



Anais do VIII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio

2014

Editores:
Luiz Henrique Capparelli Mattoso
Caue Ribeiro de Oliveira
Humberto de Mello Brandão
Marlene de Barros Coelho
Daniel Souza Corrêa
Maria Alice Martins

Embrapa

SNYDER, C. S; BRUULSEMA, T. W; JENSEN, T. L. & FIXEN, P. E. "Review of greenhouse gas emissions from crop production systems and fertilizer management effects". Agriculture, Ecosystems & Environment, v. 133, n. 3-4, p. 247-266, 2009.

TRENKEL, M. E. Slow- and Controlled-Release and Stabilized Fertilizers: An Option for Enhancing Nutrient Use Efficiency in Agriculture. Paris, International Fertilizer Industry Association (IFA), 2010. 163p.

RUIZ-HITZKY, E. & van MEERBEEK, A. Clay mineral and organoclay-polymer nanocomposites. In: Handbook of Clay Science. Bergaya, F.; Theng, B. K. G. & Lagaly, G. (Eds.). Elsevier, 2006. p. 583-621.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE FILMES FINOS DE QUITOSANA/NANOPARTÍCULAS DE PRÓPOLIS CONTRA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

*Rejane C. Goy¹, Márcia C. R. S. Ferreira², Rubens B. Filho³

¹Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. ²Centro Universitário Central Paulista, Unicep, São Carlos, SP. ³Pesquisador, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

*rejanegy@gmail.com

Classificação: Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.

Resumo

A própolis é milenarmente reconhecida por ser um antibiótico natural produzido por abelhas, para assepsia de suas colmeias. A quitosana é um polissacarídeo de origem natural com conhecida eficiência como agente antibacteriano e a capacidade de formar filmes. Com o intuito de melhorar essa propriedade de inibir o crescimento de bactérias, foi realizada a junção dos dois materiais. A forma nanométrica das partículas de própolis também tem o objetivo de favorecer a interação com as bactérias devido as pequenas dimensões do material. Como base para formação das nanopartículas de própolis foi utilizado álcool polivinílico (PVA), polímero sintético, solúvel em água, atóxico, hidrofílico, biodegradável e biocompatível. O microorganismo de trabalho foi a bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus*. Foram realizados testes de formação de halo de inibição, nos quais partições dos filmes foram colocadas sobre meio de cultura TSB (Tryptic Soy Broth) inoculados com bactérias e as placas foram incubadas em estufa para o crescimento das colônias e observação da formação dos halos de inibição. Os resultados obtidos foram promissores, havendo eficiência do material estudado contra o crescimento das colônias bacterianas.

Palavras-chave: Nanopartículas; Própolis; Quitosana; Filmes Finos; Anti-bacteriano.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY AGAINST STAPHYLOCOCCUS AUREUS FROM CHITOSAN/PROPOLIS THIN FILMS

Abstract

Propolis is recognized for millennia to be a natural antibiotic produced by bees, for sterilization of their hives. Chitosan is a polysaccharide of natural origin known as antibacterial agent efficiency and the ability to form films. In order to improve this property of inhibiting the growth of bacteria, the junction of the two materials was carried out. The nano-particle form of propolis also aims to facilitate the interaction with bacteria due to the small size of the material. As a basis for the formation of nanoparticles was used propolis polyvinyl alcohol (PVA), synthetic polymer, water soluble, non-toxic, hydrophilic, biodegradable and biocompatible. The micro-organism was working the gram-positive bacterium *Staphylococcus aureus*. Inhibition tests by no grow formation zone were performed in which partitions of the films were placed on the middle of TSB culture (Tryptic Soy Broth) inoculated with bacteria and the plates were incubated in a greenhouse for colonies growing and observing the formation of inhibition zones. The results were promising, there efficiency of the studied material against the growth of bacterial colonies.

Keywords: Nanoparticles; Propolis; Chitosan; Thin films; Against bacteria

Publicações relacionadas:

GOY, R. C.; BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. A Review of the Antimicrobial Activity of Chitosan. *Polímeros* (São Carlos. Impresso), v.19, n. 3, p. 241-247, 2009.

