

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

LETÍCIA BATTISTI MALLMANN

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE EXTRATOS DE CAMU-CAMU (*MYRCIARIA DUBIA* H.B.K (MCVOUGH) E JABUTICABA (*MYRCIARIA CAULIFLORA*) COM POSTERIOR DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS DE QUITOSANA

TOLEDO

2022

LETÍCIA BATTISTI MALLMANN

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE EXTRATOS DE CAMU-CAMU (*MYRCIARIA DUBIA* H.B.K (MCVOUGH) E JABUTICABA (*MYRCIARIA CAULIFLORA*) COM POSTERIOR DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS DE QUITOSANA

MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF CAMU-CAMU (*MYRCIARIA DUBIA* H.B.K (MCVOUGH) AND JABUTICABA (*MYRCIARIA CAULIFLORA*) EXTRACTS WITH SUBSEQUENT DEVELOPMENT OF CHITOSAN MEMBRANES

Trabalho de Dissertação apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologias em Biociências da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Viviane da Silva Lobo.

TOLEDO

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra são cobertos pela licença.



LETICIA BATTISTI MALLMANN

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE EXTRATOS DE CAMU-CAMU MYRCIARIA DUBIA H.B.K
(MCVOUGH) E JABUTICABA (MYRCIARIA CAULIFLORA) COM POSTERIOR DESENVOLVIMENTO DE
MEMBRANAS DE QUITOSANA**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Tecnologias Em Biociências da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologias Em Biociências.

Data de aprovação: 05 de Agosto de 2022

Dra. Viviane Da Silva Lobo, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dra. Araceli Scalcon, Doutorado - Universidade Estadual de Maringá (Uem)

Dra. Karina Graziella Fiametti Colombo, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 10/08/2022.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela vida, por ter me dado a oportunidade e proporcionado que eu chegasse onde estou.

Aos meus pais, que nunca me deixaram desistir nas adversidades da vida, sempre estavam por perto injetando doses de animo e força para que fosse possível vencer.

Ao meu noivo, Alan Klein, que sempre se fez presente, ajudando no que fosse preciso, levando almoços em dias de laboratório, me dando forças e me apoiando em todas as minhas decisões.

À minha orientadora, Viviane, por ter aceitado o desafio, pela paciência, ajuda, conselhos e consolos.

Ao Parque Científico e Tecnológico de Biociências, BIOPARK, por possibilitar o desenvolvimento da pesquisa, fornecendo os insumos.

Aos amigos, que de uma forma direta ou indireta contribuíram para a realização e conclusão desta etapa. Ninguém vence sozinho!

RESUMO

Lesões de pele representam uma enfermidade que, em determinado período da vida, todos os seres humanos sofrerão, sejam cortes, arranhões, queimaduras ou úlceras. Por conta disto, existe a necessidade de criar recursos acessíveis à população, utilizando matérias-primas renováveis, de baixo custo e fácil obtenção. A quitosana é um polissacarídeo biocompatível e biodegradável, que apresenta propriedades antimicrobiana e cicatrizante, por isto se apresenta como promissora para a utilização quanto à confecção de biomateriais. Uma primeira etapa deste estudo foi a obtenção de diferentes extratos de duas frutas da Família *Myrtaceae*, o de camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K (McVough)) e jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*). Os extratos foram obtidos por maceração, variando-se os tempos de extração, entre 12 e 24 horas, e também os solventes da solução extratora, sendo eles: 100 % água, 70 % etanol (EtOH) em água e 100 % EtOH. Os extratos foram avaliados quanto suas atividades antimicrobianas frente 4 bactérias (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*) através do teste difusão em ágar por disco. Após os testes, optou-se por realizar os filmes com os extratos 100 % etanólico de jabuticaba e 70 % etanol em água do camu-camu, pois apresentaram resultados promissores quanto aos halos de inibição com os quatro microrganismos. Na segunda etapa da pesquisa, os filmes foram preparados pelo método de evaporação de solvente (*casting*), variando-se as concentrações dos extratos em 0,5 % m/v, 1,0 % m/v e 1,5 % m/v, e os mesmos foram avaliados quanto às suas características macroscópicas, grau de intumescimento e atividade antimicrobiana. Os filmes apresentaram flexibilidade, ausência de bolhas, e coloração característica dos extratos com intensidade variando de acordo com a concentração dos mesmos nas membranas. Com exceção dos filmes com 0,5 % e 1,5 % de extrato de jabuticaba, todos os demais apresentaram intumescimento variando de 150 a 600 % nos primeiros 60 minutos, e após isto, apresentaram perda de massa, o que pode ser indicativo de dissolução da membrana. Quanto aos resultados dos testes antimicrobianos dos filmes para as quatro cepas, todos apresentaram inibição de crescimento sobre o disco, porém, o filme com incorporação de 0,5 % de extrato de camu-camu frente a cepa de *S. aureus* apresentou o melhor halo de inibição com 15,3 cm.

Palavras-chave: família *Myrtaceae*; biomaterial; atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

Skin lesions represent a disease that, at a certain period of life, all human beings will suffer, be it cuts, scrapes, burns or ulcers. Because of this, there is a need to create accessible resources for the population, using renewable, low-cost and easy-to-obtain raw materials. Chitosan is a biocompatible and biodegradable polysaccharide, which has antimicrobial and healing properties, which is why it is promising for use in the manufacture of biomaterials. The first step of this study was to obtain different extracts of the *Myrtaceae* family, the camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K (McVough)) and jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*). The extracts were obtained by maceration, varying the extraction times, between 12 and 24 hours, and also the solvents of the extracting solution, namely: 100% water, 70 % ethanol (EtOH) in water and 100% EtOH. The extracts were evaluated for their antimicrobial activities against 4 bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*) using the disk agar diffusion test. After the tests, it was decided to make the films with 100 % ethanolic extracts of jabuticaba and 70 % ethanol in the water of camu-camu because they showed promising results regarding the inhibition of halos with the four microorganisms. In the second stage of the research, the films were prepared by the solvent evaporation method (casting), varying the concentrations of the extracts in 0.5 % mass/volume (m/v), 1.0 % (m/v) and 1.5 % (m/v), where they were evaluated for their macroscopic characteristics, degree of swelling and antimicrobial activity. The films showed flexibility, absence of bubbles, and characteristic coloration of the extracts with intensity varying according to their concentration in the membranes. Except for the films with 0.5 % and 1.5 % of jabuticaba extract, all the others showed swelling ranging from 150 to 600 % in the first 60 minutes, and after that, they showed a mass loss, which may be indicative of membrane dissolution. Concerning the results of the antimicrobial tests of the films for the four strains, all showed inhibition of growth on the disc, however, the film with the incorporation of 0.5 % of the camu-camu extract against the strain of *S. aureus* showed the best halo inhibition, with 15.3 cm.

Keywords: *Myrtaceae* family; biomaterial; antimicrobial activity

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura da pele ilustrando os principais tecidos: epiderme, derme e hipoderme	12
Figura 2 - Estrutura da (a) quitina, (b) quitosana e (c) celulose.....	16
Figura 3 - Fruta (a) camu-camu e sua polpa (b).....	17
Figura 4 - Fruto jabuticaba.....	19
Figura 5 - Fluxograma geral da metodologia adotada.....	22
Figura 6 - Ilustração do procedimento adotado para a extração das amostras.....	23
Figura 7 - Desenho experimental referente a etapa de extração.....	23
Figura 8 - Ilustração do procedimento adotado para as membranas de quitosana com incorporação dos extratos.....	24
Figura 9 - Halos de inibição frente a bactéria <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111.....	30
Figura 10 - Halos de inibição frente a bactéria <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	31
Figura 11 - Halos de inibição frente a bactéria <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922..	31
Figura 12 - Halos de inibição frente a bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	32
Figura 13 - Melhores resultados do teste disco-difusão.....	33
Figura 14 - Membranas de quitosana preparadas com 0,5% (1-a), 1,0% (1-b) e 1,5% (1-c) de extrato de camu-camu e membranas de quitosana preparadas com 0,5% (2-a), 1,0% (2-b) e 1,5% (2-c) de extrato de jabuticaba.....	34
Figura 15 - Resultados do teste de intumescimento das membranas com incorporação dos extratos.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Atividades biológicas da espécie <i>Myrciaria dubia</i>	18
Tabela 2 - Codificação adotada para os extratos elaborados.....	24
Tabela 3 - Codificação adotada para as membranas incorporadas com os melhores extratos.....	26
Tabela 4 - Média e desvio padrão das massas (gramas) dos extratos após a filtração.....	28
Tabela 5 - Comparação entre as medidas dos diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano (mm) obtida pela metodologia de disco utilizando os extratos de camu-camu e jabuticaba frente as bactérias do estudo.....	29
Tabela 6 - Espessura das membranas de quitosana incorporadas com os extratos.....	36
Tabela 7 - Medidas dos halos de inibição do crescimento microbiano (mm) pela metodologia de disco utilizando membranas incorporadas com diferentes concentrações de extratos.....	38

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVO GERAL	11
2.1	Objetivos específicos	11
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1	Pele, feridas cutâneas e curativos	12
3.2	Quitosana	15
3.3	Família <i>Myrtacea</i>	16
3.3.1	<i>Myrciaria dubia</i> (H.B.K.(McVough)).....	17
3.3.2	<i>Myrciaria cauliflora</i>	19
4	MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1	Material	21
4.1.1	Camu-camu.....	21
4.1.2	Jabuticaba.....	21
4.2	Métodos	21
4.2.1	Preparo dos extratos.....	22
4.2.2	Atividade antimicrobiana dos extratos.....	24
4.2.3	Preparo das membranas.....	25
4.2.4	Caracterização das membranas.....	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1	Atividade antimicrobiana dos extratos	28
5.2	CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS	34
5.2.1	Avaliação macroscópica.....	35
5.2.2	Espessura	35
5.2.3	Grau de intumescimento	36
5.2.4	Atividade antimicrobiana das membranas.....	37
6	CONCLUSÃO	40
	REFERÊNCIAS	41

1 INTRODUÇÃO

A pele é um dos principais órgãos do corpo humano, tem como papel atuar na interface entre o organismo e o ambiente externo, e está vulnerável a ataques externos que possam acarretar em lesões, cortes e queimaduras. Além disto, seres humanos diagnosticados com diabetes podem apresentar complicações oriundas desta doença, sendo uma das enfermidades mais comuns as úlceras nos pés.

Após o rompimento tecidual, ocorrem inúmeras reações visando reconstituir o tecido lesionado. Estas reações são denominadas como processo de cicatrização, e o quanto antes ocorrerem, melhor, pois acarretarão em um menor tempo de exposição do organismo a uma série de patógenos que possam causar danos ainda maiores. Por isto, o grande obstáculo desta área, da cicatrização, é o desenvolvimento de curativos que apresentem características adequadas ao tratamento, possibilitando as melhores respostas em menor tempo (MALAGUTTI *et al.*, 2014 e SANTOS, 2016). Os curativos disponíveis no mercado, comumente são feitos com quitosana, ácido hialurônico, colágeno e silicone. Estes, para atuarem no processo de cicatrização de lesões, podem ser encontrados em diversas formulações, tais como, sprays, géis, pomadas e filmes poliméricos. Além disto, as características que os curativos devem apresentar para serem utilizados no tratamento de lesões cutâneas são: ser atóxico, não alérgico, apresentar absorvência, propriedades de barreira, flexibilidade e biodegradabilidade (KORTING *et al.*, 2011; CAMPOS *et al.*, 2015; DREIFKE *et al.*, 2015).

Segundo Franco *et al.* (2016), os polímeros naturais evidenciam relevante potencial na aplicação como curativos, pois geralmente possuem características vantajosas, como biocompatibilidade, boa disponibilidade, haja visto que são obtidos de fontes renováveis, e ainda, não apresentam risco ao meio ambiente. Dentre os polímeros naturais, a quitosana apresenta propriedades interessantes para a confecção de curativo.

A quitosana apresenta característica de versatilidade, podendo ser utilizada na indústria alimentícia, farmacêutica, de cosméticos e médica. É um polímero obtido através da desacetilação da quitina, um polissacarídeo encontrado no exoesqueleto de crustáceos, artrópodes e de alguns moluscos, também podendo

estar presente na parede celular de alguns fungos. Possui algumas propriedades que contribuem para uma boa cicatrização de feridas, tais como, poder hemostático e função analgésica (FRANCO, 2014).

É sabido que, desde os primórdios, a utilização de plantas medicinais no tratamento de doenças e sobre feridas visando a cicatrização aparece como o recurso de cura terapêutica para os todos os povos (BLANES, 2004; BADKE *et al.*, 2011).

