

PERSPECTIVA E POTENCIAL APLICAÇÃO DE QUITOSANA COMO INIBIDOR DE LISTERIA MONOCYTOGENES EM PRODUTOS CÁRNEOS

Roberta Bento de Albuquerque^{1*}; Evandro Leite de Souza²; Tânia Lúcia Montenegro Stamford³; Thayza Christina Montenegro Stamford⁴

1) Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, CAV – PE, Brasil. Correio eletrônico: robertabentonutricionista@hotmail.com

2) Departamento de Nutrição da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB – Brasil

3) Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, Brasil

4) Departamento de Microbiologia da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil

Enviado: Febrero de 2009; Aceptado: Mayo 2009

RESUMO

Nos últimos anos, o consumidor tem aumentado a exigência por alimentos seguros, especialmente no âmbito da contaminação microbiológica, preocupados com os danos relacionados a doenças transmitidas por alimentos de origem microbiana, bem como os efeitos colaterais relacionados ao uso de aditivos artificiais em alimentos, particularmente em produtos cárneos. Neste contexto, o estudo de novos aditivos naturais e não tóxicos com vistas à substituição dos aditivos artificiais, tem recebido ênfase nas pesquisas em todo mundo. . Quitosana, um polímero natural, biodegradável, extremamente abundante e atóxico, tem se destacado como potencial antimicrobiano para uso em sistemas naturais de conservação de alimentos. Dentre os diversos microrganismos que se destacam como contaminantes de produtos cárneos, *Listeria monocytogenes* figura como uma ameaça à saúde do consumidor e como preocupação para a indústria de produtos cárneos prontos para o consumo, sendo tal fato relacionado à sua elevada resistência fisiológica e capacidade de sobrevivência e multiplicação em alimentos armazenados sob refrigeração. Esta revisão objetiva mostrar o potencial de aplicação de quitosana como antimicrobiano natural em produtos cárneos, com base na abordagem de diversos estudos que mostram a atividade inibitória deste composto, em meios sintéticos e em matrizes alimentares, sobre vários microrganismos de interesse em alimentos, com especial enfoque a *L. monocytogenes*. Relata-se ainda alguns achados científicos relacionados a algumas propriedades biológicas adicionais de quitosana de interesse na conservação de alimentos.

Palavras-chave: quitosana; efeito antibacteriano; produtos cárneos; conservação de alimentos.

ABSTRACT

In last years consumers has demanded for safe foods, especially regarding their microbiological contamination, being still worrying with the damages posed by microbial foodborne diseases, as well as the side effects related to the use abusive use of synthetic additives added to foods, particularly to meat products. In this perspective, the study of new natural and non toxic food additives looking for the replacement of synthetic preservatives has received special attention for researchers all over the world. Chitosan, a natural polymer, biodegradable, highly abundant and non toxic, has been highlighted as potential antimicrobial for use in natural food conservation systems for researches all over the world. Among many meat products-contaminating microorganisms, the high physiological resistance of *Listeria monocytogenes* and capability of surviving and multiplying in foods stored under refrigeration makes it a threat for the health of consumers and a worrying for the industry of meat products, mainly in ready-to-eat ones. This review show the potential of application of chitosan as a natural antimicrobial in meat products taking base on the reports of many studies that noted an antimicrobial activity of this compound, in synthetic media and food matrices, on several food-related microorganisms with a special attention to *L. monocytogenes*. It is also reported some scientific findings related to additional biological properties of chitosan of interest in food conservation.

Key-words: chitosan; antibacterial effect; meat products; food conservation.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente é crescente o número de consumidores que tem exigido da indústria de alimentos a adoção de uma política decrescente de uso de aditivos químicos para obtenção dos seus objetivos voltados para a segurança alimentar, bem como para o retardo das ações microbianas de caráter deteriorante, as quais conduzem o alimento a um estado impróprio para o consumo. Sendo assim, a indústria alimentícia procura atender regras gerais que se baseiam em prolongar o período de armazenamento dos alimentos, fazendo com que estes permaneçam adequados para o consumo e gerem lucros para os fabricantes [1].

Neste panorama, impulsiona-se a realização de pesquisas em todo o mundo enfatizando a busca de compostos alternativos para um emprego racional como conservantes naturais em alimentos, com a finalidade de atender as perspectivas de um emergente perfil de consumo [2]. A potencialidade antimicrobiana de produtos naturais como a quitosana tem sido investigada como uma alternativa para substituição de compostos antimicrobianos artificiais, que devido ao abuso de uso por longos anos, deu origem ao fenômeno de resistência microbiana [3].

Frente à reconhecida importância em se viabilizar a produção de sistemas de conservação de alimentos com menor quantidade de aditivos artificiais, este ensaio teórico tem como objetivo realizar uma análise dos trabalhos até o momento publicados sobre a potencialidade antimicrobiana da quitosana, particularmente a quitosana de origem fúngica, bem como sugerir estudos com aplicações desse efeito em produtos cárneos em substituição aos aditivos químicos.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. Segurança alimentar: novas tendências de mercado. A garantia do direito de todos ao acesso ao alimento de boa qualidade, tem sido amplamente discutida pelos setores públicos e privados, especialmente no aspecto nutricional e em relação à inocuidade dos alimentos. Quando o maior enfoque na aquisição de alimentos pelo consumidor está relacionado à ausência de contaminantes, sejam de natureza química, física ou biológica, utiliza-se o termo alimento seguro, do inglês “*food safety*”. Enquanto, os perigos físicos são os mais comumente identificados (pêlos, fragmentos de metal, osso, etc) pelos consumidores, os perigos químicos e microbiológicos, por sua vez, impõem o maior risco, do ponto de vista da saúde pública [4].

