



AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANO DO EXTRATO DE ANGICO-DE-CAROÇO EM FILMES DE QUITOSANA

Evaluation of the antioxidant and antimicrobial potential of angico-de- caroço extract in chitosan films

Janilson Silvestre da HORA¹, Ivo Diego de Lima e SILVA², Viviane Fonseca CAETANO¹, Gloria Maria VINHAS¹, Fernando HALLWASS³

RESUMO: A quitosana é um biopolímero atóxico, biodegradável e biocompatível obtido a partir da reação de desacetilação da quitina. É um polímero que tem grande potencial para ser utilizado como matriz polimérica para fins de embalagens ativas alimentícias. O angico-de-caroço é uma árvore que pode ser encontrada de forma abundante no sertão nordestino brasileiro. Na literatura são relatados trabalhos que mostraram que o extrato da casca do caule apresentou propriedades antimicrobianas, sendo então um aditivo em potencial para embalagens antimicrobianas. Neste trabalho foram avaliadas as propriedades antioxidante e antimicrobiana do extrato vegetal de angico-de-caroço, bem como a possibilidade de sua incorporação em filmes de quitosana. Foram realizadas extrações com diferentes tempos e foram preparados filmes de quitosana através da técnica de *solution casting*, utilizando as concentrações de 0, 1, 5 e 10 % m/m de extrato vegetal de angico-de-caroço. Foram avaliadas as propriedades antimicrobianas e antioxidantes do extrato. Os resultados mostraram que é possível a incorporação desse extrato em filmes de quitosana e que o extrato apresentou atividade antioxidante e antimicrobiana para as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, que são os principais microrganismos indicadores de contaminação em alimentos.

Palavras-chave: Quitosana, Extrato de angico-de-caroço, Antioxidante, Antimicrobiana.

ABSTRACT: Chitosan is a non-toxic, biodegradable and biocompatible biopolymer obtained from the chitin deacetylation reaction. It is a polymer that has great potential to be used as a polymeric matrix for food packaging purposes. The *angico-de-caroço* is a tree that can be found in abundant form in the Brazilian northeastern. The literature reported that the stem bark extract of *angico-de-caroço* has antimicrobial properties, being a potential additive for antimicrobial packaging. In this work, the antioxidant and antimicrobial properties of the plant extract of *angico-de-caroço* were evaluated and if it is possible to incorporate it in chitosan films. The extraction was performed at different times and chitosan films were prepared using the solution casting technique at the concentration of 0, 1, 5 and 10 % w/w of the *angico-de-caroço* plant extract. The extract's antimicrobial and antioxidant properties were evaluated. The results showed that it is possible to incorporate this extract in chitosan films and the extract showed antioxidant and antimicrobial activity for the bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, which are the main microorganisms indicator of contamination in food.

Key words: Chitosan, Angico-de-caroço extract, Antioxidant, Antimicrobial.

*Autor para correspondência

Recebido para publicação em 20/04/2021; aprovado em 05/06/2021

¹Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE. E-mail: janilsondahora@gmail.com, viviane_fc@yahoo.com.br, gmvinhas@yahoo.com.br

²Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Materiais, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE. E-mail: ivo.diego91@gmail.com

³Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE. E-mail: fernando.hallwass@ufpe.br

INTRODUÇÃO

A quitosana é o segundo biopolímero mais abundante na Terra. É um polímero biodegradável, não tóxico, biocompatível, biofuncional e barato, sendo a preservação de alimentos contra deterioração microbiana uma de suas aplicações na indústria de alimentos (MANIGANDAN et al, 2018). Na condição seca, os filmes de quitosana oferecem baixa permeação a gases, inferiores inclusive aos medidos para o politereftalato de etileno (PET) ou policloreto de vinila (PVC), sendo adequados para embalar alimentos lipídicos (SANTANA et al, 2013) e suas propriedades mecânicas podem ser comparadas ao de muitos polímeros comerciais de resistência mediana usado na indústria alimentícia (MANIGANDAN et al, 2018).

Na matriz polimérica da quitosana, é possível modificar suas propriedades através da incorporação de aditivos. O extrato de angico-de-carço encontra-se no sertão do nordeste brasileiro e apresenta grande potencialidade como agente ativo antimicrobiano, pois segundo a literatura o extrato vegetal apresenta inibição para a espécie *Staphylococcus aureus* (WEBER SOBRINHO, 2010). A *Anadenanthera columbrina* (Vell.) Brenan var. Cebil (Griseb.) Von Reis Alt. ou conhecida popularmente como angico, angico-de-carço, angico vermelho, angico preto angico-do-campo, arapiraca, curupaí e angico-de-casca é uma árvore de grande porte com caule tortuoso medindo entre 13 e 20 metros de altura, possui casca vermelha, grossa e muito rugosa (SANTANA, 2011).

