

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

WALTER LUIZ CANDIDO CLOSS

**DESENVOLVIMENTO DE FILME ANTIMICROBIANO CONTENDO ORA-PRO-
NOBIS (*Pereskia aculeata* Miller)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LONDRINA

2022

WALTER LUIZ CANDIDO CLOSS

**DESENVOLVIMENTO DE FILME ANTIMICROBIANO CONTENDO ORA-PRO-
NOBIS (*Pereskia aculeata* Miller)**

Development of antimicrobial film containing ora-pro-nobis

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos do Curso Superior em Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR campus Londrina.

Orientador: Profa. Dra. Luciana Furlaneto Maia

LONDRINA

2022



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

Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

WALTER LUIZ CANDIDO CLOSS

**DESENVOLVIMENTO DE FILME ANTIMICROBIANO CONTENDO ORA-PRO-
NOBIS (*Pereskia aculeata* Miller)**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação para
obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR).

Data de aprovação: 14 de junho de 2022.

Luciana Furlaneto Maia - Orientadora
Doutorado em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Federal do Paraná
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Marianne Ayumi Shirai – Membro avaliador
Doutorado em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Cláudio Takeo Ueno – Membro avaliador
Doutorado em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Pelo apoio e força, dedico este trabalho
aos meus pais, às minhas irmãs, ao Jonas
e ao Universo por ter me guiado pelos
caminhos certos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à minha orientadora Profa. Dra. Luciana Furlaneto Maia por toda ajuda e disponibilidade no desenvolvimento deste trabalho, tornando possível a conclusão.

Agradeço à Veridiana de Almeida pela paciência em me ajudar e auxiliar no laboratório.

Agradeço à Luana de Carvalho pelo auxílio nos testes no laboratório.

RESUMO

O uso de filmes biodegradáveis tem sido uma opção sustentável bastante visada para reduzir o uso de materiais sintéticos de fontes não renováveis, que poluem diariamente o solo e os mares. O amido é evidenciado como uma fonte renovável, de fácil acesso e de baixo custo. É possível aumentar a utilidade destes produtos, visando o processamento e a segurança de alimentos, aliando a substâncias antimicrobianas naturais, advindas de plantas. O objetivo deste projeto foi desenvolver um filme biodegradável de fécula de mandioca acrescido de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) a fim de verificar a atividade antimicrobiana. Utilizou-se a técnica *casting* para a elaboração dos filmes, sendo o filme controle feito com amido de mandioca (1,5 g de amido/ 50 mL de água) e glicerol (0,4 mL/50 mL de água) e o filme contendo 5% de farinha de ora-pro-nobis. Para o teste de antagonismo utilizou-se a bactéria *Listeria monocytogenes*, tornando possível observar a atividade antimicrobiana com a formação de halo a olho nu, porém em registro fotográfico a visualização não foi muito nítida. Os testes de solubilidade dos filmes foram de 33,8% e 64,77% para filme sem e com ora-pro-nobis, respectivamente. A observação da biodegradabilidade mostrou degradação lenta, durante 2 semanas. Com estes resultados, obteve-se como conclusão que é possível fazer filme contendo ora-pro-nobis e amido de mandioca, porém, são necessários testes com outras concentrações de reagentes além de testar a atividade antagônica contra outros isolados bacterianos.

Palavras-chave: filme biodegradável; fécula de mandioca; antimicrobianos; *Listeria monocytogenes*; antagonismo.

ABSTRACT

The use of biodegradable films has been a highly targeted sustainable option to reduce the use of synthetic materials from non-renewable sources, which pollute the soil and seas daily. Starch is a renewable, easily accessible and low-cost source. It is possible to increase the usefulness of these products, aiming at food processing and safety, combining natural antimicrobial substances, derived from plants. The objective of this project was to develop a biodegradable cassava starch film added with ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) in order to verify the antimicrobial activity. The casting technique was used for the elaboration of the films, being the control film made with cassava starch (1.5 g of starch/50 mL of water) and glycerol (0.4 mL/50 mL of water) and the film containing 5 % ora-pro-nobis flour. For the antagonism test against the bacterium *Listeria monocytogenes*, with naked eye it was possible to observe the antimicrobial activity with the formation of a halo, which corresponds to the inhibition of the microorganism, but with photograph it was not possible to clearly see it. Film solubility tests were 33.8% and 64.77% for film without and with ora-pro-nobis, respectively. The observation of biodegradability showed slow degradation over 2 weeks. With these results, it is concluded that it is possible to make a film containing ora-pro-nobis and cassava starch, however, tests with other concentrations of reagents are necessary in addition to testing the antagonistic activity against other bacterial isolates.

