

CARACTERIZAÇÃO DE FILMES À BASE DE QUITOSANA

M. G. SILVA, S. B. SILVA; J. SILVA, C. K. SANTIN, D. SOUZA, M. FROTA JR

Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Escola Politécnica, Engenharia Química e
Engenharia de Alimentos

E-mail para contato: magali.gottems@gmail.com

RESUMO –A quitina é um dos mais abundantes polímeros existentes na natureza e um dos que tem mais potencial para modificações químicas com alteração de propriedades. A quitosana [poli-(β -1/4)-2-amino-2-deoxi-D-glucopiranosose] é o nome genérico para um grupo de compostos obtidos a partir da quitina e que são parcialmente ou totalmente desacetilados. O objetivo deste estudo foi desenvolver e caracterizar filmes de quitosana visando o desenvolvimento de futuras aplicações na área de embalagens ativas para alimentos. Os filmes foram obtidos pelo método casting a partir das soluções filmogênicas de 2% e 3% (m/v) de quitosana e 0,1 % (m/v) de glicerol. As placas com a solução filmogênica foram desidratadas em estufa de circulação de ar a 35°C por 14 horas e após foram armazenadas em dessecador com solução salina (UR=76%). Os filmes obtidos foram caracterizados através da espessura, permeabilidade ao vapor d' água, solubilidade, transparência e atividade antimicrobiana. Os resultados mostraram que os filmes com 2% (m/v) de quitosana na solução filmogênica apresentaram melhores resultados em relação à transparência e de barreira ao vapor d'água, já os filmes com concentração de 3% apresentaram melhor desempenho quanto à perda por solubilização. Na avaliação da atividade antimicrobiana frente ao *Staphylococcus aureus*, todos os filmes apresentaram-se igualmente satisfatórios. Esses achados indicam a potencialidade do uso de filmes de quitosana como embalagens ativas para alimentos.

1. INTRODUÇÃO

A quitosana é um polímero de elevado peso molecular obtido a partir de desacetilação da quitina, que está presente na composição do exoesqueleto de crustáceos, insetos e também na parede celular de fungos. A quitina e a quitosana são constituídas por unidades de 2-acetamido-2-deoxi-D-glicopiranosose (N-acetil-glucosamina) e 2-amino-2-deoxi-D-glicopiranosose (glucosamina) unidas por ligações glicosídicas β (1 \rightarrow 4). Entretanto, esses dois polímeros diferem quanto à proporção relativa dessas unidades e quanto à solubilidade. Na estrutura da quitina predominam unidades de glucosamina, enquanto que na quitosana predominam as de N-acetil-glucosamina. A quitina é totalmente insolúvel nos solventes mais comuns, enquanto que a quitosana tem solubilidade limitada, sendo solúvel apenas em meio ácido com pH abaixo de 6,2 (Azevedo et al., 2007).

A quitosana é um polímero atóxico, biodegradável, biocompatível, cujas propriedades vêm sendo exploradas em aplicações industriais e tecnológicas desde o início do século passado. Entre essas propriedades, convém citar a atividade antimicrobiana, decorrente em

grande parte da presença de grupos amino livres nas unidades de glucosamina (Dutta et al., 2009; Kong et al., 2010).

Dentre as aplicações já descritas para quitosana podemos citar a utilização na agricultura (mecanismos defensivos e adubo para plantas), no tratamento de águas (floculante para clarificação, remoção de íons metálicos, polímero ecológico e redução de odores), na indústria alimentícia (fibras dietéticas, redutor de colesterol, conservante para molhos, fungicida e bactericida, recobrimento de frutas), na indústria de cosméticos (esfoliante para a pele, tratamento de acne, hidratante capilar, creme dental) e na biofarmacêutica (agente imunológico, antitumoral, hemostático e anticoagulante) (Rinaudo et al., 1989).

Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar filmes de quitosana visando o desenvolvimento de futuras aplicações na área de embalagens ativas para alimentos. Os filmes obtidos foram caracterizados através da espessura, permeabilidade ao vapor d' água, solubilidade, transparência, microscopia ótica e atividade antimicrobiana.

2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.1. Obtenção dos Filmes de Quitosana

A quitosana utilizada no presente estudo (Polymar e Nutrição S/A, Brasil) apresentava aspecto de pó e odor característico e grau de desacetilação de 86,3%. O glicerol e os demais reagentes utilizados eram de grau analítico (Merck, Brasil).