1 INTRODUÇÃO

A busca incessante pela descoberta e aprimoramento de embalagens inteligentes, utilizando materiais inovadores, eficientes na preservação de alimentos é constante. Produtos de origem natural têm sido utilizados para substituir as embalagens tradicionais (plásticos em geral) para que, além proteger fisicamente, possam garantir aos alimentos proteção contra agentes microbiológicos e toxicológicos, melhorando também as trocas gasosas e umidade, mantendo a qualidade e prolongando o tempo de prateleira de hortifrutis. Neste estudo estão sendo testados dois produtos conhecidos por sua ação contra microorganismos, a quitosana e a própolis, ambos com conhecida capacidade de inibição de crescimento contra muitos microorganismos quando usados separadamente, porém esse estudo utiliza a combinação de ambos, o que é inédito na literatura, utilizando ainda a própolis na forma nanométrica, que é um estudo recentemente desenvolvido na Embrapa Gado de Leite pelo pesquisador Humberto de Mello Brandão e sua equipe. Além disso, esses dois produtos são de origem natural. O termo quitosana não se refere a um único componente, mas a uma família de co-polímeros com várias frações de unidades acetiladas com estrutura básica poli[(1→4)-β-2-amino-2-dioxi-D-glucose]. A quitosana possui ótima propriedade filmogênica, por isso tem sido muito explorada como membranas e películas, principalmente para o revestimento de produtos agrícolas pós-colheita, embalagens e como meios de separação. Filmes de quitosana obtidos por *casting* a partir de soluções ácidas têm sido caracterizados quanto às suas propriedades mecânicas com diferentes comportamentos dependentes do solvente empregado na solução precursora (Bégin e Calsteren, 1999; Britto et al., 2005). A própolis, que embora seja comercializada na forma de extrato para fabricação de vários produtos, ainda é um material de fácil obtenção, abundante e barato. Sua composição química é complexa e variada, uma vez que, além da flora regional está sujeita a variações sazonais. Em média sua composição é de 55% resinas vegetais; 30% cera de abelhas; 8 a 10% de óleos essenciais; e 5% de pólen. Já foram identificados cerca de 200 compostos químicos na própolis entre eles os ácidos graxos e fenólicos, ésteres, ésteres fenólicos, flavonóides (flavonas, flavanonas, flavonóis, dihidroflavonóis), terpenos, β-esteróides, aldeídos e álcoois aromáticos, sesquiterpenos e naftaleno (Vargas, et al., 2004;). Os nanomateriais possuem as vantagens consequentes do seu tamanho reduzido, aumentando acessibilidade química dos componentes da embalagem e aumentando a superfície de contato desses componentes.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Preparação de Nanopartículas de Própolis

A própolis de alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*), produzida por abelhas *Apis mellifera*, africanizadas na região do sul de Minas Gerais foi fornecida pela Wenzel Indústria e Comércio de Produtos Apícolas LTDA. As nanopartículas de própolis foram produzidas a partir do extrato alcoólico a 2,75% de matéria seca filtrado previamente em membrana de 0,22μm. Álcool polivinílico preparado numa concentração de 0,3% e também previamente filtrado em membrana de 0,22μm é colocado sob agitação de 600rpm na temperatura de 35°C. O extrato de própolis (1mL) é então gotejado lentamente no álcool polivinílico formando assim as nanopartículas de própolis (Brandão, et al. 2010).

2.2 Preparação dos Filmes

A quitosana utilizada para confecção dos filmes é comercial, de média massa molar, adquirida da Sigma Aldrich - lote 448877. Os filmes foram preparados empregando a técnica de “casting” sob superfície apolar a partir de géis de quitosana em concentração de 2gL⁻¹. Quitosana foi diluída em ácido acético 1% sob agitação magnética constante por 24h. Após a solubilização foram adicionadas as diferentes concentrações de nanopartículas de própolis, 30, 40 e 50% v/v. Para que essas concentrações fossem determinadas, foram realizados testes preliminares com porcentagens menores de nanopartículas, até observar quais as melhores concentrações de trabalho, que apresentassem eficiência na inibição do crescimento bacteriano. A adição das nanopartículas foi seguida por homogeneização sob agitação

magnética por dez minutos. As misturas obtidas (20mL) foram vertidas sobre placas acrílicas e deixadas numa temperatura de 40°C em estufa de circulação para evaporação dos solventes e formação dos filmes. Após a secagem as películas foram destacadas e armazenadas em dessecador.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas análises de espectroscopia na região do infravermelho observamos a diferença entre os espectros de quitosana e própolis, bem como o espectro final obtido após a junção desses dois materiais. Na **Figura 1** observamos os espectros dos filmes em KBr:

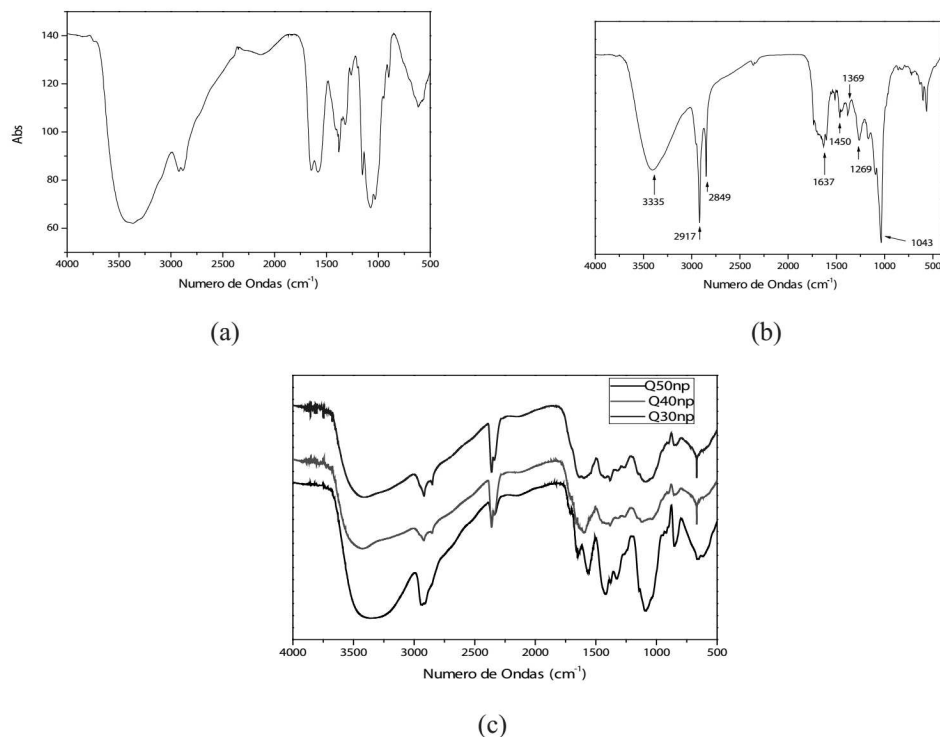


Figura 1. Espectros na região do infravermelho de (a) Quitosana e (b) Própolis e (c) Nanopartículas de própolis.

Pode ser observado o aparecimento de bandas devido à presença dos grupos flavonóides em filmes de quitosana com própolis, como no caso das bandas em 1637, 1269 e 1043 cm^{-1} , que são responsáveis pela ação bacteriostática contra *S. aureus*. (Alvarez, et al., 2006). Estas bandas pertencem à própolis e não aparecem no filme de quitosana pura, exceto em 1033 cm^{-1} que são bandas de álcoois primários que também aparecem na quitosana pura. onhecidas as bandas da quitosana, temos para o PVA, que é a base das nanopartículas juntamente com a própolis uma banda intensa em aproximadamente 3400 cm^{-1} correspondente à vibração de estiramento do grupo OH; uma banda de absorção correspondente ao estiramento —CH em 2900 cm^{-1} e uma banda de estiramento da ligação C—O em 1100 cm^{-1} . As bandas do PVA coincidem com algumas bandas da quitosana e própolis, não alterando significativamente o espectro de absorção na região do infravermelho.

Foram feitos muitos testes de inibição de crescimento contra *S. aureus* com em meio TSB pelo método de difusão em ágar utilizando partições dos filmes.

