

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE FILMES À BASE DE QUITOSANA E NANOPARTÍCULAS DE LIGNINA KRAFT**

**Beatriz P. dos Santos\*1 (G), Ronald S. Goulart1 (G), Cecília B. Ferreira1 (PG), Wanderléia F. Silva1 (PG), Maria L. Bianchi1 (PQ) Clara Resende de Souza Castro2 (PG) e Cristina Ferreira Silva2 (PQ)**

1Universidade Federal de Lavras, ICN, Departamento de Química, Lavras, MG, Brasil, 37203202.

2Universidade Federal de Lavras, ICN, Departamento de Biologia, Lavras, MG, Brasil, 37203202.

\*e-mail: beatriz.santos5@estudante.ufla.br

RESUMO

A lignina Kraft, coproduto da indústria de celulose, possui propriedades como ação antioxidante e antimicrobiana, que são intensificadas quando nanoparticuladas. A quitosana, obtida da quitina, também apresenta atividade antimicrobiana, é biodegradável e forma filmes, sendo promissora para embalagens. A combinação de quitosana com nanopartículas de lignina Kraft (KLNPs) visa desenvolver filmes mais funcionais, resistentes e com maior proteção contra microrganismos. Este trabalho avaliou a atividade antibacteriana desses filmes. Os resultados mostraram inibição total do crescimento de *Escherichia coli* (ATCC 25922) uma bactéria gram-negativa e *Staphylococcus aureus* (ATCC 13565) uma bactéria gram-positiva, destacando o potencial desses materiais como embalagens ativas para conservação de alimentos.

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

*Palavras-chave: antioxidante, biodegradável, embalagens ativas, Escherichia coli e Staphylococcus aureus.*

*\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_*

**Introdução**



A lignina Kraft é o principal coproduto proveniente da indústria de celulose (1). Dentre suas propriedades estão a capacidade de absorver radiação UV, ação antioxidante e antimicrobiana. Assim como outros materiais, quando nanoparticulada, a lignina tem suas propriedades intensificadas, favorecendo seu uso. A quitosana é um polissacarídeo natural obtido da quitina, presente principalmente no exoesqueleto de crustáceos. Esse biopolímero tem despertado interesse na indústria de alimentos, atuando como agente espessante, estabilizante e formador de filmes, sendo excelente para embalagens biodegradáveis. A síntese de um compósito de nanopartículas de lignina Kraft (KLNPs) e quitosana permite explorar filmes menos suscetíveis a microrganismos. Para aplicações como embalagens alimentícias, a atividade antibacteriana é fundamental. *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* são bactérias comuns na contaminação de alimentos e podem causar intoxicações e infecções graves (2). Sua presença compromete a segurança e qualidade dos produtos, sendo essencial o uso de materiais antimicrobianos eficazes. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antibacteriana de filmes à base de quitosana incorporados com nanopartículas de lignina (LNPs), visando ampliar o desempenho frente a bactérias gram-negativas e gram-positivas.

**Experimental**

A preparação dos filmes compostos por quitosana e nanopartículas de lignina foi baseada na metodologia de CROUVISIER-URION et al. (3) com modificações.

Um delineamento experimental foi utilizado para preparação dos filmes e pode ser observado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Relação da composição de cada tratamento para determinação da atividade antibacteriana dos filmes.

|  |  |
| --- | --- |
| **Ensaio** | **Tratamento** |
| 1 | 0,3 g Q + 0,3 mL KNLP’s |
| 2 | 0,3 g Q + 1,2 mL KNLP’s |
| 3 | 0,5 g Q + 0,3 mL KNLP’s |
| 4 | 0,5 g Q + 1,2 mL KNLP’s |
| 5 | 0,8 g Q + 0,3 mL KNLP’s |
| 6 | 0,8 g Q + 1,2 mL KNLP’s |
| 7 | 1 g Q |

Legenda: Q = quitosana; KLNP’s = nanopartículas de lignina

A quitosana foi dissolvida em 40 mL de solução de ácido acético 0,05 mol L⁻¹. As nanopartículas de lignina (KLNPs), previamente dispersas em água destilada a uma concentração de 8,5 mg/mL, foram adicionadas em diferentes volumes (0,3 ou 1,2 mL), totalizando entre 2,55 mg e 10,2 mg de lignina por filme. Em seguida, adicionaram-se 1,5 mL de glicerol. As soluções filmogênicas foram mantidas em agitação magnética por 2 horas, vertidas em placas de Petri e deixadas para secagem à temperatura ambiente por 7 dias (Figura 1).

As bactérias *Escherichia coli* (ATCC 25922)e *Staphylococcus aureus* (ATCC 13565) foram reativadas em caldo Triptona Soja (17 g L-1 de triptona; 3 L-1 de digestão Papaica de Farinha de Soja; 2,5 g L-1 de glicose, 5 g L-1 de cloreto de sódio; 2,5 g L-1 de fosfato dipotássico) e incubadas a 37 °C por 24 horas.

