

AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DE FILMES POLIMÉRICOS FUNCIONALIZADOS COM QUERCETINA E ÁCIDO CÍTRICO DIRECIONADOS PARA APLICAÇÃO EM EMBALAGENS

SARAH KALLI SILVA DA SILVA¹; MARLON BENDER BUENO RODRIGUES²;
NATHALIA VIEIRA VILLAR DE NUNES²; ANA VITÓRIA CASTRO²; FABIO
PEREIRA LEIVAS LEITE³; ANDRÉ LUIZ MISSIO⁴.

¹Universidade Federal de Pelotas – kallisarah01@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – marlonbueno50@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – nathaliannunes@hotmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – anavitoriacost4@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – fleivasleite@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – andreluizmissio@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os materiais oriundos do petróleo, apresentam elevado impacto ambiental devido à sua baixa biodegradabilidade e alta emissão de poluentes. Apesar disso, eles são amplamente utilizados para embalagens alimentícias e são responsáveis por cerca de 40% dos resíduos plásticos globais (DIOP, 2023).

Desse modo, faz-se importante o desenvolvimento de materiais que sejam mais sustentáveis e biodegradáveis (NETO, 2020). Polímeros biodegradáveis sofrem decomposição microbológica e, descartados corretamente, esses materiais são degradados em meses ou semanas, evitando o acúmulo de rejeitos (SILVA, 2021). Dentre tantos, pode-se destacar o álcool polivinílico (PVA) que é um polímero sintético, biodegradável, hidrofílico, com baixa toxicidade e com grande potencial para produção de filmes ativos, além do seu baixo custo e alta compatibilidade com alimentos (AREFIAN, 2020).

Além de um polímero que seja biodegradável, é importante o enriquecimento do produto desejado para aumentar diversas propriedades, como mecânica, antioxidante e antimicrobiana. Ainda é um desafio para a comunidade científica, um plástico com estas propriedades e que se compare aos polímeros já existentes no mercado. Uma alternativa promissora para aumentar o tempo de prateleira e reduzir o uso de conservantes sintéticos - que possuem potencial cancerígeno, são embalagens ativas, que ajudam a aumentar a qualidade alimentar e reduzem as chances de prejudicar a saúde humana (SILVA, 2021).

Atualmente, a incorporação de compostos fenólicos, como flavonoides, em filmes têm sido bastante explorada, para obtenção de melhores propriedades (SUTHARSAN, 2022). Esses compostos naturais têm a capacidade de interagir com o produto embalado e o ambiente, ao usarmos em embalagens, é possível minimizar ou até mesmo eliminar o uso de antioxidantes sintéticos (Jakubowska, 2023). Flavonóides compõem uma classe de compostos bioativos presentes em alimentos como chocolate, vinho tinto, frutas e hortaliças (IVEY ET AL., 2015). Um excelente exemplo é a quercetina, flavonóide mais abundante (Simões, 2013), devido suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anticarcinogênicas (ATALA ET AL., 2017)

O ácido cítrico é um ácido orgânico, inodoro, solúvel em água, atóxico e biodegradável. Além disso, está presente em compostos cítricos e apresenta características antioxidantes e reguladoras de acidez (CAVALINI, 2012). Devido sua composição, é capaz de reagir com grupos hidroxila presentes em cadeias de glicerol, amido ou PVA. Esse ácido se torna mais hidrofóbico e melhora propriedades do filme (CASTRO, 2023).

Diante do exposto, torna-se necessário o desenvolvimento de materiais alternativos, baseados em polímeros biodegradáveis que possam minimizar os danos causados ao meio ambiente e que tenham propriedades semelhantes aos plásticos petrolíferos. Portanto, o presente trabalho visa desenvolver filmes a base de álcool polivinílico (PVA) e glicerina, enriquecidos com quercetina e ácido cítrico. Objetiva-se também avaliar as propriedades mecânicas e antimicrobianas de diferentes composições.

2. METODOLOGIA

Foram produzidas quatro composições para os filmes. Essas são álcool polivinílico P.S. em pó (C_2H_4O)_n, da marca Dinâmica Ltda., glicerina P.A – ACS ($C_3H_5(OH)_3$) da marca Dinâmica Ltda, extrato de quercetina - adquirido de forma comercial e ácido cítrico P.A ACS em pó ($C_6H_8O_7$), da marca Dinâmica Ltda. Realizaram-se os procedimentos no Laboratório de Polímeros e Materiais Lignocelulósicos na Universidade Federal de Pelotas.

