

## **APLICAÇÃO DE FOTODINÂMICA E COBERTURAS COMESTÍVEIS**

Camila Marinho Chagas (PIBIC/FA), Monica Regina da Silva Scapim (Orientador),  
e-mail: camilaamarinho1@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Tecnologia / Maringá, PR  
**Ciência e Tecnologia de alimentos/Engenharia de alimentos**

**Palavras-chave:** Embalagens biodegradáveis, alginato, conservação de queijos

### **Resumo**

A aplicação da Terapia Fotodinâmica é uma metodologia emergente na conservação de alimentos tem ganhando atenção recentemente, por ser uma técnica barata, de fácil aplicação, que não submete o alimento ao aquecimento, e que pode controlar o crescimento microbológico baseado na fotossensibilização. Esse método é baseado na ação combinada de corante não tóxico (Chamado fotossensibilizador) e luz visível que na presença de oxigênio, leva a produção de oxigênio singlete, que por sua vez apresenta efeito citotóxico nas células microbianas (efeito fotodinâmico). Portanto, o este trabalho teve como objetivo avaliar a utilização de películas comestíveis acrescidas de 100 µM de eritrosina conjuntamente com terapia fotodinâmica na conservação de queijos. As películas foram obtidas a partir da solução filmogênica de alginato acrescida de eritrosina, aplicadas em fatias de queijo e submetidas à luz com uma lâmpada de LED verde (comprimento de onda máximo de 510 nm; potência do LED de 0,4 W), o tempo de fototrradiação foi de 15 min. Foram avaliadas propriedades mecânicas e permeabilidade ao vapor de água (PVA). A adição de ácido às películas de alginato e eritrosina, não alterou a elongação e a permeabilidade ao vapor de água. Em contrapartida a adição de ácido diminuiu em média 35% a resistência a tração na ruptura e 40% a rigidez das películas. Foi possível produzir películas resistentes com a presença de ácido cítrico e láctico.

### **Introdução**

Um dos principais desafios na indústria alimentícia é produzir alimentos de alta qualidade, mantendo a segurança alimentar e nutricional por um longo período de tempo. Neste âmbito são utilizadas várias técnicas de conservação como aplicação de calor, diminuição de temperatura, adição de conservantes, altas pressões, radiações ionizantes, novas tecnologias na área de embalagens e outras. Em relação às inovações em embalagens, podemos destacar a utilização de coberturas comestíveis que tem ganhado interesse pois os revestimentos podem manter intactas as características do produto como textura, cor, sabor, hidratação, além disso servem como transportadores de agentes antimicrobianos. As coberturas comestíveis são produzidas a partir de biopolímeros naturais, tais como os polissacarídeos, proteínas e lipídeos. Estes, podem melhorar a vida útil e a qualidades dos alimentos, proporcionando barreiras seletivas de umidade, absorção de oxigênio, oxidação lipídica, perdas de aroma e sabores voláteis, melhorar o aspecto e visual e redução de crescimento de microrganismos. Uma estratégia nova e promissora para erradicar os microrganismos é a Inativação

Fotodinâmica. Uma técnica que emprega a combinação de uma fonte de luz visível em um comprimento de onda apropriado, um tinte ou fotossensibilizador não tóxico (PERUSSI, 2007 e HUANG et. al., 2012). A interação entre a luz e o fotossensibilizador gera a produção de oxigênio singlete que resulta na inativação celular e morte (CELLI et. al., 2010). A eritrosina apresenta rendimento quântico de oxigênio singlete, parece ser um excelente composto, para ser usado como agente antibacteriano em conservação de queijos com presença de Salmonella, E coli e Staphilococcus aureus em terapia fotodinâmica.

## **Materiais e métodos**

### *Teste in vitro*

Inicialmente a efetividade das coberturas de alginato na presença ou ausência de eritrosina, ácido cítrico e luz foi testada para inativação *Escherichia coli*, a cepa foi armazenada a -20 °C no caldo de infusão de coração cerebral (BHI, Difco) com 20% (vol/vol) de glicerol. A bactéria foi cultivada durante a noite a 37 °C em 5 mL de caldo de soja triptico (TSB; Difco), colhido por centrifugação a 5000xg durante 4 minutos, lavado três vezes e ressuspenso em 1 mL de solução salina tamponada com fosfato estéril (PBS, pH 7.4). Posteriormente, o inóculo foi padronizado usando um espectrofotômetro a 580 nm (% T 25-30) e produziu uma suspensão celular da bactéria com aproximadamente  $10^8$  unidades formadoras de colônias (UFC)/mL. Esta suspensão padronizada foi diluída em PBS a aproximadamente  $10^7$  UFC/mL para uso nos experimentos.

Uma alíquota (50 µL) de suspensão bacteriana a  $10^7$  UFC/mL foi homogeneizada com 950 µL de soluções filmogênicas (controle, Tratamento 1 e Tratamento 2), e mantidos no escuro durante 10 minutos. Após a incubação, 500 µL de cada amostra foi colocada em poços inferiores e iluminadas com uma lâmpada de LED verde (comprimento de onda máximo de 510 nm; potência do LED de 0,4 W), e tempo de fotorradiação de 15 min.

O efeito antibacteriano da fotossensibilização em E. coli foi avaliado pelo método da placa de queda. As diluições apropriadas das amostras tratadas e dos grupos de controle foram inoculadas em placas de agar de soja triptico (TSA, Difco) e incubadas a 37 °C durante 24 h. As populações de células sobreviventes foram enumeradas e expressas como log UFC/mL. O experimento será realizado em duplicata.

### *Preparo das amostras de queijo*

As amostras de queijo foram adquiridas na cidade de Doutor Camargo-Pr, as peças foram cortadas em pedaços regulares. As amostras acondicionadas em embalagens de poliestireno expandido recoberto com filme de PVC. As demais amostras foram destinadas para o processo de aplicação de cobertura comestível.

### *Cobertura comestível*

No tratamento controle as fatias de queijo não receberam a aplicação de película, e nos demais tratamentos as fatias de queijo receberam a película com 100 µM de eritrosina. A solubilização do alginato (2%) em água se deu pelo aquecimento prévio da suspensão em temperatura de 70°C até a dissolução completa do polissacarídeo. Nas fatias de queijo as soluções contendo alginato de sódio (2%) foram aplicadas seguida da solução de cloreto de cálcio (2,0%), e as diferentes concentrações de eritrosina.

O excesso de solução foi eliminado, e, após a aplicação das coberturas, as amostras permaneceram em repouso por 30 minutos, na sequência cada amostra foi submetida a terapia fotodinâmica submetidas à luz com uma lâmpada de LED verde (comprimento de onda máximo de 510 nm; potência do LED de 0,4 W), o tempo de fototorradiação foi de 15 min. na presença oxigênio, em ambiente fechado. Após a terapia as amostras foram armazenadas em B.O.D.

#### *Análise estatística*

Análises estatística foi realizada com o software estatístico do programa STATISTICA® versão 8.0, com nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade de 5% ( $p < 0.05$ ).

### **Resultados e Discussão**

As coberturas formuladas com alginato acrescida de ácido cítrico e láctico (pH final de 4,0) e eritrosina (100micromol), foram testadas in vitro para avaliar a inativação de células E. coli, após a aplicação de luz. As três coberturas testadas apresentaram efeito inibitório no controle de células E. coli.

As soluções filmogênicas foram depositadas em placas de acrílico e submetidas a secagem a 50°C, os filmes obtidos foram caracterizados quanto as propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água.

#### Propriedades Mecânicas dos filmes

Através da análise das propriedades mecânicas das películas, se fez possível identificar e caracterizar as películas tanto a resistência quanto ao comportamento do material ao ser aplicado uma tração até o rompimento. As propriedades mecânicas foram avaliadas em tratamento padrão, com ácido láctico e ácido cítrico. Os resultados obtidos encontram-se na tabela 1.

**Tabela 1 – Resultados da Tração na Ruptura, Alongamento e Módulo de Young das películas de alginato com eritrosina com e sem a adição de ácido**

AMOSTRAS	TRAÇÃO (MPa)	MODULO DE YOUNG (Mpa)	ALONGAMENTO (%)
PADRÃO	9,72 <sup>a</sup>	78,35 <sup>a</sup>	248,40 <sup>a</sup>
ÁCIDO LÁCTICO	6,15 <sup>b</sup>	45,89 <sup>b</sup>	242,27 <sup>a</sup>
ÁCIDO CÍTRICO	6,48 <sup>b</sup>	50,03 <sup>b</sup>	311,97 <sup>a</sup>

Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa ao nível de 5%.

Verifica-se, portanto, que a adição de ácido tanto cítrico quanto láctico diminuiu a resistência à tração na ruptura (em média 35% de redução) e a também a rigidez (em média 40% de redução) das películas. Além disso, a elasticidade não foi afetada em todos os casos.

#### Permeabilidade ao Vapor de Água dos filmes

Avaliou-se a facilidade com que um material pode ser penetrado pelo vapor de água, através da análise de Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA). Comprovou-se que a adição de ácido não alterou a permeabilidade ao vapor de água das películas submetidas a avaliações, como consta na tabela 2.

**Tabela 2 – Permeabilidade ao vapor de água das películas de alginato com eritrosina com e sem a adição de ácido.**

<b>AMOSTRAS</b>	Permeabilidade ao vapor de água (g/m.Pa.s)
Amostra Padrão	$19,80 \times 10^{-7} \text{ }^a \pm 1,93 \times 10^{-7}$
Ácido Láctico	$7,19 \times 10^{-8} \text{ }^a \pm 2,24 \times 10^{-8}$
Ácido Cítrico	$7,83 \times 10^{-8} \text{ }^a \pm 3,71 \times 10^{-10}$

Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa ao nível de 5%.

### **Conclusões**

Confirmou-se que a adição de ácido às películas de alginato e eritrosina, não alterou a elongação e a permeabilidade ao vapor de água. Em contrapartida a adição de ácido diminuiu em média 35% a resistência a tração na ruptura e 40% a rigidez das películas. Mesmo ocorrendo diminuição a tração na ruptura e também na rigidez das películas, foi possível produzir películas resistentes com a presença de ácido cítrico e láctico.

### **Agradecimentos**

Agradeço à minha orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Mônica, que me deu o suporte necessário para o desenvolvimento deste trabalho. E também à Fundação Araucária e a UEM pela oferta da bolsa durante o decorrer do projeto.

### **Referências**

- HUANG, Yu-Tuan *et al.* Neural Information Processin. Doha, Qatar: Springer, 2012.
- MELO, W. C. M.A. PERUSSI, J. R. Comparando inativação fotodinâmica e antimicrobianos. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada. Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences 2012.
- PERUSSI, J.R. Inativação Fotodinâmica de microrganismos. Química nova, v.30, n. 4, p. 988-994, jul./ago. 2007.
- SCAPIM, M. R. S. Produção e caracterização, aplicação e biodegradabilidade de filmes de blendas de amido e poli(butileno adipato co-tereftalato) produzidos por extrusão. Londrina, 2009. Tese de doutorado (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina.