

# PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOCURATIVOS ATIVOS A BASE DE CELULOSE BACTERIANA, AMIDO E PRÓPOLIS VERMELHA

Giulia da Costa Sacramento<sup>1</sup> Katharine Valéria Saraiva Hodel<sup>2</sup> Silmar Baptista Nunes<sup>3</sup> Josiane Dantas Viana Barbosa<sup>4</sup> Bruna Aparecida Souza Machado<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Engenharia de Materiais; Iniciação Científica – FAPESB; giulia.cs@hotmail.com

<sup>2</sup>Mestranda em Farmácia; Universidade Federal da Bahia; Salvador – BA, k2hodel@gmail.com

<sup>3</sup>Doutorando em Gestão de Tecnologia Industrial; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; silmar@fieb.org.br

<sup>4</sup>Doutora em Ciência e Engenharia de Materiais; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; josianedantas@fieb.org.br

<sup>5</sup>Doutora em Biotecnologia; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; brunam@fieb.org.br

## RESUMO

**Introdução.** A celulose bacteriana (CB) é um biopolímero promissor para aplicações na área de saúde, inclusive como curativos para lesões dérmicas, por conta das suas características básicas como promotor da regeneração tecidual e sua capacidade de absorver materiais. **Materiais e Métodos.** A CB foi produzida a partir de uma bactéria acidófila, a *Gluconacetobacter hansenii*, em um meio de cultivo rico em fonte de carbono. Após 15 dias, as membranas de celulose foram retiradas e purificadas. Se obteve o gel composto por CB, para a preparação da solução filmogênica com diferentes compostos, variando o extrato de própolis. **Resultados esperados.** Os estudos foram realizados para avaliar as propriedades físicas e de barreira, para que então os filmes poliméricos possam servir como um curativo de alta eficiência para melhorar a qualidade de vida para pacientes com lesões dérmicas.

**PALAVRAS-CHAVE:** celulose; própolis; biomateriais; biotecnologia.

## 1. INTRODUÇÃO

A procura por novos biomateriais se encontra em um crescimento exponencial, visando a substituição dos materiais já comumente usados, principalmente os poliméricos. Os biopolímeros possuem características apropriadas para a aplicação na indústria e na área biomédica como a degradação, baixo custo, manuseamento prático e as estruturas moldáveis, que permitem ser modificadas para a inserção de novos componentes.<sup>1</sup> Um dos focos de pesquisa na área biomédica é a provisão de novos curativos sustentáveis e custeáveis, com propriedades de promoção e manutenção de um ambiente úmido, permissão para a ocorrência de trocas gasosas de forma adequada, provisão de isolamento térmico, livre de partículas ou contaminantes tóxicos; manejo do excesso de exsudato, que permite uma remoção não traumática, possuir ajustabilidade, baixo custo, durabilidade, elasticidade, não antigenicidade, proteção contra infecções secundárias, agindo como uma barreira antibacteriana.<sup>2</sup> A celulose bacteriana (CB) possui semelhanças com a estrutura da celulose produzida por plantas, entretanto a morfologia da celulose obtida pelas plantas é diferente, contendo impurezas que dificultam o processo de purificação da celulose, onde se encontra a necessidade de processos complexos e poluentes, diferenciando da CB.<sup>3</sup> A CB possui os requisitos apropriados para obtenção de novos biomateriais, sendo esses a biocompatibilidade, pureza e capacidade de retenção de líquidos, que é de grande importância para aplicações médicas e engenharia de tecidos.<sup>3</sup> Em relação às propriedades físicas e de barreira, a CB possui uma barreira física contra a infecção bacteriana, reduz de modo considerável a dor, possui baixo custo e esterilização acessível, além de ser atóxica e com características como elasticidade, alta conformidade e resistência.<sup>4</sup> A CB pode ter sua estrutura modificada, permitindo que substâncias possam ser incorporadas a sua estrutura, como por exemplo a própolis, que possui características interessantes para a área biomédica. A própolis possui diversas propriedades biológicas como anti-hepatotóxica, antiviral, antioxidativa, antimicrobiana, analgésica e anti-inflamatórias.<sup>4</sup> Outro componente amplamente estudado é o amido, que tem como objetivo servir como um copolímero na produção da blenda polimérica, pois é um material que possui alto potencial na formação de filmes, biodegradabilidade e baixo custo. As propriedades desses materiais explicam o potencial do objetivo do projeto, que é o de produzir filmes baseado CB, amido e própolis vermelha visando a sua aplicação como curativos que aumentam a proliferação celular para a regeneração dérmica com ações anti-inflamatórias e antimicrobianas.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1 Produção e Purificação das membranas de celulose

A CB foi produzida a partir da inoculação da cepa de *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 23769 em um meio de

cultivo Hestrin e Schramm (HS) esterilizado em autoclave sob as condições de 121 °C, 1 atm por 15 minutos. O meio foi alocado à estufa bacteriológica (QUIMIS – modelo Q316M4), a 30 °C por 15 dias até o recolhimento da membrana de celulose da superfície do meio. As membranas foram retiradas e purificadas através de um tratamento alcalino com carbonato de potássio (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>).<sup>6</sup> Por fim, foram expostas a lavagens com água destilada até alcançar o pH neutro e um aspecto translúcido. Após o processo de purificação, as membranas foram armazenadas em placas de petri com água destilada, na temperatura de 4 °C.

