



UTILIZAÇÃO DE BIOFILMES COMESTÍVEIS PARA CONSERVAÇÃO DE MAÇÃS PÓS-COLHEITA

Ellen Seibt– ellenseibt@hotmail.com
Universidade Feevale
RS 239, n. 2755, Campus II
93525-075– Novo Hamburgo – RS

Cláudia Regina Klauck– claudiark@feevale.br
Universidade Feevale

Claudio Marcos Lauer Jr– claudiomarcos@feevale.br
Universidade Feevale

Marco Antonio Siqueira Rodrigues– marcoantonio.marco@gmail.com
Universidade Feevale

Vanusca Dalosto Jahno– vanusca@feevale.br
Universidade Feevale

Resumo: A fim de garantir a conservação pós-colheita de frutas e hortaliças e visando a diminuição do desperdício, a utilização de biofilmes vem sendo testada a como alternativa de minimização para este problema. Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de biofilmes à base de amido 2% em água e blendas de amido/quitosana (2:1) na conservação de maçãs do tipo Royal Gala. Primeiramente os biofilmes foram caracterizados para garantir a compatibilidade em relação as suas propriedades como biomembranas. Foram realizadas avaliações quanto à morfologia dos biofilmes por microscopia eletrônica de varredura (MEV), bem como estruturas químicas por espectroscopia por infravermelho (IV) e decomposição por análise termogravimétrica (TGA) além de aspectos gerais morfológicos de casca e polpa. Avaliou-se ainda, o seu efeito sobre o crescimento microbiano e desenvolvimento vegetal com ensaios em *Saccharomyces cerevisiae* e *Lactuca sativa*. Os resultados indicam que ambos os tratamentos apresentaram potencial como biofilme, minimizando a decomposição da casca e melhorando o aspecto das frutas. O grupo tratado com amido/quitosana, obteve os melhores resultados quando comparadas com o grupo controle ou com as frutas tratadas com o biofilme de amido. Adicionalmente, ambos os tratamentos inibiram o crescimento microbiano e vegetal, com maior inibição observada no grupo amido/quitosana. Os biofilmes estudados mostraram-se viáveis para aplicação em maçãs visto que além de melhorar o seu aspecto, retardaram o desenvolvimento da coloração da casca, também prolongam a sua vida de prateleira.

Palavras-chave: amido; biofilme; maçã; quitosana.



BIOFILMS EDIBLE USE FOR POST-HARVEST APPLES OF CONSERVATION

Abstract: *In order to ensure the post-harvest storage of fruit and vegetables, and in order to decrease waste, has been tested using biofilms as alternative to minimize this problem. Thus, this study aimed to evaluate the effect of biofilms starchy 2% in water and starch blends / chitosan (2: 1) in the conservation of apples type Royal Gala. First biofilms were characterized to ensure compatibility in relation to their properties as biomembranes. Evaluations were made of the morphology of biofilms by scanning electron microscopy (SEM), chemical structures by infrared spectroscopy (IR) and the breakdown by thermogravimetric analysis (TGA) and general aspects of peel and pulp. The results of films had desirable characteristics for their use as film and its incorporation in apples delay the development of skin coloration, which improves the appearance of the fruit, and extended shelf life.*

Keywords: *starch; biofilms; Apple; Chitosan.*

1. INTRODUÇÃO

Atualmente a sociedade moderna vem melhorando o seu desempenho em relação a disposição de resíduos e ao desperdício. Porém, pesquisas apontam que na América Latina cerca de 40% das frutas e hortaliças são desperdiçadas no processo de produção, pós-colheita e embalagem. Os revestimentos ou coberturas, embora não substituam as embalagens sintéticas não comestíveis, podem atuar como coadjuvantes, reduzindo o uso de embalagens descartáveis

