

POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE QUITOSANA EM SISTEMAS DE CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS

Ana Elizabeth Cavalcante Fai^{1*}, Thayza Christina Montenegro Stamford², Tânia Lúcia Montenegro Stamford³

1) Departamento de Ciências de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Rua Monteiro Lobato, 80, Cx. Postal 6121, CEP: 13083-862, Campinas, SP. Correio electrónico: bethfai@yahoo.com.br

2) Coordenação de Pesquisa e Extensão, Faculdades Integradas de Patos. Rua Horácio Nóbrega, s/n. Belo Horizonte-58704-000 Patos, PB

3) Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Professor Moraes Rego 1235, Cidade Universitária. 50670901. Recife, PE.

Recibido: Diciembre de 2007; Aceptado: Abril 2008

RESUMEN

La exigencia por alimentos seguros, con una vida útil prolongada y de alta calidad nutritiva y sensorial es creciente. Los consumidores y los propios órganos de salud pública están especialmente preocupados con los efectos recurrentes del uso de varios aditivos químicos en productos alimenticios y su relación con la salud. Ese escenario tiene incentivado las pesquisas de nuevos agentes naturales que puedan ser empleados de forma a complementar los métodos de preservación de alimentos que se disponen actualmente. Destaca-se entre estos el quitosano, polisacáride compuesto por unidades repetitivas de β (1-4)-D-glicosamina, encontrada en la naturaleza en la pared celular de hongos, y que todavía puede ser obtenida por la deacetilación de la quitina presente en lo exoesqueleto de crustáceos, insectos y artrópodos. El quitosano presenta características peculiares derivadas de su capacidad de formación de complejos polielectrolíticos, con propiedades de biodegradación, biocompatibilidad y bioactividad. En la industria alimenticia este polímero ofrece un amplio espectro de posibles aplicaciones, destacando-se como agente antimicrobiano, antioxidante y como embalaje activamente funcional. El presente trabajo aborda los aspectos que caracterizan el quitosano por su potencial como conservante natural y perfil atóxico como una prominente opción para obtener alimentos con bajos niveles de aditivos.

Palabras claves: aditivos, quitosano, preservación de alimentos.

SUMMARY

Requirement for safety food, with an extended shelf-life with high nutritional and sensory value is increasing. Consumers and even public health organizations are especially concerned about the effects of several chemical additives in food products and its relationship with health. This overview nuances researches for natural compounds that can be used to supplement the methods of food preservation disposable nowadays. Considerable attention has been paid to chitosan, a polysaccharide composed of β -1,4-D-glucosamine, naturally present in the cell wall of

certain fungi, which can also be obtained by chitin deacetylation from exoskeleton of crustacean, insects and arthropods. Chitosan presents singular characteristics derived of its ability to form polycationic complexes, with biodegradable, biocompatible and biofunctional properties. In food industry, this polymer offers a wide spectrum of possible applications such as antimicrobial agent, antioxidant and active package. The present work approaches aspects that characterize the potential of chitosan as a natural food preservative and nontoxic profile as a suitable option to obtain foods with low chemical additives levels.

Keywords: chemical additives, chitosan, food preservation.

1. INTRODUÇÃO

As mudanças nos padrões nutricionais e os benefícios creditados a uma alimentação saudável dinamizaram intensamente todos os setores responsáveis pela produção de alimentos levando à busca por alternativas de transformação, conservação e alteração química destes produtos.

Os objetivos da indústria alimentícia consistem basicamente em prolongar o período durante o qual o alimento permanece adequado para o consumo, aumentar a variedade da dieta, fornecer os nutrientes necessários para a manutenção da saúde e gerar lucros para os fabricantes [1].

As mudanças no processamento e a crescente exigência do consumidor por alimentos mais naturais, com uma vida útil prolongada, mantendo a qualidade nutritiva e sensorial impulsionam a pesquisa de novos ingredientes.

A quitosana devido as suas propriedades peculiares vem sendo sugerida como uma opção a esta emergente necessidade neste segmento [2,3].

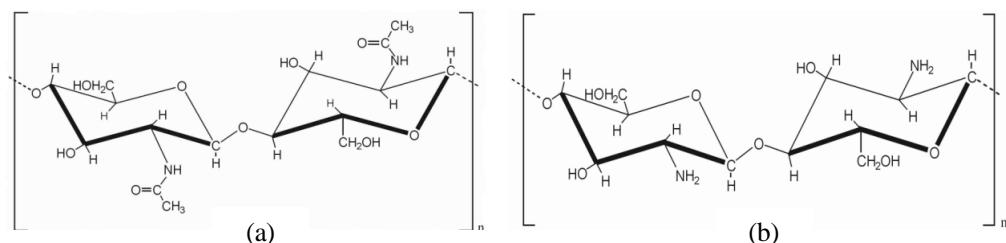


Figura 1. Estrutura química (a) quitina, (b) quitosana (Fonte: Tharanathan y Kittur, [5])

A quitina é um polímero natural, álcali-ácido insolúvel, linear que apresenta o mesmo tipo de unidade monomérica β -1,4 *N*-acetilglucosamina e com exceção da celulose é o polissacarídeo mais abundante e largamente distribuído na natureza [4,5]. A quitina é encontrada no exoesqueleto dos crustáceos, insetos e em especial, na parede celular de

fungos. A quitosana é um heteropolímero natural, amino catiônico, composto por unidades β -1,4 D-glucosamina ligadas a resíduos de N-acetilglucosamina (Figura 1), sendo encontrada na parede celular de fungos. A quitosana também pode ser obtida através da deacetilação da quitina, podendo o grupo N-acetil sofrer vários graus de deacetilação, gerando assim diversos derivados [6-9].

Exoesqueletos de crustáceos constituem a fonte tradicional para obtenção de quitina e quitosana. O conteúdo de quitina nos crustáceos varia com a espécie estando o rendimento entre 2 a 12% da massa corpórea total, e de 13 a 42% na casca. A quitosana é obtida pela deacetilação da quitina utilizando NaOH 50% e temperatura em torno de 110°C [10]. Existem várias limitações em relação à viabilidade do processo de obtenção da quitina e quitosana proveniente de crustáceos, tais como: adaptação ao clima, sazonalidade, locais de confinamento e o processamento em larga escala gerador de resíduos associado com a conversão química de quitina em quitosana [11-15].

Utilização de massa micelial de fungos como fonte alternativa de quitina e quitosana tem demonstrado grandes vantagens, tais como: extração simultânea de quitina e quitosana, independência dos fatores de sazonalidade, produção em larga escala [15-19]. A quantidade destes polissacarídeos extraídos da biomassa varia de acordo com a espécie de fungo e condições nutricionais, principalmente a fonte de carbono utilizada [20]. Fungos da Divisão *Zygomycotina* apresentam simultaneamente quitina e quitosana em sua parede celular [19, 21].

Várias pesquisas utilizando fungos como fonte alternativa de quitina e quitosana relatam rendimentos iguais ou superiores, destes polímeros, aos obtidos quando utilizadas fontes tradicionais [7,14]. Estudos utilizando biomassa de *Mucor rouxii* e *M. javanicus* obtiveram rendimento de quitosana em torno de 8% e de quitina entre 8,9% e 23,9% [7, 22, 23]. Em recentes estudos, tem se estabelecido métodos de optimização para processos de produção de quitina e quitosana a partir de massa micelial de *Cunninghamella elegans*, assim como a utilização de meios de cultura alternativos e de baixo custo econômico, sendo relatados rendimentos de quitosana entre 5 e 8%, e de quitina em torno de 23 a 40% [16, 17, 19, 24].

Nwe et al. [21] avaliando a produção de quitosana por vários *Zygomycetes*, utilizando batata doce como meio de cultura básico, obtiveram os melhores resultados com *Gongronella butleri* apresentando rendimento de quitosana entre 7,9 a 11,6% e 8,2 a 12,7% em fermentação submersa e sólida, respectivamente.

A literatura apresenta uma grande diversidade de fontes para produção de quitina e quitosana, as quais influenciam as diferentes propriedades destes polímeros e derivados, possibilitando o aumento do potencial biotecnológico e aplicações comerciais [3, 25-27]. As principais propriedades deste polissacarídeo são: bioatividade, biodegradabilidade, biocompatibilidade, reatividade do grupo amino deacetilado, permeabilidade seletiva, ação polieletrolítica, habilidade em formar gel e filme, habilidade de quelação e capacidade adsorptiva [5, 10].

A quitosana vem sendo extensivamente estudada devido às suas propriedades peculiares que lhe conferem um aproveitamento bastante versátil, tais como: carreador de fármacos de liberação controlada e DNA [28-32], regeneração de tecidos epiteliais [33-35], confecção de membranas artificiais [36, 37], promotor de osteogênese [38-42], antibacteriano [43-46], coadjuvante da higiene oral [47-50], absorção de gordura e redução do colesterol sérico [51-53], componente de cosméticos [54, 55], remoção e recuperação de diferentes resíduos [56], biotransformação e detecção de pesticidas [57, 58], recobrimento de sementes na agricultura [59], remoção de corantes, aminoácidos e proteínas [60, 61] e como agente floculante no tratamento de efluentes aquosos [62].

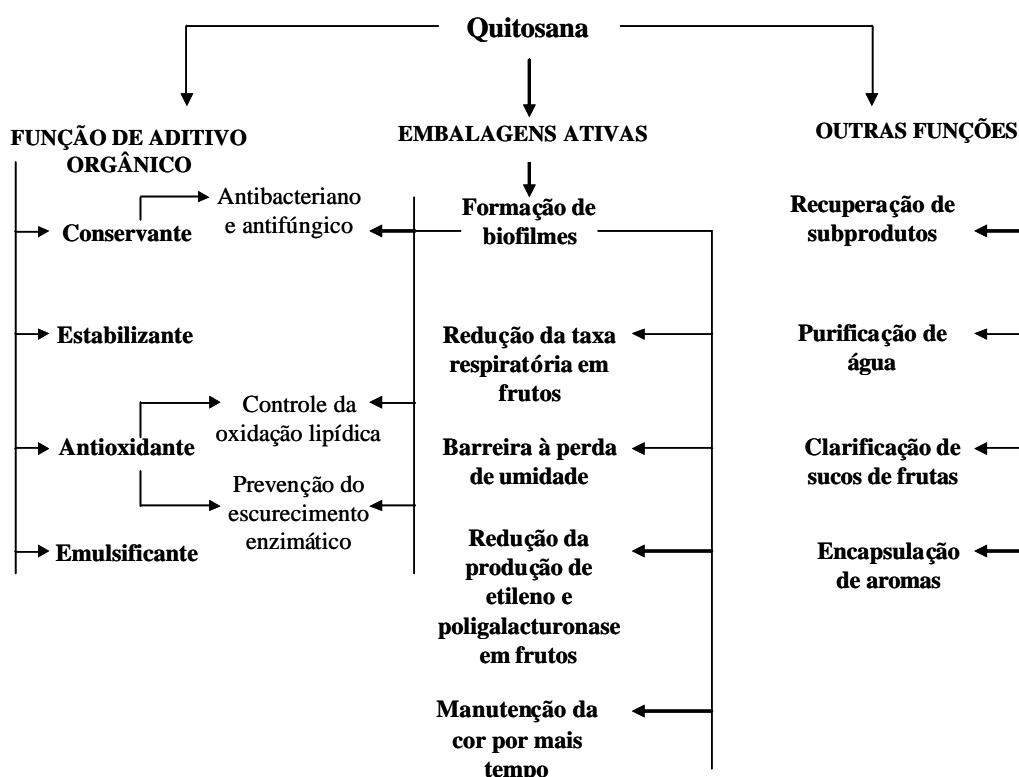


Figura 2. Esquema das aplicações da quitosana na indústria de alimentos.

As possibilidades de aplicações são ainda enriquecidas pelo fato da quitosana poder ser preparada em diferentes formas, tais como soluções de viscosidade controlada, géis, filmes e membranas, microesferas e nanopartículas [63].

Na indústria alimentícia, a quitosana oferece um amplo espectro de possíveis aplicações [5, 61, 64-70], conforme esquematizado na figura 2.

2. QUITOSANA: COMO CONSERVANTE ORGÂNICO DE ALIMENTOS.

Atualmente, a qualidade é um componente fundamental dos alimentos, como a segurança alimentar (inocuidade) é componente indispensável da qualidade [71]. No entanto, a manutenção da qualidade de diversos produtos alimentícios durante sua vida útil só é possível graças à atuação dos conservantes químicos, tornando a produção de alimentos um tanto complexa, uma vez que, os consumidores exigem alimentos seguros para o consumo, com mínimo de aditivos químicos e que apresentem a conveniência de possuir uma extensa vida de prateleira, estabelecendo-se, assim, um paradoxo.

No Brasil, o uso de aditivos alimentares é norteado pelo *Ministério da Saúde* e regulamentado pela *Agência Nacional de Vigilância Sanitária* (ANVISA), considerando aditivo alimentar qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, porém, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento, de acordo com as diretrizes preconizadas pela Portaria nº 540 [72]. De acordo com esta mesma Portaria os aditivos químicos são classificados quanto à função: os agentes conservantes são substâncias que têm a finalidade de impossibilitar ou atrasar a deterioração microbiana ou enzimática dos alimentos. A quitosana apresenta-se perfeitamente compatível com esta definição, considerando suas propriedades físico-químicas e o reconhecido potencial antimicrobiano e antioxidante.

O uso de aditivos químicos é uma das práticas mais discutidas e polêmicas. Se por um lado seu uso é imprescindível, por outro a debilidade e incertezas de ambos os estudos negativos e positivos relacionados à toxicidade de muitas destas substâncias gera controvérsias. Dessa forma, justifica-se a atual tendência adotada pela indústria de alimentos de uma política decrescente do uso de aditivos químicos.

A toxicidade da quitosana é menor do que a glicose ou sacarose. A dose letal de glicose em mamíferos é da ordem de 8 a 12 gramas enquanto que 18 gramas de quitosana por

quilograma de massa corporal em mamíferos não apresenta qualquer sinal de toxicidade ou mortalidade [45, 60]. Estudos indicam que a quitosana é benéfica e segura para o consumo humano. Entretanto, como qualquer outra substância, se utilizada de forma inadequada ou em excesso pode ser nociva ao organismo [73]. Os problemas referidos, decorrentes de doses excessivas da quitosana, foram causados por desidratação gástrica e pelo impacto em decorrência do aumento do volume da mesma uma vez que esta consiste em uma fibra natural que em meio ácido se expande para formar um gel no estômago [74].

A quitosana vem sendo utilizada na indústria de alimentos nos Estados Unidos, Alemanha e Japão, sendo reportado neste último, como agente conservante em: macarrão, molho de soja, sardinha, entre outros; contudo, dados quanto às condições de processamento/formulação, todavia são escassas [75, 76].

3. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.

Com o intuito de evitar ou retardar a deterioração microbiana de alimentos a quitosana e seus derivados vêm sendo amplamente pesquisados como agentes antimicrobianos, e nos últimos anos têm recebido uma atenção especial, graças aos resultados promissores neste âmbito de aplicação [77, 78].

Pesquisas têm demonstrado que a quitosana apresenta ser eficiente como antimicrobiano contra vários microrganismos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* [70, 79], *Salmonella. typhimurium*, *Streptococcus faecalis* [44], *Salmonella entérica*, *S. paratyphi*, *Pseudomonas aeruginosa* [45], *Listeria monocytogenes* [80], *Bacillus. cereus*, *Shigella dysenteriae*, *Aeromonas hydrophila*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Helminthosporium* [74], *Sacharomyces cerevisiae*, *S. ludwigii*, *Zygosaccharomyces baillii*, *Cryptococcus albidus*, *Candida* sp., *Rhodotorula* sp. [81, 82].

O mecanismo de ação da quitosana sobre os microrganismos não está completamente elucidado, mas várias propostas são sugeridas. Contudo, sabe-se que esta ação sofre influência de fatores intrínsecos (grau de desacetilação) e extrínsecos (nutrientes, condições do meio ambiente, substratos químicos) [74].

Alguns pesquisadores correlacionam a atividade antimicrobiana da quitosana à formação de complexos polieletrolíticos, uma vez que seus grupos amínicos protonados provavelmente se ligam seletivamente à superfície celular carregada negativamente dos microrganismos, alterando a atividade celular e a permeabilidade da membrana, resultando na perda de componentes intracelulares e, consequente, inibição microbiana [45, 83-85].

Estudos mais recentes revelam, ainda, que o mecanismo da atividade antimicrobiana da quitosana está intimamente relacionado às propriedades físico-químicas das soluções, concentração utilizada e tempo de exposição, além das características inerentes à membrana do microrganismo [74].

Pesquisas demonstram que a atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas aumenta quanto maior a massa molecular do polímero, enquanto que, para bactérias Gram-negativas, quanto menor a massa molecular, maior o potencial antimicrobiano. Assim, tem sido sugerido que os efeitos da quitosana são distintos nos dois tipos de bactérias. Nas Gram-positivas, a hipótese é que a quitosana de alta massa molecular forma filmes ao redor da célula que acabam por inibir a absorção de nutrientes, enquanto a de baixa massa molecular penetra mais facilmente em bactérias Gram-negativas, ligando-se ao DNA e impedindo a transcrição e tradução, consequentemente causando distúrbios no metabolismo celular [3, 51, 79, 86, 87].

Estudos recentes relatam que a quitosana induz à desorganização molecular e mudanças morfológicas em fungos fitopatógenos como: *Fusarium oxysporum*, *Sclerotio sclerotiorum*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium digitatum*, *Colletotrichum gloesporioides* [85], *Aspergillus niger* [88], entre outros.

A quitosana também apresenta a função de agente quelante de íons metálicos. Dessa forma é sugerido ainda que este polissacarídeo poderia interferir na produção de toxinas no crescimento microbiano [61].

Altieri et al. [89] estudando a eficiência antibacteriana da quitosana em queijo muzarela mantido sob temperatura de refrigeração, constataram que a quitosana inibiu o crescimento de microrganismos do grupo *Coliforme* e de *Pseudomonas* sp. Inferiram ainda, que a presença deste polissacarídeo não afetou a viabilidade e crescimento das bactérias ácido lácticas, ao contrário, observou-se um sutil estímulo com relação à sua multiplicação, de forma a não comprometer a funcionalidade tecnológica que esta classe de microrganismos exerce sobre este produto, demonstrando assim, que o uso de quitosana seria uma opção vantajosa para estender a vida de prateleira deste alimento em termos tecnológicos e econômicos.

Lee et al. [90] e *Barreteau et al.* [2] sugerem que oligossacarídeos de quitosana e a própria quitosana de baixa massa molecular exerceriam um efeito benéfico seletivo sobre o crescimento e atividade biológica de bactérias probióticas tais como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*. *Martinez-Castellanos et al.* [91] reportaram que *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum* e *Lactobacillus* sp. podem ser impregnados em películas de quitosana conservando

sua viabilidade mesmo em concentrações elevadas deste polissacarídeo (20 g/L). Dentro do conceito de tecnologia de barreiras de proteção o uso de biofilmes de quitosana associado a bactérias láticas é de grande potencialidade, visto que *Lactobacillus* produzem ácido lático, bacteriocinas e outros compostos que inibem o desenvolvimento de patógenos e deteriorantes de alimentos, além de serem importantes probióticos [92].

Tsai y Hwang [84] examinando a atividade antibacteriana *in vitro* frente a algumas bactérias patógenas e probióticas relataram que para a quitosana com grau de deacetilação entre 70 e 95%, a concentração mínima letal para *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *V. parahemolyticus*, *Listeria monocytogenes* e *Shigella dysenteriae* foi de 50 a 200 ppm, enquanto para *Clostridium perfrigens* e bactérias probióticas dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* foi de 250 e 500 a 1.000 ppm, respectivamente. Fica evidente que a resistência destas espécies probióticas testadas é mais elevada, quando comparada às patógenas alimentares e intestinais, o que leva a crer que a superfície celular destes microrganismos é distinta, fazendo-se necessárias mais pesquisas acerca das mesmas para se alcançar uma explicação conclusiva.

Outra constatação interessante destes mesmos autores refere-se à baixa eficiência antibacteriana da quitosana frente *C. perfrigens* testada *in vivo* após a ingestão na forma de pó em animais de laboratório, atribuindo-se este fato fundamentalmente às diferenças de pH (nas condições do intestino o pH é maior que 7,0, estando acima do pKa da quitosana), havendo portanto menos grupos amínicos protonados desfavorecendo a interação com a superfície celular, e à própria conformação da molécula que quando *in vitro* (pH < 7) poderia estar mais disponível devido ao desdobramento da cadeia por conta de uma maior repulsão eletrostática dos grupos positivamente carregados.

Juneja et al. [93] demonstraram que a adição de quitosana (concentração 3% p/p) em carne bovina e de peru cozidos foi eficiente para reduzir significativamente o risco potencial de germinação de esporos de *Clostridium perfrigens* durante a etapa de resfriamento de 54,4 a 7,2°C por até 18 h.

É valido ressaltar que não obstante a quitosana apresente potencial para ser utilizada como agente antimicrobiano natural é imprescindível que sejam estimadas as características da matriz alimentar em questão, considerando-se os efeitos dos próprios constituintes, o pH do produto, a combinação de procedimentos a que este é submetido, as propriedades reológicas e demais aspectos químicos.

Devlieghere et al. [94] estudaram a ação antimicrobiana da quitosana *in vitro* frente a

alguns constituintes alimentares, constatando que há interferência do NaCl devido à interação eletrostática derivada da dissociação desta molécula, sendo que no caso das proteínas esta ação seria mais dependente do pH do meio às próprias cargas aminoacídicas, visto que se estas estiverem abaixo do ponto isoelétrico não haverá perda de atividade antimicrobiana, enquanto a gordura não apresentou nenhum efeito adverso quanto a esta propriedade da quitosana.

Rodriguez et al. [95] demonstrou que o uso de quitosana como biofilme para revestir pizzas pré-cozidas (0,079 g/100 g pizza) foi eficiente para estender a vida de prateleira durante o armazenamento devido sua ação antifúngica, reduzindo o crescimento de *Alternaria* sp, *Penicillium* sp e *Cladosporium* sp. No entanto, após o processamento térmico parte desta atividade antimicrobiana foi perdida justificando-se tal fato, em razão da reação de Maillard visto que o grupamento amínico comprometido com o açúcar redutor nesta reação, em temperatura elevada, não é mais disponível para a formação de complexos polieletrolíticos, desprendendo-se, portanto, que o uso de quitosana incorporado como agente antimicrobiano em massas alimentícias fermentadas perde parte de sua propriedade funcional se submetido a tratamento térmico [76].

Vale ressaltar que alguns estudos revelam que os produtos resultantes da reação de *Maillard* (PRM) apresentam ação antibacteriana [96-101], sendo inclusive sugerida, sua aplicação como um aditivo conservante de alimentos [102, 103].

Contudo, a literatura ainda é restrita em relação aos efeitos deletérios dos PRM sobre microrganismos patógenos alimentares.

Neste sentido, *Huang et al.* [104] estudaram a eficácia antibacteriana de uma solução de quitosana antes, durante e depois da reação de Maillard induzida pela adição de xilose e aquecimento a 95°/60 horas. Examinaram, ainda, o efeito da adição de quitosana e dos PRM sobre a vida de prateleira de macarrão de massa fresca armazenado a 4°C. Os autores verificaram que a atividade antibacteriana da quitosana aumentou na fase inicial da reação de *Maillard*, observando que, a atividade mínima inibitória para *Bacillus subtilis* decaiu de 250 mg/mL para 50 mg/mL. Constataram também que bactérias Gram-positivas são mais sensíveis aos PRM que Gram-negativas. Por fim, concluíram que a adição de 0,05 mL/100 mL de solução de quitosana e de PRM na formulação de macarrão de massa fresca resultou em extensão de vida de prateleira de 6 e 14 dias, respectivamente.

Chi et al. [105] relataram efeito sinérgico sobre a propriedade bactericida de filmes de quitosana enriquecidos com extrato puro de óleo de orégano, incorporadas em fatias de

mortadela armazenada a 10°C/5 dias, observando-se uma redução do número de células de *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* O157:H7 de aproximadamente 4 logs decimais, comparada com 1 a 3 logs quando aplicado somente o filme de quitosana, constatando ainda que este tipo de processo é aceito em termos sensoriais.

Greco et al. [106] reportaram que baixa concentração de quitosana (0,015% p/v) com grau de deacetilação de 90% e PM de 300 kDa é eficiente para inibir o crescimento de *Candida krusei* em suco de maçã. Agregar a quitosana em uma etapa prévia à pasteurização dos sucos, diminuiria a carga microbiana inicial, permitindo tratamentos térmicos menos enérgicos, fazendo-se necessários mais estudos a este respeito.

Não obstante sua comprovada eficiência antimicrobiana deve-se ressalvar que, a quitosana aplicada como um aditivo natural, complementar aos processos de conservação tradicionais, não deve ser vista como um incentivo para o descuido das boas práticas higiênico-sanitárias durante a fabricação de alimentos, uma vez que esta ação configura na verdade, em mais uma etapa neste processo, ou seja, aumentam-se os pontos críticos de controle. Neste sentido, um passo adicional, como a incorporação de quitosana, requer um estrito cumprimento das “Boas Práticas de Fabricação” para que os produtos cheguem às etapas finais com o maior nível de qualidade possível.

3. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.

Por razões de saúde publica, os processos de preservação de alimentos são determinados primeiramente pelo controle do desenvolvimento microbiano. Contudo, outros fatores devem ser controlados tais como a ocorrência de reações químicas e enzimáticas que comprometem a qualidade sensorial do produto.

Diversos estudos têm reportado a habilidade antioxidante da quitosana, tendo sido avaliado seu uso em carnes e derivados e frutos do mar que contém quantidades significativas de ácidos graxos insaturados, particularmente susceptíveis à oxidação lipídica durante seu processamento e armazenamento [107]. *Shahidi et al.* [108] e *Darmadji e Izumimoto* [109] verificaram que a adição de quitosana mostrou-se eficiente como agente de controle da oxidação lipídica em bacalhau (*Gadus morhua*) e carne picada, respectivamente.

Kanatt et al. [107], por sua vez, estudaram o efeito da adição de quitosana em carne de cordeiro submetida a processo de irradiação, constatando que este polissacarídeo minimizou os efeitos deste processo sobre a peroxidação lipídica, uma vez que esta reação é justamente o

fator limitante ao uso da irradiação em carnes.

O mecanismo de ação antioxidante da quitosana nestes produtos é atribuído à sua capacidade de quelar íons metálicos, tais como o ferro, ligado às moléculas de hemoglobina e mioglobina, o qual age como catalisador desta reação [2, 110].

Em função da habilidade de se complexar a íons metálicos a quitosana é também um promissor agente de controle do escurecimento enzimático em frutos e vegetais, visto que a polifenoloxidase, enzima responsável por este fenômeno, possui cobre no seu centro ativo e funciona como oxidase de função mista, atuando na hidroxilação de monofenóis para diidroxifenóis e em seguida oxidando estes últimos para o-quinonas. No caso dos vegetais, poder-se-ia sugerir, assim, o uso da quitosana como biofilme de revestimento, visto que esta agiria como fator de duplo impacto haja vista sua habilidade de bloquear dois componentes essenciais à reação: o oxigênio (atmosfera modificada) e a própria enzima. Ressalta-se que neste caso este método de preservação seria eficaz somente no início do processo uma vez que a formação da quinona é dependente do oxigênio e da polifenoloxidase, porém, uma vez formadas, as reações subseqüentes ocorrem espontaneamente sem a dependência destes elementos para formação de melanina [111, 112].

4. BIOFILMES.

Usar revestimentos e coberturas em frutas e vegetais com o objetivo de aumentar seu período de preservação não consiste em prática recente. No entanto, as coberturas denominadas “comestíveis” como hoje conhecemos datam das décadas finais do século passado. Este renovado interesse deve-se à demanda dos consumidores por alimentos de alta qualidade, preocupações ambientais em relação ao acúmulo de embalagens não biodegradáveis e a oportunidade se criar alternativas de mercado para a produção de filmes de fontes renováveis [113].

A quitosana destaca-se por sua capacidade de atuar como uma barreira à perda de umidade, controlar a respiração do fruto e apresentar alto potencial antimicrobiano, além de prevenir o escurecimento enzimático, ressaltando-se que esta é biodegradável o que a torna “ambientalmente correta” [61, 112, 114, 115].

Neste âmbito de aplicação pode-se considerar, na realidade, os biofilmes a base de quitosana como embalagens ativas, pois além de atuarem como uma barreira a agentes externos, apresentam uma série de funções desejáveis à manutenção da qualidade do vegetal ou fruto revestido. Apresenta como uma das vantagens, sobre a embalagem convencional, o

fato da quitosana apresentar propriedades como agente antimicrobiano e antioxidante atendendo a atual demanda por alimentos minimamente processados e livres da incorporação de conservantes químicos [80, 116].

Botrel et al. [113] desenvolveram um revestimento antimicrobiano para alho minimamente processado constituído de amido de mandioca adicionado de quitosana, constatando que este foi viável para reduzir significativamente a microbiota presente durante 20 dias de estocagem.

Qiuping y Wenshui [78] pesquisando novas técnicas de preservação e manutenção da qualidade de cerejas da Índia (*Ziziphus mauritina*, cv. *Cuimi*), à temperatura ambiente, constataram que o uso de biofilme combinando quitosana e 1-metilciclopropeno foi eficaz para incrementar a vida útil deste fruto em oito dias. Observaram diminuição da sua taxa respiratória e de produção de etileno e poligalacturonase, pelas cerejas, observando também redução da perda de peso, maior conservação da coloração verde e níveis mais altos de ácido ascórbico e sólidos solúveis totais.

Chien et al. [117] reportaram a eficiência do biofilme de quitosana para retardar o escurecimento, a deterioração e a perda de água em pitayas vermelhas (*Hylocereus undatus*) fatiadas, mantendo o conteúdo de sólidos solúveis totais, acidez titulável e ácido ascórbico. Verificaram, ainda, que este revestimento não influenciou na qualidade sensorial das pitayas vermelhas, sugerindo assim, o uso de coberturas de quitosana para preservar frutos minimamente processados de forma geral.

Têm sido conduzidas, ainda, análises detalhadas dos filmes de quitosana por microscopia eletrônica de varredura e de força atômica indicando estrutura descontínua, que caracteriza certa porosidade residual no filme formado, apresentando, de forma geral, espessura extremamente fina, não superior a 1,5 mm. Essas características são desejáveis para coberturas de frutos, visto que, apesar de se almejar baixar a taxa respiratória com vistas a retardar o amadurecimento, é necessário que haja nos revestimentos a manutenção de uma respiração mínima, evitando a ocorrência de processo fermentativo [118].

Contudo, observa-se, todavia, grande distância entre pesquisa e realidade comercial, evidenciando-se que um dos aspectos que têm dificultado o uso da quitosana na indústria alimentícia é a falta de padronização da mesma. As quitosanas disponíveis, principalmente no Brasil, são de procedências diversas e apresentam diferentes graus de pureza e densidade molar, além de não seguirem industrialmente um procedimento comum de deacetilação, tornando os materiais comerciais consideravelmente diferentes entre si, dificultando, dessa

maneira, o estabelecimento de um processamento padrão de géis e a obtenção de filmes e revestimentos com características reproduutíveis [112]. Ressalta-se a primazia da quitosana extraída de fungos quanto à aplicação deste biopolímero no segmento alimentício, visto que a derivada de crustáceos é considerada relativamente inconsistente quanto às suas propriedades físico-químicas devido à variação da própria matéria-prima, contaminação por proteínas e carbonato de cálcio e efeitos cáusticos dos produtos químicos necessários à síntese em altas temperaturas resultando em hidrólise da cadeia [119].

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de imprescindíveis como método adicional à conservação de alimentos no panorama atual, a limitação e política decrescente do uso de conservantes químicos em alimentos estão relacionadas ao risco toxicológico que estes compostos representam à saúde do consumidor. A quitosana pode ser considerada uma biomolécula promissora a atenuar este impasse da indústria alimentícia, em face do seu potencial como agente conservante natural.

Ao se adicionar quitosana em um produto alimentício, quer seja com o intuito de controlar o desenvolvimento microbiano ou de impedir reações químicas e enzimáticas de degradação, a eficácia esperada depende não somente das características deste biopolímero. Ressalta-se a necessidade do conhecimento do alimento em questão, visto que este por si só é um sistema complexo e heterogêneo. Deve-se considerar ainda, a seqüência e combinação das operações unitárias que determinam o processo e posterior armazenamento.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Fellows PJ “Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Práticas”. 2^a edición. Porto Alegre (Brasil): Artmed; 2006, pag. 19-22
- 2) Barreteau H, Delattre C, Michud P, *Food Technol. Biotechnol.*, **44(3)**, 323 (2006)
- 3) Harish Prashanth KV, Tharanathan RN, *Trends Food Sci. Tech.*, doi: 10.1016/j.tifs.2006.10.022. 2006
- 4) Canella KMNC, Garcia RB, *Quim. Nova*, **24(1)**, 13 (2001)
- 5) Tharanathan RN, Kittur FS, *Critical Rev. Food Sci. Nut.*, **43(1)**, 61 (2003)
- 6) Khan TA, Peh KK, Ching HS, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, **5(3)**, 205 (2002)
- 7) Andrade VS, Neto BB, Fukushima K, Campos-Takaki GM, *Rev. Iberoam. Micol.*, **20**, 149 (2003)
- 8) Okawa Y, Kobayashi M, Suzuki S, Suzuki M, *Biol. Pharm. Bull.*, **26(6)**, 902 (2003)
- 9) Santos JE, Soares JP, Dockal ER, Campana-Filho SP, Cavalheiro ETG, *Polímeros*, **13(4)**, 242 (2003)
- 10) Synowiecki J, Al-Khatteb NAA, *Critical Rev. Food Sci. Nut.*, **43(2)**, 144

- (2003)
- 11) Tsigos I, Martinou A, Kafetzopoulos D, Bouriotis V, *Tibtech*, **18**, 305 (2000)
 - 12) Pochanavanich, P., Suntornsuk, W., *Lett. Appl. Microbiol.*, **35**, 17 (2002)
 - 13) Franco LO, Stamford TCM, Stamford NP, Campos-Takaki GM, *Analytica*, **14**, 40 (2005)
 - 14) Amorim RVS, Campos-Takaki GM, Ledingham WM, Fukushima K, *J. Ind. Microbiol. Biot.*, **32(1)**, 19 (2005)
 - 15) Silva MCF, Stamford TCM, Franco LO, Campos-Takaki GM, *Asian Chitin J.*, **2**, 29 (2006)
 - 16) Amorim RVS, Souza W, Fukushima K, Campos-Takaki GM, *Braz. J. Microbiol.*, **32**, 20 (2001)
 - 17) Franco LO, Stamford TCM, Stamford NP, Campos-Takaki GM, *Analytica*, **14**, 40 (2005)
 - 18) Amorim RVS, Pedrosa RP, Kazutaka F, Martínez CR, Ledingham WM, Campos-Takaki GM, *Food Technol. Biotechnol.*, **44(4)**, 519 (2006)
 - 19) Stamford TCM, Stamford TLM, Stamford NP, Neto BB, Campos-Takaki GM, *Elect. J. Biotechnol.*, **10(1)**, Disponível em: <<http://www.ejbiotechnology.info/content/vol10/issue1/full/1/>> (2007) Acesso em: 24 de setembro de 2007
 - 20) Campos-Takaki GM “The fungal versatility on the copolymers chitin and chitosan production”. En: DUTTA, P.K. ed. *Chitin and chitosan opportunities and challenges*, India, SSM: International Publications, 2005, p. 69-94
 - 21) New N, Chandrkrachang S, Stevens WF, Maw T, Tan TK, Khor E, Xong SM, *Carbohydr. Polym.*, **49(2)**, 235 (2002)
 - 22) Synowiecki, J., Al-Khatteb, N.A.A.Q., *Food Chem.*, **60(4)**, 605 (1997)
 - 23) Chatterjee S, Adhya M, Guah AK, Chatterjee BP, *Process Biochem.*, **40**, 395 (2005)
 - 24) Andrade VS, Neto BB, Souza W, Campos-Takaki GM, *Can. J. Microbiol.*, **46(11)**, 1042 (2000)
 - 25) Maia RCC, Franco LO, Stamford TCM, Fukushima K, Porto ALF, Campos-Takaki GM, *Asian Chitin J.*, **2**, 11 (2006)
 - 26) Rinaldo M, *Prog. Polym. Sci.*, **31**, 603 (2006)
 - 27) Yen M-T, Mau J-L, *LWT- Food Sci. Technol.*, **40**, 472 (2007)
 - 28) Mitra S, Gaur U, Ghosh PC, Maitra AN, *J. Control. Release*, **74**, 317 (2001)
 - 29) Kato Y, Onishi H, Machida Y, *Biomaterials*, **25**, 907 (2004)
 - 30) Kim TH, Park IK, Nah JW, Choi YJ, Cho CS, *Biomaterials*, **25**, 3783 (2004)
 - 31) Park JH, Kwon S, Nam J-O, Park R-W, Chung H, Seo SB, Kim I-S, Kwon IC, Jeong SY, *J. Control. Release*, **95**, 579 (2004)
 - 32) Sunil AA, Nadagouda NM, Tejraj MA, *J. Control. Release*, **100**, 5 (2004)
 - 33) Kariman MES, *J. Macromol. Sci.*, **44(5)**, 541 (2007)
 - 34) Li QL, Huang N, Wan GJ, Zhao LS, Tang XY, *Key Eng. Mat.*, **330-332**, 645 (2007)
 - 35) Niekraszewicz A, Lebioda J, Kucharska M, Wesolowska E, *Fibres Text. East. Eur.*, **15(1)**, 101 (2007)
 - 36) Dureja, H, Tiwary AK, Gupta, S., *Int. J. Pharm.*, **213**, 193 (2001)
 - 37) Costa TAC, Andrade AL, Binotto TE, Plepsis AMG, Bevilacqua L, Souza WM, *Arq. Bras. Oftalmol.*, **69(6)**, 817 (2006)
 - 38) Muzzarelli C, Muzzarelli RAA, *J. Inorg. Biochem.*, **92**, 89 (2002)
 - 39) Murugan R, Ramakrishna S, *Biomaterials*, **25(17)**, 3829 (2004)
 - 40) Martino AD, Sittinger M, Risbud MV, *Biomaterials*, **26**, 5983 (2005)
 - 41) Park D-J, Choi B-H, Zhu S-I, Huh J-Y, Kim B-Y, Lee S-H, *J. Cranio Maxill.*

- Surg.*, **33**, 50 (2005)
- 42) Hamilton V, Yuan Y, Rigney DA, Chesnutt BM, Puckett AD, Ong JL, Yang Y, Haggard WO, Elder SH, Bumgardner JD, *Polym. Int.*, **56 (5)**, 641 (2007)
- 43) Muzzarelli, R., Tarsi, R., Filippini, O., Giovanetti, E., Biagini, G., Varaldo, P.E., *Antimicrob. Agents Chemother.* **34**, 2019 (1990)
- 44) Chung Y-C, Su Y-A, Chen C-C, Jia G, Wang H-L, Wu JCG, Lin JG, *Acta Pharmacol. Sin.*, **25(7)** 932 (2004)
- 45) Yadav AV, Bhise SB, *Curr. Sci.*, **87(9)** 1176 (2004)
- 46) Jing YJ, Hao YJ, Qu H, Shan Y, Li DS, Du RQ, *Acta Biol. Hung.*, **58(1)**, 75 (2007)
- 47) Enel S, Ikinci G, Kas S, Yousefi-Rad A, Sargon MF, Hincal AA, *Int. J. Pharm.*, **193**, 197 (2000)
- 48) Sano H, Shibasaki K, Matsukubo T, Taraesu Y, *Bull Tokyo Dent. Coll.*, **48**, 75 (2002)
- 49) Sano H, Shibasaki K, Matsukubo T, Taraesu Y, *Bull Tokyo Dent. Coll.*, **44(1)**, 9 (2003)
- 50) Hayashi Y, Ohara N, Ganno T, Yamaguchi K, Ishizaki T, Nakamura T, Sato M, *Arch. Oral Biol.*, **52**, 290 (2007)
- 51) Kim S-K, Rajapakse N, *Carbohyd. Polym.*, **62**, 357 (2005)
- 52) Rodríguez MS, Albertengo LE, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69(11)**, 2057 (2005)
- 53) Feofilova EP, *Appl. Biochem. Micro.*, **43(4)**, 473 (2007)
- 54) Masato I, *Fragr J.*, **30(5)**, 44 (2002)
- 55) Kohei H, Maki O, *Chitin Chitosan Res.*, **12(2)**, 86 (2006)
- 56) Vivek DS, Torres JA, *Biotechnol. Prog.*, **16**, 1091 (2000)
- 57) Du D, Ding J, Cai J, Zhang A, *Colloids Surfaces B: Biointerfaces*, **58**, 145 (2007)
- 58) Yoshizuka K, Lou Z, Inoue K, *React. Funct. Polym.*, **44**, 47 (2007)
- 59) Velásquez CL, *Rev. Iberoam. Polím.*, **4(2)**, 91 (2003)
- 60) Craveiro AA, Craveiro AC, Queiroz DC, *Quitosana: A fibra do futuro* Fortaleza (Brasil): PADETEC – Parque de Desenvolvimento Tecnológico, 1999, capítulo 3.
- 61) Borderías AJ, Sánchez-Alonso I, Pérez-Mateos M, *Trends Food Sci. Tech.*, **16**, 458 (2005)
- 62) Díaz EDA, Velasco MCV, Pérez FR, López CAR, Ibarreta LL, *Rev. Iberoam. Polím.*, **8(1)**, 20 (2007)
- 63) Campana-Filho SP, Britto D, Curti E, Abreu FR, Cardoso MB, Battisti MV, Sim PC, Goy RC, Signini R, Lavall RL, *Quim. Nova*, **30(3)**, 644 (2007)
- 64) Shahidi F, Arachchi JKV, Jeon Y-J, *Trends Food Sci. Tech.*, **10**, 37 (1999)
- 65) Kumar MNVR, *React Funct. Polym.*, **46**, 1 (2000)
- 66) Jiang Y, Li Y, *Food Chem.*, **73**, 139 (2001)
- 67) Agulló E, Rodríguez MS, Ramos V, Albertengo L, *Macromol. Biosci.*, **3(10)**, 521 (2003)
- 68) Bautista-Baños S, Hernández-Lauzard AN, Velázquez-Del-Valle MG, Hernández-López M, Ait Barka E, Bosquez-Molina E, Wilson CL, *Crop Protection*, **25**, 108 (2006)
- 69) Borgogni CF, Polakiewicz B, Pitombo RNM, *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, **26(3)** 502 (2006)
- 70) Li Y, Chen XG, Liu N, Liu CS, Liu CG, Meng XH, YU LJ, Kenedy JF, *Carbohyd. Polym.*, **67**, 227 (2007)