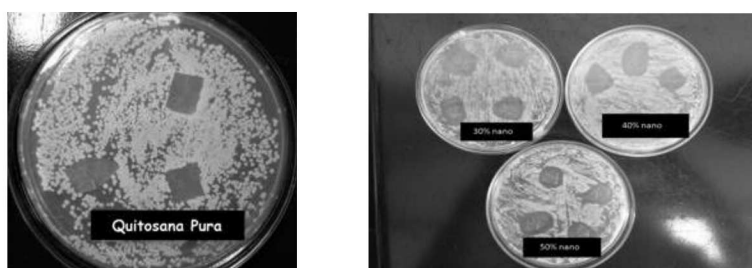


Figura 2. Imagens da interação dos filmes de quitosana e nanopartículas própolis contra *S. aureus*.

Os testes realizados foram qualitativos, porém, foi observado que a incorporação da própolis na forma de nanopartículas aos filmes baseados em quitosana favoreceu a formação de zonas de inibição do crescimento das bactérias ao redor da película. Nesse estudo qualitativo, foram testados diferentes formatos e tamanhos de filmes, e, foi constatado, que essa variação não aumentava nem diminuía o tamanho dos halos, sempre equivalentes, considerando as margens das películas ao início da margem de crescimento das colônias. Outra observação importante, que por mais simétrico que fossem os “pedaços” recortados dos filmes, após a colocação sobre o ágar, houve uma espécie de difusão das películas, causando uma deformação nas mesmas. Testes quantitativos, bem como toxicológicos estão sendo realizados na continuidade do trabalho.

4 CONCLUSÕES

Nesse estudo observamos que apesar da eficiência da quitosana e da própolis já conhecidos como agentes bactericidas ou bacteriostáticos separadamente, a união destes dois materiais para fabricação de filmes é um estudo inédito e promissor. A aplicação como agente de inibição do crescimento bacteriano mostrou que esse novo material foi eficiente contra as bactérias gram-positivas *S. aureus* encorajando o desenvolvimento da pesquisa para ampliação de suas aplicações no pós colheita.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a colaboração da estagiária Márcia Ferreira, ao meu supervisor Dr. Rubens Bernardes Filho, ao CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ M. DE LOS A.; DEBATTISTA, N.B.; PAPPANO, N.B. Synergism of flavonoids with bacteriostatic action against *Staphylococcus aureus* ATCC 25 923 and *Escherichia coli* ATCC 25 922. *Bio-cell*, 30: 39-42, 2006.

BRANDAO, H. M. ; VINHOLIS, M. M. B. ; MOSQUEIRA, V. C. F. ; MATTOSO, L. H. C. ; BRITO, M. A. V. P. ; RIBEIRO, C. ; SOUSA, R. V. ; BARBOSA, N. R. ; LANGE, C. C. . NANOPARTÍCULAS DE PRÓPOLIS, PROCESSOS DE OBTENÇÃO E USO. 2010, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: 01210001131, data de depósito: 27/10/2010, título: “NANOPARTÍCULAS DE PRÓPOLIS, PROCESSOS DE OBTENÇÃO E USO” . Instituição(ões) financiadora(s): Embrapa.

BRITTO, D.; CAMPANA-FILHO, S. P.; ASSIS, O. B. G. Mechanical properties of N,N,N-trimethyl-chitosan chloride films, *Polímeros*, v. 15, n. 2, p. 129-132, 2005.

VARGAS, A. C.; et al. Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato alcoólico de própolis, *Ciência Rural*, v. 34, n. 1, p. 159-163, 2004.

FORMAÇÃO DE NANOESTRUTURAS DE A-LACTOALBUMINA COM GOMA ACÁCIA POR UM PROCESSO VERDE E SUA CARACTERIZAÇÃO

Fabíola Cristina de Oliveira¹, Jane Sélia dos Reis Coimbra², Rachel Campos Sabioni², Eduardo Basílio de Oliveira², *Mariana Helena Cardoso Costa², Igor José Boggione Santos²

¹Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de MG, Rio Pombo, MG. ²Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG.

*maricardoso²⁷@yahoo.com.br

Classificação: Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio.