

ISSN 2175-8395

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

REDE DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO

ANAIS DO VI WORKSHOP – 2012

Maria Alice Martins
Morsyleide de Freitas Rosa
Men de Sá Moreira de Souza Filho
Nicodemos Moreira dos Santos Junior
Odílio Benedito Garrido de Assis
Caue Ribeiro
Luiz Henrique Capparelli Mattoso

Editores

Fortaleza, CE
2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação

Rua XV de Novembro, 1452,
CEP 13560-970 – São Carlos, SP
Fone: (16) 2107-2800
Fax: (16) 2107-2902
<http://www.cnpdia.embrapa.br>
E-mail: sac@cnpdia.embrapa.br

Embrapa Agroindústria Tropical

Rua Dra. Sara Mesquita, 2270,
CEP 60511-110 – Fortaleza, CE
Fone: (85) 3391-7100
Fax: (85) 3391-7109
<http://www.cnpat.embrapa.br>
E-mail: sac@cnpat.embrapa.br

Comitê de Publicações da Embrapa Instrumentação

Presidente: João de Mendonça Naime
Membros: Débora Marcondes Bastos Pereira Milori, Washington Luiz de Barros Melo, Sandra Protter Gouvêa, Valéria de Fátima Cardoso.
Membro suplente: Paulo Sérgio de Paula Herrmann Júnior

Comitê de Publicações da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente: Antonio Teixeira Cavalcanti Júnior
Secretário-Executivo: Marcos Antonio Nakayama
Membros: Diva Correia, Marlon Vagner Valentim Martins, Arthur Cláudio Rodrigues de Souza, Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho, Adriano Lincoln Albuquerque Mattos e Carlos Farley Herbster Moura

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto

Capa: Mônica Ferreira Laurito, Pedro Hernandes Campaner

Imagens da capa:

Imagem de MEV-FEG de Titanato de potássio – Henrique Aparecido de Jesus Loures Mourão, Viviane Soares

Imagem de MEV de Eletrodeposição de cobre – Luiza Maria da Silva Nunes, Viviane Soares

Imagem de MEV de Colmo do sorgo – Fabrício Heitor Martelli, Bianca Lovezutti Gomes, Viviane Soares

Imagem de MEV-FEG de HPMC com nanopartícula de quitosana – Marcos Vinicius Lorevice, Márcia Regina de Moura Aouada, Viviane Soares

Imagem de MEV-FEG de Vanadato de sódio – Waldir Avansi Junior

Imagem de MEV de Fibra de pupunha – Maria Alice Martins, Viviane Soares

1ª edição

1ª impressão (2012): tiragem 300

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº. 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação na publicação.

Embrapa Instrumentação

Anais do VI Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao agronegócio 2012 – São Carlos: Embrapa Instrumentação; Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012.

Irregular

ISSN: 2175-8395

1. Nanotecnologia – Evento. I. Martins, Maria Alice. II. Rosa. Morsyleide de Freitas. III. Souza Filho, Men de Sá Moreira de. IV. Santos Junior, Nicodemos Moreira dos. V. Assis, Odílio Benedito Garrido de. VI. Ribeiro, Caue. VII. Mattoso, Luiz Henrique Capparelli. VIII. Embrapa Instrumentação. IX. Embrapa Agroindústria Tropical.



Análise da ação de filmes de quitosana e micro/nano partículas de própolis sobre colônias de bactérias gram-positivas

Rejane Celi Goy¹, Jessica Valéria de Campos¹, Rubens Bernardes Filho¹, Humberto de Mello Brandão²

¹Embrapa Instrumentação Agropecuária

²Embrapa Gado de Leite
rejanegoy@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC3

Plano de Ação: PA2

Resumo

A quitosana é um material muito conhecido pelo seu efeito antibacteriano e pela capacidade de formar filmes. Com o intuito de melhorar as propriedades inibidoras de crescimento bacteriano, estudos com a incorporação da própolis e também de partículas nanoestruturadas dessa matéria prima aos filmes de quitosana foram realizados para observar o comportamento desses novos filmes. A própolis também possui efeito contra bactérias bastante conhecido, sendo amplamente utilizado em indústrias farmacêuticas e cosméticas. O objetivo é chegar numa combinação que favoreça a capacidade inibitória do crescimento bacteriano utilizando concentrações adequadas de quitosana e própolis para aplicação em revestimento de alimentos (frutas, por exemplo) que seja eficiente sem alterar sua cor e sabor, bem como não prejudicar as propriedades filmogênicas da quitosana pela adição da própolis.

Palavras-chave: Filmes comestíveis, quitosana, própolis

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, p. 241-247, 2009.

Britto, D. ; Celi Goy, Rejane ; Campana Filho, Sergio Paulo ; Assis, Odilio B. G. . Quaternary Salts of Chitosan: History, Antimicrobial Features, and Prospects. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, v. 2011, p. 1-12, 2011.