Segundo a *Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação* (FAO), as doenças transmitidas por Alimentos (DTA's) constituirão provavelmente o maior problema de saúde no mundo contemporâneo [5]. As DTA's desempenham importante papel socioeconômico, pois ocasionam custos à saúde pública e barreiras na exportação de produtos ao

mercado internacional, além de perda da credibilidade da unidade produtora [6].

Redmond e Griffith [7], relataram que 1 a cada 3 europeus são afetados anualmente por doenças microbianas transmitidas por alimentos, o que representa em média 130 milhões de pessoas. O *Center for Disease Control and Prevention* e o *Food and Drug Administration* (FDA), em 2001, forneceram dados relatando cerca de 9000 mortes por ano nos *Estados Unidos* em decorrência do consumo de alimentos contaminados por microrganismos patogênicos [8]. No *Brasil*, foram registrados entre os anos de 1999 e 2000, cerca de 1940 surtos de doenças microbianas de origem alimentar, com 32.516 pessoas atingidas e 14 óbitos, apesar de toda a fragilidade do sistema de vigilância epidemiológica, que apura e registra oficialmente apenas 1 em cada 50 casos de DTA [9].

Com os fatos relacionados à falta de segurança dos alimentos ocorridos nas últimas décadas, o atributo "segurança do alimento" tornou-se ainda mais valorizado, especialmente para carnes. No entanto, nem todos os atributos podem ser avaliados pelos consumidores no momento da compra. O nível de contaminação por microrganismos e/ou resíduos químicos, por exemplo, só poderão ser determinados por meio de testes laboratoriais mais sofisticados [10].

Nesse contexto, o consumidor procura se informar sobre os produtos consumidos, e em contrapartida as indústrias alimentícias cada vez mais se preocupa em informar a respeito das condições que um determinado alimento foi produzido. Em decorrência disso, a identificação dos fatores determinantes da qualidade sanitária de qualquer produto requer a aplicação e investigação de métodos que favoreçam o reconhecimento das medidas de controle que eliminem os fatores de risco em questão, relacionados principalmente aos processos tecnológicos. A presença e detecção de cepas de microrganismos patogênicos resistentes a antimicrobianos artificiais têm despertado grande preocupação no setor de saúde pública e no campo da *Ciência e Tecnologia de Alimentos* [11].

Sendo assim, como alternativa para a aplicação de métodos de conservação cada vez mais seguros, com baixos níveis de aditivos, bem como possuindo aceitável qualidade sensorial, surge o uso dos conservantes naturais, que podem ter nos produtos cárneos um emprego de grande interesse tanto para a indústria, como também para os consumidores.

2.2. Produtos cárneos. Os produtos cárneos processados ou preparados são aqueles cujas características originais da carne fresca foram alteradas através de tratamentos físicos e/ou químicos. O processamento da carne fresca visa à elaboração de novos produtos e, por inibir a ação de enzimas microbianas de caráter degradativo, prolonga a vida de prateleira, além de apresentar inúmeras vantagens, como não alterar de forma significativa as características

nutricionais, e influenciar de forma positiva nas características organolépticas do produto, conferindo cor e sabor próprios de cada processo [12].

O mercado de produtos cárneos tem apresentado significativa expansão e alta competitividade. O *Brasil* é um dos mais importantes produtores de Carne Bovina do mundo, (6,3 milhões de toneladas/ano), e tem consumo "per capita" situado em 36,6 kg/ano [13]. Além da utilização da própria carne no preparo de alimentos, o consumo de vários subprodutos da carne tornou-se parte do hábito alimentar de uma parcela considerável de consumidores em todo o mundo. Entretanto, o consumo de tais produtos tem sido altamente discutido em virtude do uso abusivo de aditivos alimentares que podem prejudicar a saúde dos consumidores [14].

No *Brasil*, a *Agência Nacional de Vigilância Sanitária* (ANVISA), regulamenta o uso de aditivos de acordo com as diretrizes preconizadas pela Portaria nº 540 [15], na qual considera aditivo alimentar qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, entretanto com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenamento, transporte ou manipulação de um alimento.

Sais de cura, como nitrato e nitrito de sódio e de potássio, são largamente utilizados como aditivos na conservação de produtos cárneos. Os sais de nitrito, além de inibirem a deterioração microbiana, são fixadores de cor e agentes de cura [16]. A polêmica em torno do uso destes conservantes em alimentos ocorre em virtude da possibilidade de originarem compostos tóxicos de ação carcinogênica, além de produzir vasodilatação e relaxamento da musculatura lisa em geral, enrubescimento da face e extremidades, desconforto gastrointestinal, dor de cabeça, cianose, náusea, vômitos, dores abdominais e colapso; devido a possível interação de tais substâncias com componentes dos alimentos, no processamento ou no metabolismo, que promovem, por sinergismo, a formação de componentes de maior toxicidade, ou, por antagonismo, substâncias que podem reduzir sua toxicidade [14]. Dessa forma, é imprescindível estabelecer medidas preventivas substanciais para efetivar o controle de qualidade e a vigilância sanitária, objetivando minimizar os efeitos tóxicos causados pela adição de aditivos.