Keywords: biodegradable film; cassava starch; antimicrobials; *Listeria monocytogenes*; antagonism.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Esquema de produção de filmes pelo método de <i>casting</i>	17
Figura 2 – Aspecto do filme biodegradável após período da secagem.....	19
Figura 3 – Alteração do crescimento bacteriano ao redor do filme contendo ora-pro-nobis 5%	20
Figura 4 – Degradação de filmes TC e TOPN sobre o solo seco após 2 semanas de teste.....	22

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVO	11
2.1 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	11
3 FILME BIODEGRADÁVEL	12
3.1 COMPOSIÇÃO, PROPRIEDADES E TÉCNICAS DE EXTRUSÃO.....	12
3.1.1 Técnica de Casting	13
3.2 FILMES BIODEGRADÁVEIS ANTIMICROBIANO.....	14
3.3 ORA-PRO-NOBIS.....	15
3.4 MICRORGANISMOS POTENCIALMENTE PATOGÊNICOS EM ALIMENTOS.....	15
3.5 CARACTERIZAÇÃO DO FILME.....	16
4 MATERIAIS E MÉTODOS	17
4.1 FILME BIODEGRADÁVEL ADICIONADO DE ORA-PRO-NOBIS EM PÓ....	17
4.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	18
4.3 BIODEGRADABILIDADE.....	18
4.4 SOLUBILIDADE.....	18
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
6 CONCLUSÃO	24
REFERÊNCIAS	25

1 INTRODUÇÃO

As embalagens têm como principal propósito servir de invólucro para a proteção do produto, principalmente, de alimentos, contra deterioração, seja por sujidades, ação do meio e/ou microrganismos que possam interferir na vida útil do produto (SOUSA et al., 2012).

Uma alternativa às embalagens sintéticas são as embalagens biodegradáveis, sendo possível unir a antimicrobianos, tornando-as embalagens ativas, que interagem com o alimento de forma a proteger e manter suas características sensoriais e padrão de segurança e qualidade. Os agentes antimicrobianos, com intuito de garantir a qualidade e segurança do produto, podem ser acrescentados de forma direta à matriz polimérica, em rótulos, etiquetas ou em inseridos de sachês (ALVES, 2020).

O amido, encontrado em várias fontes como batata, mandioca e milho, destaca-se como matéria-prima para elaboração de filmes biodegradáveis por apresentar alta disponibilidade, baixo custo e ser renovável. Para que seja possível o sucesso de sua transformação em filme, faz-se necessário uma modificação ácida, levando o amido a sofrer alterações em suas propriedades físico-químicas, tornando intacta a estrutura cristalina do grânulo, que resulta no aumento da tendência de gelificação da solução de amido, sendo possível a formação de gel sob resfriamento e repouso (GARCIA, 2016).

Para ampliar a proteção da embalagem e melhorar o potencial antimicrobiano, é possível aliar extratos vegetais à composição do filme. A *Pereskia aculeata* Miller, conhecida popularmente como ora-pro-nobis, é uma trepadeira arbustiva nativa da flora brasileira e destaca-se por ser uma fonte rica em proteína, além de possuir compostos bioativos, propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes (KOBAYASI, 2021; VARGAS, 2017).

2 OBJETIVO GERAL

Desenvolver filme antimicrobiano, biodegradável, à base de fécula de mandioca, contendo ora-pro-nóbis em pó e verificar se possui potencial antimicrobiano contra *Listeria monocytogenes*

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elaborar filme biodegradável de fécula de mandioca contendo ora-pro-nobis em pó;
- Testar atividade antimicrobiana do filme biodegradável contra patógenos de origem alimentar;
- Avaliar solubilidade e biodegradabilidade dos filmes;

3 FILME BIODEGRADÁVEL

Os filmes biodegradáveis recebem esta nomeação por serem elaborados através de biopolímeros, os quais sofrem degradação, em geral de seis a doze meses, por atividade biológica natural dos microrganismos, como fungos e bactérias presentes no solo. Obtém-se estes materiais biodegradáveis de fontes renováveis naturais, como amido, proteínas e celulose. Além de serem sustentáveis, também apresentam baixo custo, pois são formulados a partir de vegetais obtidos da agropecuária, como a mandioca (CARISSIMI, 2017; GARCIA, 2016).

Há um acúmulo exacerbado de materiais sintéticos como polietilenos e polipropilenos, advindos do petróleo, uma fonte não renovável. Quando não são reciclados e descartados indevidamente, levam de 100 a 450 anos para serem degradados, além de serem poluentes de mares e rios (GARCIA, 2016). Em território brasileiro, coleta-se aproximadamente 218mil toneladas de resíduos diariamente, porém apenas 60% são encaminhadas para os aterros ou reciclagem (CARISSIMI, 2017). Neste cenário, as embalagens biodegradáveis são uma alternativa para diminuir o uso de fontes não sustentáveis e além de ser útil quando a reciclagem não é mais eficiente ou inviável (SAKANAKA, 2007).

3.1 FILMES DE AMIDO

Os filmes obtidos a partir de polissacarídeos naturais como o amido, são de grande interesse tecnológico e industrial. Além de serem biodegradáveis, oferecem também baixo-custo e solubilidade em água, tornando-o mais sustentável (SILVA, 2015). De acordo com a Legislação Brasileira, os polissacarídeos de reserva podem ser denominados amidos ou fécula, sendo a fécula a substância extraída das raízes, tubérculos e rizomas; e amido as extraídas dos grãos dos cereais (BRASIL, 1978).

O amido é composto por dois tipos de polímeros de glicose, a amilose e a amilopectina, com funcionalidade e estruturas distintas. A amilose é um polímero linear formado por unidades de D-glicose com ligações α -(1→4), grau de polimerização de 200 a 3000, dependendo da origem do amido. Já a amilopectina, é um polímero bastante ramificado, com unidades D-glicose e ligações α -(1→4) e ramificações em α -(1→6). As variações na proporção desses componentes e em suas estruturas e propriedades podem alterar as propriedades físico-químicas e funcionais

dos grânulos de amido, afetando as aplicações industriais (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA 2010)

O amido possui limitações para uso industrial, apresentando baixa resistência ao cisalhamento, esta deficiência natural pode ser superada realizando modificações, melhorando a obtenção de filme. Pode ser realizada a hidrólise ácida, que consiste em uma modificação química, em que o amido é colocado em solução diluída de ácido e mantido em temperatura controlada entre a ambiente e a temperatura de gelatinização (GARCIA, 2016).

O amido deve ser gelatinizado empregando-se calor e transformado em termoplástico pelo processo de extrusão, pela adição de glicerol. Na extrusora, pode-se realizar processos como desidratação, expansão, homogeneização, pasteurização e cozimento térmico em uma única etapa (SAKANAKA, 2007).

3.1.1 TÉCNICA DE CASTING

A produção de filmes pela técnica *casting* consiste na dispersão ou solubilização de biopolímeros em um determinado solvente, podendo ser água, etanol ou ácidos orgânicos, acrescentando-se aditivos, como os plastificantes, a fim de se obter a dispersão filmogênica. Esta solução é vertida em uma placa e leva-se em condições controladas para evaporar por completo o solvente, ao final quando o filme estiver seco, pode ser retirado do suporte (GARCIA, 2016). Na técnica de *casting*, posteriormente à gelatinização térmica dos grânulos de amido, a amilose e amilopectina, que estavam dispersas na solução aquosa, se reorganizam durante a secagem, formando uma matriz contínua que dá origem aos filmes (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

Deve haver compatibilidade entre o plastificante e o biopolímero, na maioria das vezes são adicionados na proporção de 10 a 60 g/g de matéria seca, dependendo do grau de rigidez do material. Os aditivos mais indicados para serem usados em filmes de amidos são os polióis, como glicerol e sorbitol, pois proporcionam uma melhoria nas propriedades mecânicas. Os plastificantes são responsáveis por reduzir as forças intermoleculares e aumentar a mobilidade das cadeias dos polímeros, com diminuição de possíveis descontinuidades e zonas quebradiças, tornando possível materiais com menores temperaturas de transição vítrea (T_g). O decréscimo da T_g interfere nas propriedades mecânicas, podendo-se notar um decréscimo da força na

perfuração e o aumento da deformação dos filmes (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

Deve ser levado em consideração o tempo de secagem dos filmes, pois é um parâmetro de grande valia nas propriedades do filme, quanto mais longo, maior a cristalinidade dos filmes. A qualidade da cristalização de um polímero depende da capacidade de suas cadeias em formar cristais, assim como a mobilidade durante o processo de recristalização (SAKANAKA, 2007).

A técnica de *casting*, nos últimos anos, foi bastante utilizada e discutida na pesquisa de filmes biodegradáveis a base de amido, mostrando bons resultados em laboratórios, no entanto, para produção industrial, há desvantagens como o tempo de processo, e custos elevados devido ao gasto energético para a secagem dos filmes (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

3.2 FILMES BIODEGRADÁVEIS ANTIMICROBIANOS

Há um interesse cada vez maior na segurança dos produtos e o devido controle microbiológico. A embalagem antimicrobiana é um tipo de embalagem ativa que possui um agente antimicrobiano incorporado e/ou imobilizado no material, tornando possível uma proteção maior, inibindo ou eliminando microrganismos patogênicos (GARCIA, 2016).

Os aditivos liberados por intermédio de embalagens ativas aumentam a segurança do consumidor, pois a liberação acontece de forma controlada, e dependendo da temperatura de estocagem do produto, a inibição de microrganismos perdura com o tempo de armazenamento. O agente antimicrobiano, inicialmente, pode ser incorporado no material e posteriormente migrar, por meio de difusão, para o alimento, aumentando a vida útil e a segurança do produto (FARIAS, 2016).

Há diversos estudos sobre a atividade antimicrobiana de óleos essenciais e extratos de plantas que são incorporados nos filmes, principalmente comestíveis, a fim de garantir o controle microbiológico, como em queijos, produtos cárneos, frutas e massas frescas (FARIAS, 2016).

3.3 ORA-PRO-NOBIS

Pereskia aculeata Miller, conhecida popularmente como ora-pro-nobis, é uma planta nativa brasileira da família das Cactáceas. É resistente à seca, tipicamente de climas tropicais e subtropicais, sendo encontrada na região do sul dos Estados Unidos e no Brasil. As folhas da ora-pro-nobis diferenciam-se pela não toxicidade, rica nutricionalmente, com elevado teor de proteína, sendo 25% na matéria seca com 85% de digestibilidade, além de elevados teores de aminoácidos essenciais, dentre eles o triptofano o mais abundante e lisina e metionina como os limitantes. É rica também em minerais como manganês, zinco e ferro, além de possuir teores mais altos de cálcio, fósforo, magnésio e vitaminas A, C e ácido fólico (OLIVEIRA, 2018).

É possível citar outros benefícios da ora-pro-nobis, como abrandar processos inflamatórios, recuperar a pele em casos de queimadura além de possuir antioxidantes nos frutos (VARGAS, 2017).

