermiculitas modificadas com carvacrol aplicadas
como material antibacteriano / José de Souza. - João
Pessoa, 2025.

68 f. : il.

Orientação: Maria Gardênnia Fonseca.

Coorientação: Maria del Mar Orta Cuevas.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. Compostos fenólicos. 2. Carvacrol. 3.
Argilominerais. 4. Argilominerais ativados. 5.
Materiais antibacterianos. I. Fonseca, Maria Gardênnia.
II. Orta Cuevas, Maria del Mar. III. Título.

UFPB/BC

CDU 547.56(043)

Elaborado por RUSTON SAMMEVILLE ALEXANDRE MARQUES DA SILVA -
CRB-15/0386

“Vermiculitas modificadas com carvacrol aplicadas como materiais antibacterianos”.

Dissertação de Mestrado apresentada pelo discente **José de Souza** e aprovada pela banca examinadora em 06 de junho de 2025.

Documento assinado digitalmente
 **MARIA GARDENIA DA FONSECA**
Data: 06/06/2025 11:42:48-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Maria Gardênnia da Fonseca
DQ/UFPB
Orientadora/Presidente

ORTA CUEVAS
MARIA MAR -
28700713W

Firmado digitalmente por ORTA
CUEVAS MARIA MAR -
28700713W
Fecha: 2025.06.07 01:08:45
+02'00'

Profa. Dra. Maria del Mar Orta Cuevas
DQ/UFPB
2ª. Orientadora

Documento assinado digitalmente
 **FRANCISCO DE ASSIS RODRIGUES PEREIRA**
Data: 06/06/2025 13:35:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Francisco de Assis Rodrigues Pereira
DQ/UEPB
Examinador externo

Documento assinado digitalmente
 **WAGNER DE MENDONÇA FAUSTINO**
Data: 06/06/2025 13:46:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Wagner de Mendonça Faustino
DQ/UFPB
Examinador interno

Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais, *in memoriam*, e a minha esposa. A eles minha gratidão e meu amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, em sua trindade, ao pai, ao filho e ao Santo Espírito que me motivou a seguir pelo caminho reto de perseverança em meio às dificuldades, encontrado ao longo deste trabalho em química.

Aos meus pais, *in memoriam*, José Augusto de Souza e Ináh Maria da Conceição e aos meus irmãos pelo apoio e confiança, que me foi dado durante toda a vida.

A minha esposa, Ana Karina Neves, pelo carinho, apoio e compreensão.

Aos meus filhos Fabio Ricardo e João Arthur, por ser parte de motivação em minha vida.

Agradeço a Prof^{ra}. Dr^a. Maria Gardênnia da Fonseca, pela acolhida em seu grupo de pesquisa e pela valorosa orientação neste trabalho.

À Prof^{ra}. Dr^a. Maria Del Mar Orta Cuevas, da Universidade de Sevilha/Espanha pela orientação deste trabalho.

Aos amigos do LACOM que me ajudaram direta e indiretamente, em especial a Denise, Lucilane, Susiely e Glauco.

Aos companheiros do departamento de química, Elton, Marcos Pequeno e todos os outros que me aconselharam diariamente.

Ao Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho e à Prof^a Dr^a. Josy Antevéli Osajima, ambos do LIMAV/UFPI pelo suporte nos testes antimicrobianos.

Ao Dr. Luiz Humberto de Oliveira (UFPI) pelos testes antibacterianos realizados e por toda a ajuda.

Ao Dr. Santiago Medina-Carrasco do Centro de Investigación, Tecnología e Innovación de la Universidad de Sevilla (CITIUS) pela ajuda nas medidas de Raios-X.

Ao corpo técnico da Central Analítica da USP pelo apoio nas medidas de CHN.

Ao laboratório de espectroscopia molecular (LEM), coordenado pelo Prof. Dr. Wagner de Mendonça Faustino (UFPB) pelas medidas de potencial Zeta.

Ao Núcleo de Pesquisa e Extensão – Laboratório de Combustíveis e Materiais (NPE – LACOM) pelo suporte para o desenvolvimento do presente estudo.

E agradeço a todos que de forma indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

“A árvore da educação tem raízes amargas, mas os frutos são doces”.

Aristóteles

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUÇÃO	15
1.1 Objetivos.....	17
1.1.1 Objetivo geral	17
1.1.2 Objetivos específicos	17
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
2.1 Vermiculita – Estrutura e ativação ácida	19
2.2 Óleos essenciais (OE)	22
2.3 Carvacrol.....	24
2.4 Incorporação de OE em vermiculita/argilominerais.....	27
2.5 Aplicação de vermiculita como material antibacteriano.....	28
3. METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	31
3.1 Materiais e reagentes químicos.....	32
3.2 Ativação ácida da vermiculita.....	32
3.3 Incorporação de carvacrol nas amostras de vermiculita sódica e ativadas... 33	
3.4 Técnicas de caracterização.....	33
3.4.1 Difractometria de Raios X (DRX)	33
3.4.2 Espectroscopia de absorção molecular na região do infravermelho. 34	
3.4.3 Análise termogravimétrica (TG).....	34
3.4.4 Análise elementar de carbono, nitrogênio e hidrogênio (CHN).....	34
3.4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	34
3.4.6 Medidas de potencial Zeta.....	34
3.4.7 Composição química.....	35
3.5 Testes antibacterianos.....	35
3.6 Teste de emissão do carvacrol.....	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	37
4.1 Difractometria de Raios X (DRX) e composição química.....	38

4.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR).....	40
4.3 Medidas de potencial Zeta.....	42
4.4 Termogravimetria (TG).....	44
4.5 Análise elementar de CHN.....	47
4.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	48
4.7 Espectroscopia de energia dispersiva (EDS)	49
4.8 Resultados da liberação do óleo essencial.....	51
4.9 Atividade antibacteriana.....	52
4.10 Espectros de FTIR após liberação do óleo essencial.....	54
5. CONCLUSÕES	56
5.1 Perspectivas.....	57
REFERÊNCIAS.....	58

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

AAS	Espectrometria de absorção atômica
Carv	Carvacrol
CHN	Carbono, hidrogênio e nitrogênio
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute
CTC	Capacidade de troca catiônica
DRX	Difratometria de Raios X
FTIR	Espectroscopia de absorção molecular na região do infravermelho com transformada de Fourier
EDS	Espectroscopia de Raios X por energia dispersiva
ICDD	International Centre for Diffraction Data
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
OE	leo essencial
PBS	Solução tampão fosfato em pH 7,0
PCZ	Potencial de carga zero
PF	Perda ao fogo
TG	Termogravimetria
UFC	Unidade formadora de colnia
UV-Vis	Espectroscopia de absorção molecular na região do ultra violeta-visível
Verm	Vermiculita
V1M	Vermiculita ativada com ácido a 1 mol L ⁻¹
V2M	Vermiculita ativada com ácido a 2 mol L ⁻¹
Verm/0,5Carv	Vermiculita preparada com 0,5 mL de carvacrol
Verm/1Carv	Vermiculita preparada com 1 mL de carvacrol
V1M/0,5Carv	Vermiculita ativada com ácido a 1 mol L ⁻¹ e com 0,5 mL de carvacrol
V1M/1Carv	Vermiculita ativada com ácido a 1 mol L ⁻¹ e com 1 mL de carvacrol
V2M/0,5Carv	Vermiculita ativada com ácido a 2 mol L ⁻¹ e com 0,5 mL de carvacrol
V2M/1Carv	Vermiculita ativada com ácido a 2 mol L ⁻¹ e com 1 mL de carvacrol

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Estrutura da vermiculita.....	19
Figura 2.2 Ativação ácida de um argilomineral e sua utilização como adsorvente do óleo essencial de canela.....	21
Figura 2.3 Principais componentes com atividade antibacteriana presentes em óleos essenciais.....	23
Figura 2.4 Especificação do carvacrol ((5-isopropil-2-metilfenol) em função do pH.....	25
Figura 3.1 Fluxograma do processo de ativação ácida da vermiculita bruta.....	33
Figura 4.1 Difractogramas de raios X antes (i): (a) Ver, (b) V1M e (c) V2M; e após interação com óleo essencial (ii): (a) Ver, (b) Ver/0,5Carv, (c) Ver/1Carv; (iii) (a) V1M, (b) V1M/0,5Carv, (c) V1M/1Carv e (iv) V2M, (b) V2M/0,5Carv e (c) V2M/1Carv.....	39
Figura 4.2 Espectros de FTIR para as amostras de vermiculita antes (i): (a) Ver, (b) V1 e (c) V2; e depois da interação (ii): (a) Verm, (b) Ver/0,5Carv, (c) Ver/1Carv e (d) carvacrol; (iii) (a) V1M, (b) V1M/0,5Carv, (c) V1M/1Carv e (d) carvacrol, e (iv) V2M, (b) V2M/0,5Carv, (c) V2M/1Carv e (d) carvacrol.....	42
Figura 4.3 Resultados de medidas de potencial Zeta (i) amostras sem carvacrol, amostras antes e após interação com o carvacrol (ii) Verm, (iii) V1M e (iv) V2M.....	43
Figura 4.4 Curvas TG da (a): (a) Verm, (b) V1M e (c) V2M; (b): (a) Verm, (b) Verm/0,5Carv, (c) Verm/1Carv; (c) (a) V1M, (b) V1M/0,5Carv, (c) V1M/1Carv e (d) V2M, (b) V2M/0,5Carv e (c) V2M/1Carv.....	45
Figura 4.5 Imagens de MEV para (i) Verm, (ii) Verm/1Carv, (iii) V1M, (iv) V1M/1Carv, (v) V2M and (vi) V2M/1Carv.....	49
Figura 4.6 Espectros EDS de (a) Verm, (b) V1M e (c) V2M.....	50
Figura 4.7 (Figura 4.7 (a) Estrutura planar da molécula de carvacrol e proposição do carvacrol nas amostras (b) bruta e (c) ativadas por ácido. Os íons dos sítios tetraédricos e octaédricos não estão destacados, assim como a presença de defeitos nos sítios tetraédricos não foi avaliada com base nos resultados obtidos.	51
Figura 4.8 Perfis de liberação de carvacrol em meio PBS em pH 7,4 e 37 °C dos sistemas carregados a partir de (i) 0,5 mL e (ii) 1 mL do carvacrol.....	52
Figura 4.9 Diâmetro das zonas de inibição de crescimento para (a) controle positivo (tetraciclina), Verm, V1M e V2M, (b) Verm/0,5Carv, (c) Verm/1Carv, (d) V1M/0,5Carv, (e) V1M/1Carv, (f) V2M/0,5Carv e (g) V2M/1Carv contra as bactérias (i) <i>S. aureus</i> e (ii) <i>E. coli</i> após 24h.....	54
Figura 4.10 Espectros de FTIR após liberação de carvacrol para (i): (a) Verm/0.5Carv e (b) Verm/1Carv; (ii): (a) V1M/0,5Carv e (b) V1M/1Carv; e (iii): (a) V2M/0,5Carv e (b) V2M/1Carv.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 Análise química e perda ao fogo da vermiculita <i>bruta</i> e vermiculitas ativadas.....	40
Tabela 4.2 Resumo das perdas de massa e intervalos de temperatura para eventos na decomposição térmica para as vermiculitas e híbridos vermiculitas/carvacrol.....	46
Tabela 4.3 Análise elementar de carbono (C), hidrogênio (H), nitrogênio (N) expressa em porcentagens e mmol g ⁻¹ e quantidade de grupos orgânicos (q) em sólidos com carvacrol.....	48
Tabela 4.4 Valores do diâmetro da zona de inibição para controle positivo (tetraciclina), Verm, V1M, V2M e seus híbridos com carvacrol.....	53

RESUMO

Título: VERMICULITAS MODIFICADAS COM CARVACROL APLICADAS COMO MATERIAL ANTIBACTERIANO

Autor: José de Souza

Orientadoras: Prof^ª. Dr^ª. Maria Gardênnia da Fonseca

Prof^ª Dr^ª Maria del Mar Orta Cuevas

A incorporação de óleos essenciais ou seus componentes em matrizes inorgânicas é uma estratégia para reduzir a rápida volatilidade dos óleos e permitir uma liberação lenta pelos sistemas carregados com óleo. Carvacrol (Carv) é o componente dos óleos essencial de plantas do orégano e tomilho com diversas bioatividades, incluindo atividade antimicrobiana. No presente estudo, a incorporação de carvacrol em vermiculita bruta (Ver) e duas amostras ativadas com ácido foi avaliada. As amostras ativadas foram obtidas pela reação da amostra Ver com HNO₃ a 1 e 2 mol L⁻¹ e as matrizes ativadas foram denominadas V1M e V2M, respectivamente. Amostras contendo 100 mg de sólido reagiram com 20 mL de soluções aquosas etanólicas de carvacrol a 50% v/v, nas quais as quantidades de óleo em solução foram de 0,5 mL e 1,0 mL. Os sólidos antes e depois da incorporação do óleo foram caracterizados por técnicas estruturais de curto e longo alcance, morfológicas e térmica. O teste de difusão em ágar avaliou a atividade antibacteriana dos materiais contra *Escherichia coli* (ATCC-25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Os padrões de difração de raios X (XRD) indicaram que o óleo foi incorporado na superfície das matrizes, e os espectros de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) sugeriram a contribuição da ligação de hidrogênio entre as espécies. A incorporação máxima do composto ocorreu nas amostras ativadas e as quantidades foram 0,08; 0,51 e 0,67 mmol de óleo por grama de Ver1M/1Carv, V1M/1Carv e V2M/1Carv, respectivamente. As quantidades de liberação foram 0,5 (5%) e 0,9 mg (7,5%) de óleo por grama de Ver/0,5carv e Ver/1,0carv em 12 h. Para V1M/Carv e V2M/Carv, os valores de liberação foram 2,50, 5,43, 4,03 e 8,18 mg g⁻¹ em 12 h e corresponderam a 4,0, 7,0, 5,2 e 8,1%, respectivamente. A ação antibacteriana foi melhor que o controle positivo. Os valores do diâmetro de inibição foram 13, 27 e 32 mm contra *S. aureus* e 12, 25 e 28 mm contra *E. coli*, para as amostras Verm/1Carv, V1M/1Carv e V2M/1Carv, respectivamente, indicando que a cepa *Gran* positiva foi mais sensível. Os dados estão associados à liberação controlada de óleo, e a ação antibacteriana dos híbridos sugere possibilidade de uso dos sólidos em produtos farmacêuticos ou cosméticos.

Palavras-chave: Argilominerais, argilominerais ativados, carvacrol, materiais antibacterianos.

ABSTRACT

Title: VERMICULITE MODIFIED WITH CARVACROL APPLIED AS ANTIBACTERIAL MATERIAL

Author: José de Souza

Supervisors: Profa. Dra. Maria Gardênnia da Fonseca

Prof^a Dr^a Maria del Mar Orta Cuevas

Incorporating essential oils or their components into inorganic matrices is a strategy to reduce the rapid volatility of the oils and allow a slow release by oil-loaded solids. Carvacrol (Carv) is the essential oil component of oregano and thyme that have diverse bioactivities including antimicrobial activity. In the present study the incorporation of carvacrol in pristine (Ver) and two acid-activated vermiculites was evaluated. Activated samples were obtained by reaction of the Ver sample with 1 and 2 mol L⁻¹ HNO₃ and activated matrixes were named V1M and V2M respectively. Samples containing 100 mg of solid reacted with 20 mL of 50% v/v aqueous ethanolic carvacrol solutions, in which the amounts of oil in solution were 0.5 mL and 1.0 mL. The solids before and after oil incorporation were characterized by short- and long-range structural, morphological, and thermal techniques. The agar diffusion test evaluated the antibacterial activity of the materials against *Escherichia coli* (ATCC-25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). X-ray diffraction (XRD) patterns indicated that oil was incorporated on the surface of the matrices, and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) spectra suggested the contribution of hydrogen bonding between the species. The maximum incorporation of the compound occurred in the acid-activated samples and amounts were 0.08, 0.51 and 0.67 mmol of oil per gram of Ver1M/1Carv, V1M/ 1Carv and V2M/1Carv, respectively. The release amounts were 0.5 (5%) and mg (7.5%) of oil per gram of Ver/0.5carv and Ver/1.0carv in 12 h. For V1M/Carv and V2M/Carv, values in 12 h were 2.50, 5.43, 4.03 and 8.18 mg g⁻¹ and corresponded to 4.0, 7.0, 5.2, and 8.1%, respectively. The antibacterial action was better than the positive control. The inhibition diameter values were 13, 27 and 32 mm against *S. aureus* and 12, 25 and 28 mm against *E. coli*, for the Verm/1Carv, V1M/1Carv and V2M/1Carv samples, respectively, indicating that the Gran positive strain was more sensitive. The promising data are associated with the controlled oil release, and the antibacterial action of the hybrids indicated the possible use of these solids in pharmaceutical or cosmetic products.

Keywords: Clay minerals, activated clay mineral, carvacrol, antibacterial materials.

Capítulo 1 – Introdução

1. INTRODUÇÃO

A busca por soluções eficazes contra microrganismos patogênicos tem sido um dos principais desafios no campo da ciência e tecnologia, especialmente diante da crescente resistência microbiana. Nesse contexto, materiais com propriedades antimicrobianas, como os argilominerais modificados, emergem como alternativas promissoras para aplicações tanto industriais quanto médicas (JUNG; KIM; LEE, 2018; OLIVEIRA et al., 2024; OLIVEIRA et al., 2025).

A vermiculita, um silicato hidratado de alumínio, ferro e magnésio, destacam-se pela sua estrutura lamelar e elevada capacidade de troca catiônica, tornando-se um suporte ideal para modificações químicas destinadas ao desenvolvimento de novos materiais funcionais (KOTHALAWALA et al., 2021).

A incorporação de óleos essenciais em vermiculitas representa uma estratégia promissora para potencializar o uso dessas substâncias naturais em aplicações onde estabilidade e liberação controlada são cruciais. A vermiculita atua como uma matriz adsorvente, protegendo os óleos essenciais da volatilização e da degradação oxidativa. Isso é particularmente útil em contextos como conservação de alimentos, aplicações farmacêuticas e cosméticas e controles de pragas e desinfecção ambiental (BAKKALI et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2023a, 2023b).

Além disso, os óleos essenciais são facilmente obtidos, seja por meio da destilação por arraste de vapor, prensagem a frio ou extração com solventes (BAKKALI et al., 2008). A escolha do método de extração impacta diretamente na composição química, na estabilidade e, portanto, na eficácia antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais quando utilizados em sistemas de liberação controlada. Óleos de alta qualidade tendem a apresentar maior concentração de compostos bioativos (como carvacrol, timol, linalol, etc.), garantindo melhor desempenho na aplicação final (YADAV e KAMBLE, 2009).

