

27 A 29 DE OUTUBRO DE 2020



ON LINE

7º Simpósio de
Segurança Alimentar

Inovação com sustentabilidade

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FILME COMESTÍVEL DE GELATINA COM EXTRATO DE CHÁ VERDE

D. Hamann¹, T. Comin², J. P. Bernardi³, B. M. S. Puton³, R. L. Cansian⁵, G. Backes⁶

1 - Departamento de Ciências Agrárias – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – CEP: 99709-910 – Erechim – RS – Brasil, Telefone: +55 (54) 3520-9000 – e-mail: (danielehamann@gmail.com)

2 - Departamento de Ciências Agrárias – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – CEP: 99709-910 – Erechim – RS – Brasil, Telefone: +55 (54) 3520-9000 – e-mail: (th-thais@hotmail.com)

3 - Departamento de Ciências Agrárias – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – CEP: 99709-910 – Erechim – RS – Brasil, Telefone: +55 (54) 3520-9000 – e-mail: (julialisboabernardi@yahoo.com)

4 - Departamento de Ciências Agrárias – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – CEP: 99709-910 – Erechim – RS – Brasil, Telefone: +55 (54) 3520-9000 – e-mail: (brunnaputon@hotmail.com)

5 - Departamento de Ciências Agrárias – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – CEP: 99709-910 – Erechim – RS – Brasil, Telefone: +55 (54) 3520-9000 – e-mail: (cansian@uricer.edu.br)

6 - Departamento de Ciências Agrárias – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – CEP: 99709-910 – Erechim – RS – Brasil, Telefone: +55 (54) 3520-9000 – e-mail: (gtoniazzo@uricer.edu.br)

RESUMO - O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antioxidante de filmes poliméricos com diferentes concentrações de extrato de chá verde. Os filmes de gelatina e glicerol foram elaborados com 1,0, 2,5 e 5,0% de extrato de chá verde, armazenados por 35 dias a 4 °C. Para determinação da atividade antioxidante (AA) em diferentes tempos estes foram deixados em contato com etanol por 24 h ao abrigo da luz sem agitação para a extração dos compostos bioativos do chá verde, e posteriormente avaliada a extinção da absorção do radical DPPH. Os filmes poliméricos apresentaram AA semelhantes nos diferentes tempos de armazenamento (0,67 a 1,42 mg/mL). Os valores médios de IC₅₀ foram de 0,80, 1,02 e 1,08 mg/mL para 1, 2,5 e 5,0 % de extrato de chá verde na formulação filmogênica. A concentração de 1% foi considerada suficiente para manter a atividade antioxidante do filme durante 35 dias de armazenamento.

ABSTRACT - The objective of this work was to evaluate the antioxidant activity of polymeric films with different concentrations of green tea extract. The gelatin and glycerol films were made with 1.0, 2.5 and 5.0% green tea extract, stored for 35 days at 4 °C. To determine the antioxidant activity (AA) at different times, these were left in contact with ethanol for 24 h under the light without stirring for the extraction of bioactive compounds from green tea, and subsequently evaluated the extinction of the absorption of radical DPPH. The polymeric films showed similar AA at different storage times (0.67 to 1.42 mg/mL). The mean IC₅₀ values were 0.80, 1.02 and 1.08 mg/mL for 1, 2.5 and 5.0% green tea extract in the film-forming formulation. The concentration of 1% was considered sufficient to maintain the antioxidant activity of the film during 35 days of storage.

PALAVRAS-CHAVE: *Camellia sinensis*; IC₅₀; biopolímeros.

KEYWORDS: *Camellia sinensis*; CI₅₀; biopolymers.

1. INTRODUÇÃO

REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO



www.officeeventos.com.br

27 A 29 DE OUTUBRO DE 2020



ON LINE

7º Simpósio de
Segurança Alimentar

Inovação com sustentabilidade

Embalagem para alimentos, de acordo com a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) (Brasil, 2001) é o artigo que está em contato direto com alimentos, destinado a contê-los desde a sua fabricação até a entrega ao consumidor, com a finalidade de protegê-los de agentes externos, de alterações e de contaminações, assim como de adulterações. Embalagem tem um papel fundamental na contenção e proteção de alimentos, uma vez que é altamente manipulada por produtores e consumidores. No entanto, os materiais de embalagem são os principais resíduos sólidos nas maiores cidades do mundo. A produção mundial de materiais plásticos demonstrou um crescimento contínuo por mais de 50 anos.

