

Área: Tecnologia de Alimentos

ATIVIDADE INIBITÓRIA DE FILME CONTENDO BENZOATO DE SÓDIO EM FUNGOS PRESENTES EM UVAS RUBI

Camila Sant'Anna Monteiro, Stefani San Martin Dal Osto, Kaelly Hörbe, Cassia Adriana Erêncio de Castro, Paula Fernanda Pinto da Costa*

Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Pampa, Itaqui, RS

**E-mail: paulacosta@unipampa.edu.br*

RESUMO – Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito inibitório da utilização de filme comestível a base de fécula de mandioca e benzoato de sódio na inibição de fungos presentes em uvas da variedade Rubi. Para isto foram isolados e caracterizados os principais fungos presentes em amostras de uvas Rubi, adquiridas no comércio local. Os fungos isolados foram inoculados em placas contendo PDA e expostos a discos de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca, gelatina com e sem a adição de conservante benzoato de sódio na concentração de 0,1% sobre o peso do filme. Após a inoculação das amostras em PDA e isolamento, foram detectadas a presença de fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Botrytis*, *Fusarium* e *Penicillium*, incluindo leveduras dos gêneros *Rhodotorula* e *Saccharomyces*. Dentre os fungos observados, encontraram-se três espécies micotoxigênicas, *Aspergillus ochraceus*, *Fusarium* e *Penicillium* sp. A avaliação da atividade inibitória dos filmes em placas com os micro-organismos isolados evidenciou que o uso do filme contendo benzoato de sódio é efetivo na inibição do crescimento de *Aspergillus ochraceus* e de *Fusarium* sp, no entanto, não afetou o crescimento dos demais fungos avaliados. Com base nos resultados conclui-se que o uso de cobertura filmogênica contendo benzoato de sódio não impede o crescimento de micro-organismos deteriorantes como *Botrytis* sp, no entanto é efetivo no controle de fungos micotoxigênicos como *Aspergillus ochraceus* e *Fusarium* sp.

Palavras-chave: filmes comestíveis, frutas, micro-organismos, benzoato de sódio.

1 INTRODUÇÃO

A uva de mesa é um fruto de grande importância comercial e nutricional, que apresenta grande demanda no âmbito nacional e internacional, pois é uma fruta consumida desde a antiguidade e apreciada pelos mais diversos consumidores (ROUSSENQ et al., 2016). É classificada como uma fruta de alta perecibilidade, sendo que as perdas no varejo podem chegar até 20% do volume (CARRER e ALVES, 2011).

A perda de parâmetros de qualidade, como a coloração, textura, suculência, aroma e perda excessiva de umidade resultam em limitações na vida de prateleira dos frutos e aumentam as chances de rejeição do produto pelos consumidores (YOUSUF et al., 2018). Este efeito é intensificado quando se considera o tempo e a

distância para distribuição do produto a locais longes dos centros de produção, o que resulta em aumento das perdas, redução da qualidade e impacto na formação do preço final.

A principal causa das perdas pós-colheita ocorrem devido ao desenvolvimento dos micro-organismos como bolores, bactérias e leveduras nos tecidos comprometidos pelo dano mecânico, assim causando a deterioração do produto pela degradação dos tecidos (CHITARRA & CHITARRA, 2005). Desta forma, pesquisas têm sido realizadas visando controlar a deterioração, tais como o processamento mínimo, uso de atmosfera modificada, embalagens, aplicação de coberturas filmogênica, dentre outros (CIA et al, 2010; FAKHOURI et al., 2007, CASTRO et al., 1999).

Diversos estudos avaliaram a aplicação de coberturas comestíveis sobre os frutos como alternativa para preservar os frutos frescos, que auxiliam na manutenção das características sensoriais e tecnológicas da fruta e aumentam a vida de prateleira dos frutos (FAKHOURI et al., 2007; ALMEIDA, 2014; ARAÚJO, 2015; SENA et al., 2016).

