

INTERAÇÃO DE O₂ COM FILMES FINOS

INTERACTION OF O₂ WITH THIN FILM

Gabrieli Monique Campos¹, Dionéia Schauen² Ernesto Osvaldo Wrasse³

RESUMO

Os biofilmes comestíveis são empregados para a preservação dos alimentos, sendo uma alternativa para os produtores e consumidores. Estes formam uma barreira protetora, evitando o afluxo de deslocação do gás etileno, objetivando a conservação do alimento. O estudo é dividido em duas etapas sendo elas: Etapa 1: Testou-se diferentes extratos vegetais no controle do cultivo *in vitro* do *Colletotrichum gloeosporioides* sp, para futuramente testar o extrato mais eficiente juntamente com o biofilme mais eficaz. Etapa 2: Para o biofilme à base de Spirulina sp, araruta ou farinha de tapioca utilizou-se além dos amidos e da microalga o extrato vegetal de variadas concentrações de uva-do-Japão e cinamomo aplicados na maçã e no morango. Resultados mostram que para a Etapa 1 (teste *in vitro* de extratos vegetais) os mais eficientes foram de Cinamomo 10, 15 e 20 gL⁻¹; pau de Tenente 05, 15 e 20 gL⁻¹; pata de canguru (folha) 5 e 20 gL⁻¹; alecrim 5 gL⁻¹; Melão de São Caetano 10 gL⁻¹; Carvão ativado 5 gL⁻¹; já os demais não são estatisticamente viáveis para a inibição de *Colletotrichum gloeosporioides*. Já o teste de biofilme com extratos vegetais, o trabalho ainda se encontra em andamento.

PALAVRAS-CHAVE: Antifúngico, Maçã, Microalgas, Morango, Películas.

ABSTRACT

Edible biofilms are used to preserve food and are an alternative for producers and consumers. They form a protective barrier, preventing the influx of ethylene gas, with the aim of preserving the food. The study is divided into two stages: Stage 1: Different plant extracts were tested to control the *in vitro* cultivation of *Colletotrichum gloeosporioides* sp, in order to test the most efficient extract together with the most effective biofilm in the future. Stage 2: For the biofilm based on Spirulina sp, arrowroot or tapioca flour, plant extracts of varying concentrations of Japanese grape and cinnamon applied to apples and strawberries were used in addition to the starches and microalgae. The results show that for Stage 1 (in vitro testing of plant extracts) the most efficient were Cinnamomum 10, 15 and 20 gL⁻¹; pau de Tenente 05, 15 and 20 gL⁻¹; pata de kangaroo (leaf) 5 and 20 gL⁻¹; rosemary 5 gL⁻¹; Melão de São Caetano 10 gL⁻¹; activated charcoal 5 gL⁻¹; while the others were not statistically viable for inhibiting *Colletotrichum gloeosporioides*. As for the biofilm test with plant extracts, the work is still in progress.

KEYWORDS: Antifungal, Apple, Films, Microalgae, Strawberry.

INTRODUÇÃO

Segundo Debeaufort e Voilley (1994), as características das coberturas comestíveis dependem especialmente das características dos produtos. Assim, para alimentos suscetíveis à oxidação, as coberturas devem apresentar pouca permeabilidade a O₂. Hortaliças e frutos frescos requerem coberturas que permitam a transferência moderada de

¹ Bolsista do Instituto Nacional de Eletrônica Orgânica (INEO). Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Toledo, Paraná, Brasil. E-mail: campos@colegiojpa.com.br. ID Lattes: 4732074493551103.

² Docente do Clube de Ciências – Cientistas Do Jardim. Colégio Estadual Jardim Porto Alegre (JPA), Toledo, Paraná, Brasil. E-mail: dioneiasch@yahoo.com.br ID Lattes: 1704223920114701.

³ Docente de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia/COEBB. Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Toledo, Paraná, Brasil. E-mail: eowrasse@gmail.com. ID Lattes: 8403511647803361.

gases, assim reduzindo (mas não inibindo) o processo de respiração do alimento e evitando procedimentos fermentativos resultantes de anaerobiose.

Supõem Chen (1995), as coberturas podem ser obtidas de diversos tipos de matérias-primas, com maior utilização os polissacarídeos, os lipídios e as proteínas. As propriedades mecânicas das películas à base de proteínas são comumente maiores às dos demais. Afirmam Kester e Fennema (1986), os polissacarídeos apresentam propriedades positivas de formação de películas e uma boa barreira aos gases, mas, por serem hidrofílicos, não possibilitam uma boa barreira à umidade. Os lipídios possuem uma excelente barreira contra umidade, porém, a estabilidade oxidativa relativamente apresentam problemas. De acordo com Kester e Fennema (1989), Donhowe e Fennema (1992), Sapru e Labuza (1994), Chen e Nussinovitch (2001), devido às limitações e vantagens de cada categoria de componentes de coberturas e filmes, diversos trabalhos têm envolvimento aos usos de combinações dos materiais para melhorias das propriedades de coberturas. As películas compostas por polissacarídeos e lipídios, combinam as barreiras aos gases e propriedades mecânicas que são conferidas pelos os polissacarídeos como uma barreira à umidade relativa aos lipídios.

Em pós-colheitas, as infecções vão se manifestando durante o período de maturação e transporte das frutas e ocasionam contaminação, caracterizando essa fase de infecção não-quiescente. Por conta do amadurecimento induzido ou natural das frutas, as lesões escuras de infecções se desenvolvem progressivamente transformando-se deprimidas sobre as quais em condições com alta umidade, começam apresentar a presença de frutificação alaranjada de fungos. Ao decorrer do desenvolvimento da doença, o progresso dela ocasiona lesões onde aumentam de tamanho, formando grandes áreas necróticas por coalescer (ABAYASEKARA, RATNAYAKE e ADIKARAM, 1998; CORDEIRO e MATOS, 2000; CORDEIRO, MATOS e KIMATI, 2005; CORDEIRO e MATOS, 2005).

Desta forma faz se necessário ampliar as pesquisas sobre possíveis formas de preservação de frutos nos pós colheita possibilitando assim mais durabilidade das prateleiras e na casa do consumidor. Para tal busca-se a produção de biofilmes que utilizem microalgas e micro-triturados, bem como a junção dos melhores tratamentos de cada. Busca-se também encontrar um extrato vegetal que possa ser adicionado a esses biofilmes e que auxiliem na maior durabilidade e conservação destes alimentos que são desperdiçados muitas vezes.

METODOLOGIA

O trabalho foi dividido em 3 etapas:

Etapa 1: Testou-se diferentes extratos vegetais como: pau de Tenente, melão de São Caetano, Mentruz, carvão ativado, Pinus, Cinamomo, alecrim, folha de pata de canguru e flor de pata de canguru no controle do cultivo *in vitro* do *Colletotrichum gloeosporioides* sp, para futuramente testar o extrato mais eficiente juntamente com o biofilme mais eficaz, aplicando o potencial antifúngico como um aditivo na conservação de alimentos acometidos por patógenos pós-colheita.

Etapa 2: Para o biofilme à base de Spirulina sp, araruta ou farinha de tapioca utilizou-se além dos amidos e da microalga o extrato vegetal de variadas concentrações de uva-do-Japão e cinamomo.

Etapa 3: O entendimento teórico do oxigênio molecular (O₂), visando futuros estudos de

simulações computacionais da interação de filmes finos com O₂.

ETAPA 1: CONTROLE COM O USOS DE EXTRATOS VEGETAIS NO CULTIVO *IN VITRO* DE PATÓGENOS

Os extratos foram preparados de meio aquoso nas concentrações de (5 g L⁻¹; 10 g L⁻¹; 15 g L⁻¹; 20 g L⁻¹, 25 g L⁻¹, 30 g L⁻¹), estas foram acondicionadas em garrafas de 200 mL, foram preparados ao todo 37 tratamentos com 5 repetições cada.

Após os extratos foram pronto foram pipetados 20 mL e inseridos em erlenmeyers juntamente com o meio BDA. Para o preparo do meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar), primeiramente foram utilizados 170 gramas de batata inglesa, 20 gramas de dextrose e 12 gramas de Ágar. Foi colocado a batata em um Becker, cozinhando-a em um bico de Bunsen juntamente com 1 Litro de água destilada. Quando a mistura se encontra homogênea, a mesma é coada e extraído o caldo.

O caldo é acondicionado em um Becker completando até alcançar a marca de 1 Litro. Após isso, foi levado ao bico de Bunsen, adiciona-se a dextrose, mexendo até a homogeneização, espera-se até o ponto de ebulição e adiciona-se o Ágar. Após todos os componentes dissolvidos, foi distribuído o BDA pronto em Erlenmeyers de 250 mL. Em seguida foi tampado com plástico filme, em seguida foram levados à autoclave para a esterilização, juntamente com as placas de Petri previamente embaladas em papel Kraft.

Após a autoclavagem, o meio foi vertido nas placas de petri também autoclavadas, em ambiente previamente esterilizado. Após a geleificação, dentro das placas, foi efetuado a inoculação do fungo: *Colletotrichum gloeosporioides sp.*, a partir de matrizes puras e isoladas, para a inoculação foi inserindo estirpe da matriz no meio.

Em seguida, as placas foram embaladas com plástico filme e armazenadas de forma aleatória em uma BOD com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25 °C. Após uma das colônias atingir o tamanho total da placa foi medido o diâmetro dos fungos em duas retas ortogonais A e B (horizontal e vertical), a cada 48 horas, as medições foram realizadas e foi finalizada quando um dos tratamentos teve a colônia do mesmo diâmetro da placa.

ETAPA 2: BIOFILME COM EXTRATOS VEGETAIS

Primeiramente foi organizado um sistema entre linhas com 63 tratamentos com biofilme e um tratamento de controle (sem biofilme), cada tratamento contém 3 repetições. Foram pesadas concentrações de 1,8 g *Spirulina sp.* desidratado, 3 g de farinha de tapioca e 3 g de araruta para 100 ml de extrato vegetal de (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 e 50 g/L-1) de Cinamomo (*Melia azedarach*) e Uva do Japão (*Hovenia dulcis*), foram preparados ao todo 64 tratamentos com 3 repetições cada.

Para o preparo da solução, cada tratamento foi diluído em 100 ml de extrato, e em seguida levado ao bico de Bunsen para aquecer e com auxílio de um bastão de vidro mexeu-se a solução para não empelotar, o biofilme se manteve aquecido até obter a temperatura térmica de 70°C, que é quando ocorre a gelificação onde fica uma consistência mais grossa e plastificante.

Após o preparo do biofilme, esperou-se esfriar até obter temperatura ambiente para não danificar o alimento e os resultados do experimento, em seguida aplicou-se o biofilme na maçã Fuji (*Malus x domestica*) e foram colocados em bandejas de isopor identificados com o tratamento e as repetições, em seguida foram deixados na bancado sob ventilação artificial durante um período de 30 minutos. Após o biofilme secar nos alimentos, foram mantidos em armazenamento na temperatura ambiente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

ETAPA 1: TESTE *IN VITRO* NO CONTROLE ALTERNATIVO

Para o teste *in vitro* obteve-se resultados significativos para os tratamentos que estão identificados com A, os identificados com B foram eficazes, porém não tanto comparável aos A, e C foram os tratamentos semelhantes estatisticamente ao controle (tabela 4). Porém a uma clara redução de tamanho micelial em praticamente quase todos os tratamentos testados, sendo que o extrato de Cinamomo o que mais se destacou no quesito redução da colônia.

Tabela 1: Resultados obtidos do teste estatístico Scott-Knott 0,05%.

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
T11 - Cinamomo 10 gL ⁻¹	2.89	A
T37 - Pata de canguru folha, 20 gL ⁻¹	2.95	A
T12 - Cinamomo, 15 gL ⁻¹	3.05	A
T22 - Alecrim, 05 gL ⁻¹	3.16	A
T2 - Pau de Tenente, 05 gL ⁻¹	3.16	A
T4 - Pau de Tenente, 15 gL ⁻¹	3.24	A
T13 - Cinamomo, 20 gL ⁻¹	3.32	A
T34 - Pata de canguru folha, 05 gL ⁻¹	3.34	A
T14 - Carvão ativado, 05 gL ⁻¹	3.45	A
T5 - Pau de Tenente, 20 gL ⁻¹	3.49	A
T7 - Melão de São Caetano, 10 gL ⁻¹	3.51	A
T15 - Carvão ativado 10 gL ⁻¹	3.77	B
T17 - Carvão ativado 20 gL ⁻¹	3.86	B
T36 - Pata de canguru folha, 15 gL ⁻¹	3.90	B
T23 - Alecrim, 10 gL ⁻¹	3.96	B
T18 - Pinus casca, 05 gL ⁻¹	4.05	B
T29 - <i>Mentruz</i> , 20 gL ⁻¹	4.05	B
T20 - Pinus, 15 gL ⁻¹	4.12	B
T19 - Pinus casca, 10 gL ⁻¹	4.15	B
T30 - Pata de canguru flor, 05 gL ⁻¹	4.41	B
T31 - Pata de canguru flor, 10 gL ⁻¹	4.42	B
T26 - <i>Mentruz</i> , 05 gL ⁻¹	4.46	B
T24 - Alecrim, 15 gL ⁻¹	4.59	B
T3 - Pau de Tenente, 10 gL ⁻¹	4.59	B
T21 - Pinus casca, 20 gL ⁻¹	4.63	C
T9 - Melão de São Caetano, 20 gL ⁻¹	4.82	C
T10 - Cinamomo, 05 gL ⁻¹	4.83	C
T35 - Pata de canguru folha, 10 gL ⁻¹	4.95	C
T8 - Melão de São Caetano, 15 gL ⁻¹	5.14	C
T6 - Melão de São Caetano, 5 gL ⁻¹	5.19	C
T32 - Pata de canguru flor, 15 gL ⁻¹	5.67	C
T28 - <i>Mentruz</i> , 15 gL ⁻¹	5.71	C
T33 - Pata de canguru flor, 20 gL ⁻¹	5.76	C
T1 - Controle 0 gL ⁻¹	5.85	C

T16 - Carvão ativado 15 gL ⁻¹	6.03	C
T27 - Mentruz, 10 gL ⁻¹	6.78	C
T25 - Alecrim, 20 gL ⁻¹	7.08	C

FONTE: Gabrieli Monique Campos.

Resultados de Ribeiro (2016), conseguiu controlar a antracnose causadora de contaminação no mamão em cultivo in vitro usando *T. harzianum*. Já para Oliveira et. al (2013), conseguiu controlar o *Colletotrichum* em bananas no pós colheita na utilização do fungo *Trichoderma* sp., controlando um percentual de inibição do patógeno em média de 56%.

ETAPA 2: BIOFILME COM EXTRATOS VEGETAIS

Para o estudo variando diferentes combinações de Spirulina sp., araruta e farinha de tapioca com extratos de uva-do-Japão e cinamomo, o estudo ainda se encontra em andamento, portanto ainda não há resultados conclusivos.

ETAPA 3: INTERAÇÃO DE FILMES FINOS COM OXIGÊNIO MOLECULAR

Nas reuniões realizadas na UTFPR, discutimos fundamentos de Física e Química, incluindo conceitos como ligações químicas, hibridização, e a teoria do orbital molecular. Além de aprender conceitos novos, que não são vistos nas disciplinas do Ensino Médio, foi possível aprofundar esses conceitos para um nível de início de graduação. O tema ao qual dedicamos mais tempo foi como ocorre a hibridização dos orbitais do átomo de O para a formação da molécula de O₂, onde investigamos a diferença entre as duas formas observadas na natureza: o O₂ tripleto (mais abundante), e o O₂ singleto (mais reativo). Ambas as formas diferem basicamente na forma como os spins se organizam, sendo que o estado tripleto possui um número igual de spins Up e Down, enquanto que o estado singleto possui dois elétrons com spins desemparelhados.