3.4 MICRORGANISMOS POTENCIALMENTE PATOGÊNICOS EM ALIMENTOS

Existem muitas bactérias patogênicas veiculadas por alimentos, destacando: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*. *Staphylococcus aureus* são cocos Gram-positivos, anaeróbias facultativas e mesófilas, com pH ótimo entre seis e sete. *Listeria monocytogenes* é um bacilo Gram-positivo, anaeróbio facultativo, crescimento na faixa de 2,5°C a 44°C, pH ótimo entre seis e oito, entretanto podem crescer entre cinco e nove. *Escherichia coli* é um bacilo, Gram-negativo, anaeróbio facultativo, não formador de esporos, é um microrganismo indicador de contaminação de origem fecal, possui várias linhagens patogênicas como EPEC, EIEC, ETEC, EHEC e EAggEC. *Salmonella* é um bacilo Gram-negativo, anaeróbios facultativos, não produtor de esporos. O pH ótimo para o crescimento é próximo de sete, a temperatura para multiplicação fica entre 35 e 37°C. Dependendo do autor, há diversas formas de classificação da *Salmonella*, como *S. typhi*, *S. cholerasuis*, *S. enteritidis* (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

3.5 CARACTERIZAÇÃO DO FILME

A solubilidade é essencial, pois é relacionada à hidrofiliabilidade do material, e em alguns casos a afinidade do filme com a água pode ser desejável ou não. Em produtos encapsulados ou quando usado em revestimento de alimentos, aditivos ou até medicamentos, deve-se ser solúvel, em outros casos quando é desejada a proteção no acondicionamento de um produto, é necessário ser insolúvel. A solubilidade é bastante influenciada pelo tipo e concentração do polímero utilizado, assim como aditivos e plastificantes incorporados à formulação (CARISSIMI, 2017).

A biodegradabilidade de um determinado material depende de inúmeros fatores, intrínsecos e extrínsecos, como a área superficial, massa molar, cristalinidade, devendo-se levar em consideração também a atividade microbológica do ambiente, além de temperatura, pH, umidade e oxigênio. A técnica mais comum e simples para avaliar a biodegradabilidade é colocar um pedaço do filme em uma amostra do solo, onde é exposto à microflora pertencente ao solo. O experimento ocorre em recipientes em que são mantidas umidade constante, simulando condições naturais de biodegradabilidade (CARISSIMI, 2017).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Procedimento experimental para avaliar a incorporação de ora-pro-nobis em pó em filme à base de fécula de mandioca e avaliação da atividade antimicrobiana, utilizando-se um tratamento sendo o filme contendo ora-pro-nobis e o controle sendo apenas o filme de amido.

4.1 FILME BIODEGRADÁVEL ADICIONADO DE ORA-PRO-NOBIS EM PÓ

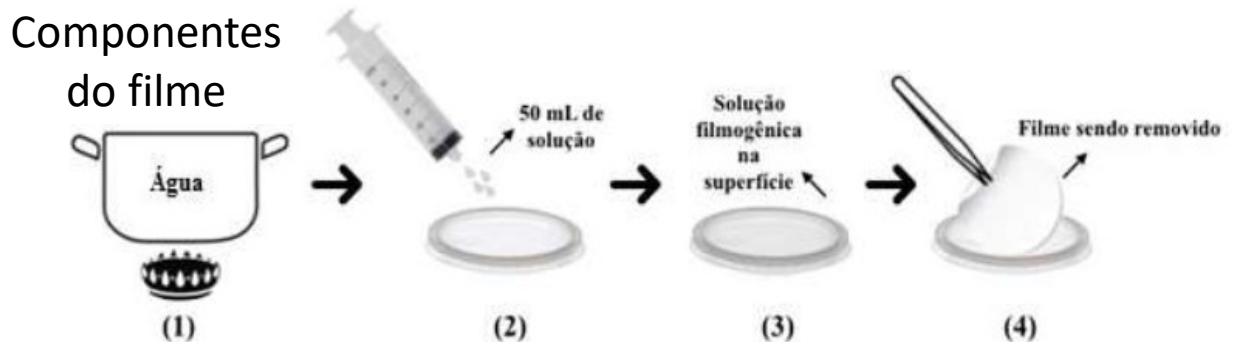
Para a obtenção do filme, a fécula de mandioca e a ora-pro-nobis em pó foram adquiridas em comercio local na cidade de Londrina, Paraná.

Para a produção do filme controle, o procedimento se deu pela técnica *casting* (Figura 1), em que se obteve uma solução filmogênica em Erlenmeyer de 250 mL com 1,5 g de amido em 50 mL de água destilada autoclavada, acresceu-se 0,4 mL de glicerina e em seguida submetida a aquecimento em bico de Bunsen.

Para o preparo do filme contendo ora-pro-nobis, pesou 2,5 g (5%) de ora-pro-nobis em pó, acrescentou 50 mL de água destilada e a solução foi esterilizada em autoclave a 121°C por 15 minutos. Posteriormente pesou-se 1,5 g de amido e adicionou-se 0,4 mL de glicerina, e foi levado para o aquecimento em bico de Bunsen até a completa gelatinização do amido.

Posteriormente a solução foi vertido em placa de Petri de 20 cm e levado à estufa a 38 °C por 24 horas.

Figura 1 - Esquema de produção de filmes pelo método de *casting*: (1) formulação da solução utilizando amido e agente plastificante, (2) solução filmogênica depositada sobre placa de Petri, (3) secagem, e (4) remoção do filme formado.



Fonte: VESPUCCI et al., 2022.

4.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Para o teste de antagonismo, foi utilizada a escala 1 de McFarland, utilizando-se a bactéria *Listeria monocytogenes*.