Amostras	PVA (g)	Q (g)	AC (g)
PVA	0,1584	—	—
PVA/Q	0,1584	0,0198	—
PVA/AC	0,1584	—	0,0099
PVA/Q/AC	0,1584	0,0099	0,0099

Tabela 1: Concentrações e composições dos filmes; PVA e glicerina; PVA, glicerina e extrato de quercetina; PVA, glicerina e ácido cítrico; PVA, glicerina, extrato de quercetina e ácido cítrico. Fonte: o autor, 2023.

Os reagentes foram pesados individualmente, em balança analítica da marca Shimadzu (ATX224) e diluídos em 15mL de água destilada. O PVA e a glicerina seguem as mesmas concentrações e metodologia em todas as amostras. Primeiro, preparou-se a solução de PVA em 15ml de água destilada, a uma temperatura de 70°C, aquecida por 30 minutos, sob agitação magnética. Em seguida, adicionou-se 35µL de glicerina e aguardou-se mais 15 minutos para a homogeneização. A amostra PVA, é o controle, por esta razão só foi adicionado glicerina. Na PVA/Q, após a glicerina, adicionou-se o extrato de quercetina à solução. Na composição PVA/AC, posterior ao acréscimo de glicerina, adicionou-se o ácido cítrico à mistura. Na amostra PVA/Q/AC, depois da glicerina, acrescentaram-se quercetina e ácido cítrico à solução. Para a preparação dos filmes, utilizou-se a técnica *casting*. Assim que as misturas estavam homogeneizadas, verteu-se em forma de silicone e foram colocados em estufa de secagem a 50 °C até secar completamente. Para analisar a capacidade antibacteriana, realizou-se teste de turbidez de acordo com a escala MCFarland.

O experimento microbiológico in vitro foi efetuado no Laboratório de Microbiologia do curso de Biotecnologia, na UFPEl. A atividade antibacteriana dos filmes (PVA; PVA/Q; PVA/AC e PVA/Q/AC) foi realizada frente às bactérias: *Streptococcus equi* (gram-positivos) e *Escherichia coli star* (gram-negativo) (SAID et al., 2011), em cabine de fluxo laminar (VECO, Cam pina, SP, BR). As bactérias isoladas foram semeadas em tubos com meio de cultura BHI e incubadas a 37°C por 18 horas. Decorrido o período de incubação, utilizou-se 30µl de suspensões bacterianas em 10mL de solução tampão PBS (Salina-Fosfato), com turvação

correspondente à 0,5 da escala Mac Farland (1.106 UFC/mL). Através de duplicatas, semeou-se as duas bactérias na mesma placa. Dividiu-se em quatro, obtendo dois quadrantes com *S. equi*, um com filme e outro sem, seguindo o mesmo padrão para *E. coli*. Seguiu-se essa metodologia para todas as amostras. O ensaio de sensibilidade microbiana dos filmes e os agentes antimicrobianos foram realizados mediante a técnica de difusão com discos de antibiograma nas normas CLSI com modificações (CLSI, 2019). Os filmes foram cortados em retângulos de aproximadamente 10mmX15mm tratados previamente com luz UV e colocados na superfície dos meios de cultura, com uma pinça autoclavada. O processo de incubação iniciou-se depois das placas secas sob temperatura de 37°C por 24 horas. A leitura dos resultados da atividade antibacteriana foi feita mensurando a inibição das amostras.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os filmes PVA, PVA/Q e PVA/Q/AC não apresentaram inibição a nenhuma das bactérias analisadas. As amostras PVA, PVA/AC e PVA/Q/AC se liquefizeram. Pode-se observar uma zona de inibição contra *Streptococcus equi*, uma vez que bactérias gram-positivas (*S. equi*) são mais sensíveis ao ácido cítrico do que as bactérias gram-negativas (*E. coli*) (WEN, 2021).

A amostra PVA, o controle, não apresenta atividade antimicrobiana, dessa forma pode-se observar uma maior quantidade de contaminantes.

A composição PVA/AC, mesmo se liquefazendo, apresentou zona inibitória. Isso pode ser explicado pelo fato de que o mecanismo antibacteriano de ácidos orgânicos, como o ácido cítrico, agrega-se a membrana celular das bactérias, quebrando o sistema de síntese entre proteínas e membrana celular, inibindo a propagação de bactérias (WU, 2017). Esse mecanismo dos ácidos orgânicos, acontece ao combinar-se com a membrana bacteriana, gerando dano à membrana extracelular e destruindo o equilíbrio dinâmico do pH intracelular (AYTAC, 2020).

Apesar da atividade antimicrobiana da quercetina contra diferentes cepas bacterianas já ter sido anteriormente comprovada (Rubinil., 2020), os filmes PVA/Q e PVA/Q/AC não apresentaram inibição para os microrganismos *S. equi* e *E. coli*, sendo visualizado também NETO, 2020. Não sabe-se ao certo por qual razão não apresentou inibição bacteriana, tendo em vista que utilizou-se o dobro da concentração usada por NETO, 2020. Entretanto, mesmo não sendo capazes de inibir completamente a atividade microbiana, essa foi a única amostra que não se liquefez.

A presença da cultura bacteriana na maioria dos filmes, demonstra que a concentração de quercetina e ácido cítrico, utilizados na preparação das amostras, foi insuficiente para inibir o crescimento das bactérias analisadas.

4. CONCLUSÕES

Dentre as composições testadas neste trabalho, o filme PVA/AC, obteve um desempenho melhor no efeito antimicrobiano. Os resultados sugerem a importância da realização de outros ensaios antimicrobianos complementares, tendo em vista que cada tipo de teste permite uma perspectiva de avaliação diferente. Como perspectivas futuras, visa-se a caracterização de outros parâmetros dos filmes, assim como sua aplicação em matrizes alimentícias.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DIOP, C.I.K.; Beltran, S.; Sanz, M.T. Designing bilayered composite films by direct agar/chitosan and citric acid-crosslinked PVA/agar layer-by-layer casting for packaging applications. **Food Hydrocolloids**, V. 144, 2023. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108987.
- CASTRO, J. M. Thermoplastic starch/polyvinyl alcohol blends modification by citric acid-glycerol polyesters. **International Journal of Biological Macromolecules**. V. 224, 2023. doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125478.
- AREFIAN, Mehrnoosh et al. A review of Polyvinyl alcohol/Carboxymethyl cellulose (PVA/CMC) composites for various applications. **Journal of Composites and Compounds**, v. 2, n. 3, p. 69-76, 2020.
- HELMİYATI, H. Antimicrobial packaging of ZnO-Nps infused into CMC-PVA nanocomposite films effectively enhances the physicochemical properties. **Polymer Testing**. V. 104, 2021. https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2021.107412.
- SILVA, I.D.L. **Desenvolvimento de filmes ativos antimicrobianos e antioxidantes de PVA aditivado com extratos vegetais de plantas do sertão**. 2021. Tese (Doutorado em Ciências de Materiais) - Programa de Pós Graduação em Ciência de Materiais, Universidade Federal de Pernambuco.
- NETO, J. C.; **Obtenção de filmes de pectina contendo quercetina para uso no tratamento de feridas cutâneas**. 2021. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Estadual do Oeste do Paraná.
- CAVALINI, E. A. **Filmes finos obtidos a plasma em reagentes contendo ácido cítrico/etilenoglicol**. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) - Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, Universidade Estadual Paulista.
- LUCHESE, B. R. **Desenvolvimento de filmes de amido incorporados com cera de abelha por casting contínuo**. 2019. Dissertação (Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais) - Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos.
- JUVENCIO, L. R. F. **Preparação e caracterização de filme de PVA/quitosana/colágeno visando a aplicação como curativo cutâneo**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) - Programa de Pós Graduação em Ciência dos Materiais, Universidade Federal de São Carlos.
- SUTHARSAN, J. Physicochemical properties of chitosan edible films incorporated with different classes of flavonoids. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**. V. 4. 2022. https://doi.org/10.1016/j.carpta.2022.100232
- WU, Z. Preparation and Application of Starch/Polyvinyl Alcohol/Citric Acid Ternary Blend Antimicrobial Functional Food Packaging Films. **MDPI Polymers**. V. 9. 2017. https://doi.org/10.3390/polym9030102
- WEN, L. Design of multifunctional food packaging films based on carboxymethyl chitosan/polyvinyl alcohol crosslinked network by using citric acid as crosslinker. **Polymer**. V. 230. 2021 https://doi.org/10.1016/j.polymer.2021.124048.
- The American Journal of Clinical Nutrition
- IVEY, K.L. Flavonoid intake and all-cause mortality. **The American Journal of Clinical Nutrition**. V. 101, 2015. https://doi.org/10.3945/ajcn.113.073106
- ATALA, E. Quercetin and related flavonoids conserve their antioxidant properties despite undergoing chemical or enzymatic oxidation. **Food Chemistry**. V 234. 2017. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.023