## 2.2 Obtenção de Extrato de Própolis

Para obtenção do extrato seco de própolis, foram triturados 10g de própolis vermelha (Belomonte, Bahia) em seguida transferidas para um erlenmeyer com etanol 80%. Após homogeneização, a mistura foi colocada sob agitação em banho Maria a 50 °C por 30 min e em seguida centrifugada por 10 minutos. Ao final, a mistura foi filtrada sendo o sobrenadante recolhido e levado para o concentrador de amostras até peso constante, depois diluídos para a proporção de 10 mg para 2 mL de etanol 80%.<sup>7</sup>

## 2.3 Obtenção do gel e Produção dos filmes

Após o processo de purificação, a celulose foi triturada em um multiprocessador para a obtenção do gel a ser utilizado para a produção dos filmes poliméricos. Para o cálculo da massa de gel a ser adicionada às formulações dos filmes foi realizada a determinação do teor de sólidos totais do gel através de secagem em estufa de circulação a 105 °C até peso constante. Os filmes foram obtidos pela técnica de *casting*, onde a solução filmogênica foi desidratada em uma placa de petri 200 × 200 × 30 mm. Os filmes foram formulados utilizando planejamento experimental, com a quantidade fixa de glicerol e variações entre as concentrações de Extrato de Própolis Vermelha. As soluções filmogênicas foram preparadas para 100 mL como demonstrado na tabela abaixo.

Tabela 01. Formulações poliméricas utilizando CB, amido, glicerol e extrato de própolis vermelha.

Formulações	CB (% m/v)	Amido (% m/v)	Glicerol (% m/v)	Extrato de Própolis (% m/v)
F1	50	2,23	0,6	-
F2	50	2,23	0,6	0,25
F3	50	2,23	0,6	2,0

## 2.4 Caracterização da blenda polimérica

Os filmes poliméricos foram caracterizados quanto a atividade de água, espessura, gramatura, transparência e opacidade. O teste de atividade de água foi realizado utilizando um equipamento da marca Novasina, em uma temperatura a 25 °C. A opacidade e a transparência foram determinadas em espectrofotômetro UV, na absorvância de 600 nm e 520 nm, respectivamente, e o resultado foi dividido pela espessura. A espessura foi determinada a partir de um micrômetro.<sup>8</sup>

## 2.5 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os resultados das caracterizações representam médias aritméticas e as barras de erro o desvio padrão da média, sendo analisados quanto a variância com 95% de significância e os resultados que apresentaram diferença significativa entre os tratamentos foram diferenciados pelo teste de Tukey.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 02 estão dispostos os resultados referentes às formulações, contendo análises para verificação das propriedades de barreira: atividade de água (Aw), opacidade (O), espessura (E), transparência (T) e gramatura (G).

Tabela 02. Resultados das análises dos filmes poliméricos.

	Aw	O (Abs 600nm. mm <sup>-1</sup> )	E(mm)	T (Abs 520nm. mm <sup>-1</sup> )	G (g.cm <sup>-2</sup> )
F1	0,44 <sup>a</sup> ± 0,01	9,50 <sup>b</sup> ± 0,12	0,08 <sup>a</sup> ± 0,01	14,27 <sup>c</sup> ± 0,01	17,57 <sup>b</sup> ± 0,21
F2	0,44 <sup>a</sup> ± 0,02	10,74 <sup>a</sup> ± 0,41	0,08 <sup>a</sup> ± 0,01	17,86 <sup>b</sup> ± 0,01	23,30 <sup>ab</sup> ± 0,21
F3	0,37 <sup>b</sup> ± 0,01	9,00 <sup>b</sup> ± 0,39	0,07 <sup>a</sup> ± 0,01	21,61 <sup>a</sup> ± 0,01	26,11 <sup>a</sup> ± 0,60

Nenhuma diferença significativa entre os valores com a mesma letra sobrescrita (<sup>a, b, c</sup>) em uma coluna (p > 0,05), de acordo com o teste de Tukey com 95% de confiança.