Introdução

A preocupação com a saúde e a utilização de matérias primas naturais é o foco desse início de século XXI. Após décadas de utilização de matérias sintéticas, defensores agrícolas e materiais altamente poluentes, surgiu a conscientização mundial para preservação do meio ambiente e utilização de produtos de fonte renovável e biodegradáveis. Com grande potencial de aplicação a própolis é muito conhecida por sua ação bactericida pode contribuir com a conservação de alimentos hortifrutis inibindo o desenvolvimento de patógenos. Quitosana é um polissacarídeo que

ocorre na natureza, comumente obtido via desacetilação da quitina em meio alcalino, um abundante subproduto da indústria pesqueira. Ela é composta por co-polímeros com várias frações de unidades acetiladas com estrutura básica poli[(1 → 4)-β-2-amino-2-dioxi-D-glucose] e apresentam boa capacidade de formação de filmes estáveis e com boa plasticidade [1].

A atividade antimicrobiana dessa família de polímeros já é conhecida a bom tempo [2,3], sendo a quitina, a quitosana e seus derivados diversos, testados contra diferentes grupos de microrganismos sempre com resultados positivos [4,5]. A quitosana possui ótima propriedade

filmogênica, por isso tem sido muito explorada como membranas e películas, principalmente para o revestimento de produtos agrícolas em processos pós-colheita como embalagens e outros 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 [6,7]. A hidrofobicidade dos filmes é uma das propriedades mais importantes, que pode ser relacionada com a transferência de umidade entre o produto e o seu entorno. A perda de água para o meio ambiente nem sempre é desejável considerando que na maioria das aplicações esta característica diminui a qualidade do produto, reduzindo não só sua vida útil, como alterando suas características iniciais [8,1].

Estudos com quitosana para combater a proliferação de bactérias no processo de pós estão sendo desenvolvidos, porém, os mecanismos dessa inibição microbiana ainda está sendo definido, mas os modelos aceitos são os relacionados à natureza policatiônica desses polissacarídeos, que interage com os sítios aniônicos nas proteínas dos micro-organismos. Tal interação é mediada por forças eletrostáticas entre os grupos NH_2 protonados na quitosana e os resíduos negativos nas paredes celulares. Essa interação interfere com as paredes celulares causando alterações na permeabilidade da membrana, promovendo desbalanços osmóticos internos [2,3]. É igualmente esperado que quanto maior o grau de desacetilação, maior a densidade superficial de cargas que induzirá a atividade antimicrobiana [3,9]. Segundo Jung et al., 1999, o mecanismo por trás dessa atividade antimicrobiana pode ser descrito como dois efeitos atuantes de forma simultânea: i) os grupos amino positivamente carregados ligam-se aos ácidos sialícos nos fosfolípídeos e, por conseguinte, inibem o movimento das substâncias microbianas internas; ii) oligômeros de quitosana penetram nas células dos micro-organismos e restringem o crescimento celular através do bloqueio da transcrição do DNA em RNA, segundo modelos adotados por Hadwiger et al., 1989, e mais recentemente descritos em detalhes por Rabea et al., em 2003 [2,10].

Quando aplicada sobre superfície vegetal, a quitosana também ativa enzimas como as quitanases, β -glucanases e lipoxigenases, que estimulam a geração de espécies oxidativas. A ativação desses mecanismos protetores inibe o crescimento de patógenos e organismos

parasitários [11]. Com o objetivo de melhorar as propriedades antimicrobianas dos filmes de quitosana foi acrescentado própolis na composição dos filmes de quitosana. A própolis foi adicionada na forma de nanopartículas.

Materiais e métodos

Os testes de inibição bacteriana utilizaram filmes de quitosana pura e também combinações desse material com extrato alcoólico de própolis e própolis nanoparticulado. Os filmes foram preparados empregando a técnica de “casting” sob superfície apolar a partir de géis de quitosana na concentração 2,0g/L. A quitosana foi diluída em ácido acético 1% sob agitação magnética constante por 24h. A seguir foram adicionados o extrato puro ou as nanopartículas de própolis nas concentrações de 25 e 15%. As misturas obtidas foram vertidas sobre placas acrílicas e deixadas numa temperatura de 35-45°C sob circulação de ar na máquina para desenvolvimento de filmes comestíveis e recobrimento com sistema não contínuo Mathis LTE-S para evaporação dos solventes. Após a secagem as películas foram destacadas e recortadas em pequenos retângulos e armazenadas em dessecador. A bactéria utilizada foi a gram-positiva *Staphylococcus aureus* em meio de cultura TSB (Tryptic Soy Broth) não seletivo.

