

Desenvolvimento e avaliação de filme antimicrobiano na conservação de manteiga

Development and evaluation of antimicrobial film on butter conservation

Allan Robledo Fialho e MORAES¹, Luis Eduardo Reis GOUVEIA¹, Nilda de Fátima Ferreira SOARES^{1*},
Manoela Maciel de Souza SANTOS¹, Maria Paula Junqueira Conceição GONÇALVES¹

Resumo

A indústria alimentícia, buscando atender a um mercado consumidor cada vez mais exigente, vem desenvolvendo embalagens ativas para proporcionar qualidade e segurança aos produtos acondicionados. Neste sentido, esta pesquisa objetivou desenvolver filmes ativos incorporados com agente antimicrobiano e avaliá-los na conservação de manteiga. Os filmes de base celulósica foram incorporados com 0% (controle) e 7% (ácido sórbico). Teste de halo de inibição em presença de fungos mostrou um halo de 3,4 cm. Amostras de manteiga foram fatiadas e inoculadas com 1×10^8 UFC.mL⁻¹ de fungos filamentosos e leveduras, previamente isolados de manteiga. As amostras foram envolvidas com o filme ativo, embaladas em papel alumínio e armazenadas sob temperatura de refrigeração. As análises microbiológicas da manteiga foram realizadas após 0, 10 e 20 dias de armazenamento à temperatura de 7 ± 2 °C. A contagem inicial de fungos filamentosos com leveduras na manteiga foi de 3×10^6 UFC.g⁻¹ e após 10 e 20 dias de estocagem observou-se redução de 1 ciclo log (9×10^5 UFC.g⁻¹) e 2 ciclos log (8×10^4 UFC.g⁻¹) para a manteiga embalada com filme incorporado com 7% de ácido sórbico, respectivamente. Os valores de espessuras foram de $22,5 \pm 3$ µm e 25 ± 5 µm, de carga máxima: $37,4 \pm 7$ N e $52,4 \pm 7$ N, e de alongamento $1,7 \pm 0,7\%$ e $2,3 \pm 0,7\%$, para os filmes incorporados com 0 e 7% de ácido sórbico, respectivamente. Pode-se concluir que o filme antimicrobiano apresentou maior resistência e alongamento, além de ter sido eficiente na redução de fungos filamentosos e leveduras em manteiga.

Palavras-chave: Embalagens ativas; vida-de-prateleira; segurança alimentar; manteiga.

Abstract

Food industry aiming to attend consumer's requirements is developing active packaging to provide quality and safety for packed foods. Therefore, the aim of this project is to develop active films incorporated with antimicrobial compounds and evaluate their efficacy in butter conservation. Cellulosic based-films were incorporated with 0 (control) and 7% of sorbic acid. Antimicrobial film showed an inhibition halo of 3.4 cm for filamentous fungi and yeast. Butter samples were sliced and inoculated with filamentous fungi and yeast previously isolated from butter. The samples were wrapped with the active film involved in aluminum foil and stored at 7 ± 2 °C. Microbiological analyses were carried out at 0, 10 and 20 days of storage. The initial counting of filamentous fungi and yeast was 3×10^6 FCU.g⁻¹ and after 10 and 20 days the observed reductions was 1 log cycle (9×10^5 FCU.g⁻¹) and 2 log cycles (8×10^4 FCU.g⁻¹) for the butter in contact with the antimicrobial film respectively. Thickness values were: 22.5 ± 3 µm and 25 ± 5 µm, maximum strength: 37.4 ± 7 N and 52.4 ± 7 N and elongation: $1.7 \pm 0.7\%$ and $2.3 \pm 0.7\%$ for the 0 and 7% sorbic acid-films respectively. It can be concluded that the antimicrobial film showed more resistance and elongation, besides being efficient to inhibit filamentous fungi and yeast in butter.

Keywords: Active packaging; shelf-of-life; food safety; butter.

1 Introdução

A indústria alimentícia, altamente competitiva, procura sempre desenvolver produtos com qualidade e segurança para atender a um mercado consumidor cada vez mais exigente. Assim, além da aplicação de boas práticas higiênico-sanitárias é necessário também o acondicionamento do produto em embalagens adequadas para proteger e conservar o alimento durante as fases de estocagem e comercialização, assegurando ao consumidor a aquisição de um produto saudável. Nesse contexto, o estudo e desenvolvimento das embalagens, especialmente as embalagens ativas – embalagens que interagem com o alimento – têm sido de fundamental importância para estender sua vida-de-prateleira. Apesar de haver ainda poucos estudos sobre embalagens ativas, este promete ser um ramo promissor na indústria de alimentos.