Neste trabalho foi avaliado o melhor tempo de extração, para otimizar as atividades antioxidante e antimicrobiana do angico-de-carço. Posteriormente foram produzidos filmes de quitosana em diferentes composições.

MATERIAL E MÉTODOS

Extração dos componentes ativos

A extração dos componentes ativos do angico-de-carço foi realizada por meio do aparelho Soxhlet. Foram feitas extrações com etanol em triplicata nos tempos de 4, 6 e 8 horas para posterior verificação do rendimento da extração. O cálculo do rendimento foi realizado considerando a medida do volume final obtido da extração e a massa inicial usada na extração. Foi retirado 1 mL do volume final e colocado para secagem em estufa a 80°C. A massa obtida da secagem foi pesada e multiplicada pelo volume final obtido. Assim tem-se a massa presente no volume final e de posse desse resultado e do valor inicial da massa do vegetal triturado, o rendimento foi calculado.

Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi mensurada da seguinte forma: 0,3 mL do extrato com concentração 200 µg.mL⁻¹ foi misturado com 3 mL da solução reagente (ácido sulfúrico 0,6 mol.L⁻¹, fosfato de sódio, 28 mmol.L⁻¹ e molibdato de amônio 4 mmol.L⁻¹). Após reação por 90

minutos, a 95 °C, as amostras foram arrefecidas à temperatura ambiente e suas absorbâncias mensuradas a no espectrofotômetro UV-Vis da marca EDUTECH a 695 nm. O ensaio foi realizado em triplicata e os resultados expressos em porcentagem de atividade antioxidante.

Atividade antimicrobiana

Foi testada a atividade antimicrobiana em placas pelo método da difusão em meio sólido adaptado. Para isso, foi usado o extrato previamente seco em estufa a 80 °C. O meio utilizado foi o ágar e as bactérias utilizadas para a avaliação foram: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* e *Staphylococcus aureus*, sendo que não foi utilizado o disco impregnado com o antimicrobiano, mas sim a própria amostra do extrato de angico-de-carço, sendo essa técnica conhecida como técnica do poço. A análise foi feita em duplicata e a verificação da atividade foi feita após 24 horas e as medidas do halo de inibição foram feitos após 24 e 48 horas.

Produção dos filmes

Os filmes foram preparados através da técnica de *solution casting*. Inicialmente pesou-se a quantidade de massa de quitosana descrita na Tabela 1 e em seguida foi adicionado 100 mL da solução de 1 % (v/v) de ácido acético. Essa solução foi colocada sob agitação durante 1 h. Passado este tempo, foi adicionado à solução o extrato vegetal na quantidade descrita na Tabela 1 e colocada sob agitação por mais 15 minutos. Após esse período, a solução filmogênica foi vertida em uma placa de Petri e colocada em uma estufa de secagem à 40 °C para evaporação do solvente durante 24 h.

Tabela 1 - Composição dos filmes quitosana aditivados com extrato de angico-de-carço.

| Concentração do extrato (% m/m) | Massa de quitosana (g) | Massa do extrato vegetal (g) |
|---------------------------------|------------------------|------------------------------|
| 0 | 1,000 | 0,000 |
| 1 | 0,990 | 0,010 |
| 5 | 0,950 | 0,050 |
| 10 | 0,900 | 0,100 |

Registro dos espectros dos filmes

Os espectros de infravermelho médio dos filmes foram registrados pela técnica de reflexão total atenuada, utilizando um espectrômetro FTIR modelo IRTracer-100 da marca Shimadzu. Os espectros MIR dos filmes foram obtidos utilizando a faixa espectral de 4000 a 600 cm⁻¹, nas seguintes condições: resolução de 4 cm⁻¹ e média de 16 varreduras.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Extração e rendimento do extrato vegetal

Os resultados da extração do extrato vegetal por Soxhlet estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Rendimento da extração por Soxhlet dos componentes ativos presentes na casca do angico-de-carço.

| Tempo de extração (h) | Rendimento (%) |
|-----------------------|----------------|
| 4 | 15,13 ± 2,10 |
| 6 | 16,88 ± 0,95 |
| 8 | 16,62 ± 1,14 |