No entanto, sua instabilidade térmica e volatilidade representam desafios significativos para aplicações práticas. A utilização de argilominerais como suportes tem se mostrado uma solução eficaz para superar essas limitações, garantindo a proteção e a liberação gradual dos compostos bioativos (HU et al., 2020; LI et al., 2021).

Exatamente o carvacrol, um monoterpene fenólico presente em óleos essenciais de plantas como o orégano e o tomilho, destaca-se pela sua ação contra diversas bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Estudos recentes indicam que sua ação antimicrobiana está associada à alteração da permeabilidade da membrana celular, interferindo no metabolismo

e na viabilidade dos microrganismos (ULTEE et al., 2000; JU et al., 2020). Quando incorporado a vermiculitas modificadas, o carvacrol pode apresentar propriedades melhoradas, com liberação prolongada e maior estabilidade, tornando-se uma estratégia eficaz para aplicações antimicrobianas de longo prazo como foi realizado com esmectitas (SAAD et al., 2024).

Neste trabalho, investigou-se o uso de vermiculita bruta e ativada com ácido como suporte para a incorporação de carvacrol, visando desenvolver um material com propriedades antibacterianas. A pesquisa está fundamentada em estudos anteriores realizados no grupo que demonstraram o potencial de argilominerais como suportes para compostos bioativos ou com atividade antibacteriana e sua contribuição para soluções sustentáveis em diferentes áreas de aplicação (OLIVEIRA et al., 2023a, 2023b).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Este estudo tem como objetivo geral avaliar o processo de ativação ácida de uma amostra de vermiculita e sua subsequente incorporação do carvacrol, analisando as propriedades físico-químicas do material obtido e sua eficácia contra bactérias Gram positivas e Gram negativas.

1.1.2 Objetivos específicos

- Obter sólidos reestruturados a partir ativação ácida da vermiculita com ácido nítrico em diferentes concentrações;
- Avaliar a influência da ativação ácida da vermiculita na síntese de compostos inorgânicos/orgânicos derivados da interação do carvacrol;
- Caracterizar os sólidos por técnicas de caracterização estrutural de longo e curto alcance, técnicas morfológica e térmica e medidas de potencial Zeta;
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos sólidos antes e após incorporação do carvacrol frente as bactérias *Escherichia coli* (ATCC-25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

- Obter os perfis de liberação do carvacrol em tampão PBS (pH 7,4) a partir das matrizes carregadas com o derivado do óleo essencial avaliando a influência da ativação ácido no processo.

Capítulo 2 – Fundamentação teórica

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Vermiculita – Estrutura e ativação ácida

A vermiculita é um silicato hidratado de alumínio, ferro e magnésio lamelar do tipo 2:1, formado pela alteração hidrotermal de micas (biotitas, flogopitas ou muscovitas) em que ocorre a substituição dos íons interlamelares de K^+ pelos íons Mg^{2+} , em junção com um aumento na quantidade de água (BRIGATTI et al., 2013). A estrutura desses argilominerais é 2:1 planar, predominantemente trioctaédrica, podendo ser encontrada também como dioctaédrica, conforme apresentado na Figura 2.1, e são denominadas com base em uma carga negativa, que está entre 0,6 a 0,9 para metade de célula unitária (BRIGATTI et al., 2013). A vermiculita possui uma meia célula de $X_4(Y_{2-3})O_{10}(OH)_2M.nH_2O$, em que M é um cátion metálico (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Na^+ , K^+) da região interlamelar, Y é Mg^{2+} , Fe^{2+} octaédrico ou Fe^{3+} e Al^{3+} , e X é Si^{4+} ou Al^{3+} tetraédrico (SHIROZU e BAILEY, 1966).

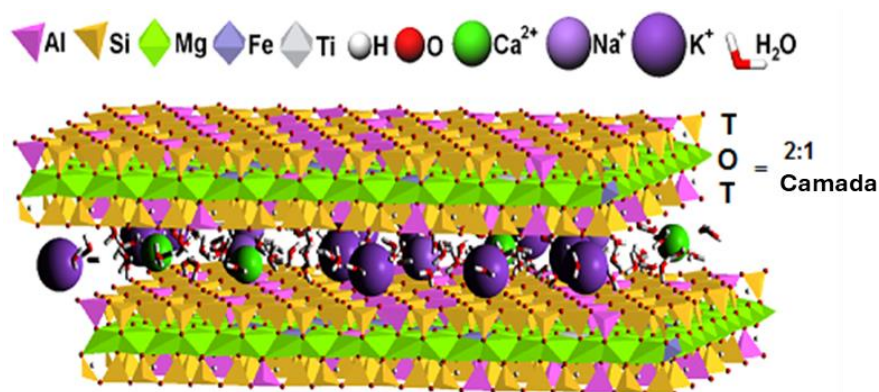


Figura 2.1 Estrutura da vermiculita

Fonte: Adaptado de VALÁŠKOVÁ e MARTYNKOVA, 2012.

Uma propriedade dos argilominerais é a capacidade de troca catiônica (CTC), que pode ser definida como a quantidade de cátions interlamelares disponíveis para troca em um determinado pH. Para a vermiculita, a CTC varia entre 120 e 200 $cmol^+/kg$ nas amostras secas ao ar, ou 140-240 $cmol^+/kg$ para as desidratadas. Quando rapidamente aquecida, a vermiculita expande e seu formato é o que dá origem ao seu nome, assemelhando-se a um verme (*vermiculare*, no latim). O aquecimento acelerado provoca saída das moléculas de

água abruptamente e a expansão na estrutura das partículas da vermiculita, chegando a atingir de vinte a trinta vezes o seu tamanho original. Ademais, esse aumento de volume ocorre de modo organizado, em direção perpendicular ao empilhamento das camadas (MARCOS e RODRIGUEZ, 2011).

Na estrutura da vermiculita existem camadas interlamelares de água, que são hidratadas e desidratadas, que são controladas pelos cátions Mg^{2+} presentes nas intercamadas, além de outros cátions em menor quantidade como Na^+ ou Ca^{2+} (REICHENBACH e BEYER, 1995). Esses cátions influenciam no grau de hidratação na intercamada e também nas sequências da camada de empilhamento.

A vermiculita apresenta certa limitação em relação à capacidade de expansão em água, especialmente quando comparada a outros argilominerais com cargas inferiores, como a montmorilonita (MCGOLDRIK et al., 2015). O espaço basal da vermiculita para nenhuma camada de água é de 0,902 nm, para uma camada de água é de 1,150 nm e para fase hidratada com duas camadas de água, o valor é de 1,440 nm (WALKER, 1956).

Na montmorilonita, os cátions presentes no espaço interlamelar (dependendo de sua energia de hidratação) encontram-se hidratados e, devido à carga lamelar reduzida, conseguem expandir-se facilmente com a entrada de água nesse espaço (MCGOLDRIK et al., 2015; FERRAGE et al., 2010). Como a vermiculita apresenta elevada carga superficial resultante de substituições isomórficas nas folhas tetraédricas e octaédricas, dessa forma os cátions interagem menos com a água do que com a lamela (LAGALY e DÉKÁNY, 2013). As camadas de água podem se organizar no espaço interlamelar desse material por meio de ligações de hidrogênio entre as moléculas de água e os átomos de oxigênio das camadas tetraédricas (BEYER e REICHENBACH, 2002). Pesquisas computacionais sobre a vermiculita, focadas nas interações envolvendo as camadas de água no espaço interlamelar, confirmaram essa ligação entre as moléculas de água e a estrutura desse argilomineral (SLADE et al., 1985; SKIPPER et al., 1995; SWENSON et al., 2000; BEYER e REICHENBACH, 2002; DEMONTIS et al., 2013; DEMONTIS et al., 2014; YANG et al., 2015).

Do ponto de vista geológico, as rochas que podem apresentar a vermiculita em sua estrutura são as máficas e ultramáficas, gnaisses e xistos, carbonatos e graníticas, cada qual com suas peculiaridades. O Brasil está entre os países que possui as principais minas desse material (RITZ, 2014; FRANCO et al., 2011) com ocorrência em estados como Bahia, Piauí e Paraíba.

Entre as modificações químicas dos argilominerais, para fins industriais e científicos, está a sua ativação ácida (STAWINSKI et al, 2014, 2016). A ativação ocorre pela reação do argilomineral com uma solução de ácido mineral que pode ser o ácido nítrico, clorídrico ou sulfúrico ou ainda ácidos orgânicos como ácido acético sob aquecimento controlado ou mesmo a temperatura ambiente (BRIGATTI et al., 2013).

O objetivo principal da ativação ácida do argilomineral é a obtenção de um material sólido com acidez superficial, elevada área superficial, alta porosidade, que ocorre devido a retirada seletiva de elementos estruturais como, por exemplo, magnésio do sítio octaédrico e alumínio dos sítios octaédrico e tetraédrico, proporcionando um aumento de grupos silanóis (Si-OH) livres reativos (BRIGATTI et al., 2013; KOMADEL, 2003; CARRADO e KOMADEL, 2009). Esse procedimento é uma das alterações químicas mais frequentemente aplicadas em argilominerais, sendo utilizado tanto em pesquisas acadêmicas quanto em processos industriais, devido à sua simplicidade, eficiência e baixo custo (KOMADEL, 2016).

A ativação ácida tem como objetivo a formação de um silicato ativado que pode ser aplicado em processos de adsorção de espécies poluentes, catálise ou suporte para ancoramento de agentes sililantes que origina matérias híbridos inorgânicos-orgânicos. Na Figura 2.2, pode-se observar como ocorre a ativação ácida desses minerais, utilizando como exemplo o óleo essencial de canela (*C. verum*).

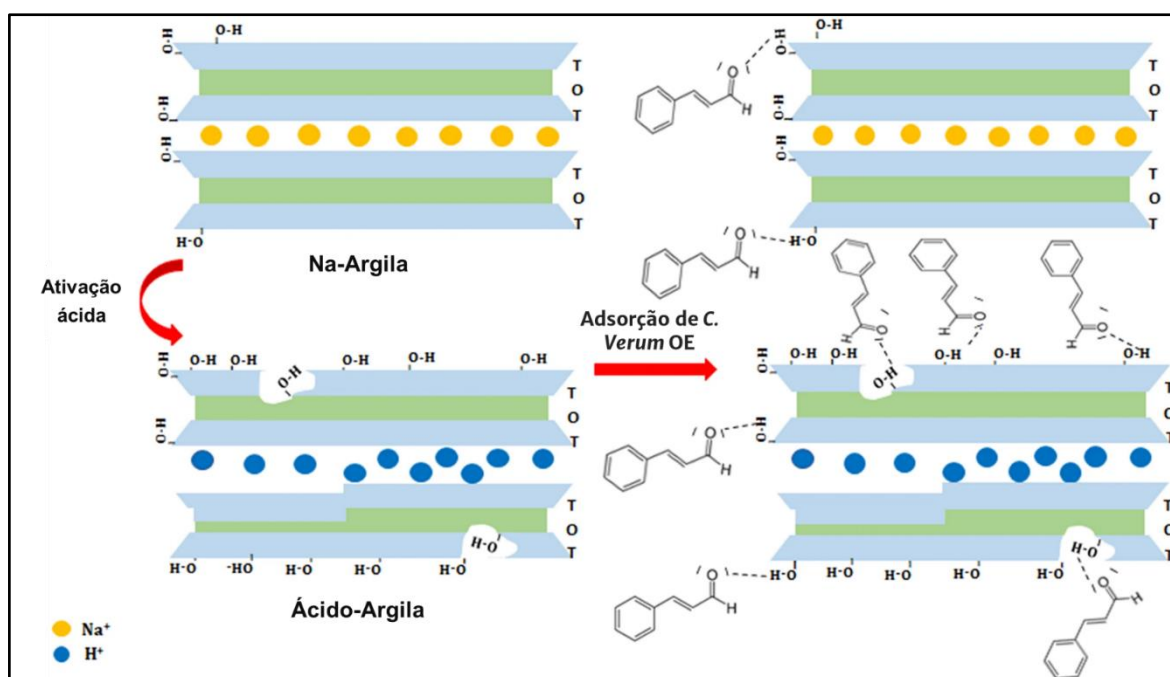


Figura 2.2 Ativação ácida de um argilomineral e sua utilização como adsorvente do óleo essencial de canela.

Nota-se que vários sítios para adsorção são formados por meio da ativação ácida incluindo grupos silanóis (SiOH) e aluminóis (AlOH), o que favorece a utilização desses argilominerais como suporte para espécies bioativas e diversas outras aplicações incluindo adsorção e catálise (WEGRZYN *et al.*, 2018).

2.2 Óleos essenciais (OE)

Os óleos essenciais, também conhecidos como óleos voláteis, óleos etéreos ou essências, são substâncias naturais encontradas em plantas que contêm compostos aromáticos voláteis, principalmente nas plantas usadas como temperos, as especiarias, que conferem sabor aos alimentos (OLIVEIRA *et al.*, 2022).

De acordo com a International Standard Organization, esses óleos são definidos como produtos extraídos de partes das plantas por meio de destilação com vapor d'água. Eles são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente com odor característico, são líquidos e atuam em funções biológicas importantes para a sobrevivência das plantas, como defesa (proteção contra excesso de ultravioleta, exatamente microrganismos, insetos e animais) (OLIVEIRA *et al.*, 2022).

Esses compostos costumam ser formados por hidrocarbonetos terpênicos, álcoois, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, além de substâncias contendo enxofre (OLIVEIRA *et al.*, 2023). As propriedades terapêuticas e organolépticas dos óleos essenciais geralmente se devem à presença de monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides, entre outros compostos voláteis, que estão relacionados a propriedades farmacológicas devido à sua volatilidade e outras características biológicas (OLIVEIRA *et al.*, 2022).

Os óleos essenciais têm sido amplamente utilizados devido às suas propriedades observadas na natureza, como ação antibacteriana, atividades antifúngica e inseticida. Atualmente, há cerca de 3.000 óleos essenciais conhecidos, dos quais 300 têm importância comercial significativa, especialmente para os setores farmacêutico, agrônômico, alimentício, de produtos sanitários, cosméticos e perfumes (BAKKALI *et al.*, 2008).

Atualmente os derivados vegetais tem recebido maior atenção por suas aplicações terapêuticas, principalmente por ser encontrado de forma natural e por suas amplas propriedades no campo farmacêutico (BAKKALI *et al.*, 2008). Há vários trabalhos que relatam seu uso crescente como agentes anticâncer, antioxidante, antibacteriano, antifúngico

anti-inflamatório, analgésico, sedativo e anestésico local (GERSHENZON e DUDAREVA, 2007; RAUT e KARUPPAYIL, 2014). Os fenóis e aldeídos presentes nesses óleos essenciais foram os que mostraram maior capacidade em combater bactérias. Sua propriedade antimicrobiana está associada com suas propriedades físico-químicas, incluindo lipofilicidade, coeficiente de partição e parâmetros de ligação de hidrogênio (GRIFFIN et al., 1999). Na Figura 2.3 pode-se observar alguns dos componentes principais presentes nos óleos essenciais.

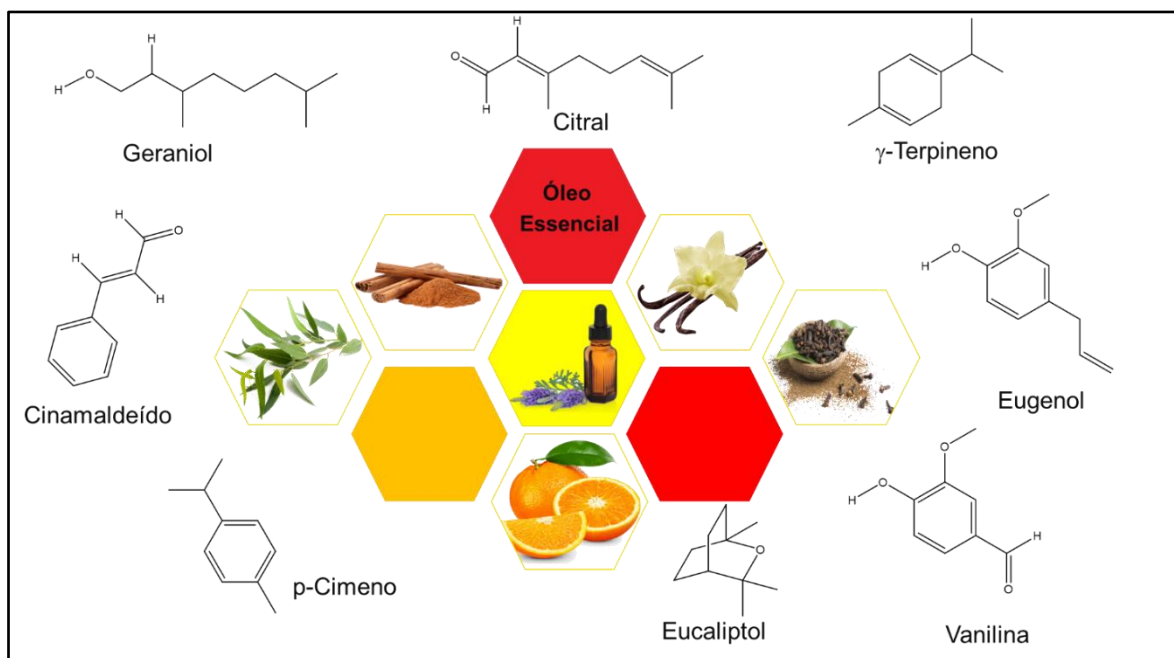


Figura 2.3 Principais componentes com atividade antibacteriana presentes em óleos essenciais.

Fonte: Adaptado de WANG et al., 2024.

A atividade antibacteriana dos óleos essenciais é causada por múltiplos mecanismos, que podem ser alterados pela posição dos grupos funcionais. O efeito de um único componente em diferentes patógenos pode ser diferente, e o conteúdo de componentes bacterianos também pode levar a diferentes efeitos antibacterianos (JU et al., 2020b).

Na maioria dos casos, os óleos essenciais apresentam maior efeito antibacteriano do que produtos similares produzidos quimicamente. Isso pode ocorrer devido ao efeito sinérgico de misturas complexas nos óleos por meio de diferentes mecanismos (JU et al., 2019). Em pesquisas recentes, foi proposto que o mecanismo de ação dos óleos essenciais envolve a destruição da estrutura da parede celular e da membrana celular, bem como a interferência do metabolismo energético e do sistema enzimático. Como os óleos possuem propriedades lipofílicas, eles podem passar pela parede celular e pela membrana celular,

produzindo assim citotoxicidade para microrganismos (JU et al., 2020a; WU et al., 2022). Moléculas hidrofóbicas podem facilmente passar pelas paredes celulares de bactérias Gram-positivas. No entanto, a membrana externa da parede celular de bactérias Gram-negativas contém lipopolissacarídeo, que dá à célula uma superfície hidrofílica, o que torna as bactérias Gram-negativas mais resistentes a óleos essenciais e outros extratos naturais hidrofóbicos com atividade antibacteriana (WANG et al., 2024).