Ao analisar a dose necessária de um aditivo como nitrito a ser adicionada a um alimento, verifica-se que sua concentração dependerá da finalidade, sendo que seu emprego em produtos cárneos varia entre 30 e 50 ppm para o desenvolvimento de cor, entre 20 e 40 ppm para desenvolvimento de aroma, entre 80 e 150 ppm para o efeito conservante, e entre níveis de 20 e 50 ppm para o efeito antioxidante [17]. É válido salientar, que os altos níveis desse aditivo, têm como foco principal a conservação do alimento, uma vez que para a reestruturação da cor e

aroma, são necessários no máximo 50 ppm.

Pesquisa realizada [14] aponta que produtos derivados de carne fabricados no Brasil apresentam, na maioria das vezes, níveis de nitrito e nitrato acima do permitido pela legislação, de modo que tal achado tem sido atribuído a uma possível tentativa de prevenção da proliferação de microrganismo nestes produtos, visto que as altas temperaturas nos países de clima tropical somado a alta umidade, favorecem o crescimento microbiano. Além disso, etapas do processamento tecnológico como pesagem, trituração, mistura e armazenamento, envolvem operações que podem levar a contaminação microbiana, dentre as quais, destaca-se a contaminação em produtos cárneos por *Listeria* sp.

2.3. Listeriose. O primeiro surto de listeriose causado por ingestão de produtos cárneos contaminados, envolveu um tipo de patê importado pelo *Reino Unido*, tendo como consequência 366 doentes e 63 mortes [18], enquanto o primeiro relato de listeriose nos *Estados Unidos* foi de um caso esporádico relacionado ao consumo de embutido de carne de peru por uma paciente com câncer [19].

L. monocytogenes pode ser isolada do solo, água, silagem, plantas e outras fontes. Essa bactéria, mesmo não sendo esporulada, apresenta destacável resistência e suporta os efeitos deletérios do congelamento, desidratação, acidez e calor, além de poder se desenvolver em ambientes com baixas tensões de oxigênio, devido à sua característica microaerófila [20]. Sua ampla distribuição ambiental é favorecida não somente pela capacidade de se desenvolver entre 0 e 44°C, embora sua faixa ótima seja entre 30 e 37 °C, mas também por tolerar valores extremos de pH (5 – 9), além de baixa atividade de água e concentrações de NaCl superiores a 10 % [21].

Uma variedade de problemas clínicos em decorrência da ação de *Listeria monocytogenes* tem sido relatada, porém a maior parte das complicações clínicas em humanos tem sido septicemia, meningite neonatal, septicemia e meningite em imunodeprimidos, além de septicemia e doença gripal inespecífica em mulheres sadias durante a gestação, as quais podem infectar o feto [22]. Durante os surtos, a mortalidade pode atingir 40% dos acometidos pela infecção, de modo que nos casos de meningite, essa taxa pode atingir 70% e nas septicemias 50% [23].

A adoção de padrões microbiológicos com exigência de ausência de *L. monocytogenes* em alimentos por parte de diversos países visa assegurar um produto isento de risco para o consumidor, pois embora uma única célula deste microrganismo, provavelmente, não seja suficiente para causar listeriose, sua capacidade de multiplicação durante a estocagem de alimentos, mesmo sob refrigeração, faz com que sua presença no alimento coloque em risco a

saúde dos consumidores mais susceptíveis (gestantes, crianças, imunodeprimidos) [21].

Nos *Estados Unidos* a *Food and Drug Administration* (FDA) [24] estabeleceu-se a norma de “tolerância zero” para presença de *L. monocytogenes* em alimentos prontos para o consumo, sendo seguida pelo *United States Department of Agriculture* (USDA). No Brasil, apesar de não existir surtos de listeriose documentados, tendo como causa ingestão de alimentos, recentemente, pesquisas já demonstraram o isolamento de *L. monocytogenes* em carne e produtos cárneos no território brasileiro [25, 26]. Entretanto, é necessário se colocar que os dados reais podem estar sendo subestimado, uma vez que a legislação brasileira [27] não prevê limites de tolerância para presença deste microrganismo em carnes e produtos cárneos.

Várias são as causas apontadas para a destacável ocorrência de *L. monocytogenes* em produtos cárneos. Uma das hipóteses é que a incidência poderia estar relacionada à presença do microrganismo no ambiente intestinal dos animais, sem que ocorra a manifestação de sintomatologia clínica, facilitando, desta forma, que toda a carcaça possa ser contaminada durante as operações envolvidas no abate e evisceração do animal [28].

Kasnowski [26] cita a contaminação por pessoas envolvidas no trabalho em abatedouros, sendo constatado que 10 a 30 % eram portadores assintomáticos de *L. monocytogenes*, e também que veterinários de campo apresentavam listeriose cutânea adquirida pela manipulação de produtos de aborto infectados.