A partir dos resultados da Tabela 2, pode-se verificar que o maior rendimento obtido foi com seis horas de extração. Aplicando-se o teste de Tukey para comparação das médias dos rendimentos a um nível de significância de 5 %, foi constatado que não houve diferença significativa entre os tempos de extração ($p > 0,05$). Assim, o rendimento da extração é o mesmo entre os tempos de extração de 4, 6 e 8 horas em níveis estatísticos. Portanto, a extração já se faz satisfatória com um tempo de 4 horas, pois dessa forma o tempo da extração é otimizado já que uma extração de 4 horas é capaz de render estatisticamente a mesma quantidade de material que em uma extração de tempo maior. Além disso, o menor tempo garante que não haja degradação do óleo vegetal.

Atividade antioxidante

O percentual de atividade antioxidante das amostras resultou no valor de 29,85 %. Como os resultados da atividade antioxidante pela redução do complexo fosfomolibdênio para o angico-de-carço ainda não são encontrados na literatura, foi tomado como base para avaliação do resultado obtido, as pesquisas de Paula (2014), Emerenciano et al (2013) e Moreira (2012) onde a atividade antioxidante para os seus compostos estudados foi considerada satisfatória para valores acima de 20 %. Portanto, como o angico-de-carço apresentou atividade antioxidante no valor de 29,85 %, pode-se considerar então que essa capacidade antioxidante seja satisfatória.

Atividade antimicrobiana

As Figuras 1, 2 e 3 mostram os resultados em 48 horas de incubação. O extrato apresentou atividade antimicrobiana para as espécies bacterianas *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, porém não apresentou inibição para as bactérias *Enterobacter aerogenes*, que são os principais microrganismos indicadores de contaminação em alimentos. Os resultados dos halos de inibição estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 – Diâmetro do halo de inibição.

| Bactéria | Diâmetro do halo (mm) em 48 hs |
|-------------------------------|--------------------------------|
| <i>Enterobacter aerogenes</i> | 0 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 18 |
| <i>Escherichia coli</i> | 10 |

Figura 1 - Atividade antimicrobiana após 48 horas para *Escherichia coli*.

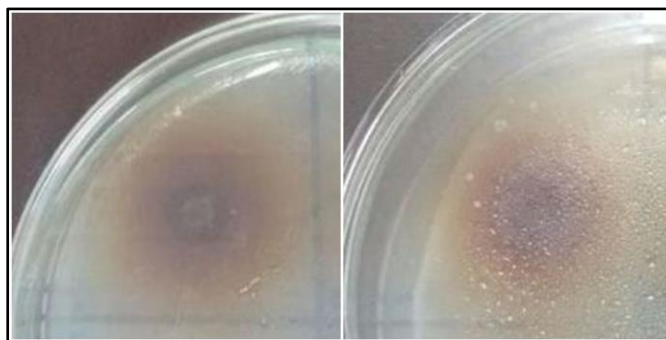


Figura 2 - Atividade antimicrobiana após 48 horas para *Staphylococcus aureus*.

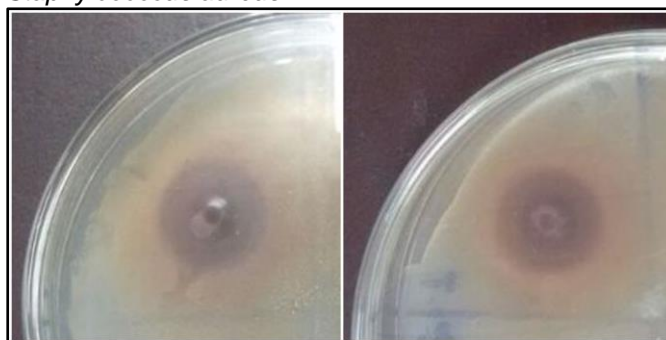
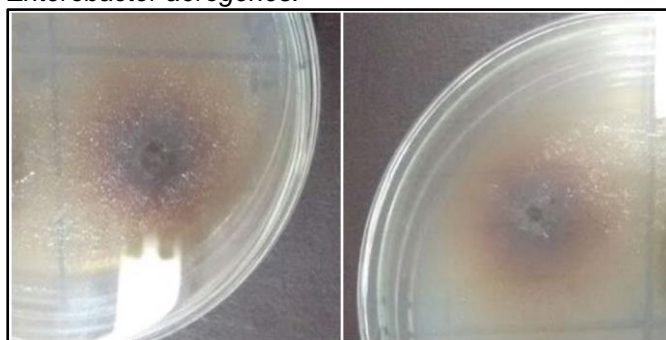


