BIOFILMES DE RECOBRIMENTO PARA PRODUTOS NATURAIS CONTENDO POTENCIAL ANTIMICROBIANO

Karine Machry [1]

Priscila Baruffi Ribeiro [2]

Thamiris Renata Martiny [3]

Gabriela Silveira da Rosa [4]

Caroline Costa Moraes [5]

Resumo:

Devido a grande preocupação com os danos ambientais provocados pelo descarte de embalagens de alimentos, os biofilmes apresentam potencial de substituição destes produtos na indústria alimentícia pela sua biodegrabilidade. O objetivo do presente trabalho foi elaborar e caracterizar filmes antimicrobianos e biodegradáveis para a aplicação como embalagens ativas de alimentos. As matérias primas utilizada para a produção dos filmes foram gelatina, glicerol, água, extrato de folha de oliveira. Os parâmetros analisados foram permeabilidade do vapor d'água (PVA), espessura média, resistência à tração (T), elongação (E). Além disto, monitorou-se o crescimento microbiano com os filmes embalados. O filme 1, com 50 % de extrato apresentou espessura média de 0,1111 e PVA de 2,8491*10^-14 enquanto o filme 2 apresentou 0,1229 e 2,1433*10^-14. Em relação aos parâmetros de resistência à tração, elongação e crescimento microbiano, os valores foram de 26,616 MPa, 121,132 %, 93,05 % para o filme 1 e 26,282 MPa, 113,163 % e 10,94 % para o filme 2, respectivamente. Portanto, observa-se que os biofilmes de recobrimento incorporados com extrato natural são uma opção válida para substituição das embalagens sintéticas, mitigando impactos ambientais causados por estas como também aliados na manutenção das propriedades dos alimentos e promovendo segurança alimentar.

Palavras-chave: Biofilmes, antimicrobiano, oliveira

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

BIOFILMES DE RECOBRIMENTO PARA PRODUTOS NATURAIS CONTENDO POTENCIAL ANTIMICROBIANO

[1] Aluno de graduação. karmachry@gmail.com. Autor principal

[2] Aluno de pós-graduação. pri.baruffi@gmail.com. Co-autor

[3] Aluno de pós-graduação. thamiris.martiny@gmail.com. Co-autor

[4] Docente. gabysrosa@gmail.com. Orientador

[5] Docente. caroline.moraes@unipampa.edu.br. Co-orientador

BIOFILMES DE RECOBRIMENTO PARA PRODUTOS NATURAIS CONTENDO POTENCIAL ANTIMICROBIANO

1. INTRODUÇÃO

A discussão sobre impactos ambientais causados por descarte de resíduos plásticos tem preocupado cientistas e indústrias. Grande parte do lixo doméstico descartado atualmente são plásticos provenientes de embalagens para alimentos. O descarte do lixo urbano tem causado aumento da temperatura da terra, efeito estufa e derretimento das calotas polares. Com esses problemas, ecossistemas, fauna, flora sofrem alterações a longo prazo, prejudicando todo sistema (MUCELIN, 2007).

Visto a situação atual dos resíduos plásticos, a substituição de embalagens alimentares por filmes biodegradáveis é um potencial para o controle dos efeitos causados no meio ambiente. Os biofilmes caracterizam-se por serem não tóxicos e não poluentes. Também, a incrementação de aditivos, como o extrato da folha de oliveira (Olea europaea L.) que é um resíduo da olivicultura, acrescenta características antioxidantes e antimicrobianas ao filme tornando-o uma alternativa frente às adversidades ambientais encontradas (ALVES, 2015).

Embalagens ativas têm a função de proteção de alimentos contra ataque microbiológico, bem como prover barreira a gases e migração de solutos do mesmo, promovendo segurança alimentar e aumentando, consequentemente, o tempo de vida de prateleira do alimento (ALMEIDA, 2010).

O objetivo do presente trabalho foi elaborar e caracterizar filmes antimicrobianos e biodegradáveis para a aplicação como embalagens ativas de alimentos.

