

FILMES DE QUITOSANA COM AÇÃO ANTIMICROBIANA PROJETADOS COMO EMBALAGEM BIOATIVA ALTERNATIVA AO PLÁSTICO

HENRIQUE BLANK¹; THAÍS PIRES DOS SANTOS²; ALINE JOANA ROLINA WOHLMUTH ALVES DOS SANTOS³

¹Universidade Federal de Pelotas, Bacharelado em Farmácia – henriqueblank3@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas, Bacharelado em Química – thaissantos01844@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos - CCQFA – alinejona@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A quitosana, um polímero orgânico sintetizado a partir da quitina, com características atóxicas e de solubilidade em soluções ácidas, o que permite a produção de filmes biodegradáveis (BLANK *et al.*, 2022; RAHMAWATI, *et al.*, 2024). Devido à sua versatilidade, a quitosana encontra diferenciadas aplicações, como na área biomédica e farmacêutica, com foco na liberação controlada de medicamentos e substâncias ativas (AHSAN, *et al.*, 2018). Atividade antimicrobiana para quitosana tem sido relatada na literatura (GIACOMINI, *et al.*, 2023), bem como propriedades antimicrobianas e antioxidantes de filmes de quitosana com bioativos como extrato de canela (AHMADI *et al.*, 2021) ou erva-mate (JAMRÓZ *et al.*, 2022). Propriedades anti-inflamatórias, antibacterianas e antioxidantes são descritas na literatura tanto os extratos quanto chás de canela (EZZAT *et al.*, 2017) e erva-mate (JAMRÓZ *et al.*, 2022), preparados com folhas, caules ou cascas.

A combinação ou sinergismo entre as atividades de extrato de canela (*Cinnamomum spp.*) ou de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) com a quitosana, pode ser vantajosa em formulações. O conceito de sinergismo também se aplica a formulações contendo sulfato de cobre(II) pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), um sal usado como antifúngico (calda bordalesa) em pomares de frutíferas (CIPOLETA *et al.*, 2019), e gelatina que, por sua vez, é derivada da hidrólise parcial do colágeno, com aplicações nas áreas alimentícia, farmacêutica, industrial e em pesquisas na química de materiais (BINSI *et al.*, 2009).

Para diminuir o impacto ambiental, as embalagens plásticas tendem a ser substituídas por materiais biodegradáveis, tais como filmes que, também, podem agregar ação bioativa, como embalagem projetada para liberar, absorver ou interagir com certos componentes, visando um efeito benéfico sobre o produto embalado (RAHMAWATI, *et al.*, 2024).

Desta forma, o objetivo deste trabalho é sintetizar filmes à base de quitosana no Laboratório de Sólidos Inorgânicos (LASIR - UFPEl) e propor a adição de bioativos como gelatina, sulfato de cobre(II) pentahidratado e extratos de canela ou de erva-mate, com o intuito de avaliar sua atividade antimicrobiana, na proposição de uma embalagem obtida de fontes naturais e residuais, bioativa e potencialmente biodegradável.

2. METODOLOGIA

Os extratos alcoólicos de canela e hidroalcólico de erva-mate foram previamente preparados pelo grupo, de acordo com SANTOS *et al.* (2022), e apresentaram, respectivamente, concentração mássica de 4,9 mg/mL e 9,7 mg/mL e concentração de compostos fenólicos de 64,82 mg/100g e 97,62 mg/100g EAG. A quitosana utilizada foi sintetizada no LASIR - UFPEl (BLANK *et*

al., 2022) e apresenta 76,20 % de grau médio de desacetilação (GARCIA *et al.*, 2020) e massa molar viscosimétrica média de 158,64 – 164,23 kDa (INOUE *et al.*, 2021). As formulações para os filmes foram preparadas em solução 0,25 % de ácido acético (v/v) (GIACOMINI *et al.*, 2023) e deram origem aos filmes pelo método de *casting* (SOBCZYK *et al.*, 2021). Foram sintetizados 28 filmes, destes foram selecionados 16 que apresentaram uniformes e sem rachaduras (Tabela 1).

Tabela 1. Soluções filmogênicas

Filmes	Extrato	Proporção em massa* (G:E:CHI:M)
1	-	0 : 0 : 1 : 0
2	E1	0 : 0,25 : 1 : 0
3	E4	0 : 0,25 : 1 : 0
4	-	0,5 : 0 : 1 : 0
5	E4	0,5 : 0,25 : 1 : 0
6	E1	0,5 : 0,25 : 1 : 0
10	E4	0,5 : 0,25 : 1 : 0,25
12	E1	0,5 : 0,25 : 1 : 0,25
13	E1	0 : 0,5 : 1 : 0
14	E4	0 : 0,5 : 1 : 0
15	E1	0,5 : 0,5 : 1 : 0
16	E4	0,5 : 0,5 : 1 : 0
19	E1	0,5 : 0,5 : 1 : 0,25
20	E4	0,5 : 0,5 : 1 : 0,25
25	-	0 : 0 : 1 : 0,25
28	-	0,5 : 0 : 1 : 0,25