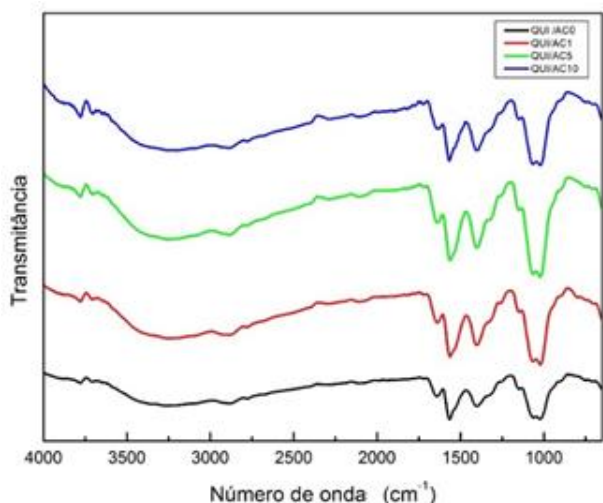
Figura 3 - Atividade antimicrobiana após 48 horas para *Enterobacter aerogenes*.



Espectro de Infravermelho dos filmes de quitosana

A Figura 4 mostra os espectros representativos dos filmes de quitosana aditivados com extrato de angico-de-carço. Através da Figura 4 verifica-se que o extrato não alterou significativamente as bandas de absorção, provavelmente devido à baixa concentração do extrato e a possibilidade de ter ocorrido sobreposição de bandas. Isso mostra que não houve alterações químicas significativas na matriz polimérica da quitosana com a incorporação do extrato. As bandas características da quitosana são em 3570-3200 cm^{-1} , 2955-2845 cm^{-1} , 1658-1630 cm^{-1} , 1570-1515 cm^{-1} , 1406 cm^{-1} , 1154 cm^{-1} que correspondem as vibrações do -OH sobreposto com N-H, C-H, C=O, -NH₂, -CH₂ e C-O-C, respectivamente.

Figura 4 - Espectros de IV representativos dos filmes de quitosana aditivados com extrato de angico-de-carço nas concentrações de 0, 1, 5 e 10 % m/m.



EMERENCIANO, D. P., CRUZ, A. M. F., PEREIRA, J. D. S., MOURA, M. F. V. & MACIEL, M. A. M. Determinação da Propriedade antioxidante e teores de minerais presentes nas folhas de *Azadirachta indica* A. Juss. Revista Fitos, v. 8, p. 73-160, 2013.

MOREIRA, T. F. 2012. Caracterização fitoquímica e avaliação das atividades biológicas de *Rhamnus sphaerosperma* var. *Pubescens* (Reissek) M.C. Johnst. (Rhamnaceae). 2012. 96f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Paraná, 2012.

CONCLUSÕES

Neste trabalho, determinamos o melhor tempo para extração do angico-de-carço, que foi de 4 horas. O extrato obtido apresentou atividade antioxidante e antimicrobiana frente às bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Os filmes de quitosana com o extrato de angico-de-carço em diferentes composições não apresentaram diferenças espectrais nos espectros de infravermelho, provavelmente devido à sobreposição de bandas ou devido à baixa concentração do extrato. De acordo com os resultados obtidos, o extrato avaliado possui grande potencial para ser utilizado na produção de filmes ativos.

REFERÊNCIAS

MANIGANDAN, V., KARTHIK, R., RAMACHANDRAN, S. & Rajagopal, S. Chitosan Applications in Food Industry. In: Biopolymers for Food Design (A. M. Grumezescu & A. M. Holban eds.). Elsevier, London, p. 469–491, 2018.

SANTANA, M. C. C. B., MACHADO, B. A. S., SILVA, T. S., NUNES, I. L. & DRUZIAN, J. I. Incorporação de urucum como aditivo antioxidante em embalagens biodegradáveis a base de quitosana. Ciência Rural, v. 43, n. 3, p. 544-550, 2013.

WEBER SOBRINHO, C. R. Determinação da atividade antimicrobiana e citotóxica de extratos da casca do caule de *Anadenanthera colubriana* (Vell.) Brenan var. *Cebil* (Griseb) Von Reis Alt. (Angico-de-carço). 2010. 112f. Dissertação (Mestrado em Patologia). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

PAULA, C. S. Estudo fitoquímico e propriedades biológicas das folhas de *Bauhinia unguolata* L., Fabaceae. 2014. 229f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.