Tradicionalmente, as embalagens para alimentos têm sido planejadas para proteger o produto; um de seus principais requisitos é a não interação com o alimento acondicionado, funcionando assim como uma barreira inerte entre o alimento e

o ambiente. Entretanto, as tecnologias envolvendo embalagens ativas visam o planejamento de embalagens que apresentem interações desejáveis com o produto, aumentando ou monitorando sua vida-de-prateleira³.

SOARES¹³ conceituou embalagens ativas como àquelas que interagem com o alimento modificando alguma propriedade, objetivando proporcionar segurança alimentar, melhoria de qualidade sensorial e ampliar a vida-de-prateleira do produto. Segundo ROONEY¹¹, embalagem ativa é definida como uma embalagem que não apenas separa o alimento do meio ambiente, mas que interage com o alimento para manter suas propriedades. De acordo com SCANNEL et al.¹², embalagem ativa é um conceito inovativo que combina avanços em tecnologia de alimentos, segurança dos alimentos, embalagens e materiais em um esforço para melhor atender às demandas de consumidores por alimentos mais frescos e seguros.

As mais novas concepções de embalagens ativas são os polímeros antimicrobianos^{14,8}, os absorvedores de oxigênio⁶ e de etileno, os liberadores de CO₂ e as enzimas imobilizadas em suportes poliméricos, tais como lisozima² e naringinase¹³.

Nos últimos anos, têm se destacado os desenvolvimentos de embalagens com atividades antimicrobianas. A tecnologia

¹ Departamento de Tecnologia de Alimentos – DTA,
Universidade Federal de Viçosa – UFV, Campus Universitário, CEP 36570-000,
Viçosa - MG, Brasil,
E-mail: nfoares@ufv.br

*A quem a correspondência deve ser enviada

baseia-se no fato de que, na maioria dos alimentos sólidos e semi-sólidos, o crescimento microbiano é superficial, daí um maior contato entre o produto e o agente antimicrobiano. Vários compostos naturais e sintéticos têm tido seu potencial antimicrobiano analisado dentro deste conceito, a exemplo de íons metálicos, ácidos orgânicos, bacteriocinas e fungicidas, como os benzoatos e sorbatos. Polímeros com atividades antimicrobianas naturais, como as quitosanas e as poliamidas, também estão sendo estudados¹⁰.

Dentre os filmes incorporados com antimicrobianos, há grande interesse pelos obtidos diretamente de material natural, em especial acetato de celulose, por se tratar de um filme biodegradável.

A liberação de aditivos por embalagens ativas aumenta a segurança do consumidor, já que esses compostos, ao invés de diretamente adicionados ao alimento, são liberados controladamente; com isso, estão presentes em menores quantidades, e apenas onde sua presença é requerida, a saber, na superfície do produto, onde a maior parte das reações de deterioração ocorre⁷.

A deterioração por microrganismos e a oxidação dos lipídios são uma das principais causas de perda dos alimentos. Portanto, o controle do crescimento desses microrganismos e da oxidação lipídica se faz necessário para que os alimentos alcancem um alto nível de qualidade, aumentando assim a vida-de-prateleira do produto e a rentabilidade da indústria.

Dentre os conservantes utilizados em alimentos, os ácidos orgânicos merecem destaque por possuírem maior solubilidade, baixa interferência no sabor e baixo nível de toxicidade⁴. O ácido sórbico ($\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHCH}=\text{CHCOOH}$) e seus sais de cálcio, sódio e potássio são empregados como conservantes em alimentos, sendo especialmente eficientes contra fungos e leveduras. Contudo, pesquisas têm demonstrado eficiência também contra uma grande variedade de bactérias: *Staphylococcus aureus*, salmonelas, coliformes, bactérias psicrotróficas (especialmente *Pseudomonas*) e *Vibrio parahemolyticus*⁹.

A manteiga contém cerca de 15% de água, 81% de gordura e geralmente menos de 0,5% de carboidratos e proteínas⁹. É um produto gorduroso no qual a fase aquosa esta dispersa na fase oleosa formando uma emulsão do tipo água/óleo. A manteiga é formada pela batidura do creme obtido previamente do desnatamento do leite. A matéria gorda é, dentre os componentes do leite, o principal elemento que entra na fabricação da manteiga⁵.