A redução do impacto ambiental pelo uso de polímeros biodegradáveis na indústria de alimentos é uma alternativa para a remoção de embalagens do petróleo do mercado. Um dos focos da pesquisa em filmes e revestimentos comestíveis para aplicações alimentícias é o uso de polímeros biodegradáveis obtidos de fontes naturais.

Filmes são estruturas para envolver produtos, preparados de forma a obter uma fina espessura (camada de material), preparados a partir de macromoléculas biológicas, que agem como barreira a elementos externos (umidade, gases e óleos), protegendo os produtos e aumentando sua vida de prateleira. Adicionalmente, podem carrear compostos antimicrobianos e antioxidantes, sendo denominados filmes ativos. Dentre os materiais pesquisados, os biopolímeros naturais, como os polissacarídeos e as proteínas, são os mais promissores, devido ao fato de serem abundantes, renováveis, e capazes de formar uma matriz contínua (Gontard e Guilbert, 1993; Hanani et al., 2014). Filmes obtidos a partir dessas matérias-primas são econômicos, devido ao baixo custo das mesmas e ao fato de serem biodegradáveis. Apresentam ainda vantagens como: poderem ser consumidos em conjunto com o produto, reterem compostos aromáticos, carrear aditivos alimentícios ou componentes com atividades antimicrobiana e/ou antioxidante (Pranotto et al., 2005; Krochta e Mulder-Johnston, 1997).

A propriedade única das proteínas para formar redes e induzir plasticidade e elasticidade é considerada benéfica na preparação de materiais de embalagem baseados em biopolímero. Além disso, compostos ativos naturais, como antioxidantes e agentes antimicrobianos, poderiam ser adicionados a esses filmes, a fim de melhorar o prazo de validade de alimentos frescos. A gelatina tem sido estudada extensivamente por sua capacidade de formar filmes, boas propriedades funcionais e utilidade como uma barreira externa para proteger os alimentos da secagem, exposição ao oxigênio e à luz. Filmes compostos de gelatina possuem boas propriedades mecânicas, mas foram encontrados para ser sensíveis à umidade e apresentam propriedades de barreira pobres contra o vapor de água (Lopez et al., 2017; Sarbon et al., 2013).

Estratégias tecnológicas envolvem a aplicação de antioxidantes diretamente nos produtos de carne, na carne ou no revestimento de materiais de embalagem com extratos de plantas para melhorar a estabilidade oxidativa dos produtos. As bio-substâncias naturais, como os extratos vegetais, são utilizadas há muito tempo como fitoterápicos. Pesquisas sobre extratos naturais com atividades biológicas, como propriedades antimicrobianas, antioxidantes, antienvelhecimento e anti-inflamatórias são extensivamente realizadas (Kim et al., 2016).

O chá verde (da planta *Camellia sinensis*), é uma das bebidas mais populares em todo o mundo, pois apresenta efeito sobre muitas doenças. Óleos essenciais de plantas (EOs) e extratos são percebidos como fontes potenciais de antimicrobianos naturais (Santos et al., 2017). As plantas têm sido tradicionalmente usadas em alimentos como agentes aromatizantes e/ou de preservação, como medicamentos populares para curar de doenças. O chá verde contém componentes polifenólicos, que incluem flavanois, flavandiois, flavonoides e ácidos fenólicos, que totalizam cerca de 30% do peso seco das folhas. A maioria dos polifenóis do chá verde se apresentam como flavonóis, e dentre estes, predominam as catequinas (Lamarão e Fialho, 2009). As principais catequinas são epigallocatequina-3-galato (EGCG), epicatequinagalato (ECG), epigallocatequina (EGC) e epicatequina (CE), galocatequinagalato (GCG), catequina galato (CG) e catecina (CT). EGCG é a catequina mais abundante e ativa no chá verde, correspondendo por 50 a 80% do conteúdo de catequinas. O epigallocatequinagalato é a catequina mais abundante que tem grandes benefícios à saúde e previne várias doenças (Jaramillo et al., 2017). Neste sentido, este estudo tem como objetivo avaliar a atividade antioxidante (AA) de filme de recobrimento comestível de gelatina adicionado de extrato de chá verde em diferentes concentrações por 35 dias.

REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO



www.officeeventos.com.br

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção do filme de recobrimento

Os filmes de recobrimento foram elaborados conforme metodologia descrita por Ugalde et al. (2016) com modificações, empregando 15% (g/mL) de gelatina (Synth®) e 30% (g/mL) de glicerol (Merck®). Os filmes foram obtidos através de uma solução feita com adição de gelatina dissolvida em 39,8 mL em água morna (40°C) e agitação manual contínua até dissolução total da gelatina (aproximadamente 10 min). Em seguida foi adicionado o glicerol e acrescentadas diferentes concentrações de extrato comercial de chá verde (Duas Rodas) (1; 2,5 e 5%). Cada solução foi submetida novamente a agitação manual. Para facilitar a avaliação da migração do extrato optou-se por verter o filme em placas de petri, previamente higienizadas, para formar um filme com espessura homogênea, sendo posteriormente submetidos a secagem em temperatura ambiente (24°C) (Hamann et al., 2018).