De acordo com o aumento do extrato de própolis, as propriedades de barreira foram modificadas. O valor da atividade de água ( $a_w$ ) diminuiu, de 0,44 (F1) para 0,37 (F3) com diferença estatística, o que pode ser explicado pela interação da base polimérica com o extrato etanólico. O mesmo se aplica a propriedades ópticas que variam pela incidência de luz passada pelo filme, onde houve mudança no valor da análise de opacidade, que saiu de 9,50 Abs 600nm.mm<sup>-1</sup> (F1) para 9,00 Abs 600nm.mm<sup>-1</sup> (F3), e de análise de transparência da F1 (14,27) e F3 (21,62). Isso evidencia que a F3 possui uma transparência maior que a formulação controle, visto que possui a maior concentração de própolis. Uma maior transparência pode atuar reduzindo a probabilidade de lesões secundárias, visto que o paciente não precisará remover o curativo para acompanhar o processo de cura da lesão. A análise referente à gramatura foi observada uma redução entre as formulações ocasionadas pela evaporação do álcool durante o processo de desidratação da solução filmogênica. O Teste de Tukey não demonstrou diferença significativa entre as amostras para a análise de espessura. O aumento da concentração do extrato de própolis pode impactar também nas propriedades biológicas do curativo, como a atividade antimicrobiana e a capacidade de modular respostas inflamatórias.<sup>8</sup> Picolotto et al.<sup>9</sup> mostraram que as feridas tratadas com membrana de CB associada a extratos de própolis vermelha contam com um aumento de neutrófilos na fase crucial da recuperação tecidual e esse aumento foi proporcional a quantidade de própolis nos curativos.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao decorrer do projeto foram encontradas metodologias diferenciadas para a produção da solução filmogênica que foram testadas até chegar às formulações ideais. O estudo de novas opções para tratamento dérmico vem ganhando visibilidade visto que é necessário um tratamento que promova uma maior qualidade de vida, logo foi estudado que os biopolímeros têm fatores como compatibilidade e adequação da matéria prima ao processo de produção. No caso dos filmes poliméricos para curativos, o fator de compatibilidade implica de forma importante para o resultado esperado, lembrando que a celulose bacteriana já a possui resultados interessantes para seu determinado fim, que atendem os requisitos cruciais para um curativo, mas que também pode ser melhorada a partir da adição de extratos etanólicos para que propriedades antimicrobianas também façam parte do escopo do biocurativo final. Os resultados das caracterizações representam valores significativos que comprovam a viabilidade para a continuação da pesquisa, mostrando o potencial de filmes poliméricos a base de celulose bacteriana aditivados com própolis para a aplicação de curativos dérmicos.

#### Agradecimentos

Ao SENAI CIMATEC, pela estrutura de ponta onde foi possível realizar a pesquisa, à minha orientadora por ter me ofertado a oportunidade de entrar em um projeto de tamanha importância e a toda equipe laboratorial que oferece todo o apoio necessário.

#### 5. REFERÊNCIAS

- <sup>1</sup>LAKSHMI S.Nair; **Biodegradable polymers as biomaterials**. Progress in Polymer Science V. 32, n. 8–9, p. 762-798, 2007
- <sup>2</sup>GIRARDI, Raquel Cecilia Goy. **Comportamento das matrizes de colágeno utilizadas no tratamento de feridas planas induzidas em pele de rato**. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2005.
- <sup>3</sup>BROWN, Malcon; **Cellulose biosynthesis in higher plants**. Trends in Plant Science., v.1, n.5, p.149-156. 1996.
- <sup>4</sup>BURDOCK, G.A; **Review of the biological properties and toxicity of bee própolis**. Food and Chemical Toxicology V. 36, n. 4, 1998.
- <sup>5</sup>XU, Yang. et al. **Investigation on the Crystal Transition of Maize Starch from Semi-crystalline to Amorphous State**. Journal do Cereal Science, 2020, v.192.
- <sup>6</sup>VASCONCELOS, N. F. et al. **Efeito do tratamento alcalino na porosidade de películas de celulose bacteriana**. Encontro nordeste de ciência e tecnologia dos polímeros, Fortaleza. Anais. Fortaleza: ABPOL-NE, 2016. p. 142-146.
- <sup>7</sup>ALENCAR, S. M. et al. **Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis**. Journal of Ethnopharmacology, Lausanne, v. 113, n. 2, p. 278-283, 2007.
- <sup>8</sup>BARBARIĆ, M., et al. **Chemical composition of the ethanolic propolis extracts and its effect on HeLa cells**. Journal of Ethnopharmacology, v.135, p.772 – 778, 2011.
- <sup>9</sup>PICOLOTTO, A et al. **Bacterial cellulose membrane associated with red propolis as phytomodulator: Improved healing effects in experimental models of diabetes mellitus**. Biomedicine & Pharmacotherapy, v. 112, p. 108640 – 50, 2019.