Os filmes de quitosana foram obtidos pelo método *casting* a partir da preparação de soluções filmogênicas com concentrações de 2% (m/v) e 3% (m/v) de quitosana em HCl diluído, adicionadas de 0,1 % (m/v) de glicerol. O pH final da solução filmogênica foi $3,0 \pm 0,2$ ajustado com NaOH 0,1M. Para cada concentração de quitosana foram produzidos filmes com 55 e 70 mL de solução filmogênica distribuídos em placas de polipropileno de 15 cm de diâmetro. As placas com a solução filmogênica foram levadas à estufa de circulação de ar (DeLeo, Brasil) a uma temperatura de 35°C por 14 horas. Na sequência as placas foram armazenadas em dessecador com solução salina (UR=76%).

2.2. Caracterização dos Filmes de Quitosana

Os filmes obtidos foram caracterizados através da espessura, microscopia ótica, permeabilidade ao vapor d'água, solubilidade, transparência e atividade antimicrobiana frente ao microrganismo *Staphylococcus aureus*. Todas as propriedades foram analisadas com base em nove réplicas. Os resultados obtidos foram submetidos à Análise de Variância (Anova) e ao Teste de Tukey para comparação entre as médias a 5% de significância (Assistat, Brasil).

Espessura: A análise da espessura foi realizada utilizando um paquímetro, sendo as medições foram realizadas em quatro pontos distintos do filme.

Permeabilidade ao vapor d'água: A análise foi realizada através de método gravimétrico tendo como base a metodologia ASTM E96-00 (2002). Uma cápsula impermeável contendo um material higroscópico (sílica-gel) foi coberta com cada um dos filmes de quitosana e foi colocada em ambiente com alta umidade relativa à temperatura ambiente. O ganho de massa da cápsula ao

longo do tempo foi usado para calcular a taxa de permeabilidade ao vapor d'água através do filme (PVA), conforme a Equação 1. Nesta equação, m/t é o coeficiente angular obtido por regressão linear dos pontos obtidos experimentais de ganho de massa m da célula de medição por unidade de tempo t em g/h, x é a espessura média do filme em mm, A é a área exposta dos filmes em m^2 e ΔP é o diferencial de pressão de vapor da água através do filme em Pa.

$$PVA = \frac{m}{t} \times \frac{x}{A \times \Delta P} \quad (1)$$

Solubilidade: A análise de solubilidade baseou-se na metodologia proposta por Fakhouri (2007), onde o percentual de solubilidade é considerado como a porcentagem de massa seca do filme solubilizado após 24 horas de imersão em água. O percentual de solubilidade (**SOL**) é obtido através da Equação 2, onde m_i é a massa inicial do filme e m_f é a massa final do filme.

$$SOL = \left(m_i - \frac{m_f}{m_i} \right) \times 100 \quad (2)$$

Transparência: A transparência dos filmes de quitosana foi avaliada através da medida da transmitância do filme no comprimento de onda de 600 nm, medida em espectrofotômetro (Agilent, USA), sendo expressa como percentagem de transparência dos filmes.

Microscopia Ótica: Os filmes foram submetidos análise em Microscópio Ótico (Scope A1 AXIO) para verificação de bolhas, impurezas e homogeneidade do filme.

Atividade Antimicrobiana: A metodologia empregada para a avaliação da atividade antimicrobiana dos filmes teve como base o método de difusão com discos de Bauer e Kirby modificado pelo FDA, proposto por Ribeiro e Soares (2002). A modificação do método está na utilização de discos de filmes de quitosana ao invés de discos de antibióticos. Os filmes de quitosana foram testados frente ao microrganismo *Staphylococcus aureus* inoculado em placas de Petri com Ágar Nutriente, utilizando discos de 0,8 cm de diâmetro de filme. A atividade antimicrobiana é evidenciada pelo surgimento de halos de inibição em torno dos discos, os quais foram medidos com auxílio de um paquímetro e expressos em milímetros.

3. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Os filmes apresentaram-se contínuos com presença de algumas regiões rugosas junto ao perímetro e com aspecto quebradiço logo após a secagem. Em alguns filmes foi possível observar regiões de baixa homogeneidade de coloração (regiões mais claras e outras mais escuras). Após 24h em dessecador com umidade controlada, os filmes adquiriram melhor manuseabilidade, sendo que os filmes de concentração 3% apresentaram-se mais resistentes e mais opacos do que os de 2%, já os filmes de 2% apresentavam brilho na superfície em contato com a placa. A Figura 1 mostra exemplos dos filmes produzidos.