Até o presente momento, não foram evidenciados estudos de membranas de quitosana incorporadas com extratos de frutas da família *Myrtaceae* para a utilização em tratamentos de lesões de pele.

2 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antimicrobiana de membranas de quitosana incorporadas com extratos de camu-camu e jabuticaba, frente a quatro microrganismos, para potencial aplicação em curativos.

2.1 Objetivos específicos

- Obter extratos aquoso e etanólico das frutas camu-camu e jabuticaba;
- Determinar a atividade antimicrobiana dos extratos frente às cepas *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Listeria monocytogenes* ATCC 19111, através do teste disco-difusão;
- Avaliar estatisticamente os extratos frente à atividade antimicrobiana, para verificação de quais extratos apresentam as melhores respostas;
- Elaborar membranas de quitosana com a incorporação dos dois melhores extratos frente a atividade antimicrobiana;
- Avaliar as membranas de quitosana frente às características macroscópicas, grau de intumescimento e atividade antimicrobiana.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

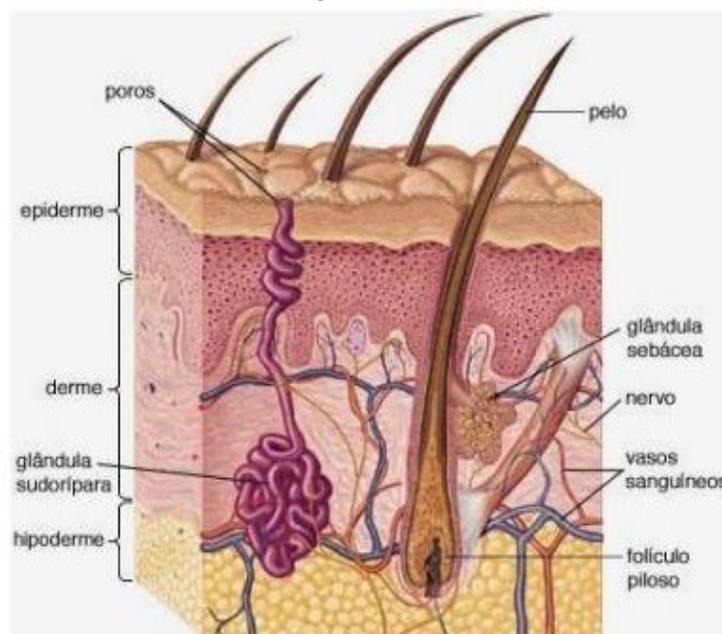
Este capítulo aborda de maneira sucinta, os principais conceitos encontrados na literatura que dizem respeito ao tema estudado. Estão descritas informações sobre pele, feridas cutâneas e curativos, sobre a quitosana, acerca da família Myrtaceae e finalizando com os seus gêneros *Myrciaria dubia* e *Myrciaria cauliflora*.

3.1 Pele, feridas cutâneas e curativos

Considerada o órgão do corpo humano indispensável para a vida, a pele ou membrana cutânea é responsável por cerca de 16% do peso corporal e tem como função principal isolar as estruturas internas do ambiente externo. Ou seja, é a barreira anatômica e fisiológica entre o organismo e o meio ambiente, propiciando assim a devida proteção contra os possíveis danos físicos, químicos e microbiológicos (BORGES *et al.*, 2016, TORTORA e DERRICKSON, 2017).

Constituem a pele essencialmente três camadas de tecidos: a camada superior, conhecida como epiderme, uma camada intermediária, a derme e uma camada mais profunda, que é a hipoderme ou tecido celular subcutâneo (Figura 1).

Figura 1 - Estrutura da pele ilustrando os principais tecidos: epiderme, derme e hipoderme.



Fonte: adaptado de MONTAGNA e EBLING (2016)

A epiderme se localiza na parte mais externa, apresenta estrutura compacta e impermeável sendo perfurada por poros dos folículos pilosebáceos e das glândulas com origem na derme. Não é vascularizada, por conta disto, recebe os nutrientes necessários por permeação capilar através da derme (HARRIS, 2009).

A derme apresenta tecidos conectivos fibrosos de elastina e colágeno, se encontra abaixo da epiderme dando-a sustentação. Nesta camada se encontram as estruturas anexas da pele como os pêlos, as glândulas sudoríparas e sebáceas, vasos sanguíneos e estruturas nervosas. Esta camada é muito vascularizada assegurando assim a nutrição da epiderme (HARRIS, 2009).

A hipoderme é constituída de tecido conectivo gorduroso e tecido adiposo cuja função é regular a temperatura, agir como termoisolante, suprir energia, proteção e suporte, e ainda, esta camada apresenta em sua estrutura nervos e vasos sanguíneos (BROUGHTON *et al*, 2006; GURTNER *et al.*, 2008).

Quando sofre ataques externos, a pele apresenta um rompimento tecidual no qual ocorrem danos estruturais e fisiológicos do tegumento, acarretando em feridas. Estas, podem apresentar diversas classificações, sendo uma delas, no quesito tempo de recuperação, ou seja, são classificadas em agudas as feridas que não apresentam complicações e são reparadas em adequado período, e em crônica, as quais demandam um tempo superior ao esperado e apresentam complicações (SANTOS, 2000; SANTOS, 2016).

Além das feridas que possam ocorrer devido aos ataques externos, é preciso voltar o olhar quanto as ulcerações nos pés de diabéticos. Segundo a Sociedade Brasileira de Diabetes (2019), o Brasil é o país com maior número de pessoas com diabetes da América Latina, e o quinto no mundo. O tratamento para as úlceras e demais feridas crônicas que aparecem em decorrência a doença, ainda é um desafio para os pesquisadores, porém já se tem estabelecido que estes tipos de feridas devem ser cobertos por biomateriais adequados, possibilitando um ambiente favorável a cicatrização, fornecendo condições adequadas quanto a hidratação e minimizando possíveis riscos de contaminação e/ou infecção (MULDER *et al.*, 2003; JANNESARI *et al.*, 2011).

Martins *et al.* (2010) isolaram e identificaram microrganismos de úlceras crônicas de perna de pacientes ambulatoriais e verificaram a suscetibilidade antimicrobiana dos agentes etiológicos. Ao todo, avaliaram 46 pacientes que apresentavam 60 feridas. Entre as bactérias gram-positivas predominou em 65% dos

casos a *Staphylococcus aureus*, sendo sensível a maioria dos antibióticos testados, e entre as bactérias gram-negativas as mais frequentes foram *Pseudomonas aeruginosa*, seguida da *Proteus mirabilis* e posteriormente *Proteus vulgaris*.

Lima (2019) identificou, através de coleta de swab e biópsias para cultura, os microrganismos presentes em lesões crônicas do tipo vasculogênica, diabética e de pressão, e constatou em seu estudo 15 tipos de microrganismos diferentes, sendo duas bactérias gram-positivas e treze bactérias gram-negativas. As gram-positivas foram encontradas somente nas úlceras vasculogênicas e diabéticas, sendo que, a bactéria gram-positiva que se apresentou em maior frequência nas lesões foi a *Staphylococcus aureus*, e a gram-negativa a mais comum foi a *Pseudomonas aeruginosa*.

Para que ocorra a restauração do tecido, faz-se necessário a formação de colágeno, angiogênese, epitelização e contração da ferida. Isto pode ocorrer com maior êxito se houver temperatura, hidratação e oxigenação adequada (BORGES e CARVALHO, 2016).

Existem vários fatores que interferem no processo de cicatrização, como estado nutricional, infecção, idade elevada, doenças sistêmicas, localização da ferida, falta de proteínas e vitaminas, vascularização inadequada, tabagismo e também o diabetes *mellitus* (SANTOS, 2000; BORGES e CARVALHO, 2016).

Uma forma de viabilizar o processo fisiológico da reparação de um tecido é através de terapias tópicas. Estas por sua vez têm como objetivo identificar e eliminar as infecções, auxiliar na remoção dos tecidos necróticos, manter o leito da ferida úmida, absorvendo o excesso de exsudato, protegendo a ferida de invasões bacterianas e ainda regulando a temperatura. Neste tipo de terapia, os curativos chamam atenção, pois desempenham um papel importante na reconstituição tissular (BLANES, 2004).

Segundo Franco (2014), filmes, espumas, hidrocoloides, alginatos e hidrogéis são os principais tipos de curativos utilizados como biomateriais. Estes devem apresentar algumas características como conter transparência, flexibilidade, durabilidade, resistência mecânica, permeabilidade ao vapor d'água e ao oxigênio, impermeabilidade aos microrganismos e fina espessura.

Diversos estudos têm apontado o uso dos polímeros biocompatíveis, para aplicação nas feridas visando ajuda no tratamento. As principais vantagens dos polímeros estão quanto à facilidade do processamento, haja visto que podem ser

produzidos em diversas formas, apresentam custo razoável e maior disponibilidade de encontrar os materiais com as devidas propriedades requeridas (WONG e BRONZINO, 2007; PATRULEA *et al.*, 2015; PIRES *et al.*, 2015; BRIANEZI, 2016).

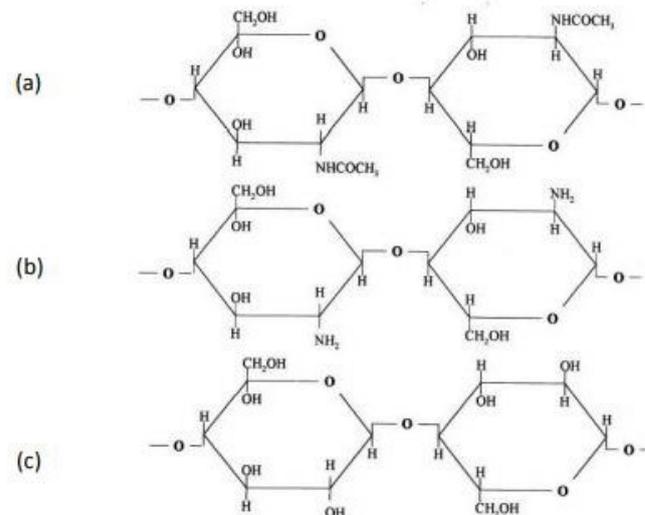
Como biopolímero, a quitosana vem se destacando por ser um material de aplicação muito versátil, devido suas propriedades intrínsecas como biodegradabilidade e biocompatibilidade, boa estabilidade e capacidade de formação de filmes (BHATTARAI *et al.*, 2010; AVILA *et al.*, 2012; FRANCO, 2014).

3.2 Quitosana

A quitosana é obtida através da desacetilação da quitina, um polissacarídeo encontrado no exoesqueleto de crustáceos, artrópodes e de alguns moluscos, também podendo estar presente na parede celular de alguns fungos. Geralmente a extração deste polímero ocorre através das cascas de caranguejos e camarões, pois estes são resíduos em indústria de pescados. Logo, a quitosana é um biopolímero muito atrativo e vem ganhando uma atenção especial pois é um material natural, biodegradável e biocompatível, não tóxica, apresenta grande disponibilidade e baixo custo, e ainda, contém propriedades antimicrobianas e antifúngicas (KUMAR, 2000; NASCIMENTO *et al.*, 2009; KHOUSHAB e YAMABHAI, 2010; DAI *et al.*, 2011; MADIHALLY, 2011).

A desacetilação da quitina com soluções alcalinas produz a quitosana, onde os grupamentos acetamido (-NHCOCH₃) da quitina são transformados em grupos amino (-NH₂) em graus variados. A estrutura química da quitina é semelhante à estrutura da celulose, apresentando como diferença o carbono-2, o qual se encontra ligado a um grupo OH na celulose e o grupo acetilado (-NHCOCH₃) na quitina. Todas as estruturas químicas se encontram representadas na Figura 2. (MATHUR e NARANG, 1990; FRANCO, 2014).

Figura 2 - Estrutura da (a) quitina, (b) quitosana e (c) celulose.



FONTE: PONCE-JIMÉNEZ (2002)

O uso de polímeros na composição de curativos é uma opção favorável devido à natureza química, morfológica e estrutura específica do mesmo. As cadeias poliméricas longas possibilitam não só a proteção do fármaco, mas também controlam a sua liberação. Por isto, incorporar agentes bioativos em membranas poliméricas tem fomentado a obtenção de dispositivos que desempenham importantes papéis no processo de cicatrização de feridas (GREEN, 2012; DALLAS *et al.*, 2011).

Estudos relacionados às membranas de quitosana, sejam elas para aplicação na parte alimentícia ou em curativos biológicos, incorporados com óleos essenciais e extratos brutos têm aparecido cada vez mais na literatura (UGALDE, 2014; KIMURA *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2013; VALÊNCIA-GÓMEZ *et al.*, 2016).