As bactérias causam dois tipos de deterioração na manteiga. A primeira é conhecida como "mancha de superfície" ou putrefação. Essa deterioração é causada pela *Pseudomonas putrefaciens* e ocorre devido ao seu crescimento na superfície da manteiga pronta. Ela se desenvolve em temperaturas que variam entre 4 e 7 °C e se torna visível entre 7 e 10 dias. O odor se deve à presença de certos ácidos orgânicos, especialmente o ácido isovalérico. A segunda deterioração bacteriana mais comum é a rancidez. Ela é causada pela hidrólise da gordura com a liberação de ácidos graxos livres. As lipases provenientes de fontes não-microbiológicas podem causar essa deterioração⁹.

A deterioração por fungos acontece devido à presença de *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium* e *Geotrichum*, especialmente o *G. candidum* (*Oospora lactis*). Esses microrganismos podem ser encontrados na superfície da manteiga, onde produzem colorações referentes às cores dos seus esporos. Leveduras negras do gênero *Torula* também causam manchas na manteiga. O alto teor lipídico e a baixa concentração de água fazem com que a manteiga seja mais susceptível à deterioração por bolores do que por bactérias⁹. Assim, a adição de compostos antimicrobianos contribui na inibição do crescimento microbiano.

Com o objetivo de inibir o crescimento de fungos e bactérias, proporcionando uma maior segurança e qualidade no armazenamento e no tempo de prateleira, o presente trabalho buscou desenvolver filmes ativos incorporados com ácido sórbico (antimicrobiano) utilizado na embalagem da manteiga comercial (sem aditivo).

2 Material e métodos

A manteiga foi adquirida no comércio local de Viçosa (MG) e os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Embalagens do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, MG.

2.1 Produção de filmes antimicrobianos

Os filmes de base celulósica foram produzidos pelo sistema "cast" (patente requerida). O ácido sórbico foi adquirido da Merck.

2.2 Análise das propriedades mecânicas dos filmes

Os filmes foram condicionados em temperaturas de 23 ± 1 °C, durante 24 horas, segundo norma ABNT 6740¹ para as análises posteriores.

Foram determinadas as propriedades de módulo de carga máxima e deformação na carga máxima, segundo a Norma ASTM-D882-00, utilizando o Aparelho Universal de Teste (Instron-modelo 3367).

2.3 Determinação da atividade de água

A atividade de água (Aa) da manteiga foi determinada pelo aparelho Aqualab-CX2T a 23 ± 2 °C, conforme procedimento descrito na AOAC.

2.4 Determinação da espessura dos filmes

A espessura de cada filme foi obtida pela média de medidas tomadas em três pontos do filme, ao acaso, utilizando micrômetro (Mitutoyo; 0-25 mm).

2.5 Teste do halo

O teste do halo foi realizado com o objetivo de avaliar a eficiência antimicrobiana do filme. O meio de cultura (BDA) foi vertido em placas de Petri, em triplicata, e, após solidificação, as superfícies foram inoculadas com 0,1 mL de uma suspensão

do fungo isolado da manteiga. Pedacos do filme, com 2,1 cm de diâmetro, de cada tratamento, foram colocados assepticamente sobre a superfície do meio de cultura. As placas foram incubadas a 35 °C por 3 a 5 dias.

2.6 Análise microbiológica

A manteiga foi fatiada e inoculada com 1×10^8 UFC.mL⁻¹ de fungos filamentosos e leveduras, previamente isolados de manteiga. As amostras foram embaladas com o filme ativo, envolvidas em papel alumínio e armazenadas sob temperatura de refrigeração.

As amostras foram analisadas quanto à contagem de fungos e leveduras, nos tempos 0, 10, e 20 dias. As análises foram realizadas conforme metodologias recomendadas pelo LANARA¹.

2.7 Análise estatística

Os dados foram avaliados em estatística descritiva. Os experimentos foram realizados com duas repetições.

3 Resultados e discussão

Os filmes desenvolvidos apresentaram pequenas variações nas espessuras, sendo que a adição de agente antimicrobiano contribuiu para o aumento da espessura. Os valores médios de espessura foram de $22,5 \pm 3$ µm para o filme controle e 25 ± 5 µm para o filme incorporado com 7% de ácido sórbico.

Os parâmetros mecânicos, módulo de carga máxima e alongamento na carga máxima do filme incorporado com agente antimicrobiano aumentaram em relação ao filme controle. Os valores apresentados foram $37,4 \pm 7$ N e $52,4 \pm 7$ N para carga máxima e $1,7 \pm 0,7\%$ e $2,3 \pm 0,7\%$ para deformação na carga máxima para os filmes controle e 7% de ácido sórbico, respectivamente. Portanto, pôde-se observar que a adição de 7% de ácido sórbico mudou a estrutura polimérica do filme dando-lhe maior resistência e alongamento.

O valor inicial da atividade de água (Aa) da manteiga foi de 0,920. Após 20 dias de armazenamento, embaladas nos filmes controle e antimicrobiano, os valores de Aa foram de 0,885 e 0,892, respectivamente.

Halos de inibição com diâmetro de 3,4 cm foram observados sobre fungos filamentosos e leveduras previamente isolados de manteiga, quando utilizado o filme ativo incorporado com ácido sórbico. O filme controle não apresentou halo (Figura 1).

A contagem inicial de fungos filamentosos e leveduras na manteiga foi de 3×10^6 UFC.g⁻¹. Após 10 e 20 dias de estocagem, foi observado aumento na contagem de fungos filamentosos e leveduras para a manteiga embalada no filme controle (Figura 2). No entanto, a manteiga embalada em filme ativo incorporado com ácido sórbico apresentou redução de 1 ciclo log (9×10^5 UFC.g⁻¹) e 2 ciclos log (8×10^4 UFC.g⁻¹) após 10 e 20 dias de estocagem, respectivamente (Figura 2).

4 Conclusões

Pode-se concluir que o filme incorporado com ácido sórbico apresentou maior resistência e alongamento, além de ter

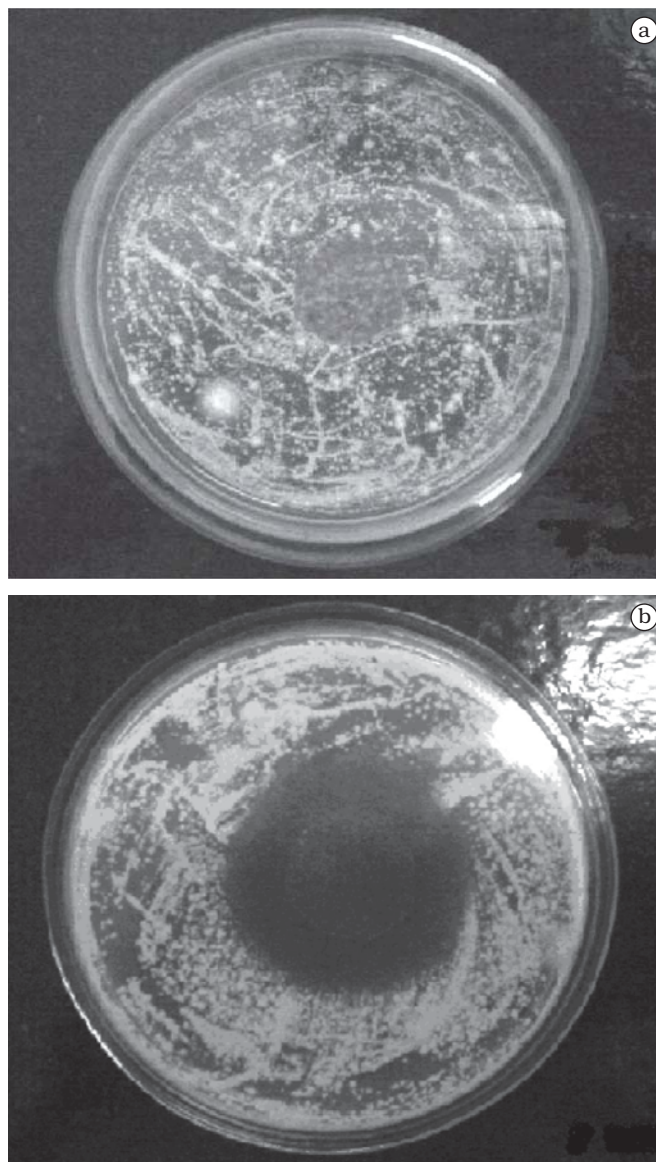


Figura 1. Teste do halo de inibição para fungo em contato com o filme controle (a) e com o filme de 7% ácido sórbico (b).