Os filmes de quitosana produzidos foram submetidos a análise em microscópio ótico, a Figura 2 ilustra imagens obtidas durante os ensaios. É possível observar na Figura 2A, regiões opacas e outras com pequenas partículas dispersas, tendo-se portanto, um filme heterogêneo quanto a dispersão dos reagentes durante o processo de obtenção dos filmes. As áreas opacas podem ser relacionadas a uma má dissolução do hidróxido de sódio, introduzido para ajustar o

pH da solução. Na Figura 2B observa-se uma melhor homogeneidade quanto a solubilização da base no filme obtido, porém observa-se uma maior concentração de sal (NaCl) presente.

Figura 1 – Filmes de Quitosana.

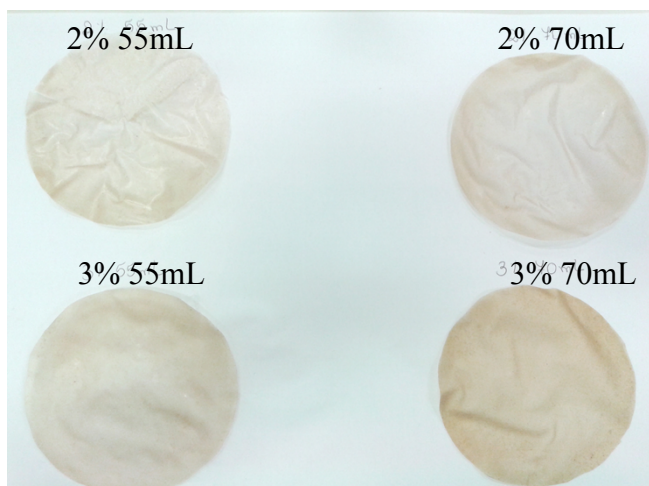
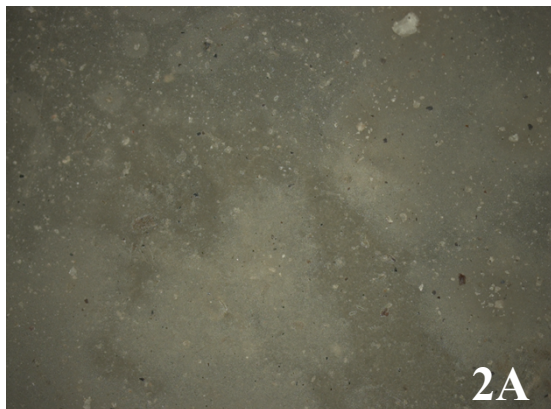


Figura 2 – Análise dos filmes por microscopia ótica



Os resultados referentes à medida da espessura, da permeabilidade ao vapor d'água, da solubilidade, da transparência e da atividade antimicrobiana dos filmes são apresentados na Tabela 1. Em relação a análise de espessura, os filmes de concentração 2% e 3% 55 mL apresentaram-se um pouco mais finos. A espessura dos filmes está diretamente relacionada com a transparência, sendo esses também os filmes mais transparentes, como observado na Tabela 1. A transparência é uma propriedade muito importante em filmes para embalagens de alimentos, onde uma boa transparência é garantia de uma boa visualização do conteúdo interno da embalagem. Por outro lado, filmes muito transparentes podem não conferir proteção adequada contra a incidência da luz, que pode desencadear efeitos danosos sobre a qualidade do produto (BROWM, 1992). Os filmes de concentração 2% obtiveram uma melhor transparência, mesmo assim a transparência dos filmes é baixa, considerando a transparência de um filme de polietileno de espessura similar que é de 52,4%.

Tabela 1 – Espessura, permeabilidade ao vapor d'água, solubilidade, transparência e atividade antimicrobiana dos filmes obtidos

Análises	2% 55mL	2% 70mL	3% 55mL	3% 70mL
Espessura (mm)	0,0938 ^b	0,101 ^b	0,113 ^b	0,142 ^a
Solubilidade (%)	37,5 ^a	37,2 ^a	35,7 ^{ab}	34,7 ^b
Transparência (%)	16,1 ^a	14,9 ^a	11,9 ^{ab}	8,34 ^b
Atividade Antimicrobiana (mm)	7,1 ^{bc}	8,6 ^{ab}	6,6 ^c	9,3 ^a
Permeabilidade ao vapor d'água (g.mm/h.m ² .Pa)	0,00615 ^b	0,00773 ^{ab}	0,00854 ^{ab}	0,0101 ^a

Médias seguidas pela mesma letra em uma mesma linha não diferem estatisticamente entre si a nível de 5% de significância

A espessura dos filmes também tem relação com a permeabilidade ao vapor d'água, em teoria filmes mais finos deveriam oferecer menor barreira à permeabilidade ao vapor d'água, no entanto há várias exceções a essa regra. Segundo Sarantopoulos et al. 2002, filmes com defeitos e irregularidades podem apresentar um aumento da permeabilidade com o aumento da espessura, pois as irregularidades ou microfuros do material podem resultar em alta taxa de permeabilidade. Isso explicaria os resultados obtidos para a permeabilidade.

Com relação à solubilidade, os filmes apresentaram considerável perda de massa, o que de certa forma é comum em filmes obtidos de polissacarídeos, tipicamente sensíveis a solubilização em água. Os filmes a 3% apresentaram-se menos solúveis em relação aos filmes 2%. Alterações na formulação poderiam melhorar o desempenho neste quesito.

No que diz respeito à análise de atividade antimicrobiana frente ao *S. aureus*, pode-se verificar que todos os filmes obtidos apresentaram resultado igualmente satisfatório neste quesito, indicando potencial do uso destes filmes em embalagens ativas para alimentos. O *S. aureus* é um microrganismo tipicamente associado à contaminação microbiana proveniente de manipulação inadequada de alimentos (JAY, 2005). Um filme que tenha efeito antimicrobiano contra esse microrganismo seria especialmente interessante para aqueles produtos que necessitam de manipulação durante o processo produtivo, como a maturação e o fatiamento de queijos, por exemplo.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O projeto de pesquisa associado ao desenvolvimento deste trabalho encontra-se em andamento. A partir dos resultados obtidos até o momento, observou-se a necessidade de modificar a formulação dos filmes, considerando principalmente os resultados da microscopia ótica, transparência e permeabilidade ao vapor d'água, que demonstraram a falta de homogeneidade dos filmes. Uma modificação na formulação já está sendo desenvolvida, e até

o momento, os experimentos têm sido satisfatórios. Assim como o desenvolvimento de novas análises de caracterização.

Também está prevista a aplicação de filmes e coberturas de quitosana em queijos do tipo colonial e a análise de parâmetros de qualidade como: perda de massa, contagem de bolores e leveduras e índice de acidez e de peróxidos.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pelo apoio financeiro à pesquisa e pela concessão de bolsa de Iniciação Científica.

6. REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, V. V. C. et al. Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v. 2.3, p. 27-34, 2007.
- BROWN, W. E. *Plastics in food packaging - properties, design and fabrication*. New York: Marcel Dekker Inc., 1992. p.8-10.539p.
- DUTTA, P. K. et al. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, v. 114, n. 4, p. 1173-1182, 2009.
- FAKHOURI, F. M.; FONTES, L. C. B.; GONÇALVES, P. V. M.; MILANEZ, C. R.; STEEL, C. J.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. Filmes e coberturas comestíveis composta à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 2, 2007.
- JAY, James M. *Microbiologia de alimentos*. 6ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- KONG, M. et al. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*, v. 144, n. 1, p. 51-63, 2010.
- RIBEIRO, Mariângela Cagnoni; SOARES, Maria Magali S. R. *Microbiologia Prática: roteiro e manual - bactérias e fungos*. São Paulo: Atheneu, 2002. 112p.
- RINAUDO, M; DOMARD, A. *Solution properties of chitosan*. In: Skjak-Braek G, Anthonsen T, Sandford P, editors. Chitin and chitosan: sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications. London and New York: Elsevier; p. 71-86, 1989.
- SARANTOPOULOS, Claire I. G. L.; OLIVEIRA, Léa M.; PADULA, Marisa; COLTRO, Leda; ALVES, Rosa M.V.; GARCIA, Elísa E. C. *Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades*. Campinas: CETEA/ITAL, 2002.