O carvacrol, combinado a cadeia de gordura leva à expansão e instabilidade da estrutura da membrana da bactéria, o que aumenta sua fluidez e permeabilidade, causando vazamento de substâncias intracelulares (BENCHAAAR, 2020). O carvacrol será melhor descrito no sub item 2.3.

2.3 Carvacrol

O carvacrol (5-isopropil-2-metilfenol), Figura 2.4, é um álcool monoterpenóide, isômero do timol, um líquido com ponto de ebulição de 236–237 °C e densidade de 0,976 g.mL⁻¹ a 20 °C (BASER, 2008). É quimicamente relacionado aos compostos fenólicos, sendo constituído por um anel fenólico com substituições metil e isopropil, obtido seguindo a rota biossintética envolvendo geranil pirofosfato como precursor e c-terpineno e p-cimeno como intermediários (BASER, 2008). O carvacrol é insolúvel em água, mas bastante solúvel em solventes orgânicos como etanol, acetona e éter etílico (YADAV e KAMBLE, 2009). O carvacrol é um líquido incolor a amarelo claro, caracterizado por um odor típico, sabor picante, alta lipofilicidade e totalmente solúvel em solventes orgânicos (ULTEE, 2000; BEN ARFA et al., 2006; BASER, 2008).

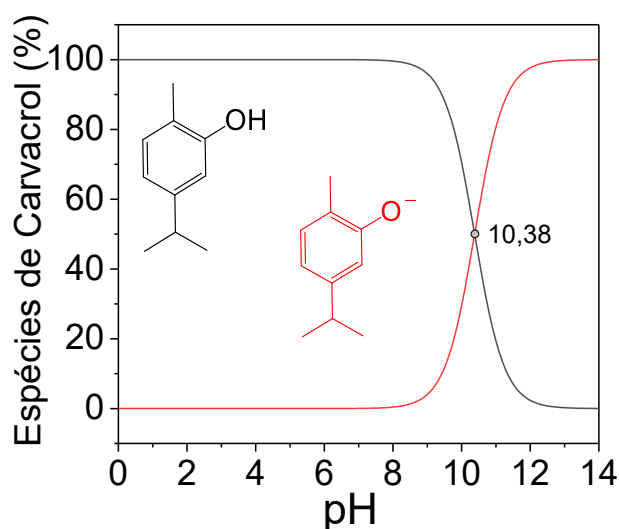


Figura 2.4 Especiação do carvacrol ((5-isopropil-2-metilfenol) em função do pH.
Fonte: Próprio autor (2025)

A diferente concentração de carvacrol entre as plantas está relacionada a vários fatores, como, por exemplo, técnicas de isolamento (solventes orgânicos, destilação ou procedimentos mecânicos), período de coleta (estágio de floração ou vegetativo), fatores climáticos correlacionados à variabilidade sazonal e ambiente geográfico, estresses associados a fatores mecânicos e trauma químico (KAROUSOU et al., 2005; FIGUEIREDO et al., 2008; FRIEDMAN, 2014; KUMARI et al., 2014,).

O carvacrol tem chamado atenção por sua atividade antibacteriana e por suas propriedades farmacológicas adicionais, como: atividade anti-inflamatória, antiplaquetária, espasmolítica, vasorrelaxante, antidepressiva, antifúngica, ansiolítica e anticâncer. Ademais, o carvacrol é amplamente desejável como aditivo em produtos alimentícios e visto como seguro toxicologicamente (COMMISSION EUROPEAN, 2012; FDA 2017).

O mecanismo de ação do carvacrol se dá principalmente no envelope externo e na membrana citoplasmática interna das bactérias, porém enzimas e proteínas também podem ser alvo desse composto (RADULOVIC' et al., 2013). Não se sabe ao certo por qual mecanismo ocorre a ação antimicrobiana do carvacrol, porém, muitos estudos sugerem que ele pode exercer uma atividade inibitória no crescimento bacteriano, devido à sua capacidade, garantida por uma hidrofobicidade elevada, de interagir com cadeias acil relacionada a fosfolipídios (SIKKEMA et al., 1994; BEN ARFA et al., 2006). O acúmulo dessa molécula, impactando no arranjo íntimo e na estabilidade da bicamada fosfolipídica, cria uma expansão da membrana que se torna mais permeável. Esses eventos desencadeiam

a redução do pH interno e dissipam o potencial eletroquímico da membrana, força motriz da síntese de ATP (ULTEE et al., 2000; LAMBERT et al., 2001).

Apesar de sua atividade antimicrobiana ser ampla, ele apresenta efeito inibitório mais presente contra bactérias Gram-positivas (AIT-QUAZZOU et al., 2013). Nas bactérias, há dois modos de existência: o primeiro é o estágio planctônico, onde as células vivem de forma livre; o segundo é o estágio sésil, que forma biofilmes, ou seja, agrupamentos bacterianos que se desenvolvem em interfaces, como a transição entre sólido e líquido (TRENTIN et al., 2013; ARAUJO et al., 2013).

Nostro e colaboradores (2007) avaliaram o efeito in vitro do carvacrol no combate a bactérias gram-positivas *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*. A concentração de inibição do biofilme variou de 0,031 a 0,125% v/v, enquanto a concentração de erradicação do biofilme estava entre 0,125 e 0,500% v/v, duas vezes maior em comparação com a concentração que garante a inibição do crescimento em suspensão.

Em outro trabalho, Nostro e colaboradores (2009) avaliaram a potencial atividade antimicrobiana do carvacrol na fase líquida e de vapor no biofilme de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*. Os resultados obtidos pelos pesquisadores indicaram que o carvacrol perturba a arquitetura do biofilme e interfere na viabilidade celular de forma mais eficiente quando está em contato líquido com a biomassa estafilocócica, enquanto no caso de contato com vapor a eficácia dos tratamentos dependeu do tempo de exposição.

Nostro e colaboradores (2012) avaliaram o papel do pH na capacidade do carvacrol de inibir biofilmes de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*. Os resultados mostraram que, em pH ácido (5,5), os valores de concentração de inibição do biofilme e concentração de erradicação do biofilme, para ambas as cepas estudadas, foram uma ou duas vezes menores quando comparadas com os valores encontrados em pH neutro. Um resultado interessante foi a alta atividade do carvacrol contra o *Staphylococcus epidermidis* em pH ácido (50% de redução na biomassa bacteriana), provavelmente devido à maior hidrofobicidade que resulta em uma melhor partição na fase lipídica da membrana.

Helander e colaboradores (1998) comprovaram a eficiência na degradação da membrana externa de bactérias Gram-negativas, pelo carvacrol para valores de 1mM de *Salmonella typhimurium* e 3mM para *Escherichia coli*, essa última mostrando maior resistência.

Xu e colaboradores (2008) testaram o carvacrol para inibição do crescimento de *Escherichia coli* em uma concentração de 200 mg L⁻¹. Os resultados apontaram o efeito desestabilizador do carvacrol na membrana celular, tornando ela mais permeável.

Dong e colaboradores (2024) buscaram sintetizar novos agentes antibacterianos, produzindo 72 derivados de carvacrol e timol por biomimicização da estrutura e função de peptídeos antimicrobianos catiônicos. Muitos dos compostos apresentaram boa atividade antibacteriana, dentre eles, o composto thy21 foi o mais potente, podendo inibir bactérias Gram-positivas e Gram-negativas por meio de um mecanismo de ação de direcionamento de membrana com baixa frequência de resistência. O thy21 ainda apresentou efeito terapêutico positivo, reduzindo em 99,65% a carga bacteriana de *Staphylococcus aureus*.

Da Silva e colaboradores (2023) avaliaram a aplicação do carvacrol puro e complexado com ciclodextrina no combate a bactéria *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e a cepa multirresistente de *Pseudomonas aeruginosa*. Os resultados confirmaram a atividade antibactericida do carvacrol, sendo eficiente na inibição de todas as bactérias estudadas, demonstrando efeitos clínicos relevantes, tanto para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sendo promissor para o combate à resistência bacteriana.

Huang e colaboradores (2024) utilizaram o carvacrol foi utilizado para modificar a lisozima da clara do ovo a fim de melhorar a capacidade bacteriostática. Os resultados indicaram que o composto modificado teve atividade antibactericida aumentada contra a *Escherichia coli*. O composto sintetizado mostrou boa estabilidade e os espectros de absorção ultravioleta-visível indicaram que o carvacrol e a lisozima formaram um complexo.

Além dos trabalhos citados, muitos outros pesquisadores conseguiram resultados esperançosos utilizando o carvacrol como antibactericida e na sua utilização combinada a outros compostos (TENCI et al., 2017).

2.4 Incorporação de OE em vermiculita/argilominerais

Devido às capacidades antimicrobianas dos óleos essenciais, esses estão sendo empregados em diversas aplicações na indústria, na medicina e em diversos outros setores (SIMIONATO et al., 2019; GAJDZIOK et al., 2015). Pode-se citar o óleo essencial de limão que possui um amplo espectro de atividades microbianas, sendo empregado até mesmo em embalagens alimentícias (JIMENEZ-REYES et al., 2019).

Porém, alguns dos problemas relacionados ao uso dos óleos essenciais é a volatilidade, instabilidade térmica e aroma forte. Por isso, esses compostos vêm sendo introduzidos em argilominerais que possuem elevadas capacidades de carga, porosidade elevada, grande área superficial e boa capacidade de adsorção (HU et al., 2020).

A vermiculita é um argilomineral que vem sendo amplamente aplicado como suporte para os óleos essenciais, aumentando a estabilidade térmica, protegendo a atividade bacteriostática e amenizando seu aroma. A principal característica dessa junção é a liberação controlada do óleo essencial provocada pela estrutura da vermiculita, o que otimiza e aumenta o tempo de aplicação do óleo (LI et al., 2021).

Logo, a incorporação dos óleos essenciais em vermiculita possui grandes vantagens e desse modo deve-se estudar técnicas de incorporação desses materiais. A seguir são mencionadas algumas técnicas.

Li e colaboradores (2021) realizaram a ativação ácida da vermiculita e, após seca, adição dela no óleo essencial de limão que estava previamente dissolvido em etanol. A mistura foi agitada durante 10 minutos. O produto formado foi seco por liofilização a vácuo e lavado duas vezes com etanol.

Kothalawala e colaboradores (2021) prepararam partículas de vermiculita de tamanho submicrométrico por moagem de bolas e testadas como um potencial transportador do óleo essencial de orégano. Essa mistura apresentou bom desempenho antimicrobiano contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus epidermidis*.

Saad e colaboradores (2024) investigaram o uso de nanopartículas de argilominerais como um sistema de liberação sustentada para compostos de óleo essencial de canela para uma aplicação como antifúngico. Argilominerais purificados e ativados por ácido foram utilizados nesse trabalho. A ativação ácida ocorreu por meio de ácido sulfúrico (3 N) sob refluxo por 1 hora. Como resultado, obteve-se uma elevada atividade antifúngica contra o fungo *Candida albicans*. O uso do argilomineral como vetor para o óleo essencial garantiu a liberação lenta e prolongada do óleo essencial, bem como sua estabilidade.

2.5 Aplicação de vermiculita como material antibacteriano

A adesão de bactérias, tanto em superfícies bióticas (como tecidos e células de animais e plantas) quanto em superfícies abióticas (como metais e plásticos), é amplamente estudada, pois representa o passo inicial para a multiplicação desses microrganismos. Esse fenômeno traz prejuízos consideráveis a diversos setores, com destaque para a área da saúde, onde está associado ao surgimento de problemas como infecções hospitalares relacionadas a próteses e implantes contaminados, além de cáries dentárias e periodontite (APARNA e YADAV, 2008).

Outro setor significativamente afetado é o alimentício, já que a presença de microrganismos compromete o armazenamento, acelera a deterioração dos alimentos e coloca em risco a segurança alimentar, favorecendo a transmissão de doenças por produtos contaminados (ARAUJO et al., 2013).

As bactérias alternam entre dois estados principais: o estado planctônico, em que vivem isoladamente como células livres, e o estado sésil, em que formam biofilmes. Os biofilmes são comunidades bacterianas organizadas que se estabelecem em interfaces, como entre sólido e líquido (TRENTIN et al., 2013; ARAUJO et al., 2013).

Os argilominerais modificados, como a vermiculita expandida, são usualmente empregados como transportadores de fármacos, proteínas e substâncias ativas, isso ocorre porque há a possibilidade de incorporação de compostos orgânicos ou inorgânicos à sua estrutura (NIEN et al., 2011; AHMED et al., 2020). A incorporação em escala molecular de um composto orgânico na estrutura inorgânica da argila origina um material com propriedades das duas fases, ou seja, um material orgânico antibacteriano pode ser incorporado à estrutura de um argilomineral, aproveitando-se de suas características físicas e químicas (SAMLÍKOVÁ et al., 2017).

Nos últimos tempos, várias sínteses vêm sendo estudadas buscando a liberação controlada dos compostos orgânicos antibacterianos, usando argilominerais, assim como também a preparação de materiais antibacterianos com cátions inorgânicos que atuam como agentes antimicrobianos. Neste sentido vermiculitas trocadas com cátions metálicos de Ag^+ (MAGAÑA et al., 2008), Cu^{2+} (DRELICH et al., 2011) e Zn^{2+} (MALACHOVÁ et al., 2011) foram obtidas e aplicadas no campo biológico.

Holešová e colaboradores (2010) prepararam um organomineral formado pela junção da vermiculita e do diacetato de clorexidina. O composto apresentou elevado potencial antimicrobiológico, inibindo o crescimento de grande variedade de microrganismos. Além disso, foi comprovada sua eficiência contra bactérias Gram-positivas, como a *Escherichia faecalis* e Gram-negativas, como a *Escherichia coli*.

Em outro trabalho, Holešová e colaboradores (2014) sintetizaram um material denominado organovermiculita com diferentes proporções mássicas de diacetato de clorexidina por meio de troca iônica. Esse material conseguiu inibir o crescimento bacteriano contra bactérias gram-positivas e gram-negativas.

Gajdziok e colaboradores (2015) produziram um filme oral mucoadesivo de carmelose com clorexidina e vermiculita que foi capaz de liberar o medicamento exatamente na área do alvo da infecção oral, mostrando-se adequado para uso clínico.

Samlíková e colaboradores (2017) prepararam um adesivo oral mucoadesivo formado por vermiculita e clorexidina. Os resultados apontaram que o material produzido como aplicável em odontologia devido à sua atividade antibacteriana de longo prazo, podendo tratar doenças como a estomatite infecciosa.

Plachá e colaboradores (2014) realizaram a modificação de vermiculitas utilizando brometo de hexadeciltrimetilamônio e cloreto de hexadecilpiridina. Os materiais obtidos foram avaliados quanto à sua atividade contra bactérias Gram-positivas, incluindo *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, e Gram-negativas, como *Yersinia pestis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os resultados demonstraram excelente atividade inibitória contra as bactérias Gram-positivas, enquanto nenhuma ação antibacteriana foi observada contra as Gram-negativas.

Barabaszová e colaboradores (2019) sintetizaram um nanocompósito de óxido de zinco, vermiculita e clorexidina por meio de um método ultrassônico para uso como agente bacteriano. Todas as amostras produzidas tiveram um rápido efeito antibacteriano e duração de longo prazo, mostrando eficiência frente a outros métodos.

Hundaková e colaboradores (2011) produziram um nanomaterial com vermiculita e compósitos de polietileno e aplicaram como agente antibacteriano. Os estudos comprovaram que o material possui efeito inibitório contra bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia faecalis* e *Escherichia coli*.

Tian e colaboradores (2023) sintetizaram uma vermiculita rica em ferro, conseguindo reconfigurar a fase mineral desse argilomineral a fim de utilizar a vermiculita como nanoenzima. Nesse trabalho, os pesquisadores utilizaram um método nomeado de sal fundido e a vermiculita apresentou atividade semelhante à peroxidase. O material apresentou atividade antibacteriana, com quase 100% de degradação da bactéria *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Xu e colaboradores (2013) produziram a vermiculita com acetato de clorexidina em sua estrutura, com a finalidade de avaliar a sua atividade antibacteriana. Os resultados obtidos indicaram que houve o acetato de clorexidina foi incorporado na intercâmara da vermiculita com sucesso e apresentou elevada atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Capítulo 3 – Metodologia experimental

3. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

3.1 Materiais e reagentes químicos

A amostra de vermiculita com capacidade de troca catiônica (CTC) de 110,7 cmol(+) Kg⁻¹ foi proveniente da cidade de Santa Luzia – PB e usado sem purificação prévia. Foram utilizados os seguintes reagentes e solventes, todos sem purificação anterior:

- Água destilada;
- Carvacrol (99%, massa molecular 150,22 g mol⁻¹, CAS 499-75-2) foi fornecido pela Sigma-Aldrich,
- Ácido Nítrico da marca Vetec (65%), massa molecular 63,01 g mol⁻¹;
- Etanol, da marca Synth (99,5%), massa molecular 46,07 g mol⁻¹;
- Nitrato de prata da marca Synth (99%), massa molecular 169,87 g mol⁻¹;
- Acetato de sódio trihidratado da Vetec (99%), massa molecular 136,08 g mol⁻¹;
- Nitrato de Sódio da Sigma-Aldrich reagente ACS (99%) massa molecular 84,99 g mol⁻¹;
- Hidróxido de Sódio, da marca Synth (99%) massa molecular 40,00 g mol⁻¹;
- Tampão PBS, Sigma Aldrich em forma de pó, pH 7,4, com 0,05% de Tween® 20.

3.2 Ativação ácida da vermiculita

A vermiculita bruta foi ativada pela reação de 100 g do material com 500 mL de solução aquosa de HNO₃ a 1 e 2 mol L⁻¹. O sistema foi mantido a temperatura de 80 °C sob agitação contínua por um período de 4 h (SANTOS et al., 2015). Os sólidos obtidos foram então lavados com água destilada e secos em estufa a temperatura de 60 °C, em seguida macerados e encaminhados para as caracterizações. Os materiais foram nomeados como V1 e V2. Um fluxograma do processo de ativação pode ser visto na Figura 3.1.

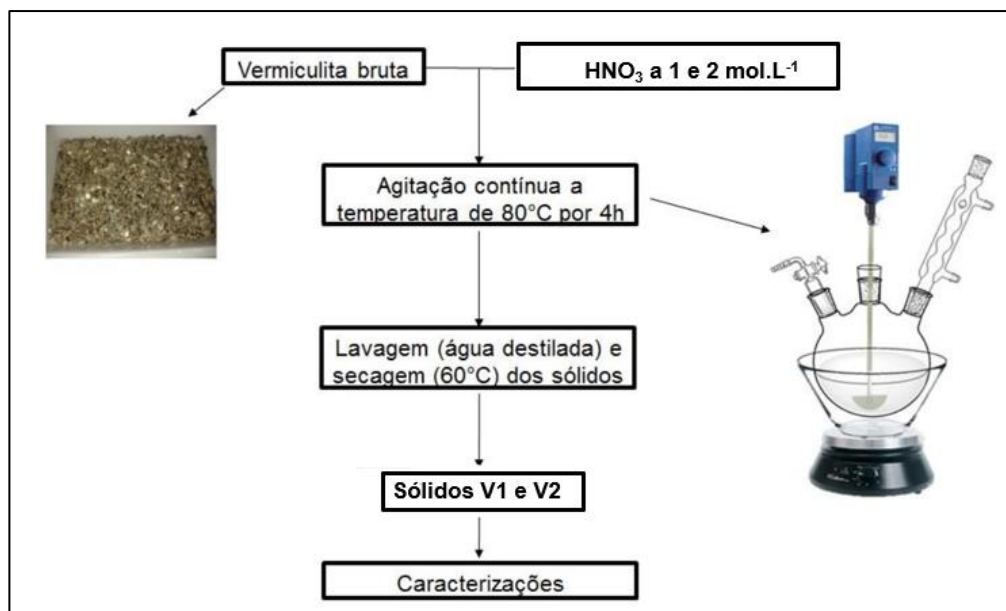


Figura 3.1 Fluxograma do processo de ativação ácida da vermiculita bruta.

Fonte: Próprio autor.

3.3 Incorporação de carvacrol nas amostras de vermiculita sódica e ativadas

Foram pesadas amostras de 100 mg de vermiculita e vermiculita ativada em HNO_3 nas concentrações de 1 e 2 mol L^{-1} . Em seguida, foram preparadas as soluções aquo-etanólicas de carvacrol (água:etanol 1:1), na qual as quantidades de óleo em 20 mL foram de 0,5 mL e 1 mL. Em seguida se transferiu as massas de sólido para os erlenmeyers contendo 20 mL das soluções aquo-etanólicas preparadas. Os sistemas argila/óleo foram mantidos sob agitação orbital em uma mesa de agitação por um período de 24 h a 25 °C. Na sequência, os sólidos foram recuperados por centrifugação a 8500 rpm durante 10 min. O material foi lavado três vezes em água destilada, e novamente centrifugado, depois transferido para estufa e secagem a 50 °C, seguido de etapa de desaglomeração e peneiramento com uma peneira de 200 mesh.

3.4 Técnicas de caracterização

3.4.1 Difratometria de Raios X (DRX)

Os padrões de difração de raios X foram obtidos em um difratômetro de raios X modelo XDR-6000, marca Shimadzu, utilizando como fonte de radiação $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 0,15406$ nm), operando com potência de 2 kVA, voltagem de 40 kV e corrente de 30 mA. Foram

realizadas varreduras no intervalo de 2θ entre 3 e 80° , com um passo de $0,02^\circ$ e velocidade de $0,5^\circ \text{ min}^{-1}$.

3.4.2 Espectroscopia de absorção molecular na região do infravermelho

Os espectros de absorção da região do infravermelho foram obtidos em um espectrômetro modelo Prestige – 21, da marca Shimadzu pela técnica da pastilha de KBr, na proporção em massa de 1:100 de KBr. A varredura foi na região de $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$, com resolução de 4 cm^{-1} e 30 scans de acumulação.

3.4.3 Análise termogravimétrica (TG)

As curvas termogravimétricas foram obtidas em uma termobalança, Shimadzu, modelo TGA-50, sob fluxo na atmosfera de argônio de 100 mL min^{-1} e a razão de aquecimento de $10^\circ \text{C min}^{-1}$. A faixa de temperatura foi de 273-1200 K.

3.4.4 Análise elementar de carbono, nitrogênio e hidrogênio (CHN)

Os teores de CHN foram determinados em um analisador microelementar Perkin Elmer, modelo PE 2400, pertencente ao laboratório da central analítica do Instituto de Química da USP, São Paulo.

3.4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As imagens produzidas por MEV foram obtidas em um microscópio FEI Quanta FEG 250 MIRA3 LMH modelo Tescan, equipado com um espectrômetro de raios X de energia dispersiva Ametek (HX-1001) e detector Apollo X-SDD.

3.4.6 Medidas de potencial Zeta

O potencial zeta (ζ) das amostras foi medido num Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, UK). Foram preparadas suspensões aquosas contendo $0,05 \text{ g L}^{-1}$ dos sólidos e $0,001 \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 cujos pHs foram ajustados nos valores necessários para as medidas utilizando soluções de HNO_3 ou NaOH ambas nas concentrações de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

3.4.7 Composição química

A composição química das amostras de minerais de argila foi realizada por espectrometria de absorção atômica (AAS) usando um instrumento modelo Perkin-Elmer 5100 com uma chama de ar-acetileno, digestão prévia das amostras com uma mistura ácida de HF/HNO₃ e HCl (reagentes PA).

3.5 Testes antibacterianos

As culturas bacterianas utilizadas foram a *Escherichia coli* (ATCC-25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Os inóculos dessas cepas foram preparados em concentração de aproximadamente 1.5×10^8 UFC mL⁻¹ (Unidade Formadora de Colônia) para uso no ensaio antibacteriano (CLSI, 2012).

O teste de difusão em ágar padronizado pela CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) (CLSI, 2012). Inicialmente, ~50 mg das amostras de argila com e sem o carvacrol foram prensadas em disco de 7 mm de diâmetro e de aproximadamente 0.2 mm de espessura e esterilizados. As cepas bacterianas (*E. coli* ou *S. aureus*) em concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ foram inoculadas em placa de Petri (90 x 15 mm) contendo o meio de cultura Mueller-Hinton ágar. Após inoculação, foram adicionados os discos das amostras na superfície da placa. Em seguida, as placas foram incubadas em estufas por 24 h a 37 °C. O experimento foi realizado em triplicata. O diâmetro da zona de inibição foi então medido em acordo com o CLSI (CLSI, 2012). O tratamento estatístico das amostras foi realizado através do cálculo do desvio padrão.

3.6 Teste de emissão do carvacrol

Os testes de liberação cumulativa do carvacrol foram realizados de acordo com um estudo anterior (Oliveira et al., 2024). Primeiramente, 50,0 mg de cada sólido carregado com carvacrol foi suspenso em 50,0 mL de tampão fosfato pH 7,4, sob agitação a 37 °C em estufa a 160 rpm. Em intervalos de 24, 48 e 72 h, uma alíquota de 5,0 mL foi retirada e, em seguida, a mesma quantidade de tampão fosfato foi adicionada ao sistema, mantendo-se o volume constante.

As alíquotas foram analisadas para determinar a quantidade de carvacrol por espectroscopia UV-Vis com comprimento de onda máximo de 275 nm (KEAWCHAOON e

YOKSAN, 2011). Os experimentos foram realizados em triplicata e a quantidade liberada do cavacrol liberado foi calculada de acordo com a Equação 1 (ZHU et al., 2005; XU et al., 2009):

$$C_c = C_t + \frac{V_a}{V_T} \sum_0^{t-1} C_t \quad \text{Equação 1}$$

Em que C_c é a concentração correta do óleo no tempo t , C_t é a concentração aparente de óleo no tempo t , V_a é o volume da alíquota de solução contendo óleo and V_T é o volume total do meio de liberação.

Capítulo 4 – Resultados e discussão

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Difractometria de Raios X (DRX) e composição química

Os padrões de DRX das amostras brutas e ativadas por ácido, antes e depois da reação com o carvacrol, estão presentes na Figura 4.1. Os padrões de DRX da fase Ver foram indexados de acordo com a ficha ICDD 00-034-0166. A reflexão principal ocorreu em 2θ a $6,13^\circ$ e foi associada ao plano 002 e a uma distância interlamelar (d) de 1,46 nm, característica da presença de duas camadas de água na região intercamadas do argilomineral (SANTOS et al., 2015; VALÁŠKOVÁ et al., 2020). Além disso, foi observada a presença de hidrobiotita (H_b), de acordo com a carta ICDD 00-049-1057 com reflexões em 2θ a $3,53^\circ$ ($\sim d = 2,50$ nm), $7,00^\circ$ ($d = 1,26$ nm), $25,46^\circ$ ($d = 0,349$ nm) e $44,25^\circ$ ($d = 0,204$ nm) (RITZ et al., 2014; VALÁŠKOVÁ et al., 2020). A reflexão em torno de 2θ próximo de 60° (plano 060) indica amostra de Verm trioctaédrica (rica em Mg) (RITZ et al., 2014; VALÁŠKOVÁ et al., 2020).

Após a ativação ácida, foi observada uma diminuição na intensidade das reflexões, principalmente em relação à reflexão do plano 002 , com o aumento da concentração do ácido utilizado, indicando alguma modificação na camada octaédrica e tetraédrica (SANTOS et al., 2015; WĘGRZYN et al., 2018). Além disso, as reflexões associadas à fase H_b foram mantidas, indicando a estabilidade química da H_b nas condições experimentais utilizadas.

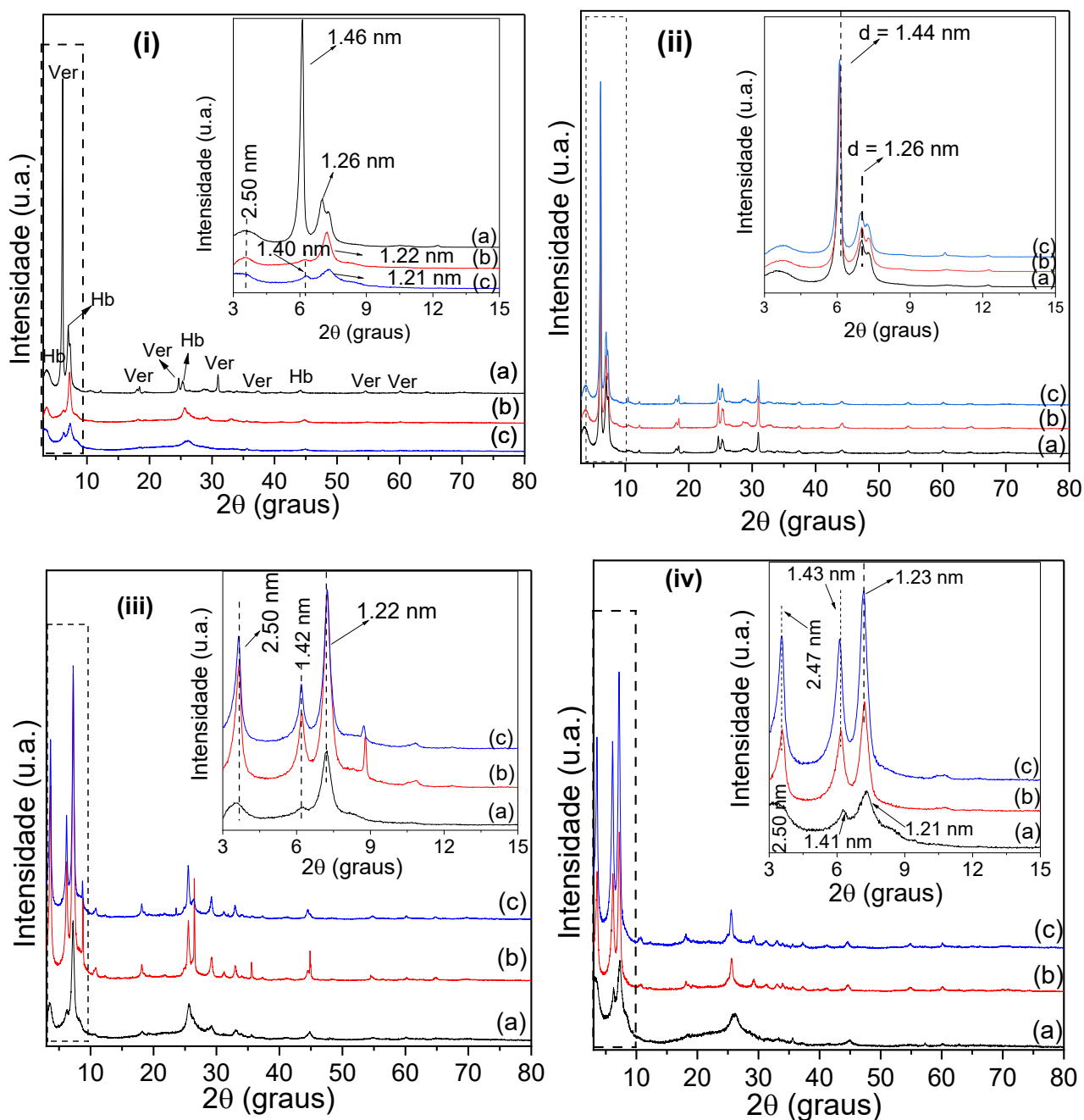


Figura 4.1 Difratoigramas de raios X antes (i): (a) Ver, (b) V1M e (c) V2M; e após interação com carvacrol (ii): (a) Ver, (b) Ver/0,5Carv, (c) Ver/1Carv; (iii): (a) V1M, (b) V1M/0,5Carv, (c) V1M/1Carv e (iv) V2M, (b) V2M/0,5Carv e (c) V2M/1Carv.

Para os híbridos com carvacrol, mesmo com o aumento da quantidade de óleo nos sistemas, não foram observadas alterações significativas no perfil do difratograma para todas as amostras, sugerindo a interação desta molécula na superfície das vermiculitas. Esses resultados estão de acordo com estudos com outros óleos essenciais na vermiculita, como óleo essencial de limão e orégano (KOTHALAWALA et al., 2021; LI et al., 2021).

As composições químicas das vermiculitas bruta e ativadas por ácido foram apresentadas na Tabela 4.1. Considerando os valores de K₂O (2,04%), o maior teor sugere que a vermiculita pode conter impurezas de mica (JUSTO et al., 1989). Este resultado concorda com estudos anteriores, que observaram que as vermiculitas da mina de Santa Luiza são formadas pela mudança de flogopita e biotita, ocorrendo principalmente em zonas de complexos máficos, ultramáficos e carbonatíticos (SANTOS et al., 2014; RITZ et al., 2013; VALÁŠKOVÁ et al., 2018). Dada a presença de outras fases, a fórmula química da vermiculita não foi proposta, tendo em vista que uma análise Rietveld junto com outras análises adicionais seriam necessárias.

Após a ativação, o teor de SiO₂ foi maior à medida que a concentração de ácido aumentou com concomitante diminuição dos teores dos óxidos de Al, Mg e Fe indicando a saída dos íons dos sítios tetraédricos (Al³⁺) e octaédricos (Al³⁺, Mg²⁺ e Fe³⁺). Este comportamento foi extensivamente estudado e uma descrição detalhada pode ser encontrada na literatura (SANTOS et al., 2014; RITZ et al., 2013; VALÁŠKOVÁ et al., 2018).

Tabela 4.1 Análise química e perda de fogo de vermiculita bruta e vermiculitas ativadas.

Sólido	SiO ₂ (%)	Al ₂ O ₃ (%)	Fe ₂ O ₃ (%)	TiO ₂ (%)	CaO(%)	MgO(%)	Na ₂ O(%)	K ₂ O (%)	PF** (%)
Verm	38,51	12,84	8,71	1,40	0,03	20,53	0,23	2,04	15,71
V1M	49,28	8,72	7,92	1,02	< LD*	11,14	0,07	2,07	19,8
V2M	55,74	5,54	6,22	1,18	< LD*	7,33	< LD*	1,07	22,9

*LD – limite de detecção, ** PF - Perda ao fogo

4.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros de FTIR das amostras antes e depois da incorporação de carvacrol são mostrados na Figura 4.2. Inicialmente para a amostra Ver, o espectro mostrou uma banda larga em 3450 e outra em 1650 cm⁻¹ associadas ao estiramento de OH do grupo silanol (Si-OH) e OH da água e deformação da água, respectivamente (RITZ et al., 2014; MADEJOVÁ et al., 2017). Outras absorções foram observadas em 1001, 679 e 454 cm⁻¹ e foram atribuídas

ao estiramento Si-O e às deformações Al-O-Si e Si-O-Si, respectivamente (SANTOS et al., 2015; PENTRÁK et al., 2018).

Nas amostras após tratamento ácido, foram observadas alterações nos espectros com o aumento da concentração de ácido, especialmente nas regiões 1080 – 670 cm^{-1} . Novas bandas em 1080 e 802 cm^{-1} relacionadas às vibrações de Si-O foram associadas à presença de sílica amorfa, resultante do ataque ácido à estrutura do argilomineral (SANTOS et al., 2015; WANG et al., 2016). A absorção em 968 cm^{-1} foi associada à presença de Si-OH (SANTOS et al., 2015; WANG et al., 2016).

Após a incorporação do carvacrol, foram observadas novas absorções para todas as amostras, indicando a presença de carvacrol nas superfícies. As bandas em 2964 e 2870 cm^{-1} foram atribuídas ao estiramento antissimétrico e simétrico do CH (LIN-VIEN et al., 1991; OLIVEIRA et al., 2023). As bandas em 1588, 1504, 1460 e 1420 cm^{-1} foram atribuídas ao estiramento C=C no anel aromático (LIN-VIEN et al., 1991; BERTUOLA et al., 2020). As bandas em 1354, 1298 e 1253 cm^{-1} foram atribuídas às deformações de metileno e C-O-H, respectivamente (KEAWCHAOON e YOKSAN, 2011; ALTAN et al., 2018). A banda em 1173 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento C-O (SOKOLIK e LELLOUCHE, 2018; FONSECA et al., 2019). A banda em 812 cm^{-1} foi associada à deformação CH fora do plano no anel aromático (LIN-VIEN et al., 1991; BERTUOLA et al., 2020). Além disso, alterações nas posições de algumas bandas da estrutura inorgânica dos sólidos após a incorporação do carvacrol. Por exemplo, a banda relacionada ao OH inicialmente presente em 3450 cm^{-1} , foi deslocada para baixas frequências (3411-3403 cm^{-1}) em todas as amostras carregadas de carvacrol, indicando a possível interação entre o OH do argilomineral e grupos orgânicos na molécula de carvacrol. Resultados semelhantes também foram observados para a interação entre óleo essencial de nerolidol e argila bentonita (OLIVEIRA et al., 2023).