Resultados e discussão

Os testes de inibição foram feitos com os filmes previamente descritos para estudos com a bactéria *S. aureus* numa concentração de 2×10^8 bactérias/mL, que foram inoculadas em placas de Petri e partições dos filmes foram colocadas na superfície do meio de cultura. As placas ficaram 24h a 32°C em estufa de circulação para observarmos a inibição ou não dos filmes sobre o crescimento bacteriano. Após esse período de 24h foi observada a formação de halos de inibição de crescimento bacteriano principalmente pela ação dos filmes com 15% de extrato alcoólico e também pelos filmes com 25% de nanopartículas de própolis (Fig.1):

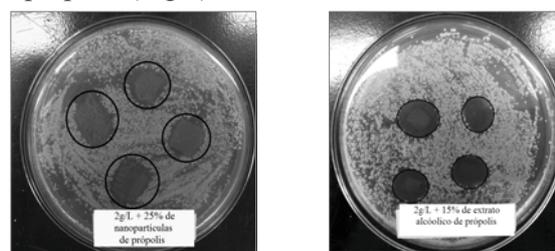


Fig. 1 – Halos de inibição

Foram realizadas análises das nanopartículas de própolis por microscopia de força atômica e foi observada a formação dessas partículas com diâmetro médio de 447 ± 141 nm (Fig. 2).

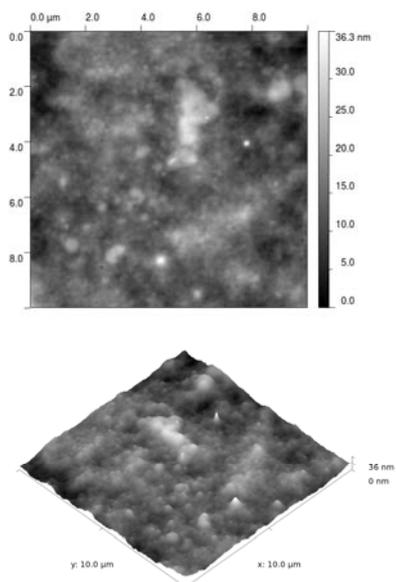


Fig.2– Imagens de MFA de nanopartículas de própolis

Conclusões

Apesar da eficiência já conhecida da quitosana e da própolis como agentes bactericidas ou bacteriostáticos, a união desses dois materiais para confecção de filmes é um estudo inovador e nas análises preliminares se mostrou eficiente, inibindo o crescimento das bactérias nas proximidades dos filmes observado pela formação dos halos de inibição ao redor das películas e mostrando que essa combinação é favorável para o desenvolvimentos de filmes comestíveis para preservação de frutos pós colheita.

Agradecimentos

CNPQ, FINEP, EMBRAPA, CAPES, PROJETO COMPONENTE 3 DA REDE AGRONANO.

Referências

1. ASSIS, O. B. G.; HOTCHKISS, J. H. Surface Hydrophobic Modification of Chitosan Thin-films by HMDS Plasma Deposition: Effects on Water Vapor, CO₂ and O₂ Permeabilities, *Packaging Technology and Science*, v. 20, p. 293-297, 2007.
2. HADWIGER, L. A., et al. Chitosan both activated genes in plants and inhibits RNA synthesis in fungi. In: RAA Muzzarelli, C. Jeuniaux, G. W. Gooday (eds.): *Chitin in nature and technology*. Plenum, New York, 209-214, 1981.
3. TSAI, G.J.; SU, W.H. Antibacterial activity of shrimp chitosan against *Escherichia coli*, *Journal of Food Protection*, v. 62, p. 239–243, 1999.
4. DEVLIEGHERE, F., et al. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables, *Food Microbiology*, v. 21, p. 703–714, 2004.
5. MÖLLER, H., et al. Antimicrobial and Physicochemical Properties of Chitosan-HPMC-Based Films, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v. 52, p. 6585-6591, 2004.
6. BÉGIN, A.; CALSTEREN, M. R. V. Antimicrobial films produced from chitosan, *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 26, p.63-67, 1999.
7. BRITTO, D.; et al. Mechanical properties of N,N,N-trimethylchitosan chloride films, *Polímeros*, v. 15, n. 2, p. 129-132, 2005.
8. ASSIS, O. B. G., SILVA, V. L. Caracterização Estrutural e da capacidade de absorção de água em filmes finos de quitosana processados em diversas concentrações, *Polímeros*, v.13, n. 4, p. 223-228, 2003.
9. CHUNG, Y.-C.; et al. Effect of abiotic factors on the antibacterial activity of chitosan against waterborne pathogens, *Bioresource Technology*, v. 88, p.179-184, 2003.
10. RABEA, E.I.; et al. Chitosan as Antimicrobial Agent: Applications and Mode of Action, *Biomacromolecules*, v. 4, n. 6, p. 1457-1465, 2003.
11. VASYUKOVA, N.I.; et al. Modulation of Plant Resistance to Diseases by Water-Soluble Chitosan, *Applied Biochemistry and Microbiology*, v. 37, n. 1, p.103-109, 2001.