Atualmente, autores [29, 30] relatam que a facilidade do gênero *Listeria* em multiplicar-se nos equipamentos de plantas processadoras de alimentos e sob baixas temperaturas o torna uma ameaça à indústria de alimentos. O fator que auxilia a proliferação de *Listeria* na planta de processamento, é o crescimento de biofilmes, que podem conferir uma proteção contra a ação de desinfetantes com consequente manutenção do microrganismo no ambiente e em equipamentos como fatiadores, moedores e embutideiras, que são considerados de difícil higienização [31]. Além disso, estudos apontam que a situação pode ser agravada, pois a microbiota autóctone da carne não interfere no crescimento de *Listeria* sp., uma vez que esse gênero foi detectado mesmo nas amostras de carne e produtos cárneos, e em amostras ambientais e de superfície de equipamentos, que apresentaram altos níveis de contaminação por aeróbios mesófilos e coliformes [32]

Recentemente *Mead et al.* [33] abordaram a ocorrência de um surto com produtos cárneos processados, envolvendo 108 pessoas contaminadas e 14 mortes, onde foi confirmado a presença de *L. monocytogenes* como agente contaminante.

Contudo, tendo em vista os riscos impostos por *L. monocytogenes* em produtos cárneos e

o emprego indiscriminado dos aditivos artificiais, mostrando a necessidade de alternativas de aditivos naturais em combinação com outros métodos de conservação para agirem como obstáculos (“*Hurdle Technology*”), surge à possibilidade do uso da quitosana como composto antimicrobiano natural e de baixa toxicidade, o qual pode proporcionar segurança microbiológica e química para os consumidores de produtos cárneos.

2.4. Quitosana na conservação de alimentos. As aplicações e a produção industrial da quitosana foram iniciadas a partir de 1970. No Japão, a produção de quitosana cresceu 37 % ao ano entre 1978 e 1983 [34], onde pesquisas atuais apontam para uma grande variedade de aplicações da quitina e da quitosana devido à sua versatilidade biológica [35].

A quitosana é um dos vários derivados provenientes da N-deacetilação da quitina, sendo um polímero linear, natural, insolúvel, que apresenta β -1,4 N- acetilglucosamina como unidade monomérica e, com exceção da celulose, é o polissacarídeo mais abundante e largamente distribuído na natureza, servindo como elemento estrutural, e encontrado especialmente em animais invertebrados e na parede celular de fungos [36].

Conhecida por apresentarem polimorfismo, as cadeias da quitosana ligam-se através do hidrogênio e podem diferenciar-se em três diferentes estruturas automórficas (α , β e γ), de acordo com a polaridade adquirida pelas cadeias de açúcar [37]. A forma α é encontrada na parede celular de fungos, carapaça de crustáceos e na cutícula de alguns insetos. A forma β é rara e difícil de ser obtida, e pode ser encontrada em associação com proteínas em tubos sintetizados [38]. Alguns autores citam que a forma β está presente nos fungos enquanto a α nos crustáceos [39]. Na conformação α , cadeias individuais apresentam arranjo antiparalelo de forma que as cadeias adjacentes são orientadas em direção oposta. A conformação β corresponde a uma unidade com polímeros de cadeias arranjadas de forma paralela. A terceira forma, γ , caracteriza-se por três unidades de cadeias, nas quais duas cadeias “*up*” são seguidas por uma cadeia “*down*”.

Acredita-se, que as três estruturas polimórficas estejam relacionadas às diferentes funções no organismo. A quitosana α forma ligação de hidrogênio intermolecular forte, enquanto a quitosana β é caracterizada por efeitos intermoleculares mais fracos [40]. A cristalinidade da quitosana, conforme avaliado por estudos de raios-X, depende do grau de acetilação e do processo pelo qual o polissacarídeo foi obtido. Já a estrutura espacial está relacionada à forma na qual a quitosana se encontra no estado sólido, ou seja, depende de a quitosana estar na forma hidratada, anidra, como complexos ou sais de quitosana [41].

Atualmente, a fonte comercial principal de quitosana tem sido a carapaça de moluscos, de

camarão, de caranguejos e lagostas. A produção industrial da quitosana se faz por meio de reações de desacetilação, utilizando substâncias ácidas como reagente. As aplicações e características da quitosana dependem fundamentalmente do grau de desacetilação e do tamanho da cadeia polimérica. Para tanto, é exigido um rígido controle das condições reacionais, as quais são essenciais para o processo em escala industrial, considerando a necessidade de obtenção de polímeros de cadeia longa com grau de desacetilação na faixa desejada [42]. Além disso, outro fator limitante trata-se dos custos elevados da produção, e do isolamento industrial limitado pelos problemas sazonais, bem como pela poluição ambiental causada pelo descarte de grandes quantidades de resíduos provenientes do processamento industrial [34,36].

Entretanto, nos últimos anos, outras formas de desacetilação têm sido utilizadas, principalmente, a desacetilação microbólica, proporcionando excelentes rendimentos de quitosana [42,43]. O uso de massa micelial de fungos da Ordem Mucorales, incluindo *Rhizopus oligosporus* [44], *R. arrhizus* [45], *Cunninghamella elegans* [46] e *Mucor roxxi* [47], já vem sendo relatados pela literatura como alternativa para a produção significativa de quitosana.

A síntese de quitina e quitosana em fungos é bastante complexa. A quitosana e quitina são constituintes da parede celular dos *Zygomycetes*, cuja função é a de manutenção da rigidez e da integridade estrutural das células nesses microrganismos [36, 48,49]. No inicio da produção, a enzima quitina sintetase ocorre na forma de zimógeno, sendo distribuída em regiões específicas da superfície celular, em vesículas especializadas chamadas quitossomas [50]. A montagem macromolecular inicia-se fora do citoplasma, onde a enzima protease atua na superfície celular ativando o zimogêneo. Desta forma a UDP-N-acetylglucosamina é produzida a partir da glicose, e a quitina sintetase catalisa a transferência do N-acetylglucosamina para polimerização da cadeia formando quitina. A quitosana presente na parede celular de alguns fungos (Mucorales) é formada a partir da deacetilação (quitina deacetilase) da cadeia de quitina nascente, durante a biossíntese de quitina. As regulações das sínteses de quitina e de quitosana são determinadas pela organização espacial da síntese de quitina na superfície celular [51].

Estudos utilizando biomassa de *Mucor rouxii* e *M. javanicus* como fonte de polissacarídeos obtiveram rendimento de quitosana em torno de 8 % [52, 53]. Em recentes estudos, tem se estabelecido métodos de otimização para processos de obtenção de maior quantidade de quitosana a partir de massa micelial de fungos [36, 54, 55].

Vantagens no uso da biomassa de fungos são: extração simultânea dos biopolímeros, independência de fatores sazonais, produção em larga escala, processo simples e econômico resultado na diminuição do tempo e dos custos requeridos para extração além da ausência de

contaminação por proteínas, que podem induzir às reações alérgicas em indivíduos com predisposição alérgica a crustáceos [36, 49, 55, 56, 57].

Por se tratar de um polímero natural, biodegradável, extremamente abundante e atóxico, a quitosana tem sido proposta como um material potencialmente atraente para usos diversos, principalmente em engenharia, biotecnologia e medicina. As indicações mais comuns são seu emprego como meio complexante de íons metálicos, para a formação de coberturas com ação antifúngica e bactericida, como elemento básico para a confecção de matrizes de liberação controlada de drogas, embora ainda que controverso, como um agente ativo no emagrecimento humano por sua interação com gorduras e estruturas afins (*fatter trapper*) [34, 36, 58, 59].

A quitosana é uma fibra natural solúvel em meio ácido, cuja característica permite que este polímero possa ser utilizado na indústria alimentícia, uma vez que as enzimas envolvidas nos processos de hidrólise deste polissacarídeo (lisozima, quitina deacetilase, quitinase e quitosanase) estão presentes nos organismos animais e vegetais [60, 61]. Sendo assim, entende-se que a quitosana pode ser considerada uma opção promissora como conservante natural, haja vista a atual tendência adotada pela indústria de alimentos de uma política decrescente do uso de aditivos químicos, impulsionada pelo reflexo da debilidade e incerteza de ambos os estudos negativos e positivos relacionados à toxicidade de muitas dessas substâncias químicas.

As propriedades singulares da quitosana fazem com que esta seja bastante versátil quanto à sua aplicabilidade na área de alimentos, pois oferece um amplo espectro de aplicações, podendo ser utilizada na fabricação de suplementos nutricionais, emulsificantes, conservantes, fibras em biscoitos dietéticos, estabilizantes de alimentos em conservas e clarificantes de bebidas [59, 62, 63, 64, 65, 66]. No entanto, apesar da vasta gama de possíveis aplicações da quitosana em produtos alimentícios, destaca-se aqui seu uso como agente conservante no sentido de impossibilitar ou atrasar a deterioração microbiana ou enzimática dos alimentos, considerando-se suas propriedades físico-químicas e seu reconhecido potencial antimicrobiano e antioxidante.

Estudos têm demonstrado que esses polímeros são capazes de provocar a inibição do crescimento de microrganismos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* [65, 67], *Salmonella. typhimurium*, *S. faecalis* [68], *S. enterica*, *S. paratyphi*, *Pseudomonas aeruginosa* [69], *Listeria monocytogenes* [70], *Bacillus. cereus*, *Shigella dysenteriae*, *Aeromonas hydrophila*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Helminthosporium* [63], *Sacharomyces cerevisiae*, *S. ludwigii*, *Zygosaccharomyces baillii*, *Cryptococcus albidus*, *Candida* sp. e *Rhodotorula* sp. [71, 72].

O mecanismo de ação da quitosana sobre os microrganismos não está completamente elucidado, mas várias propostas são sugeridas. 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 negativamente carregada dos microrganismos, o que interfere na atividade celular e na permeabilidade da membrana e resulta na perda de componentes intracelulares com consequente inibição microbiana [73, 74, 69].

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 em questão [63].

Neste sentido, 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. Desprende-se assim a sugestão de 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 películas 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 assim que o RNA e, consequentemente, as proteínas, sejam sintetizados causando distúrbios no metabolismo celular [67, 75, 76]. Em adição, sabe-se que a quitosana também apresenta a função de agente quelante de íons metálicos, e dessa forma é sugerido ainda que a molécula poderia interferir na produção de toxinas e crescimento microbiano [57].

Lee et al. [77] e *Barreteau et al.* [78], 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*.