Uma imagem contendo no interior, cheio, comida, carro

O conteúdo gerado por IA pode estar incorreto.

**Figura 1.** Filmes com diferentes concentrações de quitosana e nanopartículas

Após, foram inoculadas em meio Ágar Mueller Hinton (2 g L-1 de extrato de Carne; 17,5 g L-1 de Ácidos Casaminos, 1,5 g L-1 de Amido e 15 g L-1 de ágar), incubadas nas mesmas condições anteriores. Por conseguinte, foram realizadas diluições seriadas em NaCl (0,85%) para padronização do inóculo em 108 células/mL. Uma alíquota de 10 µL do inóculo padronizado foi transferida para tubos de 2 mL contendo 990 µL da solução filmogênica correspondente a cada tratamento (Tabela 1). Os tubos foram incubados a 37 °C e 120 rpm durante 24 horas. Todo o ensaio foi realizado em triplicata. Após o período de incubação, 10 µL da mistura (solução + inóculo) foi transferida para placa contendo Ágar Mueller Hinton e incubada a 37 °C por 24 horas para avaliação do crescimento bacteriano.

**Resultados e Discussões**

Todos os tratamentos realizados com filmes de quitosana e nanopartículas de lignina Kraft (KLNPs) apresentaram 100% de inibição do crescimento de *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 13565) na população de 10⁶ células/mL. A Figura 2 (A e B) mostra a comparação entre o controle, que apresentou crescimento expressivo de colônias bacterianas, e os tratamentos, os quais não se observaram crescimento, indicando inibição total das duas cepas testadas (Tabela 2).

**Tabela 2.** Atividade antibacteriana dos filmes frente a *E. coli* e *S. aureus*.

|  |  |
| --- | --- |
| **Bactéria** | **Ensaios 1-7** |
| *E. coli* (ATCC 25922) | Inibição total |
| *S. aureus* (ATCC 13565) | Inibição total |

Essa ação antibacteriana está associada aos grupos fenólicos presentes nas KLNPs, que promovem a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e levam à desestabilização de membranas, permeabilização e lise celular (4). A diminuição de tamanho das partículas aumenta a interação com a superfície bacteriana e facilita a penetração intracelular.

Desenho de um círculo

O conteúdo gerado por IA pode estar incorreto.

Além disso, a quitosana contribui para essa atividade antimicrobiana por meio de suas cargas positivas, que interagem com os fosfolipídios carregados negativamente na membrana bacteriana, causando alterações estruturais, vazamento do conteúdo intracelular e, consequentemente, morte celular (3). A interação entre a quitosana e as KLNPs é potencializada pelo tamanho nanométrico das partículas, que favorece maior contato com a célula bacteriana e maior eficiência antimicrobiana.

A inibição completa dessas bactérias reforça o potencial dos filmes como embalagens que garantem a segurança alimentar.

Uma imagem contendo diferente, fio, display, muitos

O conteúdo gerado por IA pode estar incorreto.

**Figura 2.** Controle e Tratamentos contendo as bactérias *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 13565).



*Staphylococcus aureus* (A) e *Escherichia coli* (B). Cada placa foi dividida em setores representando os diferentes tratamentos (Ensaios 1 a 7), conforme descrito pela Tabela 1. Os setores com a letra **S** correspondem a *S. aureus* e com **E**, a *E. coli*. Os controles negativos estão indicados como **SC** (*S. aureus*) e **EC** (*E. coli*).



**Conclusões**

Os resultados obtidos evidenciaram o grande potencial dos filmes com ação antibacteriana, eficazes tanto contra bactérias gram-negativas quanto gram-positivas. Essa característica torna-os promissores para aplicação em embalagens voltadas à conservação de alimentos, especialmente no controle microbiano, contribuindo significativamente para a segurança e o aumento da vida útil dos produtos embalados.

**Agradecimentos**

FAPEMIG, CAPES, CNPq, UFLA, CAPQ, DQI e DBI

**Referências**

1. SCHNEIDER, W. D. H.; DILLON, A. J. P.; CAMASSOLA, M. Biotechnology Advances, v. 47, 2021, 107685.
2. BANNERMAN, D. D. P.; PAAPE, M. J.; LEE, J.; ZHAO, X.; HOPE, J. C.; RAINARD, P. Escherichia coli and Staphylococcus aureus elicit differential innate immune responses following intramammary infection. *Clinical and Vaccine Immunology*, v. 11, 2004.
3. CROUVISIER-URION, K. *et al.* Biobased composite films from chitosan and lignin: Antioxidant activity related to structure and moisture. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, v. 8, n. 8, p. 3546–3557, 2020.
4. LI, K. *et al.* Antibacterial mechanism of lignin and lignin-based antimicrobial materials in different fields. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 252, 126281, 2023.