O principal objetivo da utilização destas coberturas é reduzir os danos causados por agentes de ordem microbiológica, química e física, auxiliando na redução da perda de água e controlando algumas reações bioquímicas dependentes de trocas gasosas (CHITARRA & CHITARRA, 2005). Com a aplicação de revestimentos em frutas, tem-se a formação de uma cobertura com preenchimento parcial dos estômatos e lenticelas, reduzindo, dessa forma, a transferência de umidade (transpiração) e as trocas gasosas (LUVIELMO & LAMAS, 2012; SENA et al., 2016). Efeito que pode ser intensificado pela incorporação de agentes antimicrobianos, como o conservante alimentício benzoato de sódio, agente reconhecido por seu efeito antifúngico e reconhecido como seguro para uso em alimentos, dentro dos limites estabelecidos pelas normas regionais.

Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito inibitório da utilização de filme comestível a base de fécula de mandioca e benzoato de sódio na inibição de fungos presentes em uvas da variedade Rubi.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram adquiridas amostras de uva da variedade Rubi, no comércio local da cidade de Itaqui – RS, para isolamento e caracterização dos fungos presentes.

O isolamento dos fungos foi realizado através da diluição do material em água peptonada 0,1%, na proporção de uma parte de amostra para nove partes de diluente. Após a homogeneização, foi realizada a inoculação das amostras em meio de cultura PDA (*potato dextrose ágar*) acidificado e incubadas a 23°C durante cinco dias. Após o crescimento, as colônias foram isoladas em meios para identificação CYA (Agar Extrato de Levedura Czapeck) e MEA (Agar Extrato de Malte), conforme descrito em Pitt (2009).

A caracterização dos fungos foi baseada em chaves propostas por Pitt (2009), onde primeiramente avalia-se a colônia quanto ao tamanho e coloração. Para confirmação do gênero de cada micro-organismo, foram feitas lâminas para avaliação microscópica da morfologia e estruturas dos fungos.

Após a identificação os micro-organismos foram armazenados em coleção para serem utilizados nos testes de inibição por exposição ao filme comestível.

Para o preparo dos filmes foram utilizados gelatina comestível sem sabor, fécula de mandioca e glicerol, seguindo as proporções e procedimentos descritos em Fakhouri et al., (2007), sendo adaptado o tempo de preparo da solução de amido e a substituição de sorbitol por glicerol. O filme contendo o conservante benzoato

de sódio ($\text{NaC}_6\text{H}_5\text{CO}_2$) foi preparado da mesma forma que o anterior, acrescentando-se a etapa de adição do conservante na concentração 0,1% em relação à massa de amido e gelatina.

Para avaliar a ação do filme sobre o crescimento dos fungos foram colocados três discos de 20 mm de diâmetro sobre placas contendo PDA inoculadas com os fungos isolados. As placas foram incubadas a 23°C durante cinco dias e após este período foi avaliada a presença de halo de inibição e a sua medida, utilizando paquímetro.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A identificação dos micro-organismos presentes na uva, realizado neste trabalho demonstrou a presença de fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Botrytis*, *Fusarium* e *Penicillium*, sendo duas leveduras dos gêneros *Rhodotorula* e *Saccharomyces*. Dentre os fungos destacam-se o *Aspergillus*, *Fusarium* e o *Penicillium* por tratar-se de gêneros que apresentam espécies potencialmente produtoras de micotoxinas. Estes resultados corroboram com os reportados por Rousseaux et al. (2014) que elencam os principais fungos encontrados em uvas, em sua revisão sobre a distribuição de fungos em uvas de diversos territórios, onde destacam os sete gêneros principais: *Alternaria*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Rhizopus*.

O gênero *Penicillium* é frequentemente observado em uvas, sendo o agente causal do mofo verde, uma doença secundária de frutos maduros. Algumas espécies são potencialmente micotoxigenicas, sendo produtoras de várias micotoxinas como, patulina e citrinina. Enquanto que outras espécies também estão associadas ao desenvolvimento de sabores desagradáveis (Rousseaux et al., 2014).

O gênero *Aspergillus* é um componente epífito da flora da videira e pode estar presente nos cachos, estima-se que mais de trinta e cinco espécies deste gênero sejam encontradas na uva, sendo que *Aspergillus ochraceus* ocorre em baixa frequência, no entanto, já foi reportado em outros estudos sobre o mesmo tema, sendo um potencial produtor de ocratoxina em produtos como café, por exemplo.

Nas condições de armazenamento requeridas pelas uvas de mesa, com alta e constante umidade, os prejuízos causados pelas podridões são consideráveis, sendo o desenvolvimento de fungos durante o armazenamento e/ou transporte a maior causa de perdas, sendo o fungo *Botrytis cinerea*, o agente causador da podridão cinza, o agente de maior incidência na deterioração (CAMILI et al., 2010).