- 71) Silva ABP, Couto SM, Tórtora JCO, *Hig. Alimentar*, **20(145)**, 36 (2006)
- 72) Portaria, nº. 540, de 27 de outubro de 1997, *Regulamento Técnico de Aditivos Alimentares – definições, classificação e emprego*, Diário Oficial da União, Brasília, DF, (Brasil): Ministério da Saúde, 1997.
- 73) Quin C, Li H, Xiao Q, Liu Y, Zhu J, Du Y, *Carbohyd. Polym.*, **63**, 367 (2006)
- 74) Costa Silva HSR, Santos KSCR, Ferreira EI, *Quim. Nova*, **29(4)**, 776 (2006)
- 75) Roller S, Covill N, *Int. J. Food Microbiol.*, **47**, 67 (1999)
- 76) Rodríguez MS, Centurión ME, Agulló E, *J Food Sci*, **67 (7)**, 2576 (2002)
- 77) Cuero RG, *Exs.*, **87**, 315 (1999)
- 78) Qiuping Z, Wenshui X, *LWT- Food Sci. Technol.*, **40**, 404 (2007)
- 79) Zheng L-Y, Zhu J-F, *Carbohydrate Polym.*, **54**, 527 (2003)
- 80) Coma V, Martial-Gros A, Garreau S, Copinet A, Salin F, Deschamps A, *J. Food Sci.*, **67(3)**, 1162 (2002)
- 81) Rhoades J, Roller S, *Appl. Environ. Microbiol.*, **66(1)**, 80 (2000)
- 82) Sagoo SK, Board R, Roller S, *Lett. Appl. Microbiol.*, **34**, 168 (2002)
- 83) Avadi MR, Sadeghi AMM, Tahzibi A, Bayati KH, Pouladzadeh M, Zohuriaan-Mehr MJ, Rafiee-Tehrani M, *Eur. Polym. J.*, **40**, 1355 (2004)
- 84) Tsai G-J, Hwang S-P, *Fisheries Sci.*, **70**, 675 (2004)
- 85) Bautista-Baños S, Hernández- López M, Bosquez-Molina E, *Journal Phytopathol.*, **22**, 178 (2004)
- 86) Helander IM, Nurmiaho-Lassila E-L, Ahvenainen R, Rhoades J, Roller S, *Int. J. Food Microbiol.*, **71**, 235 (2001)
- 87) Devlieghere F, Vermeiren L, Debevere J, *Int. Dairy J.*, **14**, 273 (2004)
- 88) Plascencia-Jatomea M, Viniegra G, Olayo R, Castillo-Ortega MM, Shirai K, *Macromol. Biosci.*, **3**, 582 (2003)
- 89) Altieri C, Scrocco C, Sinigaglia M, Del Nobile MA, *J. Dairy Sci.*, **88**, 2683 (2005)
- 90) Lee, H. W., Park, Y.S., Jung, J. S., Shin, W. S. *Anaerobe*, **8(6)**, 319 (2002)
- 91) Martinez-Castellanos G, Diaz-Sobac R, Perez Flores L, Shirai K “Viabilidad de bacterias láticas en películas de quitosano para su aplicación en alimentos”. En: Resumos do IV Simposio Íbero-americano de Quitina (IV SIAQ) 2007. Natal (Brasil): Sociedade Iberoamericana de Quitina, 2007, Resumo II-11-C.
- 92) Saad SMI, *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, **42(1)**, 1 (2006)
- 93) Juneja VK, Thippareddi H, Bari L, Inatsu Y, Kawamoto S, Friedman M, *J. Food Sci.*, **71(6)**, 236 (2006)
- 94) Devlieghere F, Vermeiren A, Debevere J, *Food Microbiol.*, **21**, 703 (2004)
- 95) Rodriguez MS, Ramos V, Anullo E, *J. Food Sci.*, **68(1)**, 271 (2003)
- 96) Einarsson H, Snygg BG, Eriksson C, *J. Agric. Food Chem.*, **31**, 1043 (1983)
- 97) Nakamura S, Kato A, Kobayashit K, *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 647 (1991)
- 98) Chuyen NV, *Adv Exp Med Biol.*, **434**, 213 (1998)
- 99) Chevalier F, Chobert JM, Genot C, Haertlé T, *J. Agric. Food Chem.*, **49(10)**, 5031 (2001)
- 100) Usui, M., Tamura, H., Nakamura, K., Ogawa, T., Muroshita, M., Azakami, H., Kanuma, S., Kato, A., *Nahrung*, **48(1)**, 69 (2004)
- 101) Chung Y. C., Tsai, C. F., Li, C. F., *Fisheries Sci.*, **72**, 1096 (2006)
- 102) Gould GW “New methods of food preservation”, Londres (Inglaterra): Chapman & Hall, 1995 p. 11-13.
- 103) Leistner L, *Int. J. Food Microbiol.*, **55**, 181 (2000)
- 104) Huang JR, Huang CY, Huang YH, Chen RH, *LWT- Food Sci. Technol.*, **40**, 1287 (2007)

- 105) Chi, S., Zivanovic, S. Penfield, M. P., *Food Sci. Tech. Int.*, **12(2)**, 111 (2006)
- 196) Greco FA, Cubitto MA, Rodríguez MS “Evaluación de la actividad antimicrobiana del quitosano sobre *Candida Krusei* en jugo de manzana”. En Resumos do IV Simposio Íbero-americano de Quitina (IV SIAQ) 2007. Natal (Brasil): Sociedade Iberoamericana de Quitina, 2007, Resumo II-10-C.
- 107) Kanatt SR, Chander R, Sharma A, *Food Sci. Tech. Int.*, **39**, 997 (2004)
- 108) Shahidi F, Kamil J, Jeon Y-J, Kim SK, *J. Food Lipids*, **9**, 57 (2002)
- 109) Darmadji P, Izumimoto M, *Meat Sci.*, **38**, 243 (1994)
- 110) Kamil JYVA, Jeon YJ, Shahidi F, *Food Chem.*, **79**, 69 (2002)
- 111) Araújo JMA “Química de Alimentos: Teoria e prática”. 2^a edición. Viçosa (Brasil): UFV, 1999, cap. 14.
- 112) Assis OBG, Leoni AM, *Biotec. Ciênc. Desenv.*, **30**, 33 (2003)
- 113) Botrel DA, Soares NFF, Geraldine RM, Pereira RM, Fontes EAF, *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, **27(1)**, 32 (2007)
- 114) Galleti L., Berger, H., Drouilly, D., Antonio Lizana, L., *Idecia*, **24(2)**, 35 (2006)
- 115) Chien P-J, Sheu F, Lin H-R, *Food Chem.*, **100**, 160 (2007)
- 116) Oliveira LM, Oliveira PAPLV, *Braz. J. Food Technol.*, **7(2)**, 161 (2004)
- 117) Chien P-J, Sheu F, Lin HR, *J. Food Eng.*, **79**, 736 (2007)
- 118) Assis OBG, Vieira DC, Bernardes-Filho R, Campana-Filho SP, *Inter. J. Polymeric Mat.*, **51(7)**, 633 (2002)
- 119) Nadarajah K, Kader J, Mohd M, Paul DC, *Pakistan J. Bio. Sci.*, **4(3)**, 263 (2001)