Preparou-se um meio de cultura semi-sólido de Brain Heart Infusion (BHI) em Erlenmeyer de 250 mL, calculado para 25 mL de água, utilizando-se 0,8% de ágar. Posteriormente inoculou-se a bactéria em questão e foi realizado o teste de atividade antimicrobiana empregando-se a técnica de poço-difusão, em que foi adicionado 20 µL do filme controle e do filme contendo 5% de ora-pro-nobis e em seguida levado à estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas.

4.3 BIODEGRADABILIDADE

Foram simuladas condições naturais de degradação em solo (STOLL et al., 2017). Foi coletado terra em duas placas e depositado uma porção do filme controle e filme contendo 5% de ora-pro-nobis. Realizou-se o registro fotográfico das placas por 2 semanas.

4.4 SOLUBILIDADE

A solubilidade dos filmes em água (SFA) foi determinada seguindo o método descrito por Salgado et al. (2013). Pedacos de 0,6 g dos filmes tratamento e controle foram adicionados em Erlenmeyer de 250 mL contendo 50 mL de água destilada e levado para agitação em *shaker* a 30°C por 24 horas. Posteriormente, foi filtrado em papel filtro, previamente seco e tarado, e levado para a estufa a 105°C por 24 horas e depois acondicionados em dessecador. Foi pesado e realizado o cálculo usando a seguinte equação:

$$SFA = \frac{[m_1 - m_2]}{m_1} \times 100 \quad (1)$$

em que m_1 é a massa inicial do filme (g) e m_2 é a massa final do filme (g).

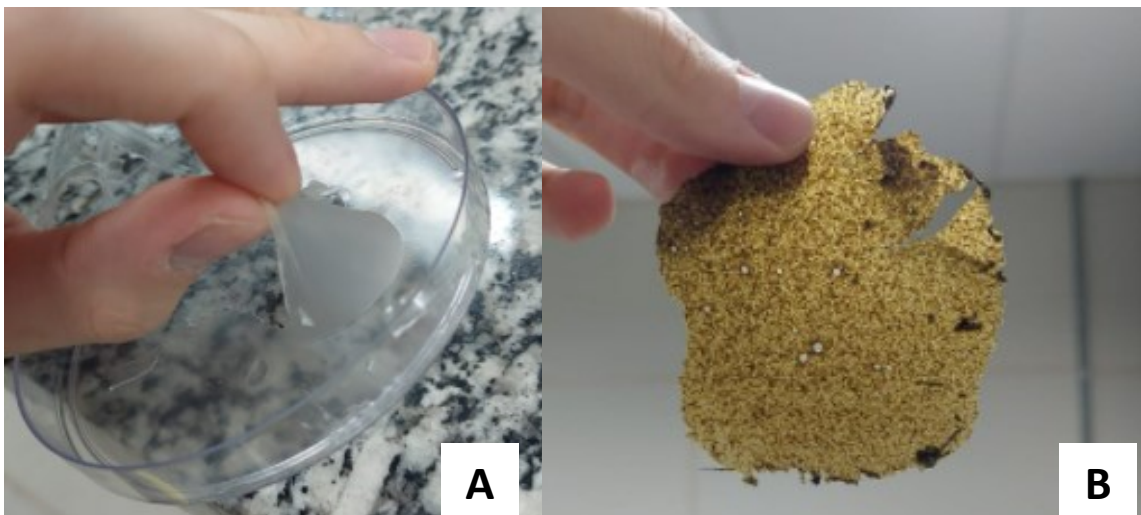
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Toda a parte experimental foi realizado no Laboratório de Microbiologia Básica e Aplicada da UTFPR/Londrina, e foi conduzida em duas etapas: produção do filme biodegradável controle e tratamentos e análises de biodegradabilidade.

A formulação utilizada foi de 1,5 g de amido/50 mL de água e 0,4 mL de glicerina como agente plastificante. Uma parte desta solução filmogênica foi o Tratamento Controle (TC) e o outro tratamento foi acrescentado 5% de farinha de ora-pro-nobis 5% (TOPN). As soluções foram desidratadas conforme a técnica *casting* que consiste na preparação de uma solução filmogênica, seguida de secagem em estufa.

A figura 2 apresenta a característica do filme formado no TC e TOPN após período de secagem por 24 hs. Observou-se que o TC ficou aderido à placa de Petri, apresentando fácil rompimento no momento da remoção. Já o TOPN foi removido e permanecendo em porções maiores, apresentando maior estabilidade ao rompimento. Também observou-se que a farinha de ora-pro-nobis apresentou homogeneidade no filme.

Figura 2 – Aspecto do filme biodegradável após período da secagem; em (A) filme controle, em (B) filme acrescido de ora-pro-nobis 5%



Fonte: Autoria própria

Em um estudo desenvolvido por Lapa et al. (2020) filme contendo concentrações maiores (>5<8) são facilmente removidos do recipiente em que foram

produzidos, permitindo inferir que apresentam maior resistência à manipulação devido a capacidade da amilose formar géis.