Após a caracterização dos isolados realizou-se o teste da atividade inibitória utilizando filme comestível a base de fécula de mandioca, gelatina e avaliou-se o efeito da incorporação de benzoato de sódio sobre o crescimento dos fungos. A utilização de filme comestível sem a adição de benzoato de sódio não impediu o crescimento de nenhum dos micro-organismos testados, no entanto, a utilização de filme comestível contendo 0,1% de benzoato de sódio apresentou efeito inibitório sobre dois dos micro-organismos testados (Tabela 01 e Figura 01).

Tabela 1. Valores médios do halo de inibição de filmes comestíveis com e sem adição de benzoato de sódio em *Aspergillus* e *Fusarium**

Fungos testados	Filme + Benzoato de sódio 0,1%	Filme (controle)
	----- (mm) -----	
<i>Aspergillus ochraceus</i>	41,2±9,9	Sem inibição

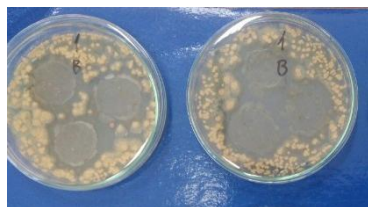
*Fusarium*sp

27,8±8,0

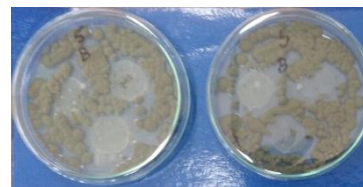
Semin ibição

*Cada valor representa a média de três repetições, seguida de desvio padrão.

Figura 1. Atividade inibitória de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca, gelatina e glicerol, com a adição de benzoato de sódio 0,1% em *Aspergillus ochraceus* e *Fusarium* sp.



Aspergillusochraceus



*Fusarium*sp.

Observa-se que o fungo *A. ochraceus* apresenta maior sensibilidade ao filme do que *Fusarium*, apresentado uma inibição média de 41,2 mm e 27,8 mm, respectivamente.

Segundo López-malo et al. (2005), o benzoato de sódio assim como o sorbato de potássio e bissulfito de sódio, tem potencial para inibição de diferentes fungos, e em seu trabalho relata que houve inibição frente ao *Aspergillus flavus*. O autor ainda relata que também é notado que o aumento da concentração antimicrobiana dos conservantes, gera problemas no tempo de germinação deste micro-organismo. Entretanto, não foram testados a capacidade inibitória do benzoato frente aos micro-organismos *A. ochraceus* e *Fusarium*.

O benzoato de sódio também foi testado em micro-organismos por Ma et. al (2018), que encontrou um diâmetro médio de inibição para os *S. cerevisiae*, *A. niger* e *P. citrinum* de 8 a 20 mm, com exceção para a menor concentração do *P. citrinum*, que não apresentou inibição. Montesinos-Herrero et al. (2016), relata em seu trabalho sobre a avaliação do benzoato de sódio e outros aditivos alimentares, que o benzoato de sódio foi efetivo para reduzir a incidência de fungos verdes e azuis em frutas cítricas. A aplicação de cobertura filmogênica comestível com benzoato de sódio, também foi efetiva para Jaques et al. (2016), na qual obteve significativa redução (42%) na contagem inicial de bolores e leveduras em morangos.

4 CONCLUSÃO

A avaliação da atividade inibitória dos filmes em placas com os micro-organismos isolados evidenciou que o uso do filme contendo benzoato de sódio é efetivo na inibição do crescimento de *Aspergillus ochraceus* e de *Fusarium* sp, no entanto, não afetou o crescimento dos demais fungos avaliados.

5 REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L. B. S. (2014). **Propriedades físicas e antimicrobianas do filme e do revestimento comestível de quitosana e galactomanana de Adenantharapavonina** L. 2014. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2014.
- ARAÚJO, V. R. **Aplicação de revestimento comestível a base de quitosana em brócolis minimamente processado**. 2015. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2015.
- CAMILI, E.C.; BENATO, E.A.; PASCHOLATI, S.F.; CIA, P. **Vaporização de ácido acético para o controle pós-colheita de botrytiscinerea em uva 'Itália'**. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal, v. 32, n. 2, p. 436-443, June

2010. Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452010000200013&lng=en&nrm=iso. Acesso em 6 Apr. 2018.