3.3 Família *Myrtaceae*

A família *Myrtaceae* é considerada uma das famílias mais importantes da flora brasileira em função das várias espécies comestíveis e ainda, pelo seu uso medicinal. Apresenta mais de mil espécies no Brasil, se encontrando amplamente distribuída nas regiões de clima tropical e subtropical. Os gêneros mais importantes no Brasil são: *Psidium*, *Myrciaria*, *Martierea*, *Campomanesia*, *Syzygium* e *Eugenia* (MORAES *et al.*, 2014; BIANCHETTI, 2014).

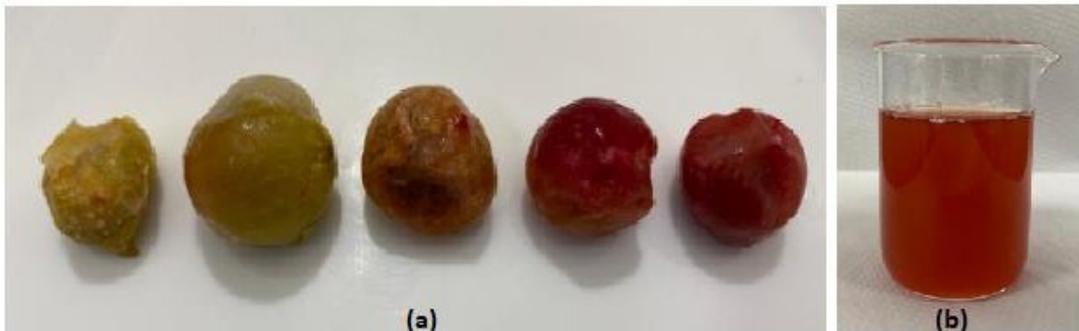
3.3.1 *Myrciaria dubia* (H.B.K. (McVOUGH))

O camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K (McVough)) é um fruto nativo da Bacia Amazônica, e é caracterizado principalmente pela sua adaptabilidade ao excesso de umidade e água no solo, sendo encontrada principalmente em solos alagados próximo a margens de rios e lagos (CASTRO *et al.*, 2018).

No Brasil, a fruta camu-camu é conhecida como caçari, araçá d'água ou sarão. Seu fruto tem de 1 a 4 cm de diâmetro, pesando em média 8,4 g, com coloração variada de amarelo até o roxo escuro ou preto dependendo do estágio da maturação, apresentando uma polpa rósea. Os frutos não são climatéricos, ou seja, quando colhidos em estado verde, não alcançam a maturidade total. Dentro de cada fruto se encontram de 1 a 4 sementes de formato reniforme achatadas bilateralmente (PINEDO, 2002; CASTRO *et al.*, 2018).

A Figura 3 apresenta a fruta em diferentes estágios de maturação (letra a), e também a coloração da sua polpa (letra b).

Figura 3 - Fruta (a) camu-camu e sua polpa (b).



Fonte: Autoria própria (2022).

Estudo afirmam que a fruta possui um elevado valor nutricional, sendo rico em compostos fenólicos, em especial o grupamento dos flavonóides, por este motivo, é uma fruta considerada promissora quando se trata do potencial antioxidante (FRACASSETTI *et al.*, 2013; BATAGLION *et al.*, 2015).

Além do potencial antioxidante, alguns autores chamam esta fruta de “super fruto” ou ainda “Rei da Vitamina C”, devido a elevada concentração de ácido ascórbico que apresenta valores de 3,5 a 7,3 mg de ácido ascórbico em 100g⁻¹ polpa (GRIGIO *et al.*, 2017).

Os componentes fitoquímicos desta fruta atuam promovendo melhora no perfil lipídico, redução do estresse oxidativo, redução dos níveis plasmáticos de

glicose, insulina e lipídios, e ainda, apresentam atividades anti-inflamatória, hepatoprotetora, antimicrobiana e antígenotóxica (RIBEIRO *et al.*, 2016; SOUZA *et al.*, 2014).

O camu-camu tem despertado interesse também devido ao seu alto teor de compostos fenólicos, como os polifenóis, incluindo os flavonóis, antocianinas, derivados do ácido elágico, elagitaninos, derivados do ácido gálico e proantocianidinas, quercitina, cianidina, entre outros (INOUE *et al.*, 2008; GONÇALVES *et al.*, 2010; AKTER *et al.*, 2011; DONADO-PESTANA *et al.*, 2018).

Estudos já demonstram que a espécie *Myrciaria dubia* apresenta ações farmacológicas, conforme a Tabela 1.

Tabela 1 - Atividades biológicas da espécie *Myrciaria dubia*

Atividades biológicas da espécie <i>Myrciaria dubia</i>		
Atividade	Estudos	Fração utilizada
Antidiabética	Melo, 2012	Polpa da fruta
	Azevêdo <i>et al.</i> , 2014	Casca e semente
	Myoda <i>et al.</i> , 2010	Sub-produto do suco (casca e semente)
Antimicrobiana	Arévalo <i>et al.</i> , 2012	Folhas, talos e raízes
	Fujita, 2015	Polpa comercial congelada
	Cunha, 2018	Casca, polpa e semente
	Fidelis, 2019	Sementes
	Myoda <i>et al.</i> , 2010	Sub-produto do suco (casca e semente)
	Gonçalves, 2012	Polpa comercial e fruta liofilizada
	Fracasseti <i>et al.</i> , 2013	Amostra do pó da polpa (seco por spray dryer) e amostra de casca e semente (leito fluidizado)
Antioxidante	Fujita, 2015	Polpa comercial congelada
	Aguiar e Souza, 2015	Polpa liofilizada
	Grigio <i>et al.</i> , 2017	casca e polpa, polpa, casca, semente, e fruto inteiro
	Fidelis, 2019	Sementes
Anti-obesidade	Nascimento <i>et al.</i> , 2013	Polpa
Anti-inflamatória	Inoue <i>et al.</i> , 2008	Suco de camu-camu
	Yazawa <i>et al.</i> , 2013	Sementes

Fonte: Autoria própria (2022).

3.3.2 *Myrciaria cauliflora*

Comumente conhecida como jabuticabeira, a espécie *Myrciaria cauliflora* se desenvolve em uma variedade de solos, mas se adapta melhor em solos sílicoargilosos e os argilossilicosos profundos, férteis e bem drenados. Chamada pelos tupis de “iapotikaba”, que significa fruto em botão. Possui frutos globosos carnudos e comestíveis de cor roxa escura. Geralmente apresenta floração duas vezes ao ano, com frutos maduros de agosto a janeiro (ANDERSEN e ANDERSEN, 1989; DANNER *et al.*, 2006; LORENZI, 2002). Na Figura 4 é possível visualizar a ilustração da jabuticaba.

Figura 4 - Fruto jabuticaba.



Fonte: Autoria própria (2022).

Os frutos da jabuticabeira apresentam elevado teor de fibras, vitaminas, carboidratos, sais minerais como o fósforo, cálcio e ferro, além dos flavonoides, conhecidos como compostos fenólicos, os quais demonstram potencial antioxidante, prevenindo doenças oxidativas e inflamatórias, além da presença das antocianinas, responsáveis pela coloração característica do fruto (SILVA, 2008 e TERCI, 2004).

Apresenta três tipos de polifenóis em suas frutas, sendo estes, taninos, flavonoides e antocianinas. Os dois primeiros estão presentes em grandes quantidades nas cascas e sementes dos frutos, e o último encontrado nas cascas (BOARI *et al.*, 2008).

Publicações da literatura demonstram que, assim como a espécie *Myrciaria dubia*, a jabuticaba apresenta ações farmacológicas, e também atividades antioxidante, que pode ser atribuída principalmente às antocianinas presentes na casca do fruto, potencial antiviral, efeitos hipoglicemiantes e hipolipemiantes, anti-inflamatória e anticarcinogênica (LEITE *et al.*, 2011; REYNERTSON *et al.*, 2005;

LENQUISTE *et al.*, 2012; REYNERTSON *et al.*, 2006).

Outros trabalhos têm estudado misturas poliméricas de quitosana com polímeros naturais, como o colágeno, o alginato, e a fibroína de seda (FRANCO, 2014; PIRES, 2017; ATAIDE, 2018; BUENO, 2019; MORAES, 2019). Entretanto, não foram encontrados trabalhos quanto a membranas de quitosana incorporadas de extratos de *Myrciaria dubia* e *Myrciaria cauliflora* para cicatrização de feridas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Esta seção compreende o preparo dos materiais que foram utilizados para o trabalho e também sobre a metodologia adotada para a realização das análises.

4.1 Material

4.1.1 Camu-camu

A fruta camu-camu foi adquirida do comércio da cidade de Vitória do Xingu, no estado do Pará (2°53'33.3"S 52°00'47.6"W), em março de 2020. Foi adquirido um lote de 50 Kg da fruta *in natura*, devidamente lavada, armazenada em embalagens de polietileno, e congeladas à temperatura de -20°C. As frutas foram transportadas em caixa térmica via transporte aéreo, e quando recebidas foram armazenadas em freezer convencional (-18°C) até o uso na pesquisa.

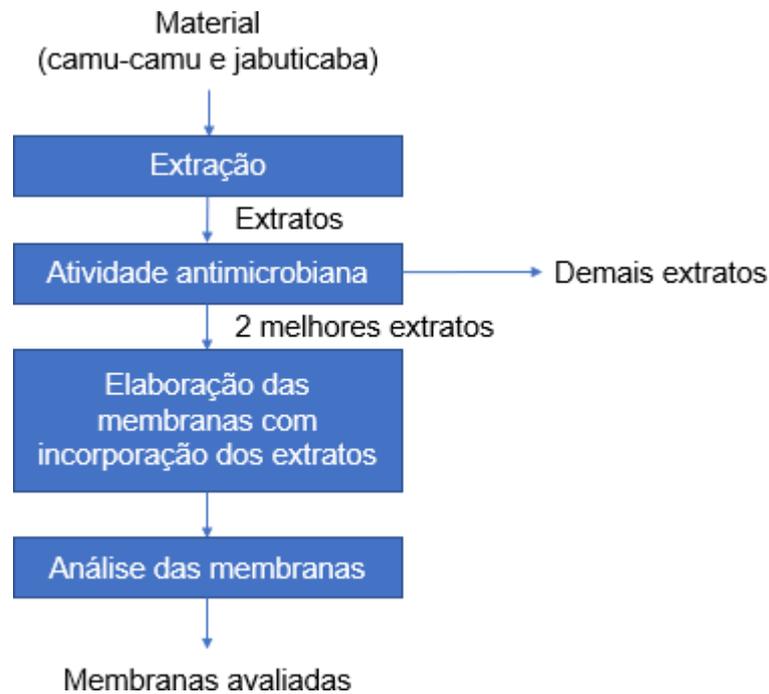
4.1.2 Jabuticaba

A fruta jabuticaba foi colhida no município de Toledo, distrito de Novo Sarandi, no estado do Paraná (23°33'50,0"S e 53°53'36,2"W), em outubro de 2019. Após a colheita, as frutas foram destinadas ao laboratório de pesquisa, desenvolvimento e inovação do Parque Científico e Tecnológico de Biociências (BIOPARK). Foram lavadas, armazenadas em embalagens de polietileno e congeladas em freezer convencional (-18°C) até o momento da utilização.

4.2 Métodos

Para o desenvolvimento da pesquisa, foi montado um fluxograma geral dos procedimentos realizados, o qual encontra ilustrado na Figura 5.

Figura 5 - Fluxograma geral da metodologia adotada.



Fonte: Autoria própria (2022).

4.2.1 Preparo dos extratos

Para o preparo dos extratos foi utilizado como base a metodologia empregada por Bona *et al.* (2014), concomitante a metodologia de Araujo e Santana (2020), com algumas adaptações. Todos os extratos foram realizados BIOPARK.

Adotou-se a proporção de 1:5 (m/v) (fruta:solução extratora), variando-se os tempos de extração, entre 12 e 24 horas, e também os solventes da solução extratora, sendo eles: 100% água, 70% etanol (EtOH) em água (volume/volume) e 100% EtOH. Os extratos foram realizados por maceração em shaker vibratório (marca Quimis, modelo Q315IA) a 110 rpm e 37°C, sendo realizados em triplicatas. Na figura 6 encontra-se um detalhamento do procedimento adotado para o preparo dos extratos.

Figura 6 - Ilustração do procedimento adotado para a extração das amostras.