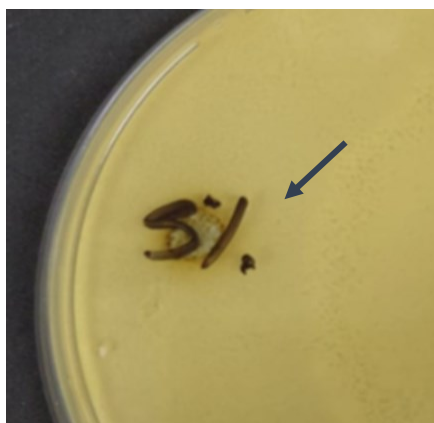
A concentração de glicerol nas formulações também foi considerada baixa, o que provavelmente interferiu na flexibilidade dos filmes, tornando-os secos, rígidos e com fraturas após a secagem. A utilização de plastificantes é necessária em filmes de polissacarídeos, pois estes aumentam a flexibilidade, diminuem a fragilidade e melhoram as propriedades mecânicas dos filmes (DASHIPOUR et al., 2015). O glicerol é um dos agentes plastificantes mais utilizados na preparação de filmes, variando nas concentrações de utilização (GHANBARZADEH et al., 2011).

Segundo Silva (2015) as melhores concentrações de glicerol para formação de filme ficam entre 1 a 10%. Concentrações muito baixas dificulta a plasticidade e concentrações elevadas deixa o filme pegajoso.

Embora o TC tenha ficado quebradiço, o TOPN apresentou maior flexibilidade, indicando que a farinha de ora-pro-nobis interferiu também na plasticidade do filme. Segundo alguns autores, ao incorporar um agente ativo em filmes de polissacarídeos, faz com que a espessura dos filmes aumente, alterando sua flexibilidade (NORONHA et al., 2014).

A figura 3 apresenta o resultado da atividade antimicrobiana do filme TC e TOPN frente à bactéria *L. monocytogenes*. Embora a olho nu foi possível visualizar o halo de inibição, em registro fotográfico, observa-se uma discreta alteração da colônia ao redor do filme depositado, não sendo possível visualizar nitidamente o halo de inibição, devido à contaminação.

Figura 3 – Alteração do crescimento bacteriano ao redor do filme contendo ora-pro-nobis 5%



Fonte: Autoria própria

A ora-pro-nobis tem sido considerada uma planta promissora no campo fitoterápico, principalmente pelos princípios anti-inflamatórios e antimicrobianos (MORAES et al, 2019). A atividade antibacteriana do extrato de *P. aculeata* pode estar relacionada ao seu teor de flavonoide rutina (SONI et al., 2013).

Segundo Rodrigues (2016), o extrato de ora-pro-nobis não inibiu o crescimento das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Porém, Vargas (2017), obteve um resultado oposto em seus estudos, mostrando atividade de inibição de *S. aureus* por ora-pro-nobis. Alguns artigos também relataram a atividade antimicrobiana de extrato de ora-pro-nobis contra *L. monocytogenes* (GARCIA et al., 2019).

O que difere os estudos desses autores com os obtidos neste teste foi o estado em que a planta foi utilizada. Em muitos testes de atividade antimicrobiana foi realizado com o extrato da planta, ao passo que neste estudo utilizou-se a farinha da planta. Mais testes devem ser conduzidos afim de eliminar a contaminação pelo amido que atrapalhou a visualização de atividade antagônica.

Neste estudo, optou-se por avaliar a ação antimicrobiana de ora-pro-nobis contra *L. monocytogenes* devido sua importância como patógeno alimentar. Porém, faz-se necessário avaliar a atividade do filme contendo ora-pro-nobis com outros patógenos alimentares. *L. monocytogenes* causa listeriose, uma doença de origem alimentar com uma taxa de mortalidade de 20% a 30% (JORDAN; MCAULIFFE, 2018).

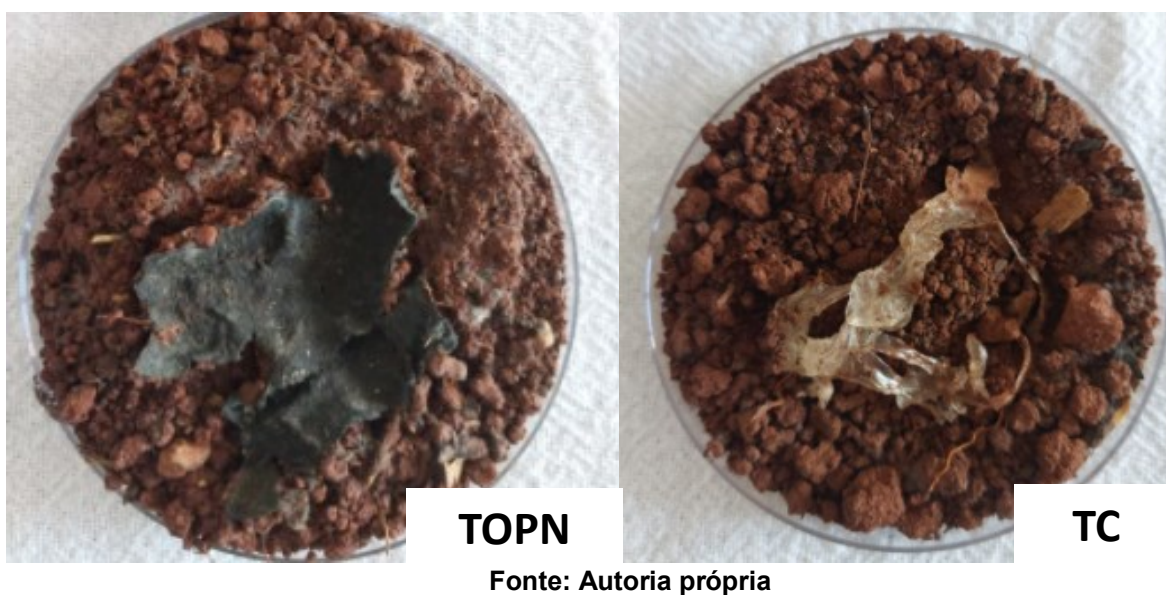
L. monocytogenes é onipresente na natureza e pode contaminar ambientes de processamento de alimentos, representando uma ameaça à cadeia alimentar, principalmente alimentos prontos para consumo, pois não há tratamento térmico ou outra etapa antimicrobiana entre a produção e o consumo. Assim, ocorrência e controle de *L. monocytogenes* são importantes para a indústria e a saúde pública (JORDAN; MCAULIFFE, 2018).

Em relação à solubilidade dos filmes TC e TOPN em água, obtiveram-se valores de 33,8% e 64,77%, respectivamente, significando que a adição de ora-pro-nobis alterou a solubilidade do filme. O aumento na solubilidade não inviabiliza o filme, pois podem servir de embalagem para alimentos processados desidratados, na cobertura de sementes agrícolas, que necessitem de umidade e rápida germinação no campo, ou em casos onde o filme é consumido junto com o produto (FARIAS et al., 2012).

Este parâmetro é influenciado por diversos fatores como concentração e tipo do polímero escolhido, aditivos e plastificantes incorporados à elaboração, sendo necessário verificar a quantidade de plastificante utilizado. Neste trabalho, como dito anteriormente, foi utilizado glicerol, responsável por aumentar a solubilidade do filme, por possuir caráter hidrofílico, pois interage com a água, por meio de ligações de hidrogênio, fazendo a incorporação à rede do filme (CLARISSIMI, 2017).

A Figura 4 apresenta as imagens da biodegradabilidade dos filmes TC e TOPN em solo. O processo de biodegradabilidade foi observado visualmente, e após 2 semanas ainda havia partes íntegras do filme. No teste, utilizou-se solo seco e sem presença de matéria orgânica visível, tais como folhas e galhos.

Figura 4 - Degradação de filmes TC e TOPN sobre o solo seco após 2 semanas de teste.



De acordo com Cerruti et al. (2011) a biodegradabilidade do filme composto por amido depende de muitos fatores ambientais, tais como a ação do calor, a umidade e a atividade enzimática dos microrganismos presentes no solo, enfraquecendo as cadeias poliméricas do amido provocando a sua biodegradação.

Clarissimi (2017) também enfatiza que a biodegradabilidade está intrinsicamente relacionada à solubilidade, sendo um fator imprescindível, já que quanto mais solúvel o filme, maior será a degradação do filme em contato com a água.

Outra probabilidade no retardo do processo de biodegradabilidade no filme TOPN pode ser em decorrência da atividade dos microrganismos presentes no

ambiente de compostagem. Devido ao fato do ora-pro-nobis ter propriedades antimicrobianas, isso pode ter afetado os microrganismos diminuindo a taxa de biodesintegração. Resultados semelhantes foram obtidos por Cerruti et al. (2011) trabalhando com atividade antibiótica de bagaço de uva.

Vale salientar que devem ser avaliadas outras quantidades dos componentes que são mais ideais para a obtenção de filmes com propriedades e características desejáveis.

6 CONCLUSÃO

Os filmes biodegradáveis podem exibir diversos comportamentos dependendo da incorporação de aditivos e reagentes, sendo necessário avaliar porcentagens diferentes de glicerol, assim como testar outros reagentes para observar a função plastificante, a fim de melhorar as características de biodegradabilidade e controlar a solubilidade de acordo com o objetivo da embalagem. A ora-pro-nobis alterou a solubilidade do filme, possivelmente, devido às interações com sua composição. Já a biodegradabilidade, com registro fotográfico durante duas semanas, não foi possível visualizar a decomposição dos filmes, muito se devendo também à falta de umidade do solo. Os componentes antimicrobianos, visando enriquecer e aumentar a utilidade do filme, devem ser desenvolvidos e testados em outras concentrações, como no caso da ora-pro-nobis, que mesmo apresentando contaminação por parte do amido, houve a inibição de *L. monocytogenes*, podendo-se visualizar o halo a olho nu. Faz-se necessário, também, avaliar se ocorre a inibição em outras bactérias patogênicas.