CARRER, M. J., ALVES, A. F. **Estudo das perdas na comercialização de uvas finas de mesa com semente nas principais cidades do interior do Paraná—Londrina, Maringá, Cascavel e Foz do Iguaçu.** *Informações Econômicas*. São Paulo: v. 41, n. 4, p. 53-63, abr. 2011.

CASTRO, J. V., PARK, K. J., HONÓRIO, S. L. **Emprego de embalagens para conservação pós-colheita de uvas.**

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: Fisiologia e Manuseio.** 2 ed. Lavras: UFLA, 2005.

CIA, P.; BENATO, E.A.; VALENTINI, S.R. de T.; SANCHES, J.; PONZO, F.S.; FLÔRES, D.; TERRA, M.M. **Atmosfera modificada e refrigeração para conservação pós-colheita de uva “Niagara Rosada”.** *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 45, p.1058-1065, 2010.

FAKHOURI, F. M., FONTES, L. C. B., DE MACEDO GONÇALVES, P. V., MILANEZ, C. R., STEEL, C. J., & COLLARES-QUEIROZ, F. P. **Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson.** *Food Science and Technology*, v. 27, n. 2, p. 369-375. 2007.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança Alimentar.** Porto Alegre: Artmed, 2002.

JAQUES, E. G.; CASTRO, C. A. E.; LOPES, E. T.; RADMANN, E. B.; COSTA, P. F. P. **Controle da deterioração de morangos através da aplicação de coberturas comestíveis.** In. XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Anais do XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos [recurso eletrônico], 24 a 27 de out. de 2016. – Gramado: SBCTA Regional, 2016.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos.** 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

LÓPEZ-MALO A.; ALZAMORA, S. M.; PALOU, E. **Aspergillus flavus growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds.** *International Journal of Food Microbiology*. v. 99. p. 119–128. 2005.

LUVIELMO, M. M., LAMAS, S.V. **Revestimentos comestíveis em frutas.** *Estudos Tecnológicos em Engenharia*, v. 8, n. 1, p. 08-15. 2012.

MA, M.; WEN X.; XIE, Y.; GUO, Z.; ZHAO, R.; YU, P.; GONG D.; DENG S.; ZENG, Z. **Antifungal activity and mechanism of monocaprin against food spoilage fungi.** *Foodcontrol*.v. 84, p. 561-568. 2018

MONTESINOS-HERRERO C.; MOSCOSO-RAMÍREZ P. A.; PALOU L. **Evaluation of sodium benzoate and other food additives for the control of citrus postharvest green and blue molds.** *Postharvest Biology and Technology*.p. 72–80. 2016.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage.**3rd. ed. Dordrecht: Springer, 2009. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi*. Campinas: v. 3, n. 1, p. 35-40, 1999.

ROUSSEAU, S., DIGUTA, C. F., RADOÏ-MATEI, F., ALEXANDRE, H., GUILLOUX-BÉNATIER, M. **Non-Botrytis grape-rotting fungi responsible for earthy and moldy off-flavors and mycotoxins.** *Foodmicrobiology*, v. 38, p. 104-121, 2014.

ROUSSENQ, M; COUTO, T. F. R; KLEIN, M. H. **Uvas de mesa.** *Boletim MarkEsalq*, n. 18, Out. 2016. Acesso em: 15/03/2018. Disponível em: <<http://markesalq.com.br/wp-content/uploads/2016/01/BOLETIM-UVA-PRONTO-28-10.pdf>>

SENA, E. O. A, COUTO, H. G. S. DE A, PAIXÃO, A. R. DA C, SILVEIRA, M. P. C, OLIVEIRA JUNIOR, L. F. G, CARNELOSSI, M. A. G. **Utilização de biofilme comestível na conservação pós-colheita de pimentão verde (*Capsicum annuum* L.)**. Scientia Plena, v. 12, n. 8, p. 01-09. 2016.

YOUSUF, B., QADRI, O. S., SRIVASTAVA, A. K.. **Recent developments in shelf-life extension of fresh-cut fruits and vegetables by application of different edible coatings: A review**. LWT-Food Science and Technology, v. 89, p. 198-209, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.051>>