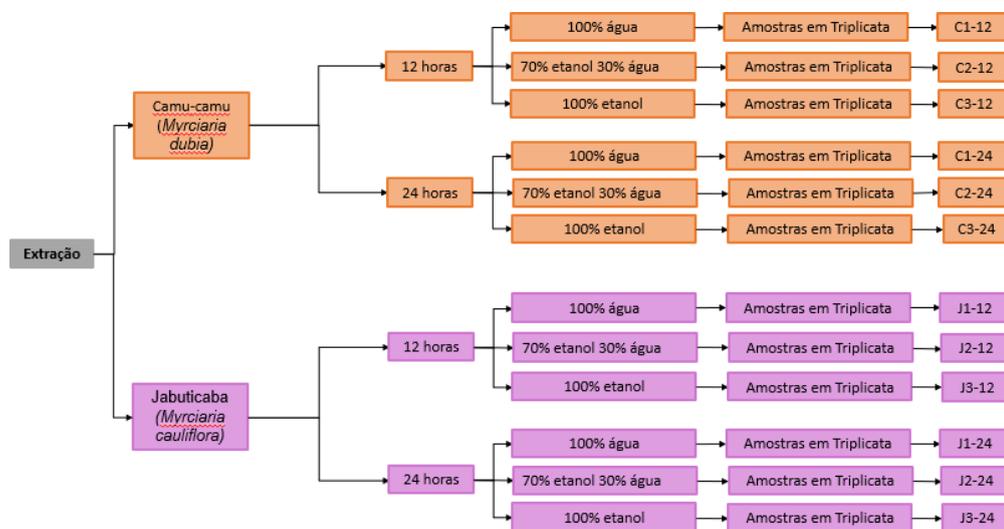
Fonte: Autoria própria (2022).

Inicialmente pesou-se 10 g da fruta, e, com auxílio de gral e pistilo, as sementes foram quebradas e homogeneizadas com a casca e polpa da fruta. Posteriormente, acondicionou a fruta em um erlenmeyer previamente codificado e adicionou 50 mL da solução extratora, conforme o planejamento. Em seguida os erlenmeyers foram colocados no shaker para iniciar a extração.

Ao final do período estipulado para a extração, o material foi filtrado a vácuo utilizando papel filtro, e as amostras foram concentradas em evaporador rotativo (Solab/SL-126) a 40°C visando remover o solvente. Os extratos foram armazenados em frascos de vidro âmbar e armazenados em freezer (-18°C) até o momento da utilização dos mesmos.

Como todas as amostras foram feitas em triplicatas, na Figura 7 é possível visualizar um esquema geral dos extratos que foram realizados, e na Tabela 2 a nomenclatura adotada para cada extrato.

Figura 7 - Desenho experimental referente a etapa de extração.



Fonte: Autoria própria (2022).

Tabela 2 - Codificação adotada para os extratos elaborados

Extratos	12 horas		24 horas	
	Camu-camu	Jaboticaba	Camu-camu	Jaboticaba
100 % H ₂ O	C1-12	J1-12	C1-24	J1-24
70 % EtOH + 30 % H ₂ O	C2-12	J2-12	C2-24	J2-24
100 % EtOH	C3-12	J3-12	C3-24	J3-24

Fonte: Autoria própria (2022).

A nomenclatura adotada para a codificação dos extratos obtidos procedeu de acordo com a fruta utilizada, o tipo de solvente empregado e o tempo de maceração no shaker. Os solventes variaram com números de 1 a 3, onde 1 era o solvente aquoso, 2 o etanólico-aquoso e 3 o solvente etanólico.

4.2.2 Atividade antimicrobiana dos extratos

Os testes antimicrobianos foram realizados no laboratório de microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Câmpus Toledo. Os microrganismos utilizados foram cepas ATCC (*American Type Collection Culture*) de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 e *Listeria Monocytogenes* ATCC 19111.

A atividade antimicrobiana foi realizada conforme Galindo (2017), seguindo a técnica de difusão de disco de acordo com a metodologia desenvolvida pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2003).

As bactérias foram reativadas em tubos contendo caldo Mueller Hinton (MH) e incubadas a 35°C por 24 horas. Em seguida, retirou-se 0,1 mL do caldo e transferiu para um tubo contendo água peptonada 0,1% (p/v) e foi comparada a turbidez do tubo com o padrão 0,5 da escala McFarland, que corresponde a 10⁸UFC/mL.

Placas de petri contendo Ágar Mueller Hinton foram adicionadas 0,1 mL de suspensão bacteriana e foi realizado a semeadura. Em seguida, discos de papel estéreis de 6 mm de diâmetro foram dispostos sobre as placas e posteriormente sobre estes foram colocados 10 µL dos extratos. As placas foram fechadas com plástico filme e incubadas à 35 °C por 24 horas.

O teste foi realizado para as quatro cepas, sendo realizado controles negativos com os solventes utilizados na extração para cada um dos

microrganismos. A avaliação do teste foi realizada com base na formação dos halos de inibição de crescimento, estes foram medidos em milímetros, com auxílio de um paquímetro. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.2.3 Preparo das membranas

Para o preparo das membranas utilizou-se quitosana em pó peso médio molecular cujo grau de desacetilação entre 75 e 85% da marca Sigma-Andrich®, EUA. Os biofilmes foram produzidos seguindo a técnica de *casting*, que consiste na desidratação de uma solução filmogênica, seguida de sua secagem em estufa. Na Figura 8 encontra-se um detalhamento do procedimento adotado para o preparo das membranas.



Fonte: Autoria própria (2022).

A quitosana (CHI) 1% (m/v) foi dissolvida em ácido acético 1% (v/v) e mantida sob agitação magnética por 12 horas. Posteriormente foi feita a incorporação dos extratos nas proporções de 0,5%, 1%, e 1,5% de um total de 10 mL de quitosana, totalizando assim 6 amostras. As soluções foram homogeneizadas em agitador magnético a 600 rpm por 5 minutos, vertidos em placas de petri de polipropileno de 90 mm e secos em estufa *over night* a 37°C. Os filmes foram removidos das placas com auxílio de uma espátula e pinça e acondicionados em tubos falcon até o momento da utilização.

Na Tabela 3 está descrito a nomenclatura adotada neste trabalho para cada extrato elaborado.

Tabela 3 - Codificação adotada para as membranas incorporadas com os melhores extratos.

Quitosana	Condição	Extrato	
		camu-camu	jaboticaba
CHI	0,5 % de extrato	CHI-0,5C	CHI-0,5J
	1,0 % de extrato	CHI-1C	CHI-1J
	1,5 % de extrato	CHI-1,5C	CHI-1,5J

Fonte: Autoria própria (2022).

Para facilitar a apresentação dos resultados, adotou-se uma nomenclatura para os filmes produzidos, onde a mesma é de acordo com a porcentagem de extrato utilizado e o fruto em questão.

4.2.4 Caracterização das membranas

As membranas foram caracterizadas quanto a avaliação macroscópica, a espessura, o grau de intumescimento e também a atividade antimicrobiana.

4.2.4.1 Avaliação macroscópica

A avaliação macroscópica dos filmes foi realizada de forma subjetiva visando observações quanto aos aspectos visuais como coloração, uniformidade, presença de bolhas, transparência, rachaduras, flexibilidade e aspecto quebradiço.

4.2.4.2 Espessura

As espessuras das membranas foram medidas utilizando um micrômetro externo digital (Mitutoyo, modelo MDC-25S, EUA) do laboratório de biomateriais do Biopark. Para cada amostra a espessura foi medida em 5 posições diferentes obtendo-se a média.

4.2.4.3 Grau de intumescimento

Membranas de cada composição foram cortadas com dimensão de 1,0 cm², cada amostra foi colocada em estufa a 40°C por 24 horas, em seguida, estas foram pesadas em balança analítica, antes da imersão em 5 ml de solução tampão fosfato (PBS), com pH 7,4. As amostras foram pesadas nos tempos de 30, 60, 90 e 120 minutos. No ato da pesagem, elas eram removidas da solução, secas ligeiramente em papel absorvente para eliminar o excesso da solução, e o peso úmido de cada membrana era mensurado na mesma balança. Este ensaio foi

realizado em triplicata, e o grau de intumescimento (em porcentagem) foi determinado pela equação 1.

$$\text{Grau de intumescimento (\%)} = \frac{M_f - M_i}{M_i} \times 100 \quad (1)$$

Onde,

M_f – massa final intumescida (g) M_i – massa inicial seca (g)

4.2.4.4 Atividade antimicrobiana das membranas

A atividade antimicrobiana das membranas foi realizada conforme item 4.2.2 porém no lugar de discos de papel filtro, foram utilizados discos dos filmes elaborados conforme item 4.2.3.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os extratos após a filtração foram pesados a título de rendimento. A média e o desvio padrão das massas estão descritas na Tabela 4.

Tabela 4 - Média e desvio padrão das massas (gramas) dos extratos após a filtração.

Extratos	12 horas		24 horas	
	Camu-camu	Jaboticaba	Camu-camu	Jaboticaba
100 % H ₂ O	44,16 ± 1,47	41,10 ± 0,53	41,43 ± 2,82	40,59 ± 0,55
70 % EtOH + 30 % H ₂ O	40,53 ± 0,93	38,9 ± 0,59	37,96 ± 2,77	38,99 ± 1,41
100 % EtOH	36,06 ± 4,47	36,73 ± 0,74	37,51 ± 1,02	36,90 ± 0,85

Fonte: Autoria própria (2022).

Mesmo com os erlenmeyers fechados com tampão durante o período da extração, é possível constatar que há um rendimento menor para os extratos 100% etanólicos, indicando que houve evaporação do solvente. Além do mais, quando comparados estatisticamente os resultados de 12 e 24 horas, estes são iguais, porém a extração com 24 horas se deu com o objetivo de verificar se haveria maior extração de compostos com poder antimicrobiano.

5.1 Atividade antimicrobiana dos extratos

Analisando os extratos através dos ensaios de difusão em ágar pelo método disco-difusão, verificou-se que quase todos inibiram as bactérias formando halo de inibição ao redor do disco.

Na Tabela 5 é possível verificar as médias e os desvios padrões dos halos de inibição (mm) de cada extrato, bem como a estatística dos mesmos frente ao comparativo entre as bactérias. E para esclarecer ainda mais os resultados obtidos através da Tabela 5, evidenciou-se os resultados em gráficos que estão ilustrados através das Figuras 9 a 12.

Tabela 5 - Comparação entre as medidas dos diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano (mm) obtida pela metodologia de disco utilizando os extratos de camu-camu e jabuticaba frente as bactérias do estudo.

Extratos	Halos de inibição (mm)			
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
C1-12	9,2 ± 0,31 cd	7,1 ± 0,35 cd	14,2 ± 0,90 abc	9,1 ± 0,51 d
C2-12	16,2 ± 2,24 ab	8,5 ± 0,52 bc	19 ± 1,37 a	8,7 ± 1,06 d
C3-12	8,4 ± 1,04 d	8,4 ± 0,30 bcd	15,9 ± 4,56 bcd	8,4 ± 1,91 d
C1-24	9,7 ± 0,75 cd	8,8 ± 0,62 abc	15,1 ± 3,01 ab	18,1 ± 0,85 bc
C2-24	18 ± 0,72 a	11,4 ± 0,40 a	16,9 ± 1,33 ab	19,1 ± 2,56 ab
C3-24	16,6 ± 0,53 ab	9,9 ± 1,11 ab	17,2 ± 0,69 ab	21,5 ± 0,40 ab
J1-12	6 ± 1,39 d	6,0 ± 0,0 d	6,1 ± 0,23 e	6,0 ± 0,0 d
J2-12	7,8 ± 0,55 d	6,0 ± 0,92 cd	7,8 ± 0,40 de	15,2 ± 1,86 c
J3-12	8,6 ± 0,23 cd	7,8 ± 1,17 bcd	12,7 ± 0,12 bcd	21,9 ± 1,65 ab
J1-24	12,8 ± 1,10 bc	6,0 ± 0,0 d	18,4 ± 0,70 ab	9,2 ± 0,71 d
J2-24	11,2 ± 3,76 cd	8,6 ± 1,78 bcd	14,5 ± 2,89 bcd	19 ± 2,68 bc
J3-24	10,8 ± 1,03 cd	7,3 ± 1,25 bcd	8,6 ± 0,80 cde	24,1 ± 0,85 a