Tsai e Hwang [74] examinando a atividade antibacteriana *in vitro* frente a algumas bactérias patogênicas 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*, *Vibrio parahemolyticus*, *Listeria monocytogenes* e *Shigella dysenteriae* foi de 50 a 200 ppm, enquanto para *Clostridium perfringens* e bactérias probióticas dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* oscilou entre 250 e 1000 ppm. Fica evidente que a resistência destas espécies probióticas testadas é pronunciadamente mais elevada, quando comparada às bactérias patogênicas dos alimentos, o que leva a crer que a superfície celular destas células é diferenciada, fazendo-se necessário a realização de mais estudos acerca das mesmas para se

alcançar uma explicação conclusiva. Outra constatação interessante destes mesmos autores refere-se à baixa eficiência antibacteriana da quitosana frente a *C. perfrigens* quando testada *in vivo* e após a ingestão na forma de pó em animais de laboratório. Este fato foi atribuído 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, e consequente desfavorecimento de interações com a superfície celular.

Estudos recentes já apontam a aplicação da quitosana em alimentos. O tratamento de frutos com filme de quitosana tem sido promissor no controle de doenças em pós-colheita de frutos [79, 80], por apresentar atividade contra vários patógenos [80-84]. Outra utilidade para o filme é seu uso como um revestimento antimicrobiano constituído de amido de mandioca adicionado de quitosana, pois apresentou resultado satisfatório no controle da microbiota presente no alho minimamente processado, visto que houve redução considerável do crescimento de bactérias psicrotróficas, fungos filamentosos e leveduras durante 20 dias de estocagem [85].

Altieri et al. [86] estudando a eficiência antibacteriana da quitosana em queijo mozarela mantido sob temperatura de refrigeração, constataram que a quitosana inibiu o crescimento de microrganismos do grupo coliforme e de *Pseudomonas* spp. Inferiram ainda, que a presença deste polissacarídeo não afetou a viabilidade e crescimento das bactérias ácidoláticas, mas 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.

Parágrafo longo e confuso: Melhorar.

Por razões de saúde pública, 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 [88].

Shahidi et al. [89] e Darmadji e Izumimoto [90] verificaram que a adição de quitosana mostrou-se eficiente como agente de controle da oxidação lipídica em bacalhau (*Gadus morhua*). Kanatt et al. [88], 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 atuar como quelante de íons metálicos, tais como o ferro, ligado às moléculas de hemoglobina e mioglobina, o qual age como catalisador desta reação [91, 78].

3. CONCLUSÃO

Após análise das informações científicas correntemente disponíveis, observa-se que o uso de compostos naturais poderia figurar como uma alternativa para a redução da quantidade de aditivos artificiais utilizados em alimentos, particularmente em produtos cárneos, reduzindo os potenciais riscos à saúde do consumidor. Dentre as fontes naturais, a quitosana vem se destacando devido as suas propriedades de biodegradabilidade, incapacidade em provocar efeitos tóxicos, e propriedade conservante em alimentos, uma vez que inibi e elimina um amplo espectro de bactérias, incluindo bactérias de grande interesse em produtos cárneos, a exemplo de *L. monocytogenes*. Outra vantagem que faz do uso da quitosana um grande interesse para a aplicação em alimentos, se deve ao fato deste potente aditivo alimentar não exercer modificação nas características organolépticas, o que pode ser destacado pela indústria na conquista de novos consumidores.

Agradecimentos. Os autores agradecem a UNICAP e ao CNPq pelo apoio dado para realização dessa pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Fellows PJ. Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Práticas, 2^a edição. Porto Alegre (Brasil): Artmed, 2006
- [2] Chao SC, Young DG, *J. Essential Oils Research*, **12**, 630 (2000)
- [3] Andremont A, *American Journal of Infect Control*, **29**, 256 (2001)
- [4] Almeida AAP, Silva PHF, *Qualidade em dia*, **5**, 5 (1998)
- [5] Akutsu RC, *Revista de Nutrição*, **18**(3), 419 (2005)
- [6] Rodríguez MM, Bertin BMA, Assis L, *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **24**(1), 88 (2004)
- [7] Redmond EC, Griffith CJ, *J. Food Protection*, **66**(1), 130 (2003)
- [8] Tauxe RV, *Food Control*, **13**(6), 363 (2002)
- [9] Carmo GMI “Doenças transmitidas por alimentos: Análise Descritiva dos Dados do Sistema de Vigilância Epidemiológica Brasil, 1999-2002”. En Anais do 13º Encontro Nacional dos Analistas de Alimentos. Rio de Janeiro (RJ), 2003
- [10] Talamini E, Pedrozo EA, Silva AL, *Gestão e Produção*, **12**(1) (2005)