2. METODOLOGIA

As folhas de oliveira foram coletadas em junho de 2016 na cidade de Pinheiro Machado, RS, cedidas pela estância Guarda Velha. Realizou-se um pré-lavagem das folhas, imersão em hipoclorito de sódio 2,5% e enxague. Posteriormente, as folhas foram secas em estufa com temperatura de 40°C e cominuídas em moinho analítico. Foi utilizada a fração passante na peneira padrão ABNT/ASTM/TYLER de 60 mesh, obtendo-se um pó das folhas.

O extrato das folhas foi preparado por maceração dinâmica. Foram utilizadas 5g das folhas processadas e adicionados 50 mL de água destilada. Sob agitação de 240 rpm e temperatura de 25°C, procedeu-se a extração por 24 h. Posteriormente, realizou-se uma filtração simples com meio filtrante nylon, os quais foram armazenados em refrigerador em frascos de vidro âmbar até a execução das análises.

Para obtenção de atividade antimicrobiana do extrato no filme determinou-se a inibição através do método de cultivo em placas,c om adaptações, sendo *Escherichia coli (E. coli)* a linhagem bacteriana utilizada no estudo (ATCC 1129).

Os biofilmes foram obtidos a partir da metodologia de *casting*, seguida de armazenamento em dessecadores com umidade relativa controlada por 48 h, para posterior retirada das placas e análise. As soluções filmogênicas foram preparadas com gelatina, água destilada, glicerol e extrato de folhas de oliveira nas concentrações de 50 % e 75 %. Na Tabela 1 apresenta-se a formulação de cada filme, sendo que as amostras foram feitas em duplicatas.

Tabela 1: Formulação dos filmes.

Filme	Gelatina (g)	Glicerol (g)	Água (mL)	Extrato (mL)	Porcentagem do extrato (%)
Controle	1	0,3	50	0	0
1	1	0,3	25	25	50
2	1	0,3	12,50	37,5	75

Para a determinação da espessura do filme utilizou-se um micrômetro digital (INSIZE – IP65, Ásia), determinada pela média entre a medida da leitura de 10 pontos da superfície. A permeabilidade ao vapor d'água (PVA) foi determinada gravimetricamente pelo método ASTM E 96/E 96M – 05 e calculada pela Equação 1. Os biofilmes foram colocados em células de permeação contendo cloreto de cálcio anidro granulado. Estas células foram acondicionadas em dessecadores a 23 ºC, 50% de umidade relativa e pesadas durante 7 dias em intervalos de 24 h.

$$PVA = \frac{m_{AB}}{t} \cdot \frac{L}{A \cdot \Delta P} \quad (1)$$

onde, PVA ($Kg \cdot m^{-1} \cdot Pa^{-1} \cdot s^{-1}$), m_{AB} a umidade absorvida (Kg), t o tempo total do teste (s), L a espessura do filme (m), A a área da superfície exposta (m^2) e ΔP a diferença de pressão parcial (Pa).

A elongação (E %) e a resistência à tração (T) dos filmes foram determinadas utilizando-se um texturômetro (TAXTplus – Texture Analyser) e célula de carga de 50N, de acordo com o método padrão ASTM D 882-02. Os valores de T e E % foram determinadas pelas Equações 3 e 4, respectivamente.

$$T = \frac{F_m}{A} \quad (3)$$

$$E\,\% = \frac{d_r}{d_i} \cdot 100 \quad (4)$$

onde T é a tensão (MPa), Fm é a força máxima (N), A a área da seção transversal do filme (m^2), E % a elongação, dr a distância na ruptura (cm) e d_i o afastamento inicial das garras (cm).

Para verificação das propriedades antimicrobianas do filme, testou-se a cobertura de amostras de salame italiano, previamente fatiado. Analisou-se 5 fatias do salame contendo 25 g cada. A primeira delas com o filme controle, as outras com os filmes 1 e 2 e a última com filme de PVC. Em seguida as amostras foram armazenadas em refrigerador por 48 h e posteriormente procedeu-se com as análises microbiológicas.

Como controle microbiológico, avaliou-se a presença de coliformes termotolerantes e mesófilos aeróbios totais, tanto na amostra *in natura*, como as cobertas com o filme. Seguiu-se a metodologia descrita por Silva et al. (2007) embasada nas orientações da American Public Health Association (APHA). Utilisou-se a técnica da contagem de micro-organismos pelo número mais provável (NMP) para enumeração de coliformes termotolerantes e a contagem padrão em placas para mesófilos aeróbios totais. Inicialmente, separou-se cinco porções da amostra contendo 25 g cada. A primeira destas amostras foi utilizada como controle e imediatamente procedeu-se às análises microbiológicas. As outras quatro foram embaladas com diferentes filmes - a primeira delas com o filme controle, outras duas com os filmes 1 e 2 e a última com PVC.

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

Para a atividade antimicrobiana o extrato de folhas de oliveira apresentou 100% de inibição frente a *E. coli.* Resultado similar foi encontrado por Liu, Mckeever & Malik (2017), os autores investigaram o efeito antimicrobiano de extrato bruto de folhas de oliveira e demonstraram que, a uma concentração de 62,5 mg/mL, o extrato inibiu quase completamente o crescimento de *Listeria monocytogenes, E. coli e Salmonella Enteritidis.* De maneira geral, o filme apresenta sólidos suspensos devido à alta concentração destes sólidos no extrato, contudo apresentou boa homogeneidade. O aspecto geral do filme produzido é apresentado na Figura 1.



Figura 1. Biofilme de recobrimento produzido.

Na Tabela 2 apresentam-se os resultados obtidos para as espessuras médias e permeabilidade ao vapor d'água dos filmes.

Tabela 2: Espessuras médias e PVA dos biofilmes produzidos.

Filme	Espessura média (mm)	PVA (Kg·m-1·Pa-1·s-1)
Controle	0,075 ± 0,0124	$5{,}5105 \cdot 10^{-14} \pm 3{,}8124 \cdot 10^{-15}$
1	0,1111 ± 0,0225	$2{,}8491 \cdot 10^{-14} \pm 4{,}4003 \cdot 10^{-15}$
2	0,1229 ± 0,0232	$2{,}1433 \cdot 10^{-14} \pm 9{,}0288 \cdot 10^{-15}$

Média aritmética e ± desvio médio

Através dos dados obtidos é possível identificar que os filmes com extrato apresentam maior espessura que o controle. Em relação ao PVA, o biofilme controle apresentou maior permeabilidade, sendo um resultado positivo, pois baixos valores de permeabilidade remetem a maior conservação de alimentos. Os resultados obtidos para espessura dos biofilmes incorporados com extrato assemelharam-se aos encontrados na literatura. Nishihora (2015) encontrou espessura de 0,086 mm em seus filmes de gelatina, glicerol e tratados com luz UV. Já Henrique, Cereda e Sarmento (2008) produziram filmes com amidos modificados de mandioca e obtiveram 0,0942 mm como espessura.

Com relação à análise do efeito na inibição de coliformes termotolerantes, em nenhuma das amostras foi detectada a presença de coliformes termotolerantes ou *E. coli.*

A Tabela 3 apresenta resultados referentes às propriedades mecânicas dos filmes e o crescimento microbiano quando comparados com o filme PVC.

Tabela 3: Propriedades mecânicas e inibição frente ao filme de PVC.

Filme	Resistência à tração (MPa)	Elongação (%)	Crescimento microbiano (%)
Controle	39,728 ± 15,144	79,388 ± 11,998	120,63
1	26,616 ± 5,812	121,132 ± 2,75	93,05
2	26,282 ± 6,034	113,163 ± 19,377	10,94