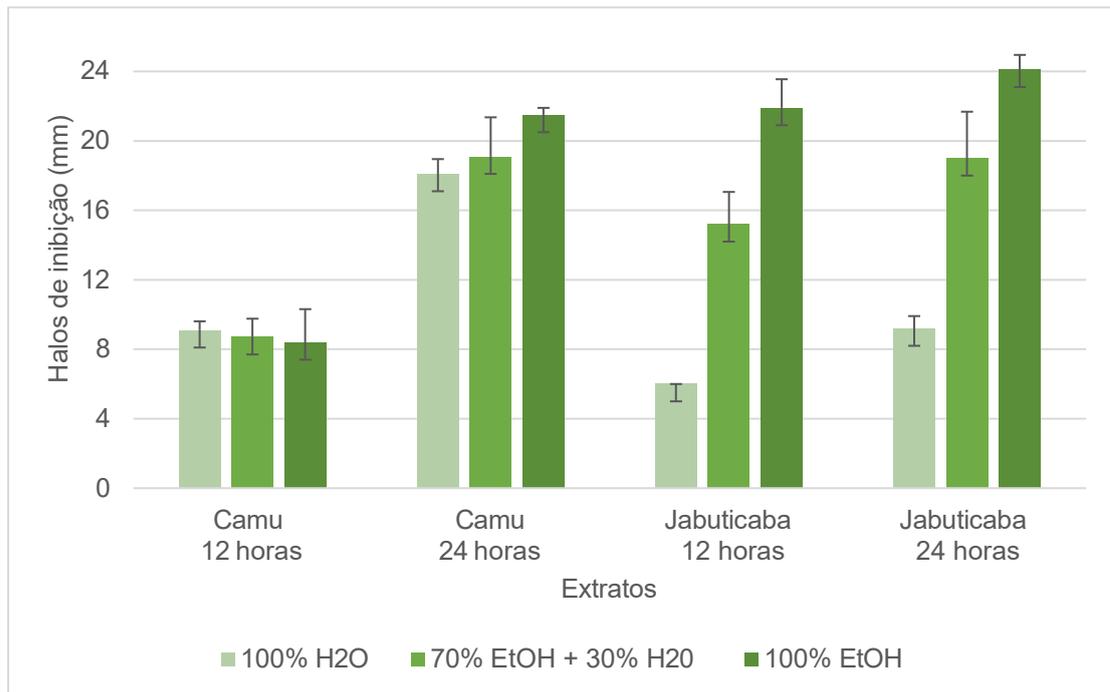
Médias com letras diferentes na mesma coluna não diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Fonte: Autoria própria (2022).

Observando o extrato etanólico de camu-camu com 24 horas de extração (C3- 24), este não é o extrato que apresentou os maiores halos de inibição para as quatro bactérias testadas, porém estatisticamente ele não se difere dos que apresentaram os melhores resultados.

Analisando dentre todos os extratos, concomitantemente a todas as bactérias, o maior halo de inibição ocorreu frente a bactéria *Listeria monocytogenes* com o extrato 100% etanólico de jabuticaba obtido através da extração por 24 horas (24,1 ± 0,85 mm). Os extratos 100% aquosos tanto para o camu-camu quanto para a jabuticaba, independentemente do tempo de extração foi o que apresentou os menores halos de inibição para esta bactéria, o que pode ser observado através da Figura 9. Apesar do extrato C1-12 ter halo de inibição maior do que o extrato C2-12 eles não se diferem estatisticamente entre si.

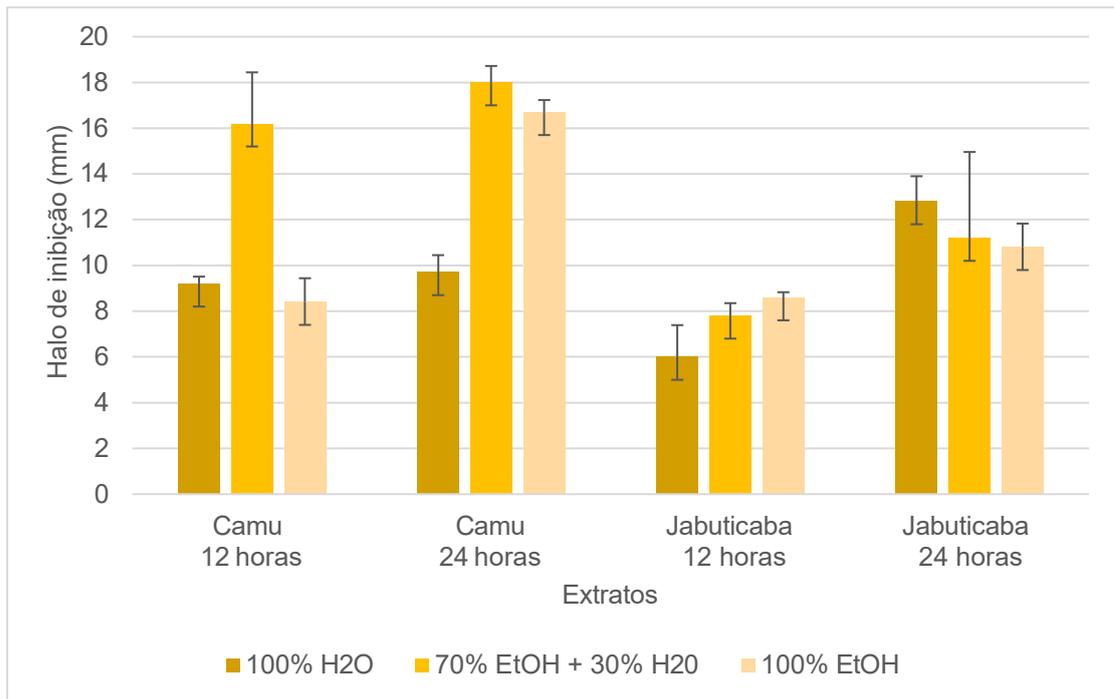
Figura 9 - Halos de inibição frente a bactéria *Listeria monocytogenes* ATCC 19111.



Fonte: Autoria própria (2022).

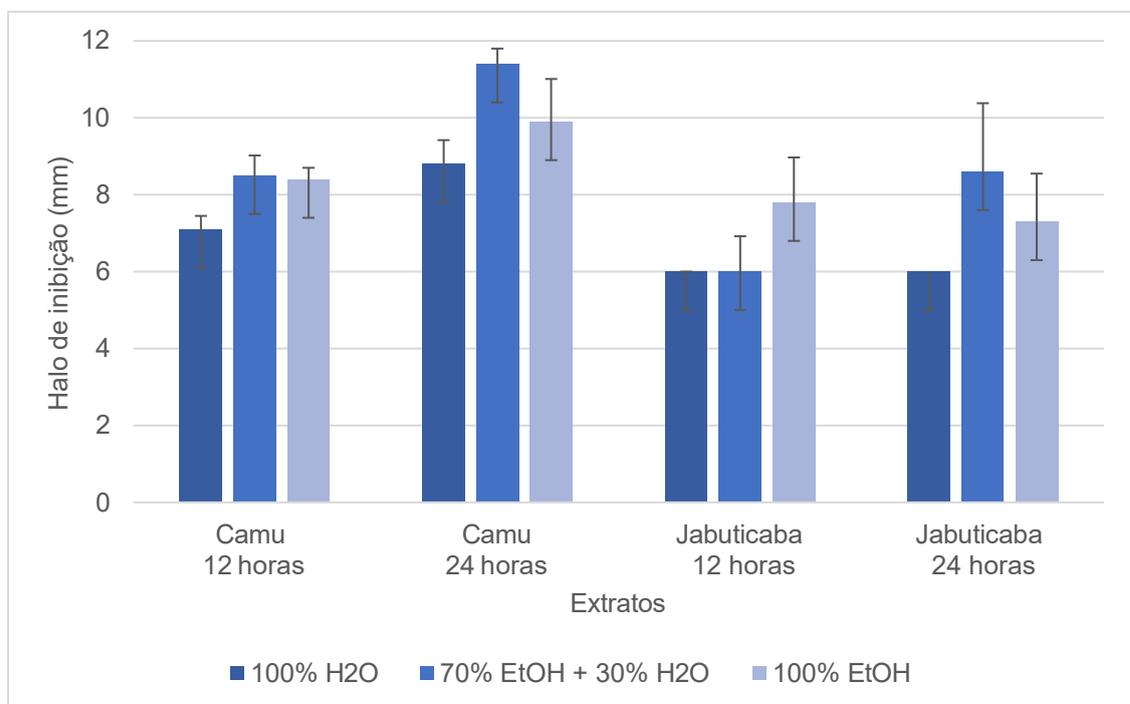
Para as bactérias gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*) os maiores halos de inibição ocorreram com os extratos de camu-camu obtidos por 24 horas de extração, cujo solvente era aquoso-etanólico, seguido posteriormente de solvente 100% etanólico, e os menores halos de inibição são com relação ao extrato aquoso de jabuticaba com 12 horas de extração, informação esta que pode ser confirmada através das Figuras 10 e 11.

Figura 10 - Halos de inibição frente a bactéria *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.



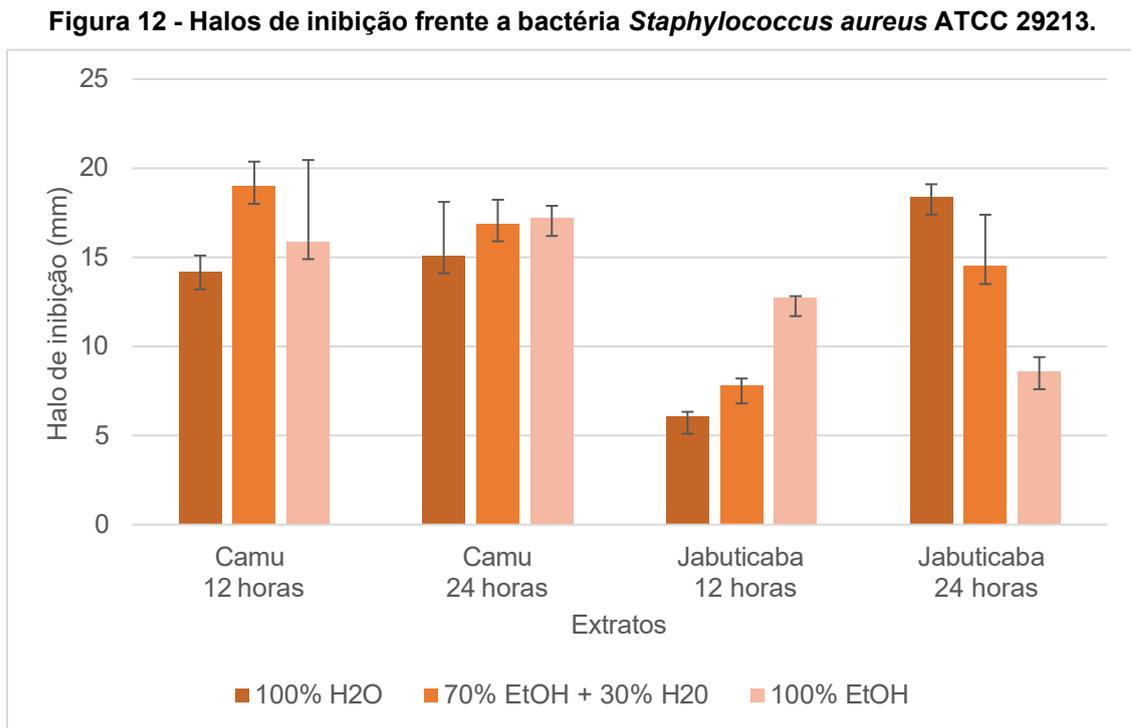
Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 11 - Halos de inibição frente a bactéria *Escherichia coli* ATCC 25922.



Fonte: Autoria própria (2022).

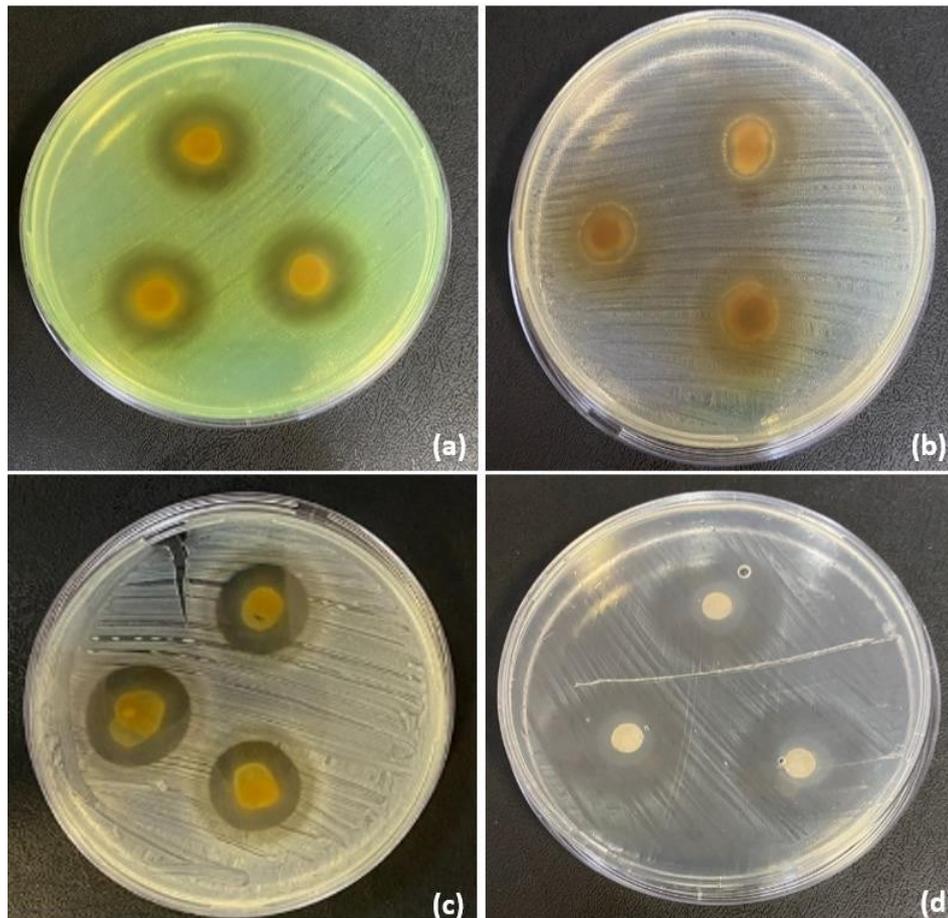
A bactéria gram-positiva, *Staphylococcus aureus* apresentou o maior halo de inibição, sendo $19 \pm 1,37$ mm através do extrato de camu-camu obtido com 12 horas de extração com solvente aquoso-etanólico. Esta bactéria foi a que mais apresentou resultados frente a diversos extratos, sendo que estes não diferem estatisticamente. A Figura 12 apresenta os resultados dos halos de inibição frente a esta bactéria.



Fonte: Autoria própria (2022).

Os melhores halos de inibição para cada uma das quatro bactérias estão ilustrados na Figura 13.

Figura 13 - Melhores resultados do teste disco-difusão



Fonte: Autoria própria (2022).

Ilustrado com a letra (a) e com a letra (b) estão os halos formados com o extrato C2-24 para as bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* respectivamente, com a letra (c) o extrato C2-12 para a bactéria *Staphylococcus aureus* e com a letra (d) o extrato J3-24 para a bactéria *Listeria monocytogenes*.

Quando se realiza análise com extrato bruto, interações sinérgicas entre diversas classes de compostos fenólicos podem resultar em altos potenciais antimicrobianos.

Azevedo *et al.* (2014) determinaram a zona de inibição de extrato aquoso de resíduo (casca e semente) de camu-camu contra *S. aureus* e resultados semelhantes foram encontrados (12 mm). Já Myoda *et al.* (2010) avaliaram potencial antimicrobiano de extrato metanólico frente *S. aureus*, resultando em 4,7 mm de inibição quando utilizou a semente, e 3,8 mm em cascas. Além de autores que trabalharam com camu-camu, outras frutas que também apresentam em sua composição compostos fenólicos como polifenóis e vitamina C mostraram boa

atividade antimicrobiana, como é o caso de Rocha (2019), que trabalhou com suco concentrado de acerola (*Malpighia emaraginata*) e obteve halos de inibição para *S aureus* de 15 mm, e também o caso de Silva *et al* (2022) que avaliaram extrato de acerola em estágios de maturação verde e constataram halos de inibição para *S aureus* de 11,15 mm.

Já para a jabuticaba, resultados similares aos encontrados nesta pesquisa estão relatados na literatura. Baldin *et al.* (2014) estudaram o potencial antimicrobiano do extrato aquoso das cascas de jabuticaba, e observaram formação de halos variando de 13 a 30 mm para as bactérias gram positivas, e 15 a 26 mm para as gram negativas.

Os resultados obtidos até o presente momento mostram respostas semelhantes com os já proposto na literatura, tanto para o camu-camu quanto para a jabuticaba, indicando com isto repetibilidade, e ainda, por apresentarem halos de inibição de crescimento das bactérias são promissores para posteriores estudos.

Optou-se por realizar as membranas de quitosana com incorporação dos extratos C2-24 e J3-24 pois estes apresentaram bons resultados, sendo que o extrato de camu-camu adquiriu duas vezes destaque nos resultados, como mostra as Figuras 10 e 11, e o extrato de jabuticaba por ter apresentado o maior halo de inibição dentre todos os extratos entre às quatro bactérias, como mostra a Tabela 5, evidenciando o resultado através da Figura 9.

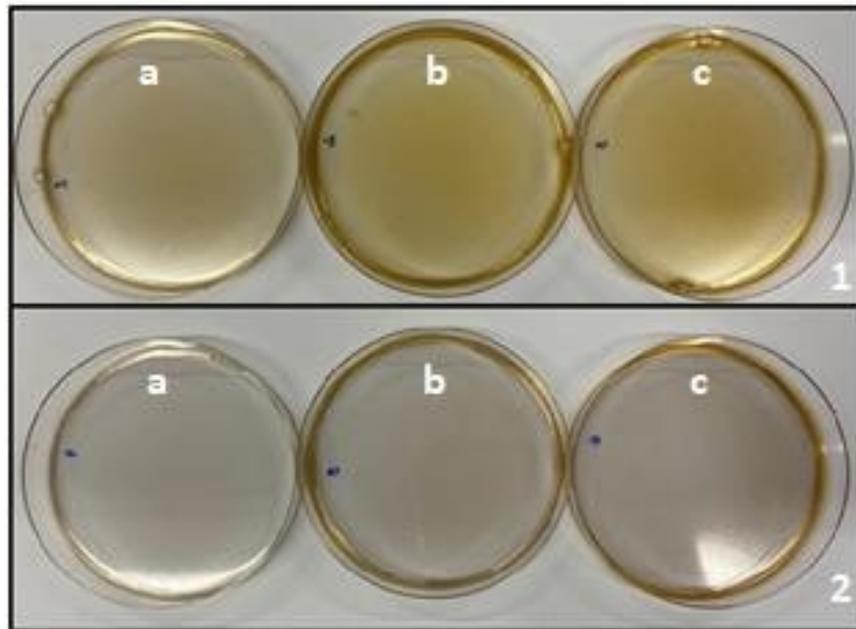
5.2 Caracterização das membranas

As membranas foram caracterizadas quanto a avaliação macroscópica, espessura, grau de intumescimento e atividade antimicrobiana.

5.2.1 Avaliação macroscópica

O aspecto macroscópico dos filmes com os extratos pode ser observado na Figura 14.

Figura 14 - Membranas de quitosana preparadas com 0,5% (1-a), 1,0% (1-b) e 1,5% (1-c) de extrato de camu-camu e membranas de quitosana preparadas com 0,5% (2-a), 1,0% (2-b) e 1,5% (2-c) de extrato de jabuticaba.



Fonte: Autoria própria (2022).

A membrana controle, elaborada apenas com quitosana, apresentou-se homogênea, transparente e lisa. As membranas contendo os extratos apresentaram a coloração do respectivo extrato, cuja intensidade foi proporcional a concentração, sendo que independente da concentração, a coloração era mais intensa nas bordas das placas. Na Figura 14-a consta as membranas com incorporação do extrato de camu-camu e na 14-b as membranas com incorporação do extrato de jabuticaba. Todos os filmes apresentaram flexibilidade, facilidade de remoção das placas e nenhum filme apresentou presença de bolhas.

5.2.2 Espessura

As médias das espessuras das membranas com incorporação dos extratos estão apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 - Espessura das membranas de quitosana incorporadas com os extratos

Amostra	Espessura (mm)
CHI	0,018 ± 0,003
CHI-0,5C	0,0208 ± 0,005
CHI-1C	0,0258 ± 0,006
CHI-1,5C	0,0248 ± 0,005
CHI-0,5J	0,0206 ± 0,003
CHI-1J	0,0298 ± 0,004
CHI-1,5J	0,0404 ± 0,006

Fonte: Autoria própria (2022).

Os resultados evidenciaram que as membranas apresentaram resultados próximos de 20 micrômetros, com exceção da amostra que foi incorporada com a maior quantidade de extrato de jabuticaba. É constatado que, quanto maior a adição dos extratos ao filme de quitosana, mais espesso o filme vai se tornando. Peng e colaboradores (2013) realizaram filmes de quitosana incorporados com extrato de chá verde, e Bueno (2019) incorporou extrato de *A. oleracea* (jambu) em filmes de alginato e de quitosana, e ambos os estudos, relacionaram que, conforme aumentava a concentração de extrato, havia um aumento na espessura dos filmes.

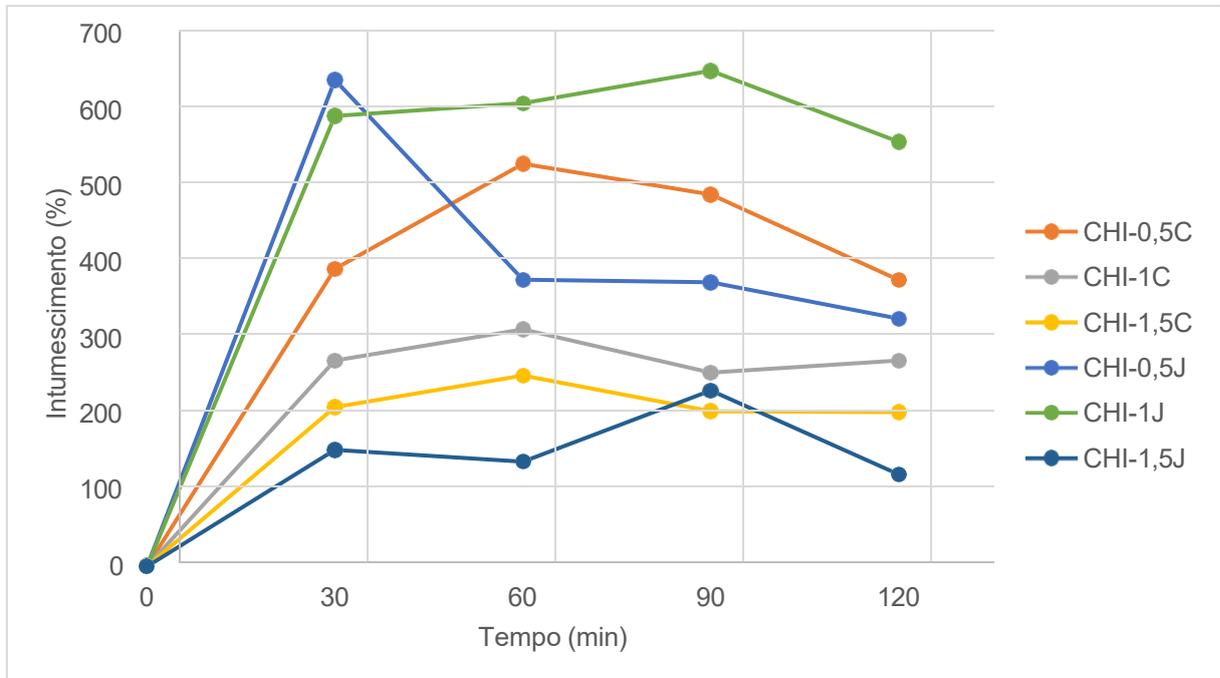
Segundo Almeida (2017), o aumento na espessura se deve ao caráter hidrofílico dos filmes. A quitosana é uma molécula que tem a predominância de grupos amino caracterizados por ligações covalentes (N-H) cujo a eletronegatividade dessas ligações gera sítios de alta polaridade, tornando assim favorável o rearranjo de moléculas de águas em seu entorno. Essa afinidade por água traz consequências indesejáveis, como a redução da estabilidade estrutural do polímero (Assis, 2003).

5.2.3 Grau de intumescimento

Este teste é realizado com o objetivo de investigar o comportamento do material durante a imersão e permanência do mesmo em solução aquosa semelhante ao meio interno do organismo. Este estudo é importante para avaliar o intumescimento dos curativos e direcionar os mesmos em uma aplicação mais específica, onde materiais que absorvem quantidades maiores de fluido são considerados apropriados para serem utilizados em feridas que são exsudativas,

que liberam fluidos serosos (PIRES, 2017; TOMAZ, 2017). Os resultados deste ensaio encontram-se na Figura 15.