2.2 Cinética da atividade antioxidante do filme de gelatina com extrato de chá verde

Foi avaliada a atividade antioxidante dos filmes de gelatina adicionados de extrato de chá verde (1; 2,5 e 5%) armazenados por 35 dias ao vácuo, protegido da luz, em temperatura de 4 °C. A cada intervalo de tempo uma amostra (um filme), foi imersa em 10 mL de etanol por 24h, em temperatura ambiente e sem agitação. O líquido residual foi submetido a análise AA.

A metodologia para avaliação da atividade antioxidante, foi determinada pela medida da extinção da absorção do radical 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH) em 515 nm, em triplicata, por método espectrofotométrico (Kulisic et al., 2004). A técnica consiste na incubação, por 30 minutos, de 500 µL de uma solução etanólica de DPPH 0,1 mM, com 500 µL de soluções, contendo concentrações crescentes de extrato de chá verde em etanol. Procedeu-se da mesma forma para a preparação da solução denominada “controle”, substituindo-se, porém, 500 µL da amostra por 500 µL de etanol. A solução denominada “branco” foi preparada com as soluções em diferentes concentrações do extrato e etanol, sem DPPH.

O percentual de captação do radical DPPH foi calculado em termos da percentagem de atividade antioxidante (AA%), conforme a Equação 1.

$$AA\% = 100 - \{[(\text{Abs. amostra} - \text{Abs. branco}) \times 100] \div \text{Abs. controle}\} \quad (1)$$

A determinação foi realizada em espectrofotômetro UV Visível Agilent Technologies, modelo 8453E em comprimento de onda de 515 nm. Após a avaliação da faixa de concentração ideal, foi calculada a concentração de extrato necessária para capturar 50% do radical livre DPPH (IC₅₀) por análise de regressão linear (Silvestri et al., 2010). Para fins de comprovação da eficácia da metodologia, foram realizadas as mesmas determinações utilizando um antioxidante de atividade conhecida, no caso o BHT (butil hidroxitolueno). Os resultados foram expressos pela média aritmética dos valores obtidos nas três repetições. A comparação entre as concentrações foi feita em relação a média de cada concentração nos diferentes tempos de armazenamento, usando ANOVA seguida de Tukey, com 95% de confiança.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade antioxidante dos filmes de gelatina com extratos de chá verde, embalados a vácuo e protegidos da luz, armazenados à 4°C, mantiveram os valores de IC₅₀ (0,67 a 1,42 mg/mL) até 35 dias, independentemente da concentração empregada. Isso possivelmente se deve a liberação controlada do extrato de chá durante o armazenamento (Tabela 1).

Os valores médios de IC₅₀ foram de 0,8 ± 0,13, 1,02 ± 0,25 e 1,08 ± 0,16 mg/mL para 1, 2,5 e 5,0 % de extrato de chá verde na formulação filmogênica de gelatina, demonstrando que a concentração de 1% é suficiente para manter a atividade antioxidante do filme durante o período de armazenamento do mesmo.

Tabela 1 – Equações da reta e IC₅₀ para os diferentes tempos de armazenamento do filme de gelatina.

Tempo (dias)	Concentração de chá verde (%)					
	1		2,5		5	
	IC ₅₀	Equação Reta	IC ₅₀	Equação Reta	IC ₅₀	Equação Reta
1	1,01	y=42,334x+7,198 r ² =0,8106	1,0	y=41,424x+8,5401 r ² =0,8538	1,18	y=35,349x+9,4614 r ² =0,9331
7	0,69	y=56,012x+11,269 r ² =0,8413	0,73	y=25,061x+31,563 r ² =0,8812	1,1	y=17,67x+30,056 r ² =0,8778
14	0,67	y=47,062x+18,443 r ² =0,8171	0,91	y=36,338x+17,01 r ² =0,8238	0,83	y=27,68x+27,062 r ² =0,9362
21	0,76	y=55,021x+8,0793 r ² =0,9275	1,42	y=16,311x+26,85 r ² =0,7622	1,14	y=23,55x+23,22 r ² =0,9504
28	0,87	y=48,56x+7,7255 r ² =0,8227	1,2	y=15,1x+31,88 r ² =0,8519	1,27	y=28,929x+13,36 r ² =0,8403
35	0,8	y=63,418x-0,735 r ² =0,9319	0,87	y=45,425x+10,521 r ² =0,8446	0,94	y=38,036x+14,356 r ² =0,905
IC ₅₀ Médio		0,8 ^a ± 0,13		1,02 ^a ± 0,25		1,08 ^a ± 0,16

Médias seguidas de mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey com 95% de confiança.

O extrato chá verde comercial apresentou valor de IC₅₀ de 0,013 mg/mL (Hamann et al., 2018), aproximadamente 60 vezes menor que o IC₅₀ do filme com apenas 1% de extrato na sua composição, demonstrando que não ocorre perda de atividade durante a formulação do filme polimérico. Desta forma, o mesmo tem potencial para atender as demandas tecnológicas, usando aditivos naturais, mantendo as características do produto e aumentando a vida de prateleira. Jaramillo et al. (2017), também avaliaram a atividade antioxidante de filmes de amido adicionados de extrato de chá verde e em encontraram bons resultados. Estes autores destacam outra vantagem destes filmes, a rápida biodegradabilidade.

4. CONCLUSÕES

O emprego de extrato de chá verde em formulações filmogênicas a base de gelatina e glicerol mostrou-se promissor, com manutenção da atividade antioxidante do filme armazenado a 4 °C por 35 dias, sendo que a concentração de 1% foi suficiente para manter a atividade antioxidante do filme durante o período de armazenamento do mesmo.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES, CNPq, FAPERGS e URI pela concessão de bolsas e apoio financeiro.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brasil, (2001). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 91 de 2001.
- Gontard, N., Guilbert, S., & Cuq, J. L. (1993). Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. *Journal of Food Science*, 58(1), 206-211.
- Hamann, D., Bernardi, J. L., Puton, B. M. S., Backes, G. T., & Cansian, R. L. (2018). Estudo da aplicação de filmes comestíveis de cobertura em linguças frescas. In Proceedings of The 4th Congresso Internacional de Gestão, Tecnologia e Inovação (CONIGTI), Erechim, Brasil.
- Hanani, Z. A. N. (2014). Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. *International Journal of Biological Macromolecules*, 71, 94-102.

27 A 29 DE OUTUBRO DE 2020



ON LINE

7º Simpósio de
Segurança Alimentar

Inovação com sustentabilidade

- Jaramillo C. M., Ochoa-Yepes, O., Bernal, C., Famá, I. (2017). Active and smart biodegradable packaging based on starch and natural extracts. *Carbohydrate Polymers*, 176, 187-194.
- Kim, H.J.; Kim, T. H., Kim, H. M., Hong, I. K., Kim, E. J., Choi, A. J., Choi, H. J., & Oh, H. M. (2016). Nano-biohybrids of engineered nanoclays and natural extract for antibacterial agents. *Applied Clay Science*, 134, 19-25.
- Krochta, J. M., & Mulder-Johnston, C. (1997). Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technology*, 51(2), 60-74.
- Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*. 85, 633-640.
- Lamarão, R.C., Fialho, E. (2009). Functional aspects of green tea catechins in the cellular metabolism and their relationship with body fat reduction. *Revista de Nutrição*, 22(2), 257-269.
- López, D., Márquez, A., Gutiérrez-Cutiño, N., Venegas-Yazigi, D., Bustos, R. E, & Matiacevich, S. (2017). Edible film with antioxidant capacity based on salmon gelatin and boldine. *LWT – Food Science and Technology*, 77, 160-169.
- Pranoto, Y., Rakshit, S. K., & Salokhe, V. M. (2005). Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. *LWT – Food Science and Technology*, 38, 859-865.
- Santos, R. R., Andrade, M., Ramos de Melo, N., & Silva, A. S. (2017). Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. *Trends in Food Science e Technology*, 61,132-140.
- Sarbo, N. M., Badii, F., & Howell, N. K. (2013). Preparation and characterization of chicken skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 143-151.
- Silvestri, J. D. F., Paroul, N., Czyewski, E., Lerin, L., Rotava, I., Cansian, R. L., Mossi, A., Toniazzo, G., Oliveira, D., Treichel, H. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). *Revista Ceres*, 57(5), 589-594.
- Ugalde, M. L. (2016). Actividad Antibacteriana y Antioxidante de los Aceites Esenciales Comerciales de Romero, Clavo de Olor, Orégano e Salvia. *Repositorio Espanhol de Ciência e Tecnologia*, 18, 25, 54-61.

REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO



www.officeeventos.com.br