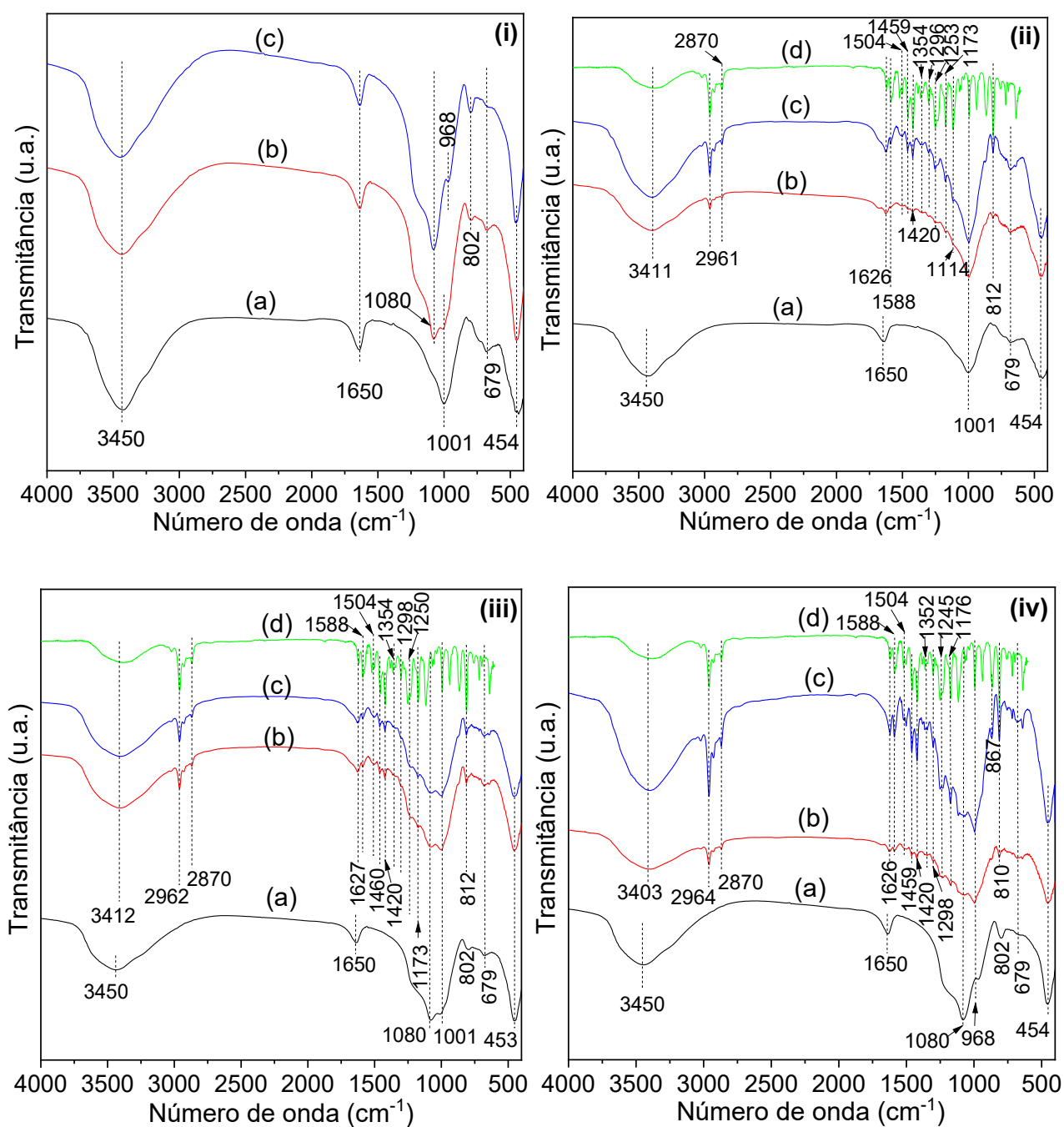


Figura 4.2 Espectros de FTIR para as amostras de vermiculita antes (i): (a) Ver, (b) V1 e (c) V2; e depois da interação (ii): (a) Verm, (b) Ver/0,5Carv, (c) Ver/1Carv e (d) carvacrol; (iii) (a) V1M, (b) V1M/0,5Carv, (c) V1M/1Carv e (d) carvacrol, e (iv) V2M, (b) V2M/0,5Carv, (c) V2M/1Carv e (d) carvacrol.

4.3 Medidas de potencial Zeta

Os resultados das medidas de potencial Zeta são mostrados na Figura 4.3. Para a amostra Verm, as medidas de potencial zeta sugerem uma superfície característica da

vermiculita com uma carga negativa em quase toda faixa de pH, e com um ponto de carga zero (pH_{PCZ}) de 3.18, como sugere estudos anteriores (TRAN et al., 2015; AHMED et al., 2020).

Para amostras ativadas com ácido nítrico, a superfície permaneceu carregada negativamente em ampla faixa de pH e positivamente acima de $pH < 2,15$, especialmente para a amostra V2M. Comportamento semelhante foi observado para todas as amostras carregadas de óleo sugerindo que interações eletrostáticas entre o óleo e a superfície não são dominantes no presente caso.

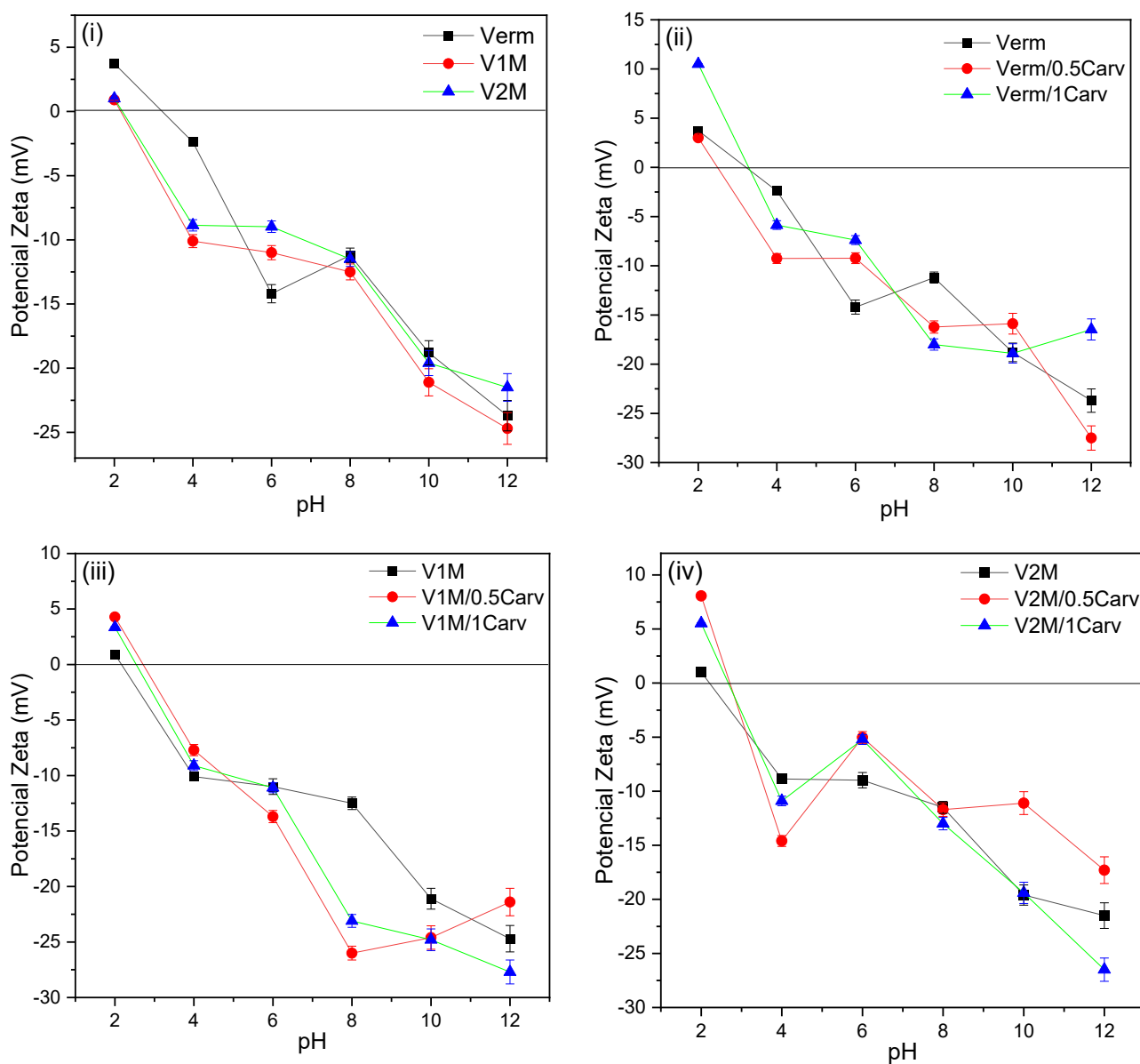


Figura 4.3 Resultados de medidas de potencial Zeta (i) amostras sem carvacrol, amostras antes e após interação com o carvacrol (ii) Verm, (iii) V1M e (iv) V2M.

4.3 Termogravimetria (TG)

A análise termogravimétrica das amostras antes e após a ativação ácida e incorporação do óleo são observados na Figura 4.4 e resumida na Tabela 4.2. Para a amostra Verm, foram observados três eventos de perda de massa, sendo o primeiro e o segundo evento, por volta de 25 – 132 °C e 132 – 230 °C, respectivamente, associados à saída de água fissisórvida e da região interlamelar, respectivamente (BALIMA et al., 2015; SU et al., 2016). Já o terceiro evento, por volta de 500 – 1000 °C está relacionado tanto à desidroxilação da argila (BALIMA et al., 2015; SU et al., 2016). Para as amostras ativadas com ácido, foi observado um perfil semelhante, com dois eventos de perda de massa. O primeiro evento em torno de 25 – 230 °C foi atribuído a saída de água, com teores 13,5 e 13,2% para V1M e V2M respectivamente, indicando a elevada hidratação das argilas ativadas (PEREZ-MAQUEDA et al., 2012). Já o segundo evento, em torno de 230 – 1000 °C foi associado à desidroxilação (PEREZ-MAQUEDA et al., 2012; HASHEM et al., 2015).

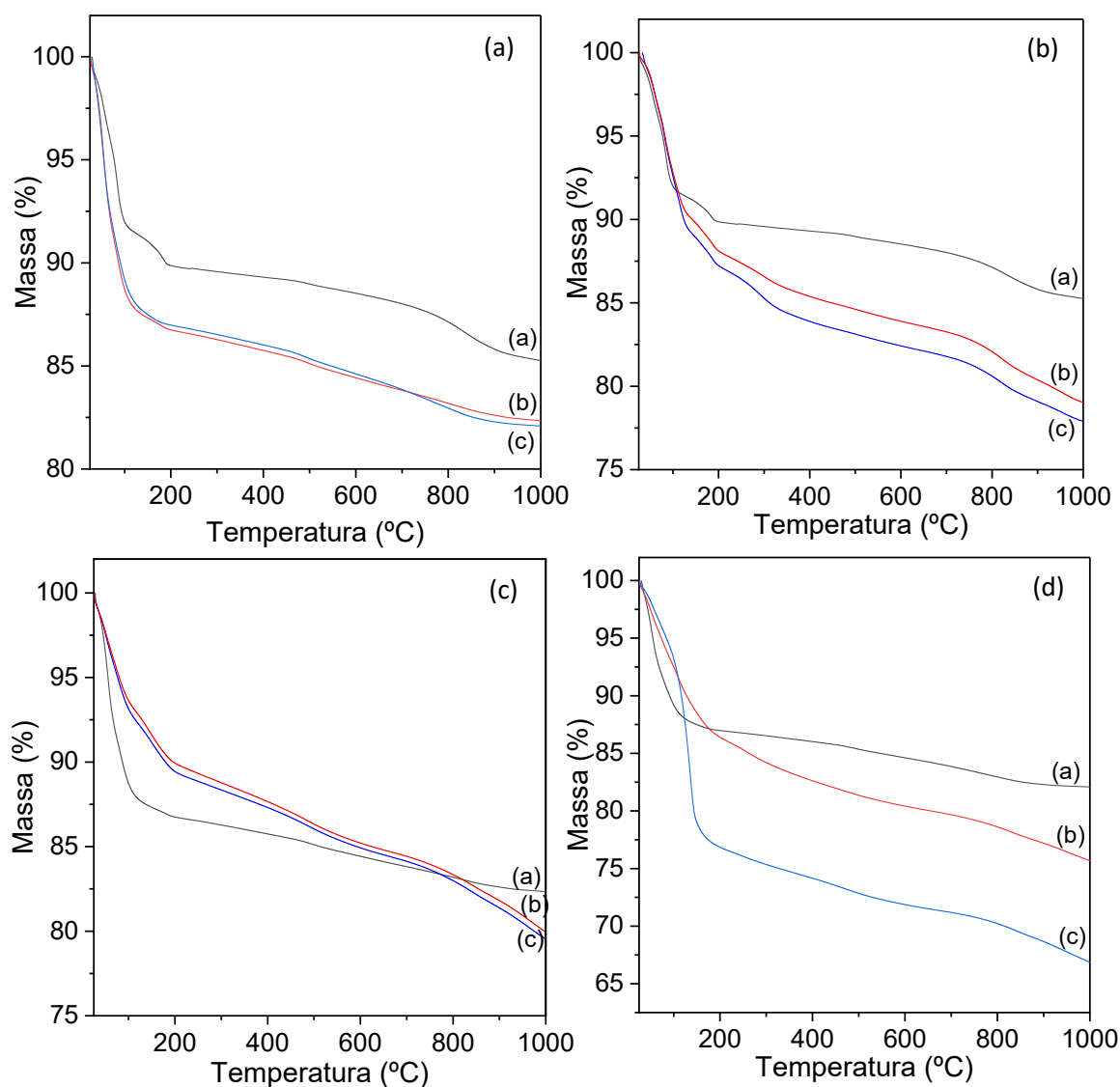


Figura 4.4 Curvas TG de (a): (a) Verm, (b) V1M e (c) V2M; (b): (a) Verm, (b) Verm/0,5Carv, (c) Verm/1Carv; (c): (a) V1M, (b) V1M/0,5Carv, (c) V1M/1Carv e (d): V2M, (b) V2M/0,5Carv e (c) V2M/1Carv.

Tabela 4.2 Resumo das perdas de massa e intervalos de temperatura para eventos na decomposição térmica para as vermiculitas e híbridos vermiculitas/carvacrol.

Amostras	Eventos	T (°C)	Perda de massa (%)
Verm	I	25 - 132	8,7
	II	132 - 230	1,6
	III	500 - 1000	4,0
Verm/0.5Carv	I	28 – 142	10,1
	II	142 - 230	2,2
	III	230 – 380	2,1
	IV	500 - 1000	4,5
Verm/1Carv	I	27 – 146	11,2
	II	146 – 225	2,0
	III	225 – 380	2,7
	IV	500 – 1000	4,6
V1M	I	25- 230	13,5
	II	230 - 1000	4,2
V1M/0.5Carv	I	30 – 200	10,2
	II	200 – 300	1,3
	III	300 – 1000	8,5
V1M/1Carv	I	30 – 205	10,9
	II	205 – 302	1,2
	III	302 – 1000	8,6
V2M	I	26 – 230	13,2
	II	230 – 1000	4,7
V2M/0.5Carv	I	30 – 215	14,1
	II	215 – 300	1,7
	III	300 - 1000	8,3
V2M/1Carv.	I	35 – 230	23,6
	II	216 – 300	1,9
	III	300 - 1000	8,0

Após a incorporação do carvacrol, mudanças no perfil da TG foram observadas para todos os híbridos formados, principalmente em relação ao teor de perda de massa do primeiro evento observado. Por exemplo, para os híbridos Verm/Carv, Figura 4.4 (b), o primeiro evento de perda de massa foi entre 27 – 142 °C, com teores de 10,1 e 11,2% para Verm/0.5Carv e Verm/1Carv respectivamente, superior o teor em massa da amostra Verm. Tal fato pode estar associado, tanto a desidratação do material quanto a saída do óleo essencial volátil (TENCI et al., 2017; ESSIFI et al., 2022). Além disso, há dois eventos por volta de 142 – 230 e 230 – 280 °C, com teores de 2,2; 2,0; 2,1 e 2,7% para Verm/0.5Carv e Verm/1Carv respectivamente, associados à residual saída do óleo e desidroxilação do material (PEREZ-MAQUEDA et al., 2012; ESSIFI et al., 2022).

Para os híbridos V1M/Carv e V2M/Carv, um perfil similar foi observado, apresentando três eventos de perda de massa, com o primeiro por volta de 30 – 200 °C atribuídos à desidratação do material e saída do carvacrol, cujos teores foram de 10,2; 10,9; 14,1 e 23,6% para os híbridos V1M/0.5Carv, V1M/1Carv, V2M/0.5Carv e V2M/1Carv, respectivamente. O segundo e terceiro evento em torno de 200 – 300 e 300 – 1000 °C foram atribuídos à saída residual do óleo e desidroxilação dos sólidos.

4.5 Análise elementar de CHN

A quantidade de carvacrol em todos os sistemas foi quantificada por análise elementar de CHN, e os resultados são apresentados na Tabela 4.3. Os dados indicaram que a quantidade de carbono aumentou com o aumento do óleo utilizado nas preparações. Maiores teores de carbono foram observados para Ver/1Carv, V1M/1Carv e V2M/1Carv com 1,00, 6,02 e 8,15%, e corresponderam a 0,83, 5,01 e 6,79 mmol de carbono por grama de amostra de argila, respectivamente. Os dados sugerem que a ativação ácida melhorou a interação/incorporação do carvacrol nas amostras. Além disso, considerando que cada molécula de óleo contém 10 átomos de carbono, as quantidades máximas de carvacrol incorporadas foram 0,08, 0,51 e 0,67 mmol de carvacrol por grama de sólido, indicando boa interação do carvacrol com a vermiculita, especialmente as amostras ativadas. Estudos mostraram que a ativação ácida modificou a superfície do argilomineral, ou seja, induzindo a formação de grupos silanóis, o que melhora a reatividade das matrizes ativadas utilizando ácidos minerais ou orgânicos (STAWIŃSKI et al., 2016; SILVA et al., 2018).

Tabela 4.3 Análise elementar de carbono (C), hidrogênio (H), nitrogênio (N) expressa em porcentagens e mmol g⁻¹ e quantidade de grupos orgânicos (q) em sólidos com carvacrol.

Amostra	C	H	N	C	q
	%			mmol g ⁻¹	
Ver/carv0,5	0,71	1,40	--	0,60	0,06
Ver/carv1	1,00	1,62	--	0,83	0,08
V1M/carv0,5	5,12	1,88	--	4,26	0,42
V1M/carv1	6,02	2,02	--	5,01	0,51
V2M/carv0,5	6,14	2,26	--	5,12	0,51
V2M/carv1	8,15	2,09	--	6,79	0,67

4.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As imagens de MEV das amostras iniciais, após a ativação ácida e incorporação de carvacrol, são mostradas na Figura 4.5. Para a amostra bruta, figura 4.5 (i), as imagens de MEV mostraram um perfil típico do argilomineral como placas (WANG et al., 2016; WĘGRZYN et al., 2018). Após a ativação ácida da amostra Ver, Figura 4.5 (iii) e (v), a morfologia foi mantida com formação de blocos irregulares, com bordas desorganizadas. O mesmo comportamento foi relatado anteriormente (SANTOS et al., 2015; WANG et al., 2016; STAWIŃSKI et al., 2018; WĘGRZYN et al., 2018). Após a incorporação do carvacrol, Figura 4.5 (ii), (iv) e (vi), respectivamente, as amostras apresentaram o mesmo formato de placa, porém foi observada maior dispersão das partículas.

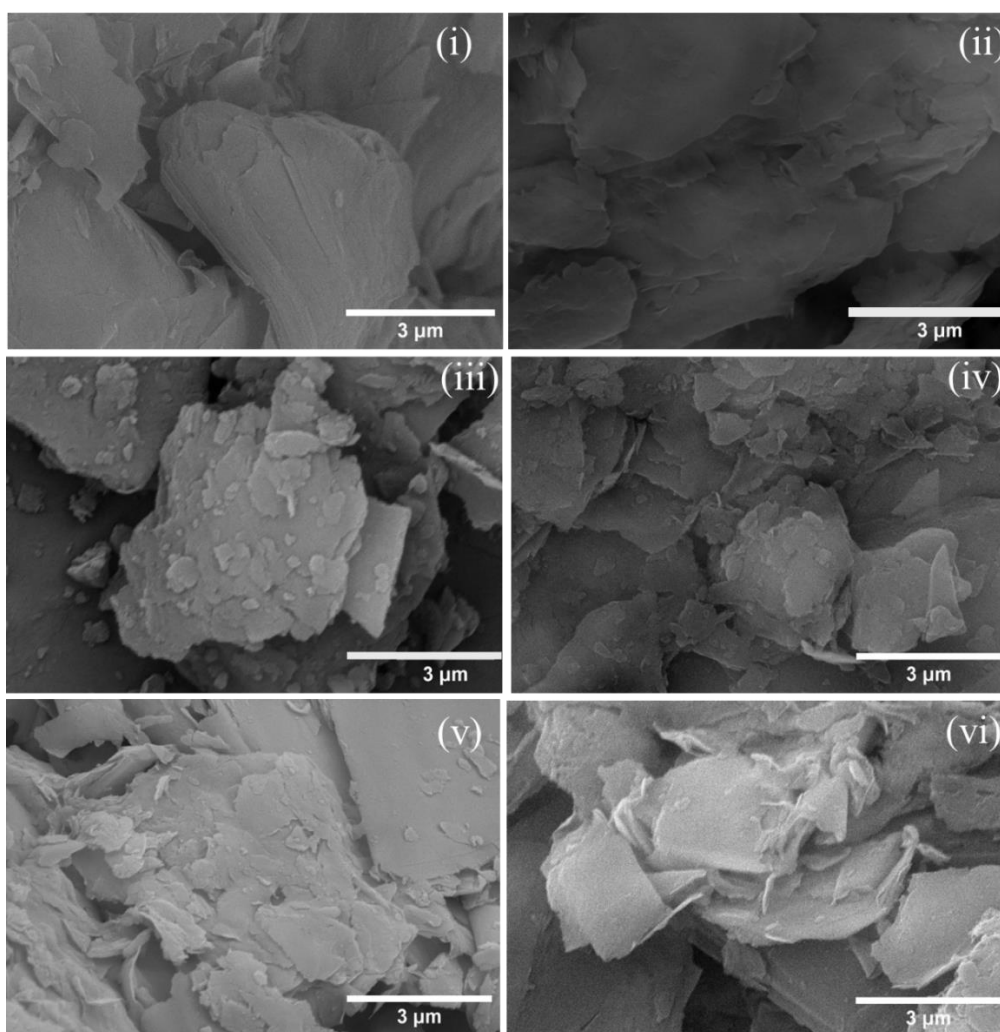


Figura 4.5 Imagens de MEV para (i) Verm, (ii) Verm/1Carv, (iii) V1M, (iv) V1M/1Carv, (v) V2M e (vi) V2m/1Carv.

4.7 Espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

Os espectros de EDS das amostras antes e após a ativação com ácido são mostradas na Figura 4.6. Nos espectros de EDS da amostra Verm, foi observado a presença de Si, O, Mg, Al, Fe, K, e traços de Ti, os quais são elementos típicos presentes na estrutura da vermiculita (LONG et al., 2014; HASHEM et al., 2015; SANTOS et al., 2015). No entanto, para as amostras ativadas, mudanças nos teores desses elementos foram observadas. Por exemplo, se detectou uma diminuição dos teores dos elementos Mg, Al, Fe, K e ausência de Ti, acompanhado de um aumento de Si, com o aumento da concentração do ácido na ativação. Esse fato está em acordo com estudos anteriores, que indicam que a ativação ácida remove certos elementos, alterando assim a estrutura da argila (CHMIELARZ et al., 2010; PEREZ-MAQUEDA et al., 2012; SANTOS et al., 2015; KOMADEL, 2016).

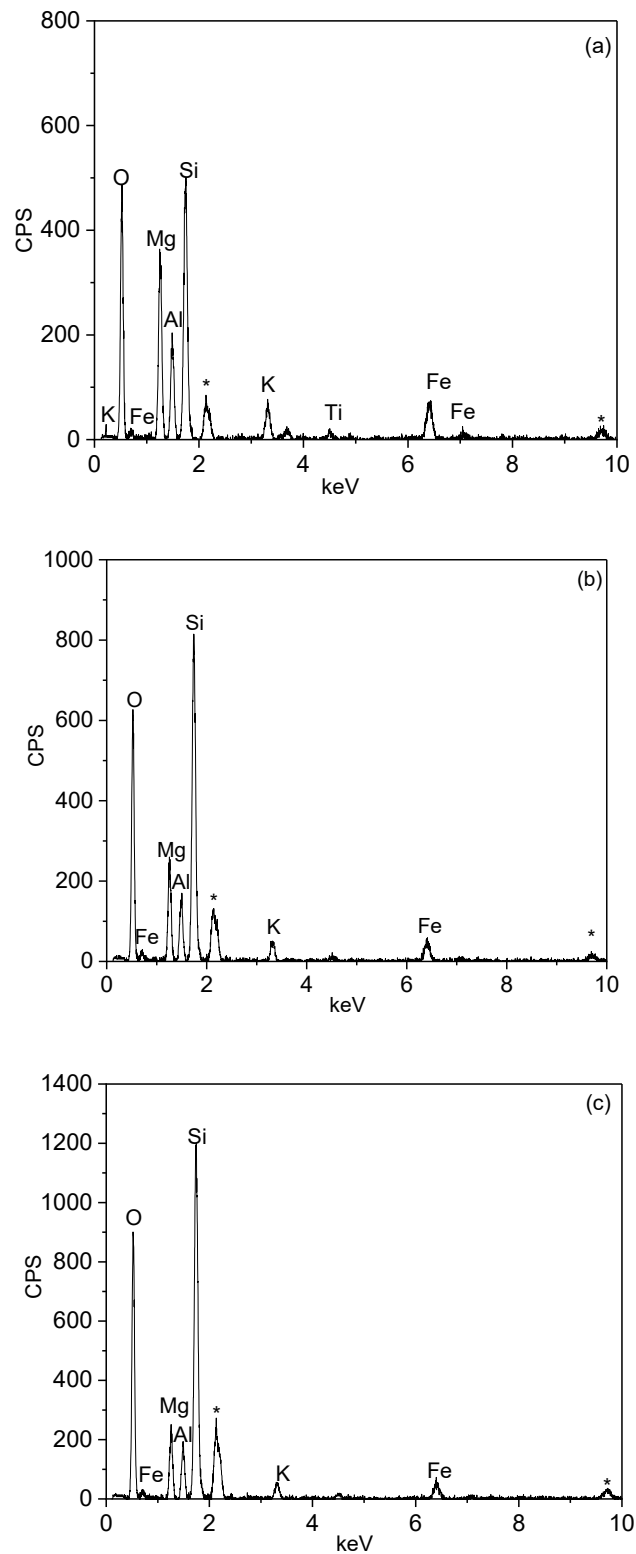


Figura 4.6 Espectros EDS para (a) Verm, (b) V1M e (c) V2M.

Tomando por base a espessura da camada 2:1 da argila que é de ~ 0.92 nm (SU et al., 2016), o tamanho do carvacrol (0.83 nm e 0.45 nm, que foi estimado pelo software Spartan

14 Wavefunction, Inc. Irvine, CA, USA) e dados de DRX, sem mudanças nos valores da distância interlamelar, indica que o óleo, preferencialmente interagiu na superfície da argila conforme ilustrado na Figura 4.7.

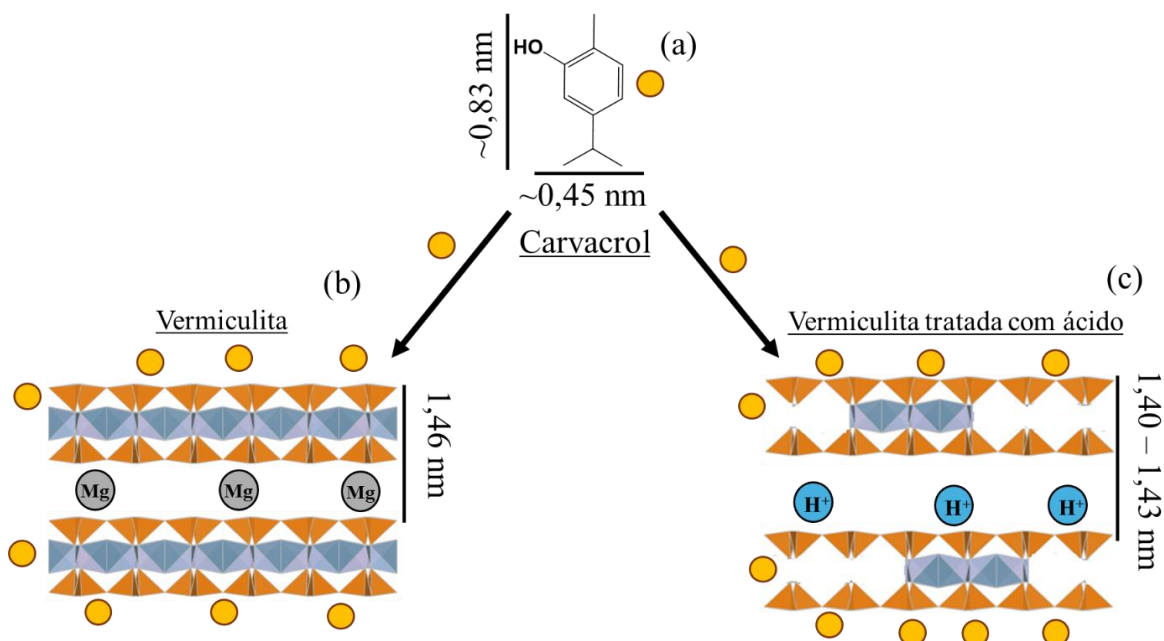


Figura 4.7 (a) Estrutura planar da molécula de carvacrol e proposição do carvacrol nas amostras (b) bruta e (c) ativadas por ácido. Os íons dos sítios tetraédricos e octaédricos não estão destacados, assim como a presença de defeitos nos sítios tetraédricos não foi avaliada com base nos resultados obtidos.

4.8 Resultados de liberação do óleo essencial

Os resultados da liberação cumulativa de carvacrol das amostras de óleo, carregadas com solução tampão PBS em pH 7,4 em 12, 24, 48 e 72 h estão presentes na Figura 4.8. Para todos os sistemas, foi observado um perfil de liberação semelhante e uma taxa de liberação constante em todos os intervalos. (12 – 72 h). Nas amostras derivadas da Verm, as liberações foram de 0,5 e 0,9 mg de óleo por grama de sólido de Ver/carv0,5 e Ver/carv1, correspondendo a 5,5 e 7,5%, respectivamente, após 12 h. Para as amostras V1M/Carv e V2M/Carv, a maior liberação em 12 h foi de 2,50; 5,43; 4,03 e 8,18 mg g^{-1} , correspondendo a 4,0; 7,0; 5,2 e 8,1% respectivamente. Os resultados são semelhantes a outros estudos de argilominerais com óleos essenciais como carvacrol, cinamaldeído, dialil dissulfeto, eugenol e timol com montmorillonita (BERNARDOS et al., 2019), óleo de laranja e óleo de tomilho com halloysita e montmorillonita (SAUCEDO-ZUÑIGA et al., 2021) e óleo essencial de

nerolidol com argila bentonita (OLIVEIRA et al., 2023). Após um período de 72 h, esses valores permaneceram praticamente inalterados para todos os sistemas, indicando uma liberação lenta do carvacrol.

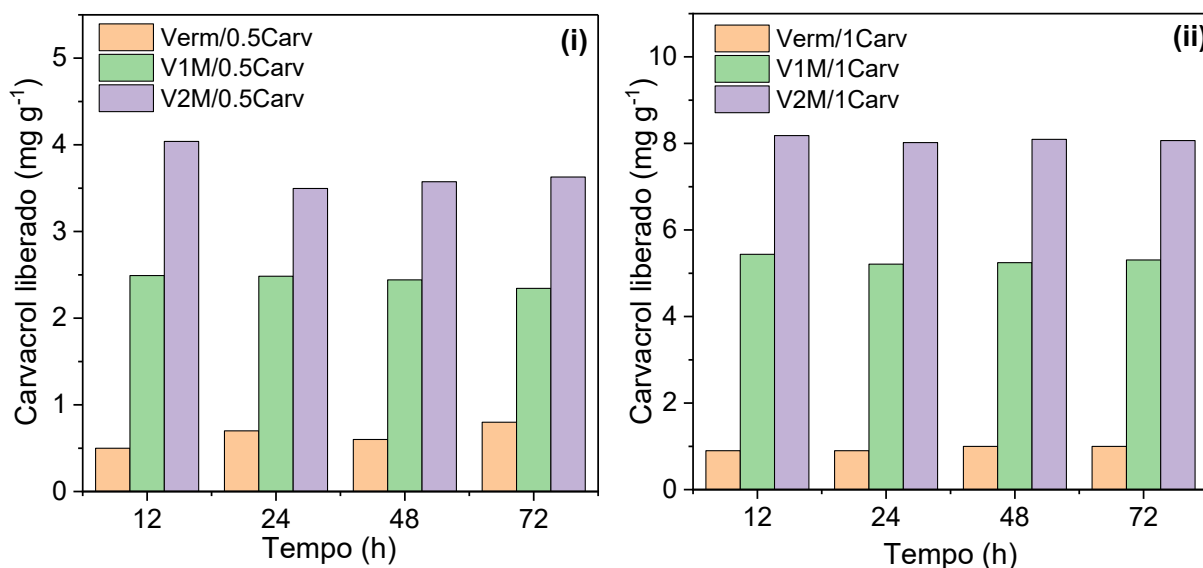


Figura 4.8 Perfis de liberação de carvacrol em meio PBS em pH 7,4 e 37 °C dos sistemas carregados a partir de (i) 0,5 mL e (ii) 1 mL do carvacrol.

4.9 Atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana dos híbridos formados contra *S. aureus* e *E. coli* foi avaliada pelo método de difusão em ágar durante intervalo de 24 h. As imagens do diâmetro de inibição e um resumo do teste são mostrados na Figura 4.9 e na Tabela 4.4, respectivamente. Inicialmente, para as amostras Verm, V1M e V2M não apresentaram perfil ativo em suas zonas de inibição para ambas a bactérias. Resultados similares foram observados em outros estudos como para cobre vermiculita (DRELICH et al., 2011), bentonita modificada com clorexidrina (OLIVEIRA et al., 2023) e fibras de halloisita contendo ácido lático (CARVALHO e COIMBRA, 2023).

Os híbridos contendo carvacrol mostraram um perfil ativo em suas zonas de inibição, principalmente para os híbridos com maiores quantidades do óleo, apresentando valores de diâmetro de inibição superiores ao controle positivo conforme os resultados apresentados na Figura 4.9 e na Tabela 4.4. Por exemplo, os valores de diâmetro de inibição para as amostras Verm/1Carv, V1M/1Carv e V2M/1Carv foram de 13, 27 e 32 mm, contra a *S. aureus* e 12,

25 e 28 mm, contra a *E. coli*, indicando que a cepa Gram positiva foi mais sensível a esses híbridos. Resultados similares foram observados na incorporação de carvacrol em terra diatomita que obtiveram diâmetros de inibição de 28 e 24 mm contra *S. aureus* e *E. coli*, respectivamente (WU et al., 2023).

Tabela 4.4 Valores do diâmetro da zona de inibição para controle positivo (tetraciclina), Verm, V1M, V2M e seus híbridos com carvacrol após 24 horas.

Diâmetro da zona de inibição (mm)		
Amostras	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Controle (+)	16 ±1	17 ±1
Verm	--	--
Verm/0.5Carv	10±1	9±0.5
Verm/1Carv	13±0,5	12±1
V1M	--	--
V1M/0.5Carv	15±2	14±1.5
V1M/1Carv	27±1	25±1,5
V2M	--	--
V2M/0.5Carv	21±1,5	22±2
V2M/1Carv	32±1	28±2

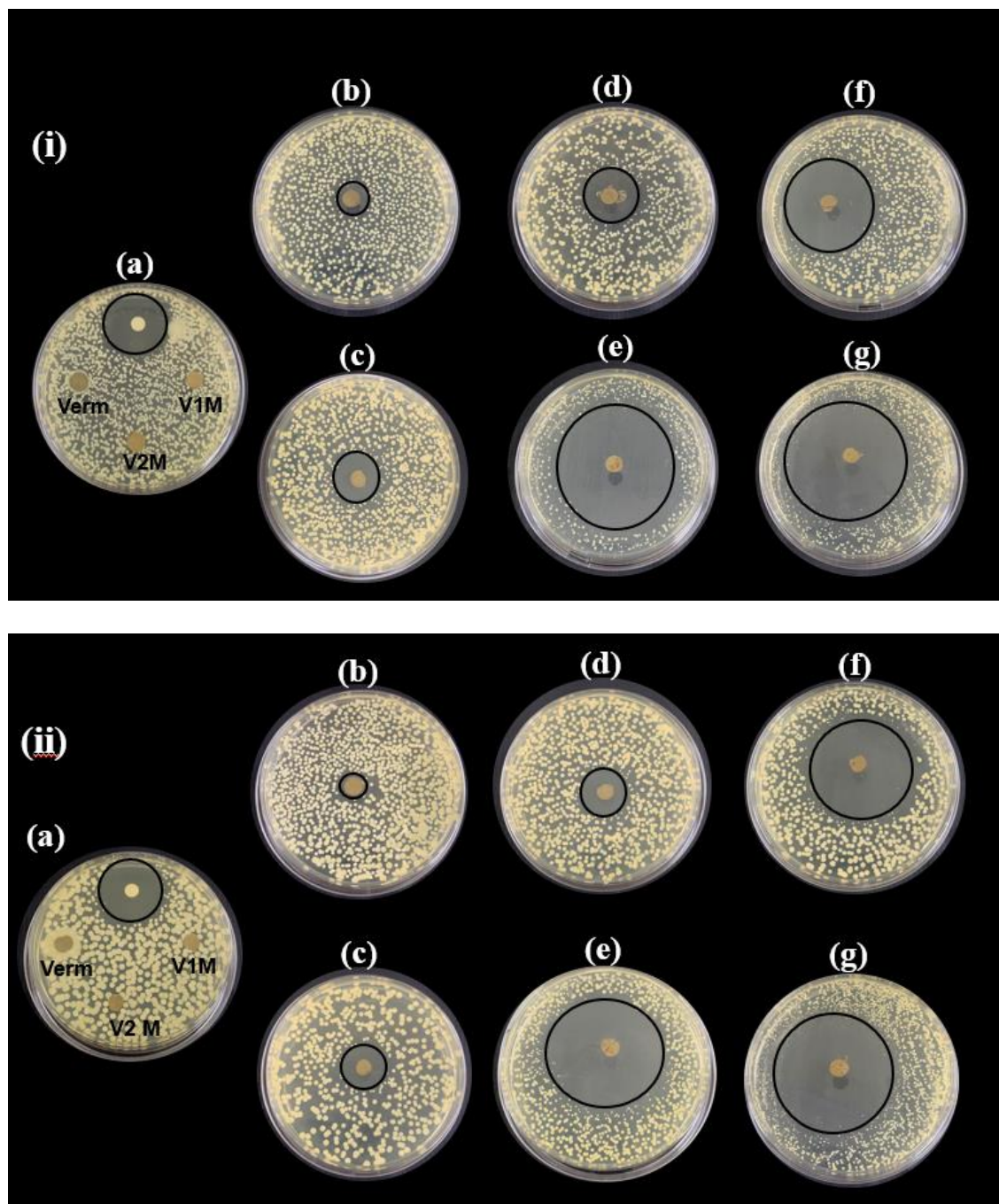


Figura 4.9 Diâmetro das zonas de inibição de crescimento para (a) controle positivo (tetraciclina), Verm, V1M e V2M, (b) Verm/0,5Carv, (c) Verm/1Carv, (d) V1M/0,5Carv, (e) V1M/1Carv, (f) V2M/0,5Carv e (g) V2M/1Carv contra as bactérias (i) *S. aureus* e (ii) *E. coli* após 24 h.