CONCLUSÃO

Conclui-se que para a ETAPA 1, o teste in vitro no controle alternativo, os extratos de Cinamomo 10, 15 e 20 gL⁻¹; pau de Tenente 05, 15 e 20 gL⁻¹; pata de canguru (folha) 5 e 20 gL⁻¹; alecrim 5 gL⁻¹; Melão de São Caetano 10 gL⁻¹ e Carvão ativado 5 gL⁻¹ foram eficazes no controle da antracnose, já os demais não são estatisticamente viáveis para o controle alternativo de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Quanto à ETAPA 2 o trabalho ainda se encontra em andamento com o teste de diferentes misturas de componentes no biofilme, tais como: Spirulina sp., araruta e farinha de tapioca com extratos vegetais de uva-do-Japão e cinamomo.

Na Etapa 3 identificamos os dois estados da molécula de O₂, e na sequência do projeto pretendemos aprender a utilizar códigos computacionais para estudar a interação do O₂ com filmes finos.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento ao Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq) pela bolsa de Iniciação Científica disponibilizada; ao Clube de Ciências do Colégio Estadual Jardim Porto Alegre e à orientadora pela colaboração; ao orientador da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) por toda a atenção.

CONFLITO DE INTERESSE

Não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

- ABAYASEKARA, C.; RATNAYAKE, S.; ADIKARAM, N. K. B. Resistance of banana fruit to fungal disease no overview. In: JONSON, G. J.; RIGHLEY, E.; JOYCE, D. C. (Ed.). **Disease resistance in fruit**. Camberra: ACIAR Procceding, n.80, 1998. P.93104.
- CHEN, H. Functional properties and applications of edible films made of milk proteins. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 11, p. 2563-2583, 1995.
- CHEN, S.; NUSSINOVITCH, A. Permeability and roughness determinations of wax-hydrocolloid coatings, and their limitations in determining citrus fruit overall quality. **Food Hydrocolloids**, v. 15, n. 2, p. 127-137, 2001.
- CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P. Doenças fúngicas e bacterianas. In: CORDEIRO, Z. J. M. **Banana Fitossanidade**. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologias, p. 36-65, 2000.
- CORDEIRO, Z. L. M.; MATOS, A. P.; KIMATI, H. Doenças da bananeira. In: KIMATI, H. et al. **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p.99-117.
- CORDEIRO, Z.J.M, & MATOS, A.P. **Doença da banana**. Informe agropecuário, 26,12-16. 2005.
- DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. Aroma compound and water vapor permeability of edible films and polymeric packagings. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 12, p. 2871-2875, 1994.
- DONHOWE, I.G.; FENNEMA, O.R. The effect of relative humidity gradient on water vapor permeance of lipid and lipid-hydrocolloid bilayer films. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 69, n. 11, p. 1081-1087, 1992.
- KESTER, J.J.; FENNEMA, O.R. An edible film of lipids and cellulose ethers:barrier properties to moisture vapor transmission and structural evaluation. **Journal of Food Science**, v. 54, n. 6, p. 1383-1389, 1989.
- KESTER, J.J.; FENNEMA, O.R. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**, v. 40, n. 12, p. 47-59, 1986.
- OLIVEIRA, E.S.; VIANA, F.M.P.; MARTINS, M.V.V.; PESSOA, M.N.G. Alternativas limpas para controle da podridão pós-colheita causada por Colletotrichum em banana. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2013.
- SAPRU, V.; LABUZA, T.P. Dispersed phase concentration effect on water vapor permeability in composite methyl cellulose - stearic acid edible films. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 18. n. 5, p. 359-368, 1994.