*Proporção 1 = 0,025g; proporção 0,5 = 0,0125g; proporção 0,25 = 0,0063g. Proporção de 0,25 de extrato equivale a 130 µL e proporção de 0,5 de extrato equivale a 260 µL. E1= extrato de canela (em rosa). E4 = extrato de erva-mate (em verde). Filmes em azul indicam presença de sal de Cu(II) acrescidos, apenas, de quitosana e/ou gelatina. G = gelatina; CHI = quitosana; M = Sulfato de cobre (II) pentahidratado; E = extrato. Fonte: elaborado pelo autor (2024).

A avaliação da atividade microbiológica dos filmes foi realizada em parceria com o Laboratório de Ciência de Alimentos e Biologia Molecular (LACABIM - UFPel). Foram utilizados dois métodos frente às cepas *Escherichia coli* (ATCC 43895) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 10832) (BÖHMER-MAAS *et al.*, 2024): teste da difusão em disco com adaptações (CRUZ *et al.*, 2023) e teste de crescimento microbiano sobre os filmes (CRUZ *et al.*, 2023 RASCHIP *et al.*, 2020), os testes foram realizados em triplicata. O meio de cultura utilizado foi Mueller Hinton. Para a confecção do inóculo foi padronizada escala de 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação à avaliação dos discos de cada filme sobre o meio de cultura contendo o inóculo de cada bactéria, não foi observada inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Esse resultado pode ser decorrente de uma barreira física entre o filme e meio de cultura, onde o filme não conseguiu fazer a difusão dos constituintes para o meio de cultura à ponto de inibir o crescimento das bactérias.

Por isso, tornou-se necessária a utilização de outro método de investigação antimicrobiana dos filmes, neste caso, o método de avaliação do crescimento de bactérias sobre a superfície dos filmes. (CRUZ *et al.*, 2023; RASCHIP *et al.*, 2020). Todos os filmes inibiram o crescimento da bactéria *Staphylococcus aureus*, sendo observado o seu crescimento apenas no controle, sobre o meio de cultura. Já frente à *Escherichia coli*, somente os filmes 4, 5, 14, 15, 16, 20 e 25 inibiram o crescimento da bactéria.

A literatura relata que os extratos alcoólicos e hidro alcoólicos de canela (AHMADI *et al.*, 2021) e erva-mate (JAMRÓZ *et al.*, 2022) possuem atividade antibacteriana frente a bactérias Gram positivas e negativa. A principal diferença entre *E. coli* (Gram negativa) e *S. aureus* (Gram negativo) está no fato de *E. coli* possuir uma membrana externa rica em lipopolissacarídeos que reveste a membrana celular de peptidoglicano, já o *S. aureus* possui apenas a membrana celular de peptidoglicano, o que pode justificar os resultados de melhor ação antimicrobiana frente à *S. aureus* (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

4. CONCLUSÕES

Neste estudo, filmes foram avaliados quanto à sua atividade antimicrobiana, sendo evidenciada ação frente às bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Desta forma, os filmes sintetizados a partir de composição sinérgica dos bioativos: quitosana, gelatina, sulfato de cobre(II) pentahidratado e extrato de canela ou de erva-mate, mostraram-se potenciais para uso como embalagens ou membranas para produtos perecíveis, como alimentos e medicamentos, como oferecer uma alternativa ao uso de embalagens plásticas, já que são potencialmente biodegradáveis e atóxicos, além de agregar propriedades que permitam a redução de aditivos e conservantes nos produtos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMADI, S.; HIVECHI, A.; BAHRAMI, S.H.; MILAN, P.B.; ASHRAF, Seyedeh Sara. Cinnamon extract loaded electrospun chitosan/gelatin membrane with antibacterial activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 173, p. 580-590, mar. 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.156>
- AHSAN, S.M.; THOMAS, M.; REDDY, K.K.; SOORAPARAJU, S.G.; ASTHANA, A.; BHATNAGAR, I. Chitosan as biomaterial in drug delivery and tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 110, p. 97-109, abr. 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.140>.
- BINSI, P. K.; SHAMASUNDAR, B. A.; DILEEP, A. O.; BADII, F.; HOWELL, N. K. Rheological and functional properties of gelatin from the skin of Bigeye snapper (*Priacanthus hamrur*) fish: Influence of gelatin on the gel-forming ability of fish mince. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 132-145, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.12.004>
- BÖHMER-MAAS, B.W.; OTERO, D.M.; ALVES, P.I.; PEDRA, N.S.; RADÜNZ, M.; GANDRA, E.A.; ZAMBIAZI, R.C. Valorisation of olive pomace: phenolic prospecting and biological potential. **Natural Product Research**, p. 1-6. 2024. Taylor & Francis. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2024.2332948>.
- BLANK, H.; ÁVILA, I.D.; HIRDES, A.R.; SANTOS, A.J.R.W.A. Reaproveitamento de resíduos de pesca para síntese de quitosana com uso de metodologias diversas e aplicação de princípios da química verde. In: SANTOS, E.D.; BRINDEIRO, F.O. da S.; MELLO, R.G. (Org) **Energias Renováveis e Valorização de Resíduos: o caminho para a sustentabilidade**. Rio de Janeiro. Editora E-publicar, 2022, Cap. 7, p. 82-98. <http://dx.doi.org/10.47402/ed.ep.c202215577634>
- CIPOLETA, N.S.; SILVA, L.F.S.; LOPES-ASSAD, M.L.C. Uso de resíduos orgânicos na atenuação de contaminação por cobre de calda bordalesa. **Ambiência**, v. 15, n. 2, p. 1-19, 2019. <http://dx.doi.org/10.5935/ambiencia.2019.02.01>