4.10 Espectros de FTIR após a liberação do carvacrol

Os espectros de FTIR dos híbridos após a liberação do carvacrol são mostrados na Figura 4.10, indicando um perfil similar para todos os sólidos. No entanto, foi observado

uma diminuição ou até mesmo o total desaparecimento das bandas relacionadas ao carvacrol, indicando a perda da molécula pelos sólidos. De fato, se esperava uma redução na intensidade das bandas tomando por base que parte do carvacrol ainda permanece presente na superfície. Esse fato pode ter relação com sucessivas lavagens dos sólidos, as condições de secagem e de armazenamento dos materiais antes da análise. Neste sentido uma alternativa para melhor entendimento dos sistemas seria a realização de análise CHN dos vários sólidos após o ensaio de liberação.

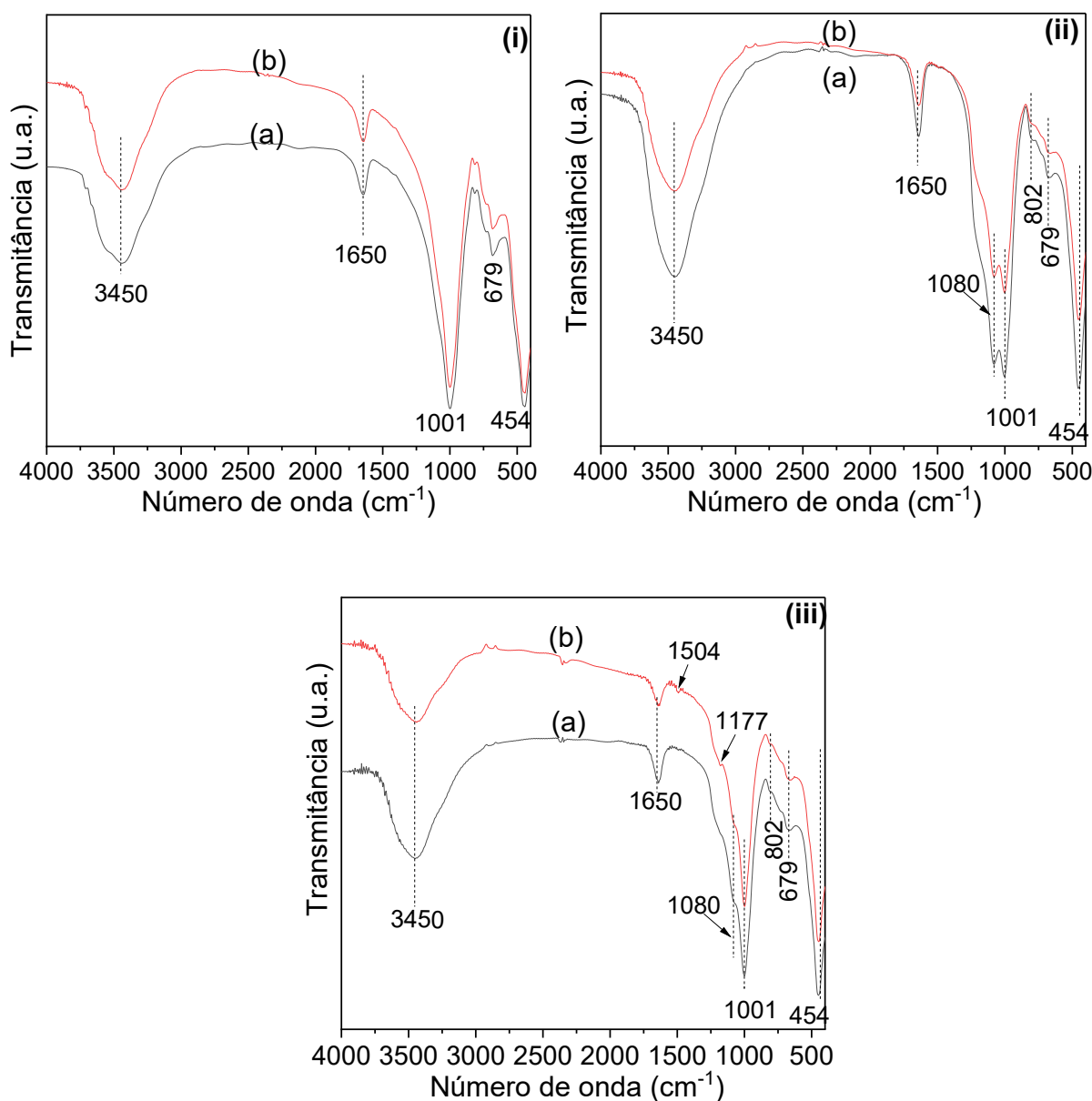


Figura 4.10 Espectros de FTIR após liberação de carvacrol para (i): (a) Verm/0.5Carv e (b) Verm/1Carv; (ii): (a) V1M/0.5Carv e (b) V1M/1Carv; e (iii): (a) V2M/0.5Carv e (b) V2M/1Carv.

Capítulo 5 –

Conclusões e perspectivas

5.0 CONCLUSÕES

Nesse estudo, a incorporação de carvacrol em vermiculita sem e com ativação em presença do ácido nítrico foi investigada e os materiais avaliados por técnicas de caracterização de longo e curto alcance. A interação do carvacrol ocorreu preferencialmente na superfície de ambas as argilas, bruta e ativadas com ácido, conforme os resultados de difratometria de Raios X e espectroscopia na região do IV. No entanto, maiores quantidades do composto de bioativo foram incorporadas nas vermiculitas ativadas com ácido em acordo com as medidas de análise elementar de CHN e TG. O perfil de liberação dos materiais foi similar, apresentando lenta liberação do composto bioativo. A atividade antibacteriana dos híbridos apresentou perfil ativo em suas zonas de inibição contra ambas as cepas testadas, com valores de diâmetro de inibição superior ao controle positivo, para os híbridos com maiores quantidades do óleo. Esses resultados indicam que a vermiculita bruta e ativada com ácido podem ser usadas como efetivo carreador de carvacrol, permitindo a manutenção da ação antibacteriana do carvacrol.

5.1 Perspectivas

Como sugestões para futuras investigações sugere-se:

- Aplicar outros óleos essenciais para interagir com as matrizes,
- Avaliar a atividade antioxidante dos diversos sistemas obtidos e
- Avaliar a atividade antifúngica dos sistemas desse estudo.

Capítulo 6 – Referências

REFERÊNCIAS

AHMED, Z., WU, P., JIANG L., LIU, J., SIM, Q., YANG, Q., ZHU, N. Enhanced simultaneous adsorption of Cd(II) and Pb(II) on octylamine functionalized vermiculite. *Colloids Surf., A*, 604, 125285, **2020**.

AIT-OUAZZOU, A., ESPINA, L., GELAW, TK., de LAMO-CASTELLVÍ, S., PAGÁN, R., GARCÍA-GONZALO, D. New insights in mechanisms of bacterial inactivation by carvacrol. *J. Appl. Microb.*, 114, 173–185, **2013**.

ALTAN, A., AYTAC, Z., UYAR, T. Carvacrol loaded electrospun fibrous films from zein and poly(lactic acid) for active food packaging. *Food Hydrocolloids*, 81, 48–59, **2018**.

APARNA, M. D., YADAV, S. Biofilms: microbes and disease. *Braz. J. Infect. Dis.*, 12, 526-530, **2008**.

ARAÚJO, L. V., FREIRE, D. M. G., NITSCHKE, M. Biossurfactantes: propriedades anticorrosivas, antibiofilmes e antimicrobianas. *Quim. Nova*, 36, 848-858, **2013**.

ARFA, A. B., COMBES, S., PREZIOSI-BELLOY, L., GONTARD, N., CHALIER, P. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. *Lett. Appl. Microbiol.*, 43, 149–154, **2006**.

BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem. Toxic.*, 46, 446–475, **2008**.

BALIMA, F., NGUYEN, A., REINERT, L., LE FLOCH, S., PISCHEDDA, V., DUCLAUX, L., SAN-MIGUEL, A. Effect of the temperature on the structural and textural properties of a compressed K-vermiculite. *Chem Eng Sci*, 134, 555–562, **2015**.

BARABASZOVÁ, C.K., HOLEŠOVÁ, S., ŠULCOVÁ K., HUNDÁKOVÁ, M., THOMASOVÁ, B. Effects of ultrasound on zinc oxide/vermiculite/chlorhexidine nanocomposite preparation and their antibacterial activity. *Nanomater.*, 9, 1309, **2019**.

BASER, K.H.C. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Current Pharm. Des.*, 14, 3106–3119, **2008**.

BEYER, J., VON R. H. G. An extended revision of the interlayer structures of one- and two-layer hydrates of Na- vermiculite. *Clay Miner.*, 37, 157-168, 2002.

BENCHAAAR, C. Feeding oregano oil and its main component carvacrol does not affect ruminal fermentation, nutrient utilization, methane emissions, milk production, or milk fatty acid composition of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 103, 1516–1527, **2020**.

BERGAYA, F., THENG, B.K.G., LAGALY, G. (Eds.), *Colloid Clay Science*. in: Bergaya, F., Lagaly, G. (Eds.). *Handbook of Clay Science*, Elsevier, 243–345, **2013**.

BERTUOLA, M., FAGALI, N., FERNANDEZ LORENZO DE MELE, M. Detection of carvacrol in essential oils by electrochemical polymerization. *Heliyon*, 6, e03714, **2020**.

BERNARDOS, A., BOZIK, M., ÁLVAREZ, S., SASKOVA, M., PÉREZ-ESTEVE, E., KLOUCEK, P., LHOTKA, M., FRANKOVA, A., MARTÍNEZ-MANEZ, R. The efficacy of essential oil components loaded into montmorillonite against *Aspergillus niger* and *Staphylococcus aureus*. *Flavour Fragrance J.*, 34, 151–162, **2019**.

BEYER, J., REICHENBACH, H. G. An extended revision of the interlayer structures of one- and two-layer hydrates of Na-vermiculite. *Clay Miner.*, 37, 157-168, **2002**.

BRIGATTI, M. F., GALÁN, E., THENG, B. K. G. Structure and Mineralogy of Clay Minerals in: Bergaya, F., Lagaly, G. (Eds.). *Handbook of Clay Science*, Elsevier, 21-81, **2013**.

CARRADO, K. A., KOMADEL, P. Acid activation of bentonites and polymer-clay nanocomposites. *Elements*, 5, 2, 111-116, **2009**.

CARVALHO, G., COIMBRA, P. Electrospun composite fibers of poly(lactic acid) and halloysite for the sustained co-delivery of drugs with opposite water affinities, *Appl. Clay Sci.*, 245, 107155, **2023**.

CHMIELARZ, L., KOWALCZYK, A., MICHALIK, M., DUDEK, B., PIWOWARSKA, Z., ADAM MATUSIEWICZ, A. Acid-activated vermiculites and phlogophites as catalysts for the DeNO_x process. *Appl. Clay Sci.*, 49, 156–162, **2010**.

DA SILVA, A. R. P., COSTA, M. S., ARAUJO, N. J. S., FREITAS, T. S., DOS SANTOS, A. T. L., GONÇALVES, S. A., DA SILVA, V. B., ANDRADE-PINHEIRO, J. C., TAHIM, C.

M., LUCETTI, E. C. P., COUTINHO, H. D. M. Antibacterial activity and antibiotic-modifying action of carvacrol against multidrug-resistant bacteria. *Adv. Sample Prep.*, 7, 100072, **2023**.

DEMONTIS, P., MASIA, M., SUFFRITI, G. B. Peculiar structure of water in slightly superhydrated vermiculite clay studies by Car-Parrinello molecular dynamics simulations. *J. Phys. Chem. C*, 118, 7923-7931, **2014**.

DEMONTIS, P., MASIA, M., SUFFRITI, G. B. Water Nanoconfined in Clays: The Structure of Na Vermiculite Revisited by Ab Initio Simulations. *J. Phys. Chem. C*, 117, 15583-15592, **2013**.

HONGBO-DONG, YOU, Y., WANG, N., WANG, M., SONG, T., HE, Y., ZOU, Y., YUJIAO HE, Y., PENG, T., MEI, L. Development of amphipathic derivatives of thymol and carvacrol as potent broad-spectrum antibacterial agents. *Eur. J. Med. Chem.*, 276, 116716, **2024**.

DRELICH, J., DRELICH, J., LI, B., BOWEN, P., HWANG, J., MILLS, O., HOFFMAN, D. Vermiculite decorated with copper nanoparticles: novel antibacterial hybrid material. *Appl. Surf. Sci.*, 257, 9435–9443, **2011**.

ESSIFI, K., ESSIFI, K., HAMMANI, A., BERRAAOUAN, D., EL BACHIRI A., FAUCONNIER, M., TAHANI, A. Montmorillonite nanoclay based formulation for controlled and selective release of volatile essential oil compounds. *Mater. Chem. Phys.*, 277, 125569, **2022**.

FERRAGE, E., LANSON, B., MICHOT, L. J., ROBERT, J. Hydration properties and interlayer organization of water and ions in synthetic Na-smectite with tetrahedral layer charge. Part 1. Results from X-ray diffraction profile modeling. *J. Phys. Chem. C*, 114, 4515–4526, **2010**.

FIGUEIREDO, C. A., BARROSO, J. G., PEDRO, L. G., SCHEFFER, J. J. C. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour Fragrance J.*, 23, 213–226, **2008**.

FONSECA, L. M., CRUXEN, C. E. S., BRUNI, G. P., FIORENTINI, Â. M., ZAVAREZE, E. R., LIM L., DIAS, Á. R. G. Development of antimicrobial and antioxidant electrospun soluble

potato starch nanofibers loaded with carvacrol. *Int. J. Biol. Macromol.*, 139, 1182–1190, **2019**.

FRANCO, M. A.; LISO, A. A.; SERRANO, V. G. An identification study of vermiculites and micas adsorption of metal ions in aqueous solution. *Fuel Process. Technol.*, 92, 200-205, **2011**.

FRIEDMAN, M. Chemistry and multibeneficial bioactivities of carvacrol (4-isopropyl-2-methylphenol), a component of essential oils produced by aromatic plants and spices. *J. Agric. Food Chem.*, 62, 7652–7670, **2014**.

GAJDZIOK, J., HOLEŠOVÁ S., ŠTEMBÍREK J., PAZDZIORA E., LANDOVÁ H., DOLEŽEL, P., VETCHÝ, D. Carmellose mucoadhesive oral films containing vermiculite/chlorhexidine nanocomposites as innovative biomaterials for treatment of oral infections. *Biomed. Res. Int.*, 580146, **2015**.

GERSHENZON, J., DUDAREVA, N. The function of terpene natural products in the natural world. *Nat. Chem. Biol.*, 3, 7, 408-414, **2007**.

GRIFFIN, S. G., WYLLIE, S. G., MARKHAM, J. L., LEACH, D. N. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour Fragrance J*, 14, 5, 322-332, **1999**.

HASHEM, F. S.; AMIN, M. S.; EL-GAMAL, S. M. A. Chemical activation of vermiculite to produce highly efficient material for Pb²⁺ and Cd²⁺ removal. *Appl. Clay Sci.*, 115, 189–200, **2015**.

HELANDER, I. M., ALAKOMI H-L., LATVA-KALA K., MATTILA-SANDHOLM, T., POL, I., SMID, E. J., GORRIS, L. G. M., VON WRIGHT, A. Characterization of the action of selected essential oil components on gram-negative bacteria. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 3590–3595, **1998**.

HOLEŠOVÁ, S., VALÁSKOVÁ, M., PLEVOVÁ, E., PAZDZIORA, E., MATEJOVÁ, K. Preparation of novel organovermiculites with antibacterial activity using chlorhexidine diacetate. *J. Colloid Interface Sci.*, 342, 2, 593-597, **2010**.

HOLEŠOVÁ, S., STEMBÍREK J., BARTOŠOVÁ, L., PRAŽANOVÁ, G., VALÁŠKOVÁ M., SAMLÍKOVÁ M., PAZDZIORA, E. Antibacterial efficiency of vermiculite/chlorhexidine nanocomposites and results of the in vivo test of harmlessness of vermiculite. *Mater. Sci. Eng. C*, 42, 466–473, **2014**.

HU, G., GUO, D., SHANG, H., SOL, Y., ZENG, J., JIANGBING LI, J. Microwave-assisted rapid preparation of vermiculite-loaded nano-nickel oxide as a highly efficient catalyst for acetylene carbonylation to synthesize acrylic acid. *Chem. Select*, 5, 2940–2948, **2020**.