REFERÊNCIAS

- ALVES, Juliana Josh Silva. **Desenvolvimento de Embalagem Ativa Antimicrobiana com a Incorporação de Extrato de Abricó (*Mammea americana* L.)**. 2020. 17 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2020.
- BRASIL, Resolução nº 12, de 24 de julho de 1978. Aprova as Normas Técnicas Especiais, do Estado de São Paulo, revistas pela CNNPA, relativas a alimentos (e bebidas), para efeito em todo território brasileiro. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, jul. 1978. Seção 1, pt I.
- CARISSIMI, Mariel. **Desenvolvimento e aplicação de filmes biodegradáveis a partir de amido de mandioca e microalga verde**. 2017. 89f. Dissertação (Mestrado Ciência e Tecnologia em Alimentos) – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.
- CERRUTI, P. SANTAGATA et al. **Effect of a natural polyphenolic extract on the properties of a biodegradable starch-based polymer**. *Polymer Degradation and Stability*, Aubierre, v.96, n.5, p.839-846, 2011.
- DASHIPOUR, V. Razavilar et al. **“Antioxidant and antimicrobial carboxymethyl cellulose films containing *Zataria multiflora* essential oil,”** *Int. J. Biol. Macromol.*, 72, 606–613, 2015.
- FARIAS, Mônica Guimarães. **Elaboração e caracterização de filmes de amido e polpa de acerola por casting, extrusão termoplástica e termoprensagem**. 2016. 188f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2016.
- FARIAS, Mônica Guimarães et al. **Caracterização Físico-Química De Filmes Comestíveis De Amido Adicionado De Acerola (*Malpighia emarginata* D.C.)**. *Quim. Nova*, Vol. 35, No. 3, 546-552, 2012.
- FRANCO, Bernadette Dora Gombossy de Melo; LANDGRAF, Mariza. **Microrganismos Patogênicos de Importância em Alimentos**. In: Bernadette D.G.M. Franco; Mariza Landgraf. **Microbiologia de Alimentos**. 1ª Edição. São Paulo: Atheneu, 1996. p. 33-81.
- GARCIA, Amanda Penazzo. **Desenvolvimento De Filmes Biodegradáveis Ativos A Base De Amido De Milho Adicionados De Extrato De Própolis**. 2016. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2016.
- GARCIA, Jéssica A.A. et al. **Phytochemical profile and biological activities of 'Ora-pro-nobis' leaves (*Pereskia aculeata* Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest**, **Food Chemistry**, 2019, Volume 294, Pages 302-308.

GHANBARZADEH, H. Almasi et al. “**Physical properties of edible emulsified films based on carboxymethyl cellulose and oleic acid,**” *Int. J. Biol. Macromol.*, 48, 1, 44–49, 2011;

SILVA, Ângela Maria Leite da. **Desenvolvimento de filmes antimicrobianos para aplicação na indústria alimentar.** 2015. Dissertação (mestrado) – Curso de Mestrado em Bioquímica, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal, 2015.

JORDAN, Kieran; MCAULIFFE, Olivia. Chapter Seven - *Listeria monocytogenes* in Foods, Editor(s): David Rodríguez-Lázaro, **Advances in Food and Nutrition Research**, Academic Press, Volume 86, 2018, Pages 181-213.

KOBAYASI, Tamiris Machado. **Caracterização da mucilagem de ora-pro-nóbis e produção de filmes biodegradáveis em combinação com aditivos glicerol e sorbitol.** Universidade Estadual Paulista (Unesp), 2021. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/213990>.

LAPA, L. S. S. et al. Aplicação das análises espectroscópicas e termogravimétricas em filmes biodegradáveis de amido de milho incorporados com extrato de própolis-verde. **ForScience**, Formiga, v. 8, n. 2, e00712, jul./dez. 2020. DOI: 10.29069/forscience.2020v8n2.e712.

MALI, Suzana; GROSSMANN, Maria Victória Eiras; YAMASHITA, Fábio. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 137-156, jan./mar. 2010.

MORAES, Thiago Vieira De et al. Potencial antioxidante da espécie *Pereskia aculeata* Miller: uma análise bibliométrica. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research BJSCR**, v.29, n.1, p. 79-85, 2019.

NORONHA, C. M. et al. “Characterization of antioxidant methylcellulose film incorporated with α -tocopherol nanocapsules.” **Food Chem.**, 159, 529–35, 2014.

OLIVEIRA, Natália Leite. **Desenvolvimento de Filmes Biopoliméricos a Base de Goma de Ora-Pro-Nóbis (*Pereskia aculeata* Miller).** 2018. 71 p.: il. Dissertação (mestrado acadêmico) – Curso de Mestrado em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.

RODRIGUES, Angela Souza. **Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) e sua aplicação em mortadela.** 2016. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Tecnologia dos alimentos) Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Rio Grande do Sul, 2016.

SAKANAKA, Lyssa Setsuko. **Confecção de filmes biodegradáveis por extrusão de blendas de amido termoplástico e polibutileno succinato co-adipato (PBSA).** 2007. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de

Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

SALGADO, P. R. et al. Sunflower protein films incorporated with clove essential oil have potential application for the preservation of fish patties. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 1, p. 74–84, 2013.

SILVA, Ângela Maria Leite da. **Desenvolvimento de filmes antimicrobianos para aplicação na indústria alimentar**. 2015. Dissertação (mestrado) – Curso de Mestrado em Bioquímica, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal, 2015.

SONI H. et al. Antimicrobial and antiinflammatory activity of the hydrogels containing rutin delivery. **Asian Journal of Chemistry**, 25 (2013), pp. 8371-8373.

SOUSA, Luci Cleide Farias Soares et al. Tecnologia de emalgens e conservação de alimentos quanto aos aspectos físico, químico e microbiológico. **Agropecuária Científica no Semiárido**, Patos, v.8, n.1, p.19-27, jan-mar. 2012.

VARGAS, Aline Garcias de. **Influência da Sazonalidade na Composição Química e nas Atividades Antioxidante e Antimicrobiana das Folhas de Ora-Pro-Nobis**. 2017. 80f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímico) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2017.

VESPUCCI, Igor Leonardo et al. Filmes biodegradáveis à base de amido para aplicação em pequenas produções de frutas. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.8, n.2, p. 14413-14427, feb., 2022.