- CRUZ, E.P.; JANSEN, E.T.; COSTA, L.V.; SOUZA, E.J.D.; FONSECA, L.M.; GANDRA, E.A.; ZAVAREZE, E.R.; DIAS, A.R.G. Use of red onion skin (*Allium cepa* L.) in the production of bioactive extract and application in water-absorbing cryogels based on corn starch. **Food Hydrocolloids.**, v. 145, p. 109-133, dez. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109133>.
- EZZAT, S.; ABUELKHAIR, M.; MOURAD, M.; HELAL, M.; GRAWISH, M. Effects of aqueous cinnamon extract on chemically-induced carcinoma of hamster cheek pouch mucosa. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 12, p. 72-78, 2017. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrep.2017.08.014>
- GARCIA, I.A.; INOUE, M.D.; HIRDES, A.R.; SANTOS, A.J.R.W.A. Avaliação de métodos titulométricos para determinação do grau de desacetilação em quitosana. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 1, p. 4066-4084, 2020. <http://dx.doi.org/10.34117/bjdv6n1-289>
- GIACOMINI, G.X.; NACHTIGAL, G.F.; MARTINS, C.R.; HIRDES, A.R.; VALGAS, R.A.; SANTOS, A.J.R.W.A. Eco-friendly fungicide based on chitosan and pecan nut oil: development and evaluation in anthracnose control. **Acta scientiarum. Biological Sciences**, v. 45, n. 1, 2023. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsoci.v45i1.62090>
- INOUE, M.D.; GARCIA, I.A.; HIRDES, A.R.; SANTOS, A.J.R.W.A. Caracterizações físico-químicas das etapas de obtenção da quitosana a partir de cascas de camarão / Physicochemical characterizations of steps of obtaining chitosan from shrimp shells. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 10, p. 98634-98652, 2021. <http://dx.doi.org/10.34117/bjdv7n10-268>
- JAMRÓZ, E.; JANIK, M.; MARANGONI, L.; VIEIRA, R. P.; TKACZEWSKA, J.; KAWECKA, A.; SZUWARZYŃSKI, M.; MAZUR, T.; JASINSKA, J. M.; KRZYSZCIAK, Paweł. Double-Layered Films Based on Furcellaran, Chitosan, and Gelatin Hydrolysates Enriched with AgNPs in Yerba Mate Extract, Montmorillonite, and Curcumin with Rosemary Essential Oil. **Polymers**, v. 14, n. 20, p. 4283, 12 out. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/polym14204283>.
- RAHMAWATI, I.; PRATAMA, A.K.; PRATAMA, S.A.; KHOZIN, M.N.; FIRMANDA, A.; IRAWAN, F.H.; SUCIPTO, T.H.; ANSORI, A.N.M. Gallic acid: a promising bioactive agent for food preservation and sustainable packaging development. **Case Studies In Chemical And Environmental Engineering**, v. 10, p. 100776, dez. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cscee.2024.100776>.
- SANTOS, A.J.R.W.A.; BLANK, H.; AVILA, I.D.; OLIVEIRA, A.C.; HACKBART, H.C.S. Obtenção e caracterização de extratos de erva-mate e canela. In: BARBOSA, M.S.; SILVA, A.T.B.; MELLO, R.G. (org.). **Ciências Exatas e Inovação: perspectivas de desenvolvimento e aplicação em sociedade**. 2. ed. Rio de Janeiro/RJ: E-Publicar, 2022. Cap. 5. p. 64-80. (978-65-5364-147-1). <http://dx.doi.org/10.47402/ed.ep.c202222255471>
- SOBCZYK, A. E.; LUCHESE, C. L.; FACCIN, D. J. L.; TESSARO, I. C. Influence of replacing orégano essential oil by ground orégano leaves on chitosan/alginate based dressing properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 181, p.51-59, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.084>
- TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 10ª ed., Porto Alegre: ArtMed, 2012, 934 p.