HUANG, X., LI, X., LI, S., DING, Y. F., LI, X., HUANG, Y., HUANG, Q., GENG, F., WU, Y. M. A study to reveal the synergistic bacteriostatic potential of egg white lysozyme with carvacrol at the molecular level. *Int. J. Biol. Macromol.*, 283, Part 4, 138000, **2024**.

JIMENEZ-REYES, M. F., CARRASCO, H., OLEAB, A. F., SILVA-MORENO, E., E. Natural compounds: a sustainable alternative to the phytopathogens control. *J. Chil. Chem. Soc.*, 64, 2, 4459–4465, **2019**.

JU, J., CHEN, X., YUNFEIXIE, YU, P., GUO, Y., CHENG, Y., QIAN, E., YAO, W. Application of essential oil as a sustained release preparation in food packaging. *Trends Food Sci. Tech.*, 92, 22–32, **2019**.

JU, J., XIE, Y., YU, H., GUO, Y., CHENG, Y., QIAN, H., YAO, W., Synergistic interactions of plant essential oils with antimicrobial agents: A new antimicrobial therapy. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, 2, 1740–1751, **2020a**.

JU, J., YUNFEIXIE, YU, P., GUO, Y., CHENG, Y., QIAN, E., YAO, W., A novel method to prolong bread shelf life: Sachets containing essential oils components. *LWT*, 131, 109744, **2020b**.

JUNG, C. Y.; KIM, S.-Y.; LEE, C. Carvacrol Targets AXL to Inhibit Cell Proliferation and Migration in Non-small Cell Lung Cancer Cells. *Anticancer research*, 38, 1, 279–286, **2018**.

JUSTO, C. MAQUEDA, J.L. PEREZ-RODRÍGUEZ, E. MORILLO, Expansibility of some vermiculites, *Appl. Clay Sci.*, 4, 509–519, **1989**.

KAROUSOU, R., KOUREAS D. N., KOKKINI, S. Essential oil composition is related to the natural habitats: *coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 sites of Crete. *Phytochem.*, 66, 2668–2673, **2005**.

KEAWCHAOON, L., YOKSAN, R. Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles. *Colloids Surf., B*, 84, 163–171, **2011**.

KOMADEL, P. Acid activated clays: Materials in continuous demand. *Appl. Clay Sci.*, 131, 84–99, **2016**.

KOMADEL, P. Chemically modified smectites. *Clay Min.*, 38, 1, 127-138, **2003**.

KOTHALAWALA, S. G., ZHANG, J., WANG, Y., YU, C., Submicron-sized vermiculite assisted oregano oil for controlled release and long-term bacterial inhibition. *Antibiot.*, 10, 11, 1324, **2021**.

KUMARI, S., PUNDHIR, S., PRIYA, P., JEENA, G., PUNETHA, A., CHAWLA, K., JAFAREE, Z. F., MONDAL, S., YADAV, G. EssOilDB: A database of essential oils reflecting terpene composition and variability in the plant kingdom. *Database*, 2014, 120, **2014**.

LAMBERT, R. J. W., SKANDAMIS, P. N., COOTE, P. J., NYCHAS, G. J. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.*, 91, 453–462, **2001**.

LI, X., LI, X., XIAO, N., XIAO, G., BAI, W., ZHANG, X., ZHAO, W. Lemon essential oil/vermiculite encapsulated in electrospun konjac glucomannan-grafted-poly (acrylic acid)/polyvinyl alcohol bacteriostatic pad: Sustained control release and its application in food preservation. *Food Chem.*, 348, 129021, **2021**.

LIN-VIEN, D., COLTHUP, N. B., FATELEY, W. G., GRASSELLI, J. G. *The Handbook of Infrared and Raman Characteristic Frequencies of Organic Molecules*, Elsevier, **1991**.

LONG, H., WU, P., YANG, L., HUANG, Z., ZHU, N., HU, Z. Efficient removal of cesium from aqueous solution with vermiculite of enhanced adsorption property through surface modification by ethylamine. *J. Colloid Interface Sci.*, 428, 295–301, **2014**.

MAGAÑA, S. M., QUINTANA, P., AGUILAR, D. H., TOLEDO, J.A., ÁNGELES-CHAVEZ, C., CORTES, M. A., LEON, L., FREILE-PELEGRIN, Y., LOPEZ, T., SANCHEZ, R. M. T. Antibacterial activity of montmorillonites modified with silver. *J. Mol. Catal. A Chem.*, 281, 192–199, **2008**.

MALACHOVÁ, K., PRAUS, P., RYBKOVÁ, Z., KOZÁK, O. Antibacterial and antifungal activities of silver, copper and zinc montmorillonites. *Appl. Clay Sci.*, 53, 642–645, **2011**.

MARCOS, C., RODRIGUEZ, I. Expansibility of vermiculites irradiated with microwaves. *Appl. Clay Sci.*, 51, 33–37, **2011**.

TEICH-MCGOLDRICK, S. L., GREATHOUSE, J. A., JOVÉ-COLÓN, C. F., CYGAN, R. T. Swelling properties of montmorillonite and beidellite clay minerals from molecular simulation: comparison of temperature, interlayer cation, and charge location effects. *J Phys. Chem. C*, 119, 20880–20891, **2015**.

NIEN, Y.-T., LIAO, Y.-H., LIAO, P.-C. Antibacterial activity of poloxamer-modified montmorillonite clay against *E. coli*. *Mater. Lett.*, 65, 3092–3094, **2011**.

NOSTRO, A., ROCCARO, A. S., BISIGNANO, G., MARINO, A., CANNATELLI, M. A., PIZZIMENTI, F. C., CIONI, P. L., PROCÓPIO, F., BLANCO, A. R. Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *J. Med. Microbiol.*, 56, 4, 519-523, **2007**.

NOSTRO, A., MARINO, A., BLANCO, A. R., CELLINI, L., DI GIULIO M., PIZZIMENTI F., ROCCARO, A. S., BISIGNANO, G. *In vitro* activity of carvacrol against staphylococcal preformed biofilm by liquid and vapour contact. *J. Med. Microbiol.*, 58, 791-797, **2009**.

NOSTRO, A., CELLINI, L., ZIMBALATTI, V., BLANCO, A. R., MARINO, A., PIZZIMENTI, F., DI GIULIO, M., BISIGNANO, G. Enhanced activity of carvacrol against biofilm of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* in an acidic environment. *APMIS*, 120, 967-973, **2012**.

OLIVEIRA, L. H., TRIGUEIRO, P., SOUZA, J. S. N., DE CARVALHO, M. S., OSAJIMA, J. A., DA SILVA-FILHO, E. C., FONSECA, M. G. Montmorillonite with essential oils as antimicrobial agents, packaging, repellents, and insecticides: an overview, *Colloids Surf. B.*, 209, 112186, **2022**.

OLIVEIRA, L.H., DE LIMA I. S., NETA, E. R. S., DE LIMA, S. G., TRIGUEIRO, P., OSAJIMA, J. A., DA SILVA-FILHO, E. C., JABER M., FONSECA, M. G. Essential oil in bentonite: Effect of organofunctionalization on antibacterial activities. *Appl. Clay Sci.*, 245, 107158, **2023a**.

OLIVEIRA L. H., DE LIMA, I. S., DOS SANTOS, A. N., TRIGUEIRO P., BARRETO, H. M., CECÍLIA, J. A., OSAJIMA, J. A., DA SILVA-FILHO, E. C., FONSECA, M.G. Monitoring the antimicrobial activity of bentonite-chlorhexidine hybrid, *Mater. Today Commun.*, 34, 105352, **2023b**.

OLIVEIRA, L.H., DE LIMA, I. S., FRANÇA, D. B., MORAES, A. I., FONSECA, M. G., BARRETO, H. M., MEDINA-CARRASCO, S., OSAJIMA, J. A., DA SILVA-FILHO, E. C., ORTA, M. Preparation and release of antibacterial Na-mica-4/chlorhexidine nanocomposites. *Appl. Clay Sci.*, 254, 107373, **2024**.

OLIVEIRA, L. G., FRANÇA, D. B., OSAJIMA, J. A., SILVA-FILHO, E.C., MEDINA-CARRASCO, S., ORTA, M. M., JABER, M., FONSECA, M. G. Ancient materials for new applications: The combination of montmorillonite with polysaccharides for biomedical uses, *Appl. Clay Sci.*, 266, 107688, **2025**.

PEREZ-MAQUEDA, L. A., MAQUEDA, C., PEREZ-RODRIGUEZ, J. L., SUBRT, J., CERNY, Z., BALEK, V. Thermal behaviour of ground and unground acid leached vermiculite. *J. Therm. Anal. Calorim.*, 107, 431–438, **2012**.

PLACHÁ, D., ROSENBERGOVÁ, K., SLABOTÍNSKÝ, J., KATEŘINA MAMULOVÁ KUTLÁKOVÁ, K. M., STUDENTOVÁ, S., MARTYNKOVÁ, G. S. Modified clay minerals efficiency against chemical and biological warfare agents for civil human protection. *J Hazard. Mat*, 271, 65–72, **2014**.

RADULOVIC´, N. S., BLAGOJEVIĆ, P. D., STOJANOVIĆ-RADIĆ, Z. Z., STOJANOVIĆ, N. M. Antimicrobial plant metabolites: structural diversity and mechanism of action. *Curr. Med. Chem.*, 20, 932–952, **2013**.

RAUT, J. S. R.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Ind. Crops Prod.*, 62, 250-264, **2014**.

REICHENBACH, H. G.; BEYER, J. Dehydration and rehydration of vermiculites: II. Phlogopitic Ca-vermiculite. *Clay Min.*, 30, 4, 273-286, **1995**.

RITZ, M.; ZDRÁLKOVÁ, J.; VALÁSKOVÁ, M. Vibrational spectroscopy of acid treated vermiculites. *Vibr. Spectrosc.*, 70, 63-69, **2014**.

SAAD, H., AYED, A., SRASRA, M., MEZNI, M., ESSID, R., JALLOULI, S., OLFA, T., SRASRA, E. Smectite clay nanoparticles as a sustained release system for cinnamom essential oil targeting *Candida albicans*. *Chem. Africa*, 7, 6, 3185-3200, **2024**.

SANTOS, S. S. G., SILVA, H. R. M., DE SOUZA, A. G., ALVES, A. P. M., FILHO, E. C. S., FONSECA, M. G. Acid-leached mixed vermiculites obtained by treatment with nitric acid. *Appl. Clay Sci.*, 104, 286–294, **2015**.

SAMLÍKOVÁ, M., HOLEŠOVÁ, S., HUNDÁKOVÁ, M., PAZDZIORA, E., JANKOVIČ, L., VALÁŠKOVÁ, M. Preparation of antibacterial chlorhexidine-vermiculite and release study. *Int. J. Miner. Process.*, 159, 1-6, **2017**.

SAUCEDO-ZUÑIGA, J. N., SÁNCHEZ-VALDES, S., RAMÍREZ-VARGAS, E., GUILLEN, L., RAMOS-DEVALLE, L.F., GRACIANO-VERDUGO, A., URIBE-CALDERÓN, J.A., VALERA-ZARAGOZA, M., LOZANO-RAMÍREZ, T., RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, J. A., BORJAS-RAMOS, J. J., ZULUAGA-PARRA, J. D. Controlled release of essential oils using laminar nanoclay and porous halloysite / essential oil composites in a multilayer film reservoir. *Microporous Mesoporous Mater.*, 316, **2021**.

SHIROZU, H., BAILEY, S. W. Crystal structure of a two-layer Mg-vermiculite. *Am. Mineral.*, 51, 1124-1143, **1966**.

SIKKEMA J., DE BONT J. A. M., POOLMAN B. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J. Biol. Chem.*, 269, 8022–8028, **1994**.

SILVA, A., MARTINHO, S., STAWIŃSKI, W., WĘGRZYN, A., FIGUEIREDO, SANTOS, S. L. H. M. L. M., FREITAS, O. Application of vermiculite-derived sustainable adsorbents for removal of venlafaxine. *Envirom. Sci. Pollut. Res.*, 25, 17066–17076, **2018**.

SIMIONATO, I., DOMINGUES, F. C., NERÍN C., SILVA, F. Encapsulation of cinnamon oil in cyclodextrin nanosponges and their potential use for antimicrobial food packaging. *Food Chem. Toxicol.*, 132, 110647, **2019**.

SKIPPER, N. T., SPOSITO, G., CHANG, F. R. C. Monte Carlo simulation of interlayer molecular structure in swelling clay minerals. 2. Monolayer hydrates. *Clays Clay Min.*, 43, 294-303, **1995**.

SLADE, P.G., STONE, P.A., RADOSLOVICH, W. Interlayer structures of the two layer hydrates of Na- and Ca-Vermiculites. *Clays Clay Min.*, 33, 51-61, **1985**.

SOKOLIK, C. G.; LELLOUCHE, J. P. Hybrid-silica nanoparticles as a delivery system of the natural biocide carvacrol. *RSC Adv.*, 8, 36712–36721, **2018**.

STAWINSKI, W., FREITAS, O., CHMIELARZ, L., WĘGRZYN, A., KOMĘDERA, K., BŁACHOWSKI, A., FIGUEIREDO, S. The influence of acid treatments over vermiculite based material as adsorbent for cationic textile dyestuffs. *Chemosphere*, 153, 115–129, **2016**.

STAWINSKI, W., WĘGRZYN, A., MORDARSKI G., SKIBA, M., FREITAS, O., FIGUEIREDO, S. Sustainable adsorbents formed from by-product of acid activation of vermiculite and leached-vermiculite-LDH hybrids for removal of industrial dyes and metal cations. *Appl. Clay Sci.*, 161, 6–14, **2018**.

SU, X., MA, L., WEI, J., ZHU, R. Structure and thermal stability of organo-vermiculite. *Appl. Clay Sci.*, 132–133, 261–266, **2016**.

SWENSON, J., BERGMAN, R., HOWELLS, W. S. Quasielastic neutron scattering of two-dimensional water in a vermiculite clay. *J. Chem. Phys.*, 113, 2873- 2879, **2000**.

TENCI, M., ROSSI, S., AGUZZI, C., CARAZO, E., SANDRI G., BONFERONI, M. C., GRISOLI P., VISERAS, C., CAMELLA C. M., FERRARI, F. Carvacrol/clay hybrids loaded into *in situ* gelling films. *Int. J. Pharm.*, 531, 676–688, **2017**.

TIAN, L., QIAN, Y., WANG, H., ZHAO, G., TANG, A., YANG, H. Mineral Phase Reconfiguration Enables the High Enzyme-like activity of vermiculite for antibacterial application. *Nano Lett.*, 24,1, 386-393, **2023**.

TRAN, L., WU, P., ZHU, Y., YANG, L., ZHU, N. Highly enhanced adsorption for the removal of Hg(II) from aqueous solution by mercaptoethylamine/ mercaptopropyltrimethoxysilane functionalized vermiculites. *J. Colloids Interface Sci.*, 445, 348–356, **2015**.

ULTEE, A., SLUMP, R. A., STEGING, G., SMID, E. J. Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice. *J. Food Prot.*, 63, 620–624, **2000**.

VALÁŠKOVÁ, M., MARTYNKOVA, G. S. Vermiculite: structural properties and examples of the use. *In: Clay Minerals in Nature - Their Characterization, Modification and Application*, Intech, 209-238, **2012**.

VALÁŠKOVÁ, M., KUPKOVÁ, J., MARTYNKOVÁ, G. S., SEIDLEROVÁ, J., TOMÁŠEK, V., RITZ, M., KOČÍ, K., KLEMM, V., RAFAJA, D., Comparable study of vermiculites from four commercial deposits prepared with fixed ceria nanoparticles. *Appl. Clay Sci.*, 151, 164–174, **2018**.

VALÁŠKOVÁ, M., MADEJOVÁ, J., INAYAT, A., MATĚJOVÁ, L., RITZ, M., MARTAUS, A., LEŠTINSKÝ, P. Vermiculites from Brazil and Palabora: Structural changes upon heat treatment and influence on the depolymerization of polystyrene. *Appl. Clay Sci.*, 192, 105639, **2020**.

WALKER, G. F. Diffusion of interlayer water in vermiculite. *Nature*, 177, 4501, 239-240, **1956**.

WANG, L., WANG, X., JIAO YIN J., WANG, C. Insights into the physicochemical characteristics from vermiculite to silica nanosheets. *Appl. Clay Sci.*, 132–133, 17–23, **2016**.

WANG, J., ZHAO, F., HUANG, J., LI, Q., YANG, Q., JU, J. Application of essential oils as slow-release antimicrobial agents in food preservation: Preparation strategies, release mechanisms and application cases. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 64, 6272-6297, **2024**.

WĘGRZYN, A., STAWIŃSKI, W., FREITAS, O., KOMĘDERA, K., BŁACHOWSKI, A., JĘCZMIONEK, Ł., DAŃKO, T., MORDARSKI G., FIGUEIREDO, S. Study of adsorptive materials obtained by wet fine milling and acid activation of vermiculite. *Appl. Clay Sci.* 155, 37–49, **2018**.

WU, H., ZHAO, F., LI, Q., HUANG, J., JU, J. Antifungal mechanism of essential oil against foodborne fungi and its application in the preservation of baked food. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 67, 1–13, **2022**.

WU, H., ZHAO, F., LI, Q., HUANG, J., JU, J. Sustained-release antibacterial gelatin films: Effects of diatomite /carvacrol complex on their structure, physicochemical and antibacterial properties. *Food Packag. Shelf Life*, 35, 101019, **2023**.

XU, J., ZHOU, F., JI, B. P., PEI, R. S., XU, N. The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*. *Lett. Appl. Microb.*, 47, 3, 174-179, **2008**.

XU, W., GAO, Q., XU, Y., WU, D., SUN, Y., SHEN, W., DENG, F. Controllable release of ibuprofen from size-adjustable and surface hydrophobic mesoporous silica spheres. *Powder Technol.*, 191, 13–20, **2009**.

XU, D. F., Du, L. H., Mai, W. J., Cai, X., Jiang, Z. Y., Tan, S. Z. Continuous release and antibacterial activity of chlorhexidine acetate intercalated vermiculite. *Mater. Res. Innovations*, 17, 195-200, **2013**.

YADAV, G. D., KAMBLE, S. B. Synthesis of carvacrol by Friedel–Crafts alkylation of o-cresol with isopropanol using superacidic catalyst UDCaT-5. *J. Chem. Tech. Biotech.*, 84, 10, 1499-1508, **2009**.

YANG, W., ZHENG, Y., ZAOUI, A. Swelling and diffusion behavior of Na-vermiculite at different hydrated states. *Solid State Ionic*, 282, 13-17, **2015**.

ZHU, Y., JIAN-LIN, S., YONG-SHENG, L., HANG-RONG, C., WEI-HUA, S., XIAO-PING, D. Storage and release of ibuprofen drug molecules in hollow mesoporous silica spheres with modified pore surface. *Microporous Mesoporous Mater.*, 85, 75–81, **2005**.