- [11] Teuber M, *Cellular & Molecular Life Science*, **56**, 755 (1999)
- [12] Romanelli PF, Caseri R, Lopes Filho JF, *Revista Ciência e Tecnologia Alimentos*, **22**(1), 70 (2002)
- [13] Cofrades S, Colmenero FJ, Carballo J, *Meat Science*, **59**, 5 (2001)
- [14] Melo Filho AB, Biscontini TMB, Andrade SAC, *Revista Ciência e Tecnologia Alimentos*, **24**(3), 390 (2004)
- [15] BRASIL. Portaria nº. 540 de 27 de outubro de 1997. Brasília: Ministério da Saúde, (1997).
- [16] Hirschbruch MD, Torres EAES, Rovielo A, Rabay A, *Revista Higiene Alimentar*, **13**(62), 28 (1999)
- [17] Lücke FK, *Fleischwirtschaft International*, **4**, 38 (2000)
- [18] McLauchlin J, *Food Control*, **7**(4/5), 187 (1996)
- [19] Morbidity Mortality Weekly Reports (MMWR), Listeriosis associated with consumption of turkey franks, **38**, 267-268 (1989)
- [20] Sakate RI, Aragon LC, Raghante F, Landgraf M, Franco BDGM, Destro MT, *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, **53**(2), (2003)
- [21] Catão RMR, Ceballos BSO, *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **21**(3), 281 (2001)
- [22] Dediol C, Higiene Alimentar, **16**(102/103), 13 (2002).
- [23] Germano M I S, Germano P M L, Higiene e Vigilância Sanitária dos Alimentos, Varela, São Paulo (2001).
- [24] Center for Food Safety and Applied Butrition, FDA, USDA. Food Safety and Inspection Service. Centers for Disease Control and Prevention. Draft Assessment of the relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to-eat foods. Disponível em: <http://www.foodsafety.gov> e <http://www.cfsan.fda.gov>, 21 de janeiro de 2005
- [25] Barbalho TCF, Almeida PF, Almeida RCC, Hofer E, *Food Control*, **16**, 211 (2005)
- [26] Kasnowski MC “*Listeria* spp., *Escherichia coli*: Isolamento, identificação, estudo sorológico e antimicrobiano em corte de carne bovina (alcatra) inteira e moída”, Dissertação de Mestrado. Brasil. Universidade Federal Fluminense, 2004
- [27] BRASIL. RDC N.12 de 2 de Janeiro de 2001. Diário Oficial da união, Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (10/01/2001)
- [28] Quinn PJ “*Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas*”. Porto Alegre (Brasil), Artmed, 2005
- [29] Benkerroum N, Daoudi A, Hamraoui T, Gralfi H, Thiry C, Duroy M, Eyrart P, Roblain D, *J.Appl. Microbiology*, **98**, 56 (2005)
- [30] Martín B, Jofré A, Garriga M, Hugas M, Aymerich T, *J. Appl. Microbiology*, **39**(3), 290 (2004)
- [31] Moretro T, Lsngsrud S, Biofilms, **1**, 107 (2004).
- [32] Barros MAF, Nero LA, Manoel AVB, Ovídio L, Silva LC, Franco BDGM, Beloti V, *Brazilian J. Microbiology*, **38**(4) (2007)
- [33] Mead PS, Dunne EF, Graves L, Wiedmann M, Patrick M, Hunter S, Saleri E, Mostashari F, Craig A, Mshar P, Bannerman T, Sauders BD, Hayes P, Dewitt W, Sparling P, Griffin P, Morse D, Slutsker L, Swaminathan B, *Epidemiology and Infection*, **134**, 744 (2006)
- [34] Craveiro AA, Craveiro AC, Queiroz DC “*Quitosana: A fibra do futuro*”, Parque de Desenvolvimento Tecnológico (PADETEC) 1999. Fortaleza
- [35] Takaki GMC “*The fungal versatility on the copolymers chitin and chitosan production*”, in: *Chitin*

- and chitosan opportunities and challenges", Dutta PK (editor), SSM, International Publications. India, 2005
- [36] Franco L O, Stamford T C M, Stamford N P, Takaki G M C, *Analytica*, **14**, 40 (2005).
- [37] Winterowd J G, Sandford P A "Chitin and Chitosan". En *Food Polysaccharides and Their Applications*, Stephen, A M (editor), Marcel Dekker. Nueva York, 1995
- [38] Rinaldo M, *Progress in Polymer Science*, **31**, 603 (2006)
- [39] Arora D, Kaur J, *Intern. J. Antimicrobial Agents*, **12**, 257 (1999)
- [40] Lima IS "Quitosanas e quitosanas químicas e morfologicamente modificadas com anidrido succínico: propriedades, adsorção e termoquímica". Tese de doutorado. Brasil. Universidade Estadual de Campinas, 2005
- [41] Signini R "Estudo das relações estruturas/propriedades de quitina e quitosana". Tese de Doutorado. Brasil. Universidade de São Paulo, 2002.
- [42] Dallan PRM "Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração de pele". Tese de Doutorado. Brasil. Universidade Estadual de Campinas, 2005
- [43] Felse AP, Panda T, *Bioprocess and Biosystems Engineering*, **20**(6), 505 (1999)
- [44] Aloysius R, Karim MIA, Ariff AB, *World J. Microbiology & Biotechnology*, **15**(2), 571 (1999)
- [45] Zhou JL, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **51**(7), 686 (1999)
- [46] Franco LO, Maia RCC, Porto ALF, Messias AS, Fukushima K, Takaki GMC, *Brazilian J. Microbiology*, **35**(3) (2004)
- [47] Roux Van Der Merwe MP, Badenhorst J, Britz TJ, *World Journal Microbiology, Biotechnology*, **15**, 312 (2004)
- [48] Amorim RVS, Pedrosa, RP, Kazutaka F, Martínez CR, Ledingham WM, Takaki GMC, *Food Technology and Biotechnology*, **44**(4), 519 (2006)
- [49] Stamford TCM, Stamford TLM, Stamford NP, Neto BB, Takaki GMC, *Electronic J. Biotechnology*, **10**(1), 1 (2007)
- [50] Garcia SB, *Elsevier Applied Science*, **23** (1989).
- [51] Davis LL, Garcia SB, *J. General Microbiology*, **130**, 400 (1984).
- [52] Synowiecki J, Khatteb NAAQA, *Food Chemistry*, **60**(4), 605 (1997)
- [53] Andrade VS, Neto BB, Fukushima K, Takaki GMC, *Revista Iberoamericana de Micología*, **20**, 149 (2003)
- [54] Andrade VS, Neto BB, Souza W, Takaki GMC, *Canadian J. Microbiology*, **46**(11), 1042 (2000)
- [55] Amorim RVS, Souza W, Fukushima K, Takaki GMC, *Brazilian J. Microbiology*, **32**, 20 (2001)
- [56] Silva MCF, Stamford TCM, Franco LO, Takaki GMC, *Asian Chitin J.*, **2**, 29 (2006)
- [57] Amorim RVS, Takaki GMC, Ledingham WM, Fukushima K, *J. Industrial Microbiology and Biotechnology*, **32**(1), 19 (2005)
- [58] Assis OBG, Leoni AM, *Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento (Biotec)*, **30**, 33 (2003)
- [59] Borderías AJ, Alonzo IS, Mateos MP, *Trends in Food Science & Technology*, **16**, 458 (2005)
- [60] Yamaguchi R, Arai Y, Itoh T, *Carbohydrates Research*, **88**, 172 (1981)
- [61] Mello KGPC, Bernusso L C, Pitombo RNM, Polakiewicz B, *Brazilian Archives of Biology & Technology*, **49**(4), 665 (2006)

- [62] Gracy RW, *Amer. J. Orthopedics*, **14**(4), 53 (2003)
- [63] Costa Silva HSR, Santos KSCR, Ferreira EI, *Química Nova*, **29**(4), 776 (2006)
- [64] Shahidi F, Arachchi JKV, Jeon YJ, *Trends in Food Science, Technology*, **10**, 37 (1999)
- [65] Li Y, Chen XG, Liu N, Liu CS, Liu C G, Meng XH, YU LJ, Kenedy JF, *Carbohydrate Polymer*, **67**, 227 (2007)
- [66] Borgogni CF, Polakiewicz B, Pitombo RNM, *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **26**(3), 502 (2006)
- [67] Zheng LY, Zhu JF, *Carbohydrate Polymer*, **54**, 527 (2003)
- [68] Chung YC, Tsai CF, Li CF, *Fisheries Science*, **72**, 1096 (2006)
- [69] Yadav A V, Bhise S B, *Current Science*, **87**(9), 1176 (2004)
- [70] Coma V, Martial-Gros A, Garreau S, Copinet A, Salin F, Deschamps A, *J. Food Science*, **67**(3), 1162 (2004)
- [71] Rhoades J, Roller S, *Applied and Environmenal Microbiology*, **66**(1), 80 (2000)
- [72] Sagoo S K, Board R, Roller S, *Letters in Applied Microbiology*, **34**, 168 (2002)
- [73] Avadi MR, Sadeghi AMM, Tahzibi A, Bayati KH, Pouladzadeh M, Mehr MJZ, Tehrani MR, *Eur. Polym. J.*, **40**, 1355 (2004)
- [74] Tsai GJ, Hwang SP, *Fisheries Science*, **70**, 675 (2004)
- [75] Devlieghere F, Vermeiren L, Debevere J, *International Dairy J.*, **14**, 273 (2004)
- [76] Harish Prashanth KV, Tharanathan R N, *Trends in Food Science and Technology*, **18**(3), 117 (2007)
- [77] Lee HW, Park YS, Jung JS, Shin WS, *Anaerobe*, **8**(6), 319 (2002)
- [78] Barreteau H, Delattre C, Michud P, *Food Technology and Biotechnology*, **44**(3), 323 (2006)
- [79] El Ghaouth A, Arul J, Wilson C, Benhamou N, *Postharvest Biology and Technology*, **12**(2), 183 (1997)
- [80] Jiang Y, Li Y, *Food Chemistry*, **73**(2), 193 (2001)
- [81] Baños SB, López MH, Molina EB, Wilson CL, *Crop Protection*, **22**(9), 1087 (2003)
- [82] El Ghaouth A, Arul J, Ponnamapalam R, Boulet M, *J. Food Science*, **56**(6), 1618 (1991)
- [83] Romanazzi G, Nigro F, Ippolito A, Venere D Di, Salerno M, *Food Microbiology and Safety*, **67**(5), 1862 (2002)
- [84] Romanazzi G, Nigro F, Ippolito A, *Postharvest Biology and Technology*, **29**(1), 73 (2003)
- [85] Botrel DA, Soares NFF, Geraldine RM, Pereira RM, Fontes EAF, *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **27**(1), (2007)
- [86] Altieri C, Scrocco C, Sinigaglia M, Del Nobile MA, *J. Dairy Science*, **88**, 2683 (2005)
- [87] Chi S, Zivanovic S, Penfield MP, *Food Science & Technology International*, **12**(2), 111 (2006)
- [88] Kanatt SR, Chander R, Sharma A, *Food Science & Technology International*, **39**, 997 (2004)
- [89] Shahidi F, Kamil J, Jeon YJ, Kim SK, *J. Food Lipids*, **9**, 57 (2002)
- [90] Darmadji P, Izumimoto M, *Meat Science*, **38**, 243 (1994)
- [91] Kamil JYVA, Jeon YJ, Shahidi F, *Food Chemistry*, **79**, 69 (2002)