Média aritmética e ± desvio médio

Esses resultados demonstram que a resistência à tração é maior no controle do que nos filmes 1 e 2. Esta observação pode ser associada aos filmes possuírem sólidos na sua matriz. O filme com 75 % de extrato foi mais elástico e flexível quando comparado ao filme com 50 %, porém apresentou resistência à tração menor. Além disso, o filme 2 inibiu o crescimento microbiano em 89,06 %. O filme 1 apresentou um crescimento microbiano maior, provavelmente associado ao fato da percentagem de extrato no filme 2 ser menor quando comparada ao biofilme 1. Já a amostra embalada com o controle não inibiu, este propiciou um crescimento microbiano quase igual ao filme de PVC, comprovando o poder de inibição dos biofilmes incorporados com o extrato de folha de oliveira.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em vista a preocupação com o descarte de embalagens de alimentos, os biofilmes incorporados com extrato de folha de oliveira apresentaram potencial para embalagens ativas alimentares. Por todos os resultados obtidos neste estudo, observa-se que biofilmes de recobrimento incorporados com extrato natural, são uma opção válida para substituição das embalagens sintéticas, mitigando impactos ambientais causados por estas como também aliados na manutenção das propriedades dos alimentos e promovendo a segurança alimentar.

5.REFERÊNCIAS

ALMEIDA, B. Características estruturais e funcionais de biofilmes produzidos com zeína e óleos vegetais. São José do Rio Preto: Unesp, 2010. 92 p.

ALVES, R. C. Análise do efeito antimicrobiano de extrato de folhas de oliveira (*Olea europaea* L.) e aplicação em biofilmes para proteção de alimentos, Universidade Federal do Pampa, 2015.

ASTM. Standard methods of water vapor transmission of materials. Método: E96/ E96M-05. Philadelphia: Americam Society for Testing Materials, 2005.

ASTM. Standard test methods for tensile properties on thin plastic sheeting. Método: D 882. Philadelphia: Americam Society for TestingMaterials, 2002.

BATISTA, J. A., Desenvolvimento, caracterização e aplicações de biofilmes a base de pectina, gelatina e ácidos graxos em bananas e sementes de brócolos, Universidade Estadual de Campinas, 2004.

DOMINICIANO, L. C. C. Avaliação da oleuropeína e de sanitizantes químicos, isolados ou associados, para eliminação de biofilmes de *Lysteriamonocytogenes, Staphylococcus aureus* e *Escherichia. coli* em superfícies inertes. Universidade de São Paulo, 2015.

LIU, Y.; MCKEEVER, L. C.; MALIK, N. S. A. Assessment of the Antimicrobial Activity of Olive Leaf Extract Against Food borne Bacterial Pathogens. Frontiers in Microbiology, v. 8, n. 113, 2017.

SILVA, C. O.; SANTOS, G. M.; SILVA, L. N. A Degradação Ambiental Causada pelo Descarte Inadequado das Embalagens Plásticas: Estudo de Caso. Revista do Centro do Ciências Naturais e Exatas – UFSM, Santa Maria, v. 13, n. 13, p. 2683 – 2689.

MUCELIN, C. A.; BELLINI, M. Lixo e Impactos Ambientais Perceptíveis no Ecossistema Urbano. Sociedade & Natureza, Uberlândia, 2008.

GARCÍA, O. B.; CASTILLO, J.; LORENTE, J.; ORTUÑO, A.; DEL RIO, J. A. Antioxidantactivityofphenolicsextractedfrom*Oleaeuropaea*L. leaves. FoodChemistry. 2000, 68, 457-462.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO S. B. S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2008, *28*, 1, p. 231-240.

NCCLS. Methods for DilutionAntimicrobialSusceptibilityTests for BacteriaThatGrowAerobically; Approved Standard. NCCLS document M7-A6 (ISBN 1-56238-486-4), Pennsylvania: NCCLS, 2003a.

NISHIHORA, R. K. Propriedades de filmes de gelatina reticulados por via enzimática e física, Universidade Federal de Santa Catarina, 2015.

PACETTA, C. F., Estudo de diferentes metodologias para obtenção de extratos de folhas de oliveira (*Olea europaea*) contendo oleuropeína, Universidade de São Paulo, 2013.

ROBERTSON, G. L., Food Packaging – Principles and Practice, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 2013.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANI WAKI M. H.;SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007.

SOBRAL, J. A. Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília, v. 35, n. 6, p. 1251-1259, 2000.