Figura 15 - Resultados do teste de intumescimento das membranas com incorporação dos extratos.



Fonte: Autoria própria (2022).

Não foi possível calcular o grau de intumescimento da membrana de quitosana pura, pois durante os primeiros 30 minutos o filme havia se dissolvido completamente. O mesmo fato foi descrito por Oliveira (2013) que trabalhou com membranas de quitosana e gelatina, e relatou que após 15 minutos de ensaio a membrana de quitosana sofreu o processo de degradação; e também descrito por Bueno (2019) que constatou que filmes de quitosana e alginato sem reticulação solubilizaram-se totalmente na água, não sendo possível comparar resultados entre os demais filmes produzidos no desenvolvimento do trabalho, indicando assim que a reticulação é um processo fundamental para produção de filmes funcionais.

Nos primeiros 30 minutos os valores de intumescimento variaram de 150% a 650%, e com exceção das membranas CHI-J 0,5% e CHI-J 1,5%, os demais filmes absorveram até o tempo de 60 minutos, e após isto, houve uma perda de massa dos filmes, indicando que os mesmos dissolveram no meio. Segundo Morgado *et al.*, (2015), um curativo ideal além de absorver o excesso de exsudado da ferida, deve manter também o ambiente úmido para favorecer o processo de

cicatrização, devendo apresentar intumescimento de 100 a 900%.

Os mecanismos de intumescimento nos polímeros são dependentes da contribuição relativa da difusão do penetrante e da estabilidade polimérica. Quando uma membrana começa a absorver água, as primeiras moléculas que adentram a membrana hidratam os grupos hidrofílicos mais polares. À medida que estes grupos polares são hidratados, há um inchamento da rede, expondo os grupos hidrofóbicos da membrana, que por sua vez acabam interagindo com as moléculas de água, atingindo então um nível de intumescimento de equilíbrio. As moléculas adicionais de água vão preencher os espaços entre as cadeiras da rede, centros de poros maiores, macroporos ou vazios, e à medida que a rede incha, se as cadeias da rede ou ligações cruzadas forem degradáveis, a membrana começará se desintegrar e dissolver (HOFFMANN, 2012).

5.2.4 Atividade antimicrobiana das membranas

As membranas de quitosana com incorporação dos extratos foram analisados através do ensaio de difusão em ágar pelo método disco-difusão, e diferentemente das respostas para a atividade antimicrobiana dos extratos, as membranas com a incorporação destes não tiveram resultados promissores.

Na Tabela 7 é possível verificar as médias e os desvios padrões dos halos de inibição (milímetros - mm) das membranas.

Tabela 7 - Medidas dos halos de inibição do crescimento microbiano (mm) pela metodologia de disco utilizando membranas incorporadas com diferentes concentrações de extratos.

<i>Halos de inibição (mm)</i>				
Membranas	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphilococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
CHI-0,5C	Ausência	Ausência	15,3 ± 1,89	Ausência
CHI-1C	Ausência	Ausência	10,3 ± 0,94	Ausência
CHI-1,5C	Ausência	Ausência	12,7 ± 1,70	Ausência
CHI-0,5J	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
C-1J	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
CHI-1,5J	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

Fonte: A autoria própria (2022).

Apenas a membrana com incorporação do extrato de camu-camu para a bactéria *S. aureus* apresentou halos de inibição. Os demais foram possíveis constatar inibição do crescimento das bactérias apenas sobre os discos, por isto, está identificado na tabela 7 como “ausência”, pois os microrganismos cresceram exceto no diâmetro dos discos das membranas.

É possível melhorar características de resistência química e mecânica de membranas de quitosana através do processo de reticulação. Este, é uma reação que ocorre entre grupos amino e hidroxilas livres presentes na estrutura da molécula. É sabido que compostos fenólicos como quercetina, ácido gálico, elagitaninos e proantocianidinas tem correlação com a atividade antimicrobiana, e além disto, estes compostos apresentam hidroxilas livres em sua estrutura. Devido a isto, acredita-se que os extratos possam ter perdido sua atividade antimicrobiana devido às possíveis ligações que foram formadas para a construção das membranas de quitosana (RAUHA *et al.*, 2000; SARAIVA *et al.*, 2012; FUJITA, 2015; HACKE *et al.*, 2016).

Quando comparados os resultados da atividade antimicrobiana dos extratos de camu-camu e das membranas de quitosana com incorporação destes, para a bactéria *S. aureus*, percebe-se uma correlação nos resultados, onde para a membrana com incorporação de 0,5% de extrato, o halo de inibição foi maior do que quando aplicado apenas o extrato. Além disto, entre as membranas com as diferentes concentrações de extrato, a que apresentou o maior resultado para esta cepa foi a membrana com concentração de 0,5% de extrato.

Almeida (2017) trabalhou com extrato de uva Jacquez e membrana de quitosana, e ao analisar a atividade antimicrobiana apenas do extrato teve bons resultados, porém com a incorporação do extrato na membrana e novamente avaliação, os resultados não se mantiveram. Segundo a autora, a massa molecular da quitosana irá influenciar a atividade antimicrobiana, onde para bactérias gram-positivas quanto maior a massa molecular de quitosana maior será a atividade antimicrobiana.

6 CONCLUSÃO

A etapa de obtenção dos extratos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) e jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) mostrou-se satisfatória, sendo possível constatar formação de halos de inibição do crescimento bacteriano para as quatro cepas estudadas.

As membranas desenvolvidas com incorporação dos extratos se mostraram uniformes, garantindo a distribuição dos compostos dos extratos pela membrana. Com relação ao teste de intumescimento, o mesmo foi feito em PBS pois é um fluido mais próximo do fluido corpóreo, e constatou-se que praticamente todos os filmes após 60 minutos de contato com o meio se desmancharam, necessitando assim modificar o processo de formação da membrana a tornando mais reticulada.

No que diz respeito ao teste antimicrobiano das membranas, esperasse que os resultados fossem mais promissores como foram os resultados para o teste antimicrobiano apenas dos extratos. Como sequência para trabalhos futuros, o estudo da caracterização dos extratos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), para entender a correlação dos compostos fenólicos com a atividade antimicrobiana, e além disto, a reticulação das membranas e a realização de demais testes como análises térmicas, espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) para entender a formação da membrana com a incorporação destes extratos.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, J. P. L.; SOUZA, F. C. A. Camu-Camu (*Myrciaria dubia* HBK): Yogurt Processing, Formulation, and Sensory Assessment. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 06, n. 05, p.377-381, 2015.
- AKTER, Mst Sorifa *et al.* Nutritional compositions and health promoting phytochemicals of camu-camu (*Myrciaria dubia*) fruit: A review. **Food Research International**, Oxford, v. 44, n. 07, p. 1728-1732, 2011.
- ALMEIDA, L. A. **Membrana de quitosana incorporada com extrato de uva jacquez para tratamento de feridas cutâneas**. Dissertação (Ciência e Engenharia de Materiais), Poços de Caldas, 2017.
- ANDERSEN, O.; ANDERSEN, V.U. **As frutas silvestres brasileiras**. Globo, p.130-135, 1989.
- ARAUJO, G. B.; SANTANA, L. C. L. de A. Avaliação da casca do fruto e do caule do mandacaru como fontes de compostos fenólicos totais antioxidantes através da obtenção de extratos pelas técnicas de maceração e ultrassom. **Scientia plena**. v. 16, n. 9, p. 1-11, 2020.
- ARAUJO, G.B.; SANTANA, C. L. de A. Avaliação da casca do fruto e do caule do mandacaru como fontes de compostos fenólicos totais antioxidantes através da obtenção de extratos pelas técnicas de maceração e ultrassom. **Scientia Plena**. v. 16, n. 09. 2020.
- ASSIS, O. B. G.; da SILVA, V. L. Caracterização estrutural e da capacidade de absorção de água em filmes finos de quitosana processados em diversas concentrações. **Polímeros: ciência e tecnologia**. v.13, n. 4, p. 223-228, 2003.
- ATAIDE, R. K. F. **Membranas à base de quitosana, poli(álcool vinílico) e casca de banana madura visando aplicação como curativo cutâneo**. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Materiais). Departamento de Engenharia de Materiais. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, p. 78. 2018.
- AVILA, Adelaida *et al.* Study of optimization of the synthesis and properties of biocomposite films based on grafted chitosanll. **Journal of Food Engineering**, v.109, n. 04, p.752-761, 2012.
- AZEVÊDO, Juliana Chrís Silva *et al.* Dried camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh) industrial residue: A bioactive-rich Amazonian powder with functional attributes. **Food Research International**, v. 62, p. 934–940. 2014.
- BADKE, Marcio Rossato *et al.* Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Escola Anna Nery**, v.15, n.1, p. 132-139, 2011.
- BALDIN, Juliana Cristina *et al.* Potencial Antimicrobiano do Extrato da Casca de Jabuticaba (*Myrciaria Cauliflora*) Sobre Bactérias Gram Positivas e Negativas. **Blucher Food Science Proceedings**, v.1, n.1, p.31-32, 2014.

BARRAL, S.M. **O uso do extrato hidroalcoólico de barbatimão associado ao filme de quitosana para a cicatrização de feridas cutâneas complexas em ratas**. Tese (Doutorado em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia). Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

BATAGLION Giovana *et al.* Determination of the phenolic composition from Brazilian tropical fruits by UHPLC–MS/MS. **Food Chemistry**, v. 180, n. 1, p. 280-287, 2015.

BHATTARAI, N.; GUNN, J.; ZHANG, M. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 62, n. 1, p. 83-99, 2010.

BIANCHETTI, P. **Avaliação da atividade antioxidante e antibacteriana de extratos aquosos e etanólicos de plantas da família *Myrtaceae* frente ao micro-organismo *Escherichia coli***. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Biotecnologia). Univates, Lajeado, 2014.

BLANES, L. Tratamento de feridas. In: BAPTISTA-SILVA, J. C. C. **Cirurgia vascular: guia ilustrado**. São Paulo: 2004.

BOARI, Annete *et al.* Caracterização química do fruto jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.58, n.4, p.416-421, 2008.

BONA, Eliane Almeida Mira *et al.* Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivos do Instituto Biológico**. v. 81, n. 3, p. 218-225, 2014.

BORGES, E. L.; CARVALHO, D. V. Pele lesada. In: GAMBA, M. A.; PETRI, V.;

COSTA, M. T. F. **Feridas prevenção, causas e tratamento**. 3. ed. Rio de Janeiro: Santos Editora, 2016. p. 41-49.

BRIANEZI, S. F. S. **Preparação e caracterização de membranas de quitosana e mPEGPCL para recobrimento de feridas e liberação controlada de gentamicina**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas. 2016.

BROUGHTON, G.; JANIS, J. E.; ATTINGER, C. E. The basic science of wound healing. **Plastic and Reconstructive Surgery**. V. 117, n. 7s. p. 12S-34S, 2006.

BUENO, W. C. C. De S. **Desenvolvimento de filmes funcionais incorporando extrato de *Acmella oleracea* para fins cosméticos e antimicrobiano**. Tese. (Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica), Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2019.

CAMPOS, M. G. N. **Desenvolvimento e caracterização de membranas de quitosana para recobrimento de feridas e liberação controlada de fármacos**. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

CAMPOS, M. G. N.; MEI, L. H. I.; JUNIOR S. A. R. Sorbitol-plasticized and neutralized chitosan membranes as skin substitutes. **Materials Research**, vol. 18, n. 4, p. 781-790, 2015.

CASTRO, J. C.; MADDOX, J. D.; IMÁN, S. A. Camu-camu— *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh. **Exotic Fruits**, vol. 1, p. 97-105, 2018.

DAI, Tianhong *et al.* Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 9, n. 7, p. 857-879, 2011.

DALLAS, P.; SHARMA, V.K.; ZBORIL, R. Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: Classification, synthetic paths, applications and perspectives. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.166, n. 1-2, p.119-135, 2011.

DANNER, Moeses Andriago *et al.* Enraizamento de jaboticabeira (*Plinia trunciflora*) por mergulhia aérea. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v.28, n.3, p.530-532, 2006.

DONADO-PESTANA, Carlos *et al.* Polyphenols from Brazilian native Myrtaceae fruits and their potential health benefits against obesity and its associated complications. **Current Opinion in Food Science**, v. 19, p. 42-49, 2018.

DREIKFE, M. B.; JAYASURIYA, A. A.; JAYASURIYA, A. C. Current wound healing procedures and potential care. **Materials Science Engineering: C**, vol. 48, p. 651-662, 2015.

FRACASSETTI, Daniela *et al.* Ellagic acid derivatives, ellagitannins, proanthocyanidins and other phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of two powder products from camu-camu fruit (*Myrciaria dubia*). **Food Chemistry**, v. 139, n. 1-4, p. 578-588, 2013.

FRANCO, P. B. **Desenvolvimento e caracterização de membranas de quitosana e casca de banana verde para cicatrização de feridas cutâneas**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas. 2014.

FRANCO, Patricia Battaglini *et al.* Evaluation of antibacterial activity of chitosan membranes associated to unripe banana peel. **Materials Science Forum**, vol. 869, p 859-863, 2016.

FUJITA, A. **Produtos derivados do camu-camu: efeito da secagem sobre elagitaninos e flavonoides, atividade antioxidante e antimicrobiana**. Tese (Programa de Pós Graduação em Ciências de Alimentos). Universidade São Paulo, São Paulo. 2015.

GALINDO, M. V. **Filmes biodegradáveis de gelatina e quitosana com adição de óleos essenciais na conservação de presunto embalado a vácuo**. Trabalho de conclusão de curso (Tecnologia em Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2017.

GENOVESE, M.I.; PINTO, M. da S.; GONÇALVES, A. E. de S. S.; LAJOLO, F. M. Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and commercial frozen pulps from Brazil. **Food Science and Technology International**, v.14, n. 13, p.207-214, 2008.

GONÇALVES, A. E. de S. S.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Chemical composition and antioxidant/antidiabetic potential of Brazilian native fruits and commercial frozen pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 8, p. 4666-4674, 2010.

GREEN, B. Understanding infection in wound care. **Professional Nursing Today**, v.16, n.2, 2012.

GRIGIO, Maria Luiza *et al.* Qualitative evaluation and biocompounds present in different parts of camu-camu (*Myrciaria dubia*) fruit. **African Journal of Food Science**, v. 11, n. 5, p. 124-129, 2017.

GURTNER, G. C.; WERNER, S.; BARRANDON, Y.; LONGAKER, M. T. Wound repair and regeneration. **Nature**, v. 453, p. 314-321, 2008.

HACKE, Ana Carolina Mendes *et al.* Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) Seeds: Chemical Characterization and Extraction of Antioxidant and Antimicrobial Compounds. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 9, p. 2206-2217, 2016.

HAGIWARA, Akihiro *et al.* Pronounced inhibition by a natural anthocyanin, purple corn color, of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)-associated colorectal carcinogenesis in male F344 rats pretreated with 1,2-dimethylhydrazine. **Cancer Letters**. v. 171, n.1, p.17-25, 2001.

HARRIS, M. I. N. C. **Pele: estrutura, propriedades e envelhecimento**. São Paulo: Senac, 2009.

HOFFMANN, A. S. Hydrogels for biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 64, p. 18-23, 2012.

INOUE, Teruo *et al* Tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*) has anti-oxidative and anti-inflammatory properties. **Journal of Cardiology**. v. 52, n. 2, p. 127–132, 2008.

JANNESARI, M.; VARSHOSAZ, J.; MORSHED, M.; ZAMANI, M. Composite poly(vinyl alcohol)/poly (vinyl acetate) electrospun nanofibrous mats as a novel wound dressing matrix for controlled release of drugs. **Internacional Journal of Nanomedicine**, v. 6, p. 993-1003, 2011.

KHOUSHAB, F.; YAMABHAI, M. Chitin Research Revisited. **Marine Drugs**, v. 8, p. 1988-2012, 2010.

KIMURA, Vanessa Tiemi *et al.* The effect of andiroba oil and chitosan concentration on the physical properties of chitosan emulsion film. **Polímeros**, v.26, n.2, p 168-175, 2016.

KORTING, H. C.; SCHOLLMANN, C.; WHITE, R. J. Management of minor acute cutaneous wounds: importance of wound healing in a moist environment. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, vol. 25, n. 2, p. 130–137, 2011.

KUMAR, M. N. A Review of Chitin and Chitosan Applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 46, n. 1, p. 1-27, 2000.

LEITE, Alice *et al.* Antioxidant potential of rat plasma by administration of freeze-dried jaboticaba peel (*Myrciaria jaboticaba* Vell Berg). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, n.6, p.2277-2283, 2011.

LENQUISTE, Sabrina Alves *et al.* Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL-cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. **Food Research International**, v.49, n.1, p.153-160, 2012.

LIMA, G. K. S. **Identificação de microrganismos para controle de infecção em feridas crônicas**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Enfermagem). Universidade Federal de Alagoas, Maceió. 2019.

LIU, B.S., HUANG, T.B. A novel wound dressing composed of nonwoven fabric coated with chitosan and herbal extract membrane for wound healing. **Polymer Composites**. v. 31, n. 6, p.1037–1046, 2010.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora Plantarum, São Paulo, 2002.

MADIHALLY, S. V. Processing chitosan for tissue regeneration. **Current Trends in Polymer Science**, v. 15, p. 83-88, 2011.

MAEDA, Roberto *et al.* Estabilidade de ácido ascórbico e antocianinas em néctar de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh). **Food Science and Technology**. v. 27, n. 2, p. 313–316, 2007.

MALAGUTTI, W.; KAKIHARA C. T. **Curativos, estomias e dermatologia: uma abordagem multiprofissional**. 3ª edição. São Paulo, Editora Martinari. 2014.

MARTINS, Marlene *et al.* Úlcera crônica de perna de pacientes em tratamento ambulatorial: análise microbiológica e de suscetibilidade antimicrobiana. **Ciência, cuidado e saúde**. v. 9. n. 3. p. 464-470, 2010.

MATHUR, N. K.; NARANG, C. K. Chitin and chitosan, versatile polysaccharides from marine animals. **Journal of Chemical Education**. v. 67, n. 11, p. 938-942, 1990.

MATOS, F. J. de A. **Introdução a Fitoquímica Experimental**. 1ª edição. Fortaleza, Edições UFC. 1988.

MONTAGNA, W.; EBLING, F. J. G. W. Encyclopedia Britannica. **Human Skin – anatomy**. 2016. Disponível em: <<https://www.britannica.com/science/human-skin>>. Acesso em: 19 de maio de 2021.

MORAES, W. C. C. De S. **Curativo antimicrobiano à base de Fibras de *Saccharum officinarum* L, incorporado com extratos das cascas de *Saccharum officinarum*. L**. Tese (Bacharelado em Farmácia). Universidade Federal do Maranhão, São Luiz, 2019.

MORAIS, L. M. F.; CONCEIÇÃO, G. M.; NASCIMENTO, J. de M. Família *Myrtaceae*: análise morfológica e distribuição geográfica de uma coleção botânica. **Centro Científico Conhecer**. v. 1, n. 1, p. 317-346, 2014.

MORGADO, P. I.; AGUIAR-RICARDO, A.; CORREIA, I. J. Asymmetric membranes as ideal wound dressings: Na overview on production methods, structure, properties and performance relationship. **Journal of Membrane Science**. v. 490, p. 139-151, 2015.

MULDER, G.; ARMSTRONG, D.; SEAMAN, S. Standard, appropriate, and advanced care and medical-legal considerations: part One – diabetic foot ulcerations. **Wounds**, v. 15, n. 4, p. 92-106, 2003.

MYODA, Takao *et al.* Antioxidative and antimicrobial potential of residues of camu-camu juice production. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 8, n. 2, p. 304-307, 2010.

NASCIMENTO, E. G.; SAMPAIO, T. B. M.; MEDEIROS, A. C.; AZEVEDO, E. P. Evaluation of chitosan gel with 1% silver sulfadiazine as an alternative for burn wound treatment in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 24, n. 6, p. 460-465, 2009.

NASCIMENTO, Ozanildo *et al.* Effects of diet supplementation with camu-camu (*Myrciaria dubia* HBK McVaugh) fruit in a rat model of diet-induced obesity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** v. 85, n. 1, p. 355-363, 2013.

NCCLS. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Sixth Edition*. **NCCLS document M7-A6** (ISBN 1-56238-486-4). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

OLIVEIRA, A. P. R. **Desenvolvimento de membranas de gelatina/quitosana e o estudo do processo de reticulação**. Dissertação (Programa de Pós Graduação Interunidades em Bioengenharia). Universidade São Paulo, São Carlos, 2013.

PATRULEA, V.; OSTAFE, V.; BORCHARD, G.; JORDAN, O. Chitosan as a starting material for wound healing applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 97, p. 417-426, 2015.

PENG, Y.; WU, Y.; LI, Y. Development of tea extracts and chitosan composite films for active packaging materials. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 59, p. 282-289, 2013.

PINEDO, R. A. **Manutenção dos atributos de qualidade do camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. (Mc Vaugh)) desidratado, durante o armazenamento**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Campinas, 2002.

PIRES, A. L. R. **Desenvolvimento de dispositivos flexíveis densos e porosos visando a liberação controlada de compostos bioativos extraídos de plantas para potencial aplicação em lesões de pele**. Tese (Faculdade de Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2017.

PIRES, A.L.R.; BIERHALZ, A.C.K.; MORAES, A.M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, v.38, n. 7, p.957-971, 2015.

PONCE-JIMÉNEZ, M. D. P. P.; TORAL, F. A. L.; FORNUE, E. D. Antifungal protection and sizing of paper with chitosan salts and cellulose ethers. Part 1, physical effects. **Journal of the American Institute for Conservation**, v. 41, n.3, p. 243-254, 2002.

- RAUHA, Jussi-Pekka *et al.* Antimicrobial effects of finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. **International Journal of Food Microbiology**, v. 56, n. 1, p. 3-12, 2000.
- REYNERTSON, K.A.; BASILE, M.J.; KENNELLY, E. J. Antioxidant potential of seven myrtaceous fruits. **Ethnobotany Research and Applications**, v.3, p.25-36, 2005.
- REYNERTSON, Kurt A *et al.* Bioactive depsides and anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). **Journal of Natural Products**, v.69, n.8, p.1228-1230, 2006.
- RIBEIRO, Paula *et al.* Teor de vitamina C, β -caroteno e minerais em camu-camu cultivado em diferentes ambientes. **Ciência Rural**, v. 46, n. 3, p. 567–572, 2016.
- ROCHA, A. J. A. C. **Avaliação do potencial antimicrobiano do extrato da acerola**. Trabalho de conclusão de curso (Engenharia de alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.
- SANTOS, T. C. C. dos. **Spray de quitosana na cicatrização de feridas cutâneas em ratas diabéticas**. 2016. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016.
- SANTOS, V. L. C. G. Avanços tecnológicos no tratamento de feridas e algumas aplicações em domicílio. *In*: Duarte, Y. A. O. e DIOGO, M. J. D. **Atendimento domiciliar: um enfoque gerontológico**. São Paulo: Atheneu, p.265-306, 2000.
- SARAIVA, Marcos Antonio *et al.* Antimicrobial activity and bioautographic study of antistaphylococcal components from *Caesalpinia pyramidalis* Tull. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 48, n. 1, p. 147-154, 2012.
- SILVA, Guilherme Douglas Freitas *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato de *Malpighia emarginata* frente à *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* in vitro. **Research, Society and Development**. v. 11, n. 3, p. 1-10, 2022.
- SILVA, Paulo *et al.* Avaliação da composição química de fermentados alcoólicos de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*). **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 595-600, 2008.
- SILVA, Simone *et al.* An investigation of the potential application of chitosan/aloe-based membranes for regenerative medicine. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 6, p. 6790–6797, 2013.
- SOUZA, Ana *et al.* Frozen pulp extracts of camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh) attenuate the hyperlipidemia and lipid peroxidation of Type 1 diabetic rats. **Food Research International**. v. 64, p. 1- 8, 2014.
- TERCI, D. B. L. **Aplicações Analíticas e Didáticas de Antocianinas Extraídas de Frutas**. Tese (Doutorado em Química Analítica). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.
- TOMAZ, A. F. **Desenvolvimento de membrana de quitosana/1,4 naftoquinona para liberação controlada: curativo para feridas oncológicas**. Tese (Pós-Graduação em Engenharia de Processos). Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2017.

TORTORA, Gerard J.; DERRICKSON Bryan. **Corpo humano: fundamentos de anatomia e fisiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

UGALDE, M.L. **Biofilmes ativos com incorporação de óleos essenciais**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim. 2014.

VALÊNCIA-GÓMEZ, Laura *et al.* Chitosan/Mimosa tenuiflora films as potential cellular patch for skinregeneration. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p.1217–1225, 2016.

WONG, J. Y.; BRONZINO, J. D. **Biomaterials**. 1ª edição. Boca Raton. CRC Press Taylor & Francis Group, v. 32, 2007.