Os materiais utilizados na formulação destes revestimentos podem ser comestíveis ou não, e são usados como filmes, os quais são pré-formados e aplicados sobre o produto, formando uma camada fina superficial sobre ele. Na aplicação de revestimentos sobre frutas e hortaliças frescas, é desejável que eles atuem como uma barreira contra a perda de umidade, ao mesmo tempo em que apresentem certa permeabilidade ao O₂ e ao CO₂ para evitar condições de anaerobiose e danos fisiológicos (BOTREL, 2010; CHITARRA, 2000). Os filmes, além de regularem as trocas gasosas do produto com o meio exterior bem como a perda do vapor da água que resulta em perda de massa, controlam também a perda de voláteis responsáveis pelo "flavor" (sabor e aroma) do produto. (CHITARRA, 2000; GUIMARÃES, 2016). Desta forma, diferentes formulações possibilitam a obtenção de propriedades funcionais específicas, entre as quais são consideradas como de maior interesse: barreira a umidade, soluto e gases; solubilidade em lipídeos ou em água; cor e aparência adequadas; características mecânicas e reológicas adequadas; ausência de toxicidade.

Nos últimos anos, frente à crescente demanda dos consumidores por produtos que lhes proporcionem uma melhor qualidade de vida e preservação ambiental, observa-se um aumento no interesse no desenvolvimento de formulações de filmes comestíveis aplicáveis a superfície de produtos perecíveis, como frutas e hortaliças. Para tanto, diversos estudos quanto a aplicação de formulações utilizando diferentes materiais biodegradáveis como envoltório alimentício têm sido realizados. Estas formulações surgem como alternativa para diminuir tanto o desperdício de alimentos como o uso de embalagens. Estes envoltórios, denominados de biofilmes, são aplicados sobre a parte externa das frutas, atuando como uma camada protetora. A utilização de fontes naturais para sua confecção minimiza os impactos ambientais e corrobora para a criação de um novo conceito de envoltório alimentício.

Neste contexto o amido tem sido considerado um polímero com elevado potencial para a produção de biofilmes, por ser de baixo custo, alta disponibilidade, de fonte renovável e biodegradável. No entanto, este polissacarídeo apresenta limitações devido as suas características hidrofílicas e permeabilidade ao vapor da água, assim como suas propriedades mecânicas podem

deixar o alimento com um aspecto gorduroso. Uma das formas de minimizar este problema é a incorporação de quitosana à sua formulação, que é um polissacarídeo biocompatível e biodegradável. A quitosana é derivada da desacetilação da quitina, que é um dos principais componentes estruturais do exoesqueleto de artrópodes. A quitosana além de ser biodegradável é antifúngica, atóxica, antimicrobiana e tem uma boa barreira contra a perda de umidade, além disso, deixa a fruta com um aspecto mais brilhoso.

Desta forma o presente trabalho teve como objetivo principal avaliar a viabilidade de aplicação de biofilmes comestíveis, compostos por polímeros provenientes de fontes naturais renováveis, em maçãs, visando aumentar a vida de prateleira e retardar a deterioração de frutas.

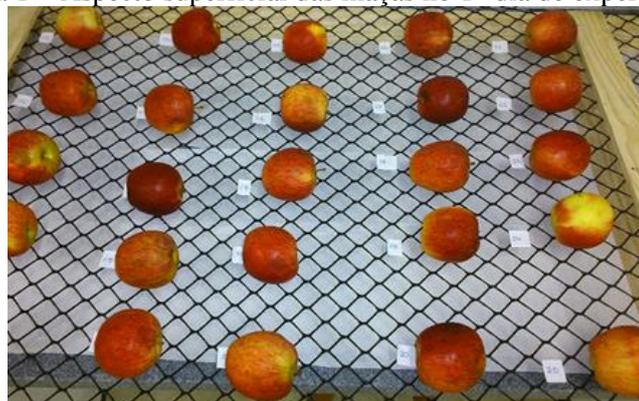
2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Seleção dos frutos e aplicação do biofilme

O experimento foi realizado no Laboratório de Tecnologia de polímeros da Universidade Feevale. As frutas utilizadas para o estudo foram maçãs do tipo Royal Gala, as quais foram coletadas em um produtor na região de Campo Bom. Previamente aos experimentos, os frutos foram lavados em água corrente para retirada de qualquer sujeira.

Após a lavagem, os frutos foram imersos no biofilme em duas formulações: um grupo constituído por amido 2% em água e outro grupo composto por uma blenda de amido/quitosana (2:1). Os frutos permaneceram em imersão por no mínimo 1 minuto, após este período, os mesmos foram secados naturalmente (Figura 1.). Para fins de comparação, manteve-se um grupo controle, constituído por maçãs previamente lavadas, as quais não receberam o revestimento de biofilme. As frutas foram armazenadas por um período de 24 dias.

Figura 1 – Aspecto superficial das maçãs no 1º dia de experimento.



2.2. Caracterização dos biofilmes

As análises quanto à caracterização geral dos frutos, foram realizadas no início do experimento e semanalmente até o fim do período de armazenamento. Para tanto, a cada semana, o grupo de frutos destinado à análise era lavado para a retirada da película dos biofilmes, avaliando os aspectos gerais de casca e polpa.



Os biofilmes também foram caracterizados quanto à compatibilidade de suas propriedades para o seu uso como filme protetor. Para tanto, foram avaliadas as suas propriedades morfológicas, químicas e capacidade de decomposição.

Para a análise morfológica de sua superfície foi utilizada microscopia eletrônica de varredura (MEV). A caracterização das estruturas químicas foi realizada por espectroscopia por infravermelho (IV). Já para a decomposição utilizou-se a análise termogravimétrica (TGA). Foram avaliados ainda os efeitos dos biofilmes sobre a germinação e crescimento radicular da espécie *Lactuca sativa* (alface) e sensibilidade em levedura.

2.3. Teste de sensibilidade em levedura

Para a realização do teste em gotas, utilizou-se a linhagem BY4741 da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, provenientes da Euroscarf® (*EUROpean Saccharomyces cerevisiae Archive for Funcional alalysis*). Previamente ao ensaio, as células foram inoculadas em meio YEL (extrato de levedura 1%, peptona de carne 2%, glicose 2%, água) incubadas sob agitação constante, por um período de 48h (30°C, 150rpm), atingindo a sua fase estacionária de crescimento. Após este período, as mesmas tiveram o seu número padronizado ($5 \times 10^8 \text{ cel mL}^{-1}$), por contagem em Câmara de Neubauer (Poletto *et al.*, 2008). Esta suspensão foi diluída serialmente por cinco vezes, na proporção de 1:10, e 10µL de cada diluição foi plaqueada usando como substrato o biofilme, mantendo-se um cultivo no meio YPD sólido (extrato de levedura 1%, peptona de carne 2%, glicose 2%, ágar 2% e água), como grupo controle. As mesmas foram incubadas em estufa, à 30°C, por um período de 48h. Ao término deste período, observou-se o padrão de crescimento em cada amostra.

2.4. Ensaio em sementes de *Lactuca sativa*

O ensaio com sementes avaliou o efeito do biofilme sobre a germinação e crescimento radicular da espécie *Lactuca sativa* (alface). A metodologia consistiu na exposição das sementes em um substrato de papel filtro embebido com as amostras líquidas do biofilme de amido e amido+quitosana, nas proporções de 12,5%, 25%, 50%, 75% e 100%, mantendo-se um grupo controle com o substrato embebido em água deionizada. Para cada diluição, foram expostas 20 sementes em triplicatas, por um período de 5 dias, à temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12h.

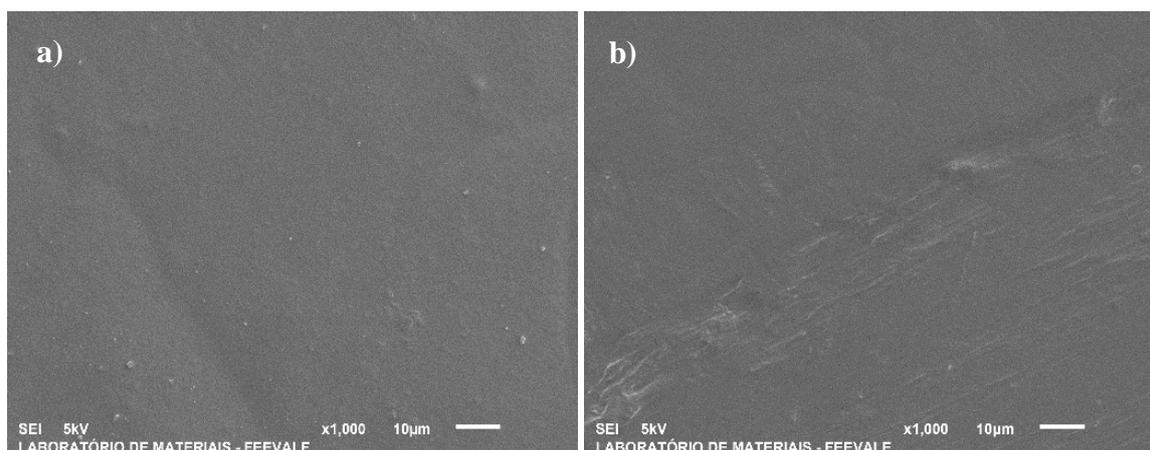
Ao término deste período, a germinação das sementes foi avaliada, considerando-se como germinada toda a semente cuja radícula emergida tenha apresentado um crescimento superior a 0,3mm. Todas as raízes emergidas foram aferidas para avaliação de crescimento radicular, comparando-se o percentual de crescimento obtido com relação ao grupo controle.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Morfologia dos biofilmes

As micrografias dos biofilmes de amido e amido com quitosana são apresentadas na Figura 2.

Figura 2- Micrografias dos biofilmes de a) amido 2% em água e b) de amido/quitosana (2:1). 1000x.

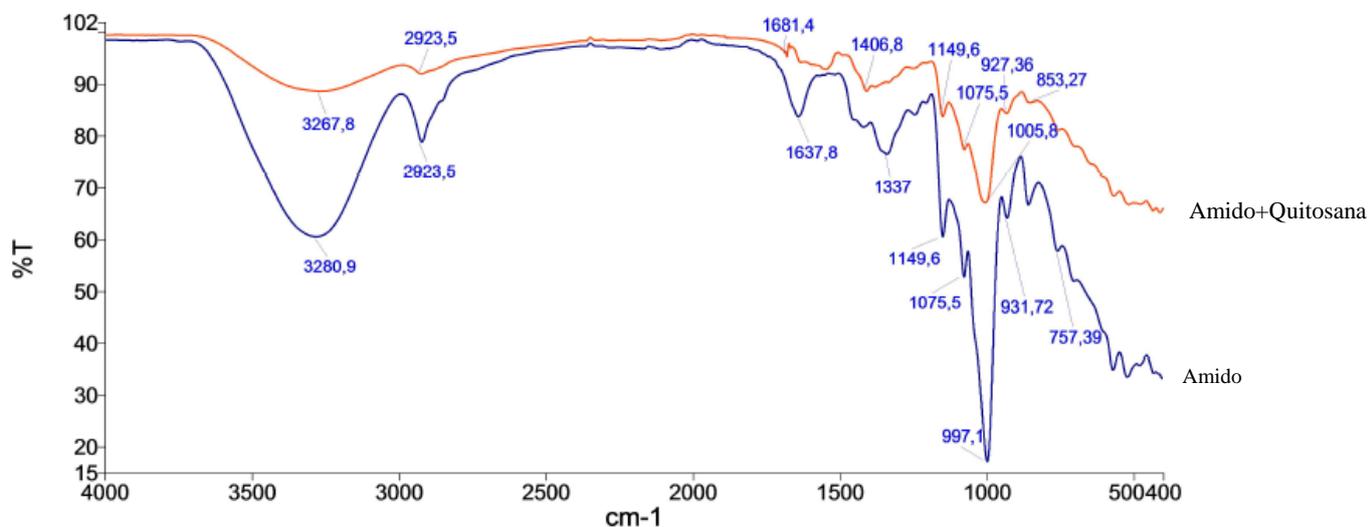


As micrografias dos biofilmes de amido e amido com quitosana apresentaram superfícies sem poros ou rachaduras. Observa-se a ausência de grânulos de amido ou quitosana nas micrografias, fato que indica a ocorrência de grande homogeneidade e compatibilidade entre os biopolímeros devido às interações associadas.

3.2. Espectros de IV dos biofilmes

Na figura 3 são apresentados os espectros de IV do biofilme de amido 2% em água e de amido/quitosana (2:1).

Figura 3- Espectros de IV do biofilme de amido 2% em água (linha azul) e de amido/quitosana (2:1) (linha vermelha).



Os espectros de IV dos biofilmes de amido e amido/quitosana apresentaram bandas em 3280 e 32670 cm^{-1} , respectivamente que são atribuídas à deformação axial de O-H do grupamento hidroxila. Foi possível ser verificada no espectro do amido, Figura 3, a banda em 1637 cm^{-1} do estiramento da ligação glicosídica C–O.

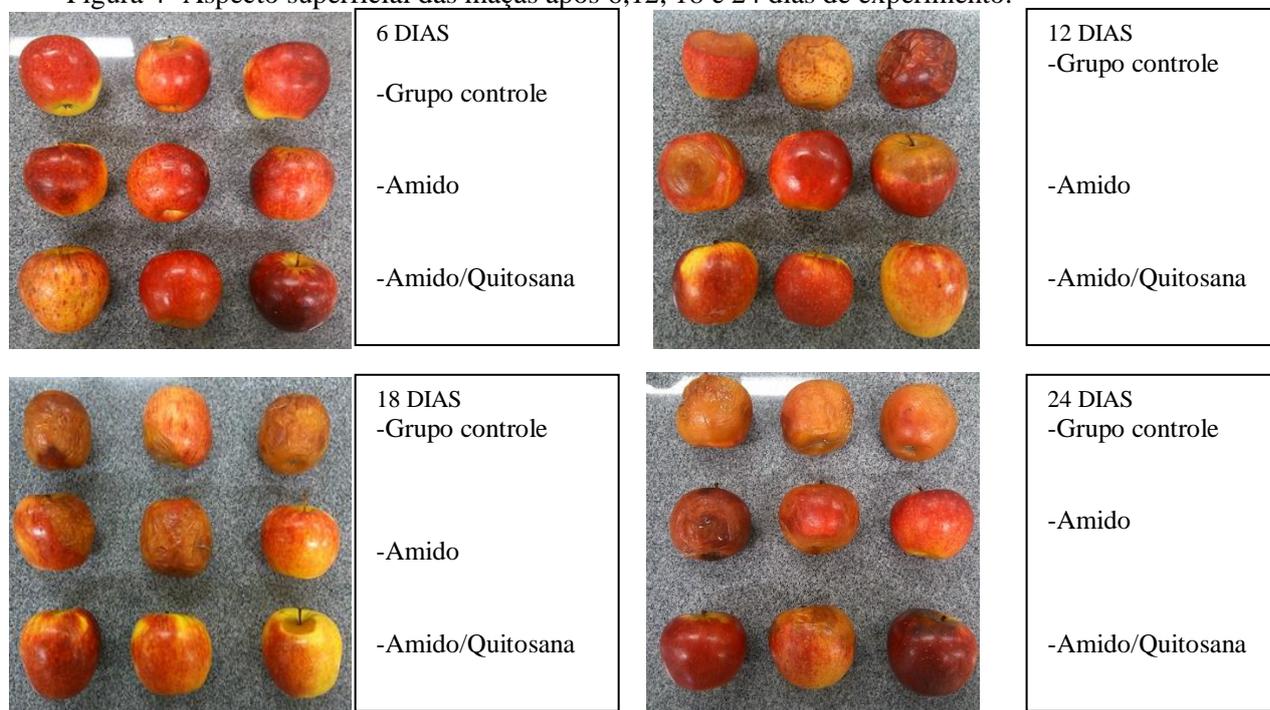
3.3. Termogramas dos biofilmes

Nas análises de TGA observou-se que há uma perda de massa na faixa de temperatura dos 50°C - 100°C referente à perda de água dos biofilmes. Já o processo de decomposição térmica dos biofilmes foi identificado na faixa entre 290°C-400°C. Estas características conferem ao material estabilidade frente às condições de armazenamento normal das frutas, em temperatura ambiente.

3.4. Aspecto superficial dos biofilmes nas maçãs

Na figura 4 é apresentado o aspecto superficial das maçãs conforme os tempos do experimento.

Figura 4- Aspecto superficial das maçãs após 6,12, 18 e 24 dias de experimento.



A partir do aspecto visual das frutas, apresentado na figura 4, é possível constatar que tanto os biofilmes de amido, quanto de amido/quitosana retardaram o apodrecimento da maçã quando comparados ao grupo controle, sem a aplicação de biofilmes. As frutas tratadas com amido/quitosana obtiveram melhores resultados quando comparadas com o grupo controle ou com as frutas tratadas com o biofilme de amido. O processo de decomposição da casca pode ser observado em grande proporção no grupo controle a partir do 12º dia de armazenamento. No grupo revestido por amido, nota-se uma

diminuição na vitalidade da casca da fruta e início de processo de decomposição a partir do 12º dia. Já no grupo tratado por amido/quitosana, a decomposição torna-se evidente apenas a partir do 24º dia de armazenamento. A aplicação de biofilmes, portanto, promove um aumento no período de prateleira dos frutos.

3.5 Sementes de alface

Os resultados de germinação e crescimento radicular das sementes expostas a diferentes concentrações das amostras de biofilme são apresentados na figura 5 e 6, respectivamente.

Figura 5- Germinação das sementes de *Lactuca sativa*.

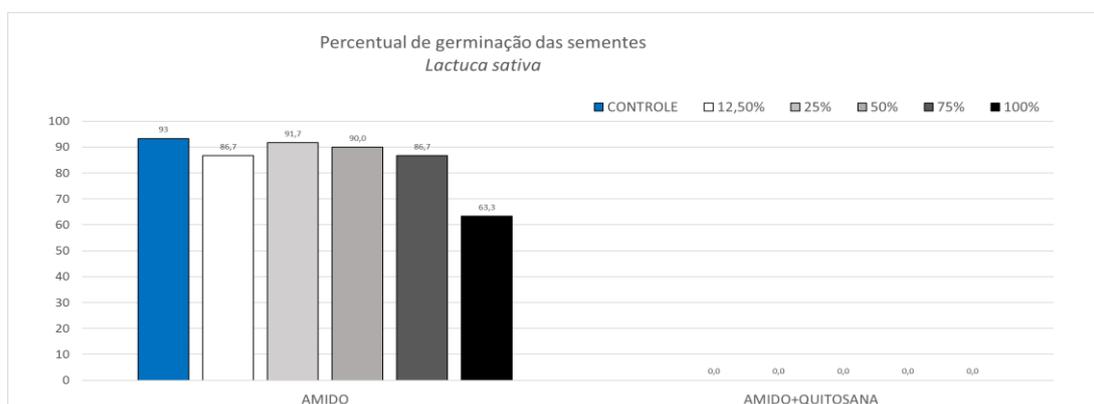
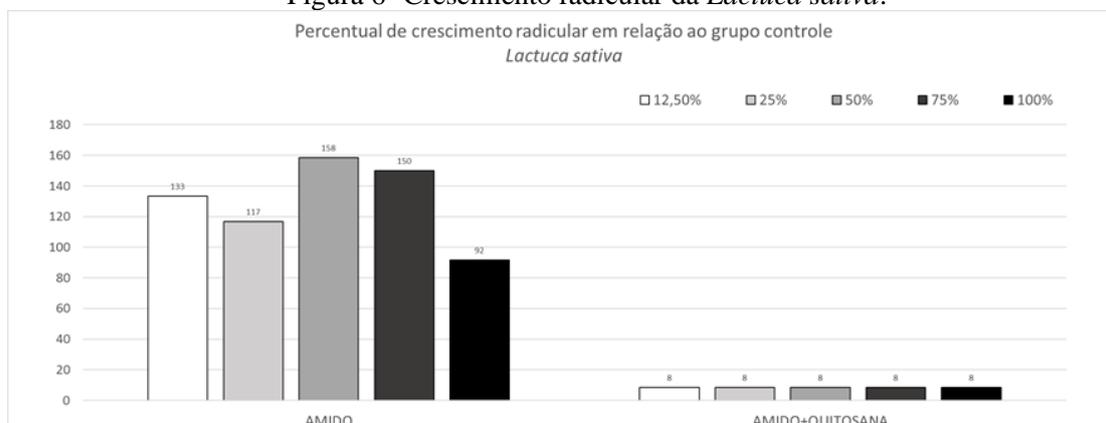


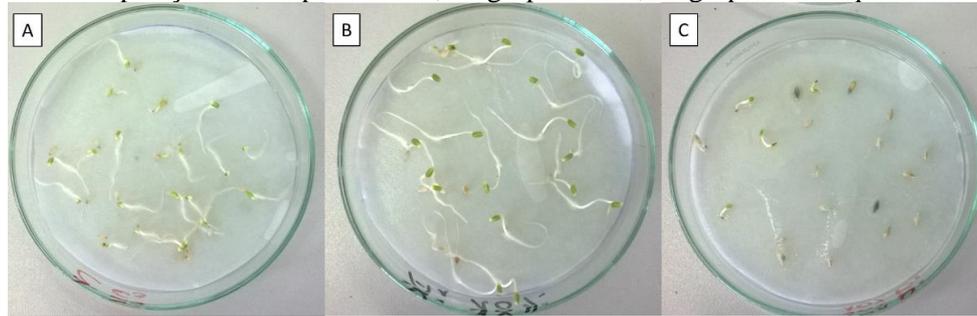
Figura 6- Crescimento radicular da *Lactuca sativa*.



O tratamento com o biofilme composto de amido/quitosana causou inibição de 100% no processo de germinação das sementes, bem como no crescimento das raízes, mesmo na concentração de exposição mais baixa. Já para o grupo exposto ao biofilme de amido, houve uma diminuição na germinação das sementes e no crescimento radicular apenas no grupo exposto à concentração 100%.

Na figura 7 é apresentado o padrão de germinação e crescimento radicular das sementes de *Lactuca sativa*, ao final do período de exposição.

Figura 7- Padrão de germinação e crescimento radicular das sementes de *Lactuca sativa*, ao final do período de exposição. A-Grupo controle, B- grupo amido, C- grupo amido/quitosana

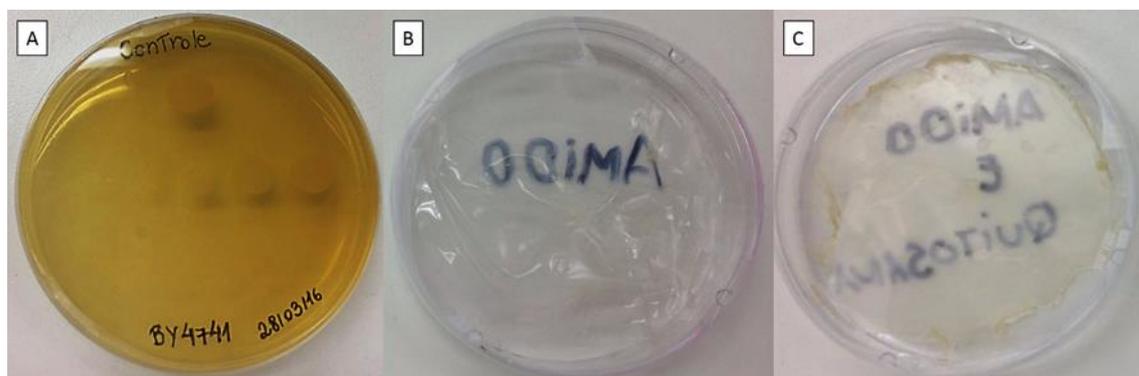


A germinação é uma sequência de eventos fisiológicos influenciada por fatores externos (ambientais) e internos (dormência, inibidores e promotores da germinação das sementes); cada fator pode atuar por si ou em interação com os demais. A germinação é um fenômeno biológico que pode ser considerado como a retomada do crescimento do embrião, com o subsequente rompimento do tegumento pela radícula. O efeito inibitório sobre a germinação e crescimento radicular do biofilme amido/quitosana, permitem apontar para uma melhor eficiência deste frente aos fenômenos fisiológicos relacionados ao amadurecimento, brotamento e germinação das plantas.

3.5 Crescimento da levedura *Saccharomyces cerevisiae*

Na figura 8 é mostrado o padrão de crescimento da levedura *Saccharomyces cerevisiae* ao final do período de exposição.

Figura 8- Padrão de crescimento da levedura *Saccharomyces cerevisiae* ao final do período de exposição, a) grupo controle, b) amido, c) amido/quitosana.





Quanto ao efeito sobre o crescimento da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, apenas o grupo controle apresentou crescimento em todas as diluições celulares. Tanto no biofilme de amido, quanto no biofilme de amido/quitosana, não foram observados padrão de crescimento destes organismos. Bactérias e fungos fazem parte da microbiota dominante de frutas e vegetais em geral (BEUCHAT, 1996). Os bolores e leveduras constituem agentes de maior impacto em frutas armazenadas (BRACKEET, 1993), com perdas substanciais na indústria de processamento (SUGAR et al., 1994). Os resultados apontam para a capacidade protetora dos biofilmes, atuando não somente como uma barreira física, mas também biológica, impedindo o crescimento de microrganismos.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de amido e amido/quitosana como camada protetora das maçãs prolongou a conservação pós-colheita dos mesmos sem ter prejudicado a qualidade em função do retardamento do processo de maturação. A aplicação de biofilmes mostra-se como uma importante alternativa à conservação das frutas, além de promover uma minimização dos impactos ambientais ao evitar o uso do plástico convencional (de origem petroquímica), diminuindo o acúmulo de resíduos e o próprio desperdício ou perda de frutas, associadas a uma estocagem inapropriada.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Universidade Feevale pelo apoio à pesquisa.

5. REFERÊNCIAS

- BEUCHAT, L. R. Pathogenic microorganisms associated to fresh product. *Journal of Food Protection*, v. 59, p. 204-216, 1996.
- BOTREL, D.A. et al. Revestimento ativo de amido na conservação pós-colheita de pera Williams minimamente processada. *Ciência Rural*, v.40, n.8, p.1814-1820, 2010.
- BRACKEET, R.E. Microbial quality. Post-harvest handling. A system approach, 1993.
- CHITARRA, M. I. F. Processamento mínimo de frutas e hortaliças. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 113p.
- GUIMARÃES, I.C. Cenouras minimamente processadas com cobertura de amido reforçada com suspensões de celulose micro/nanofibrilada obtidas de cenoura. Tese (doutorado)- Universidade Federal de Lavras, 2016. 137p.
- KURTZMAN, C. P., Fell, J. W., 2006. Yeast systematics and phylogeny - implications of molecular identification methods for studies in ecology. In: *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts, The Yeast Handbook*, Rosa CA & Péter G (eds). Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 11-30.
- SUGAR, D.; ROBERTS, R. G.; HILTON, R. J.; RIGHETTI, T. L.; SANCHEZ, E. E. Integration of cultural methods with yeast treatment for control of postharvest fruit decay in pear. *Plant Disease*, Saint Paul, v.78, n.7, p.791-795, 1994.