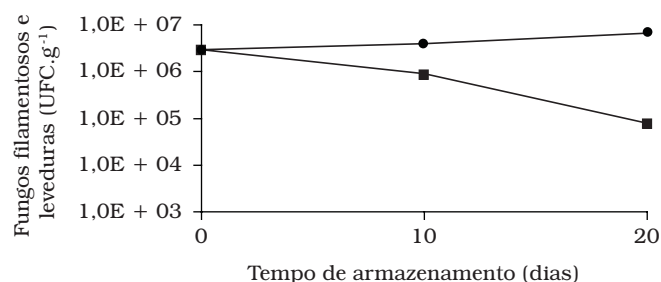


Figura 2. Contagem de fungos filamentosos e leveduras em manteiga envolta no filme controle (●) e filme ativo (■), estocado a 7 ± 2 °C.

sido eficiente na redução de fungos filamentosos e leveduras em manteiga.

Foi observada uma redução no valor da atividade de água da manteiga após 20 dias de estocagem. Entretanto, ambos os

filmes (controle e antimicrobiano) apresentaram comportamentos semelhantes com relação à alteração da Aa do produto.

Os resultados indicaram que filmes ativos incorporados com antimicrobiano são desenvolvimentos inovadores com grande potencialidade de aplicação na área de alimentos para desenvolvimento de novas embalagens e de um novo nicho no mercado alimentício, o de uso de filmes ativos incorporados com antimicrobianos.

Agradecimentos

Os autores agradecem os recursos financeiros concedidos pela CAPES, CNPq, FAPEMIG e FINEP

Referências bibliográficas

1. AGROPECUARIA, BRASILIA. Secretaria Nacional de Defesa; Lanara - **métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes** - I métodos microbiológicos. Brasília: SNDA, 1981.
2. APPENDINI, P. **Imobilization of lysozyme on synthetic polymers for the application to food packaging**. Ithaca, NY, 1996. (Ph.D. Dissertation). Cornell University.
3. AZEREDO, H. M. C. de; FARIA, J. de A. F. and AZEREDO, A. M. C. de. Active packaging for foods. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Sept./Dec. 2000, v. 20, n. 3, p. 337-341. ISSN 0101-2061.
4. BAIRD-PARKER, A. C. Ácidos orgânicos. In: INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Ecologia microbiana de los alimentos 1**. Zaragoza. Espanhola. Acribia (Ed.), 1980, p. 132-142.
5. BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do Leite**. São Paulo, Livraria Nobel, p. 87, 1981.
6. BERENZON, S. e SAGUY, I. S. Oxygen absorbers for extension of crackers shelf-life. **Food Sci. and Tech.**, v. 31, n. 1, p. 1-5, 1998.
7. GONTARD, N. **Active packaging**. In: SOBRAL, P.J.A.; CHUZEL, G., eds. Workshop sobre biopolímeros, Pirassununga – SP. FZEA, p. 23-27, 1997.
8. HOTCHKISS, J. H. **Safety considerations in active packaging**. In: ROONEY, M. L. Active food packaging. London: Blackie Academic & Professional, 1995. Cap. 11, p. 238-255.
9. JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712 p.
10. OLIVEIRA, L. M.; OLIVEIRA, P. V. L. Revisão: Principais Agentes Antimicrobianos Utilizados em Embalagens Plásticas. **Braz. J. Food. Tech.** v. 7, n. 2, p. 161-165, 2004.
11. ROONEY, M. L. Active packaging in polymer films. In: ROONEY, M. L. **Active food packaging**. Glasgow: Chapman & Hall, 1995. p. 74-110.
12. SCANNELL, A. G. M; HILL, C.; ROSS, R. P.; MARX, S.; HARTMEIER, W.; ARENDT, E. K. Development of bioactive food packaging materials using immobilized bacteriocins Lacticin 3147 and Nisaplin. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 60, n. 2-3, p. 241-249, 2000.
13. SOARES, N. F. F. **Bitterness Reduction in Citrus Juice Through Naringinase Immobilized into Polymer film**. Ithaca, NY, 1998, 130 p. Ph D. Dissertation, Cornell University.
14. WENG, Y.; HOTCHKISS, J. H. Anhydrides as antimycotic agents added to polyethylene films for food packaging. **Packag. Tech. Sci.**, v. 6, n. 3, p. 123-128, 1993.