

AValiação da Atividade Antimicrobiana de Filmes de Gelatina Contendo Extrato de Butiá (*Butia odorata* Barb. Rodr.) Contra *Escherichia coli* O157:H7 em Queijo

EMILY MELLO DE SOUZA¹; PÂMELA INCHAUSPE CORRÊA ALVES², NATALIE RAUBER KLEINÜBING²; ISABELA SCHNEID KRÖNING²; WLADIMIR PADILHA DA SILVA²; GRACIELA VÖLZ LOPES³

¹Universidade Federal de Pelotas – emilymello034@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – pam.inchauspe@hotmail.com; natalierk10@hotmail.com; isabelaschneid@gmail.com; wladimir.padilha2011@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas - gracielaavllopes@yahoo.com.br

1. DESCRIÇÃO DA INOVAÇÃO

As doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA) são problemas de ocorrência mundial que acometem grande número de pessoas, tornando-se um grave problema de saúde pública e gerando custos econômicos consideráveis (EFSA/ECDC, 2023). Entre as bactérias causadoras de DTHA, destaca-se *Escherichia coli*, composta por diversos patótipos capazes de causar doença. *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC) é reconhecida pelo seu potencial de causar casos graves de doença em humanos, especialmente em crianças, idosos e imunocomprometidos, associada a uma baixa dose infecciosa (<100 células bacterianas). Este patótipo está ainda associado à síndrome hemolítica urêmica (SHU), que pode ocorrer em até 8% dos casos de infecções por STEC e traz consequências como falência renal, hemorragias podendo levar ao óbito (EFSA/ECDC, 2023). Na União Europeia (UE), STEC ocupa a quarta posição como causadora de DTHA. Em 2022, houve 7.117 casos confirmados de infecções humanas por STEC, correspondendo a uma taxa de notificação da União Europeia de 2,1 casos por 100.000 habitantes, representando um aumento de 8,8% em comparação com 2021. Em relação às infecções por STEC, o leite e seus derivados são frequentemente descritos como veículos para as infecções por STEC, tendo um importante papel na disseminação desse patógeno (EFSA/ECDC, 2023).

A contaminação de produtos de origem animal gera impactos na cadeia produtiva de alimentos, como a necessidade de retirar os lotes de produtos contaminados do mercado (*recall*), o que gera prejuízos financeiros para as empresas, além de perda da confiança por parte dos consumidores. Os custos de um *recall* podem incluir a diminuição do valor corporativo, honorários advocatícios e multas ou acordos, e o valor do produto recolhido (GOMEZ; MARKS, 2020). Ao analisarem os *recalls* de produtos realizados nos Estados Unidos da América (EUA) por empresas de capital aberto, GOMEZ e MARKS (2020) estimaram que a perda direta em relação ao *recall* do produto variou de US\$ 22.000 a US\$ 625,9 milhões. A capitalização de mercado das empresas também foi afetada, com perdas de em média US\$ 1,22 bilhões.

O desenvolvimento de embalagens ativas contendo diferentes princípios antimicrobianos naturais, como óleos essenciais e extratos de frutas, tem sido relatado na literatura e os resultados de sua aplicação parecem ser promissores para a indústria de alimentos (ALI *et al.*, 2021; CHANG *et al.*, 2021; REHIM *et al.*, 2023). Nesse contexto, o extrato do butiá (EB) (*Butia odorata* Barb. Rodr.), fruto do butiazeiro,

uma palmeira pertence à família Arecaceae, é encontrada na região sul do Brasil (SCHWARTZ *et al.*, 2010). O EB é composto majoritariamente por Z-10-Pentadecenol (80,1%) e ácido palmítico (19,4%) (MAIA *et al.*, 2019) e possui atividade antimicrobiana contra alguns patógenos como *Salmonella* spp. e *E. coli* (MAIA *et al.*, 2019), demonstrando seu potencial para a aplicação em embalagens ativas de alimentos.

Desta forma, o desenvolvimento de uma embalagem ativa biodegradável, composta por gelatina e extrato de butiá, com potencial para inibir STEC em queijos, representa uma inovação que pode conferir benefícios à indústria e à saúde do consumidor.

2. ANÁLISE DE MERCADO

Atualmente, em termos de produção de queijos, o Brasil se encontra entre os cinco maiores do mundo e o consumo é de aproximadamente 5,5 kg de queijo por habitante ao ano (ABIQ, 2019). De acordo com Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 2019), o consumo de queijos diferenciados também está crescendo, sendo que o fator renda contribui para este avanço, afinal, no Brasil, tem-se observado que há uma relação direta do crescimento do consumo de produtos lácteos e o incremento na renda.

A iniciativa do uso do extrato de butiá busca promover o desenvolvimento sustentável, incentivando o uso responsável e o manejo adequado dos butiazais, ecossistemas naturais que abrigam uma grande diversidade de espécies e têm grande relevância para a biodiversidade local e sua utilização é incentivada pela portaria interministerial nº 163/2016, que considera o butiá um fruto de interesse para fins de comercialização *in natura* ou de seus produtos derivados (BRASIL, 2016).

O mercado de embalagens ativas e inteligentes no Brasil foi avaliado em US\$ 17,11 bilhões em 2016 e possui um esperado crescimento para US\$ 25,66 bilhões até o fim de 2022, crescendo a uma taxa CAGR (taxa de crescimento anual composta) de 8,44% durante o período de 2017-2022, onde o Brasil se encontra na 7ª posição no ranking mundial (MARKETSANDMARKETS, 2011).

3. ESTRATÉGIA DE DESENVOLVIMENTO E IMPLEMENTAÇÃO

A contaminação por STEC representa um risco sério à saúde pública, podendo levar a surtos de DTHA e grandes prejuízos econômicos às empresas do setor alimentício (GOMEZ; MARKS, 2020), e a utilização de embalagens ativas, contendo princípios antimicrobianos pode diminuir a contaminação por patógenos, como STEC.

Atualmente, a embalagem ativa composta por gelatina e EB está em processo de testes, para posterior solicitação de registro da propriedade intelectual. Já foram realizados testes *in vitro*, evidenciando o potencial antimicrobiano do EB contra STEC, e testes *in situ*, onde os filmes demonstraram potencial para a diminuição de STEC em queijos ultraprocessados, encontrando-se em TRL (nível de maturidade tecnológica) 6.

Para a produção dos filmes de gelatina incorporados com extrato de butiá, uma técnica *eco-friendly* foi empregada (LEITE *et al.*, 2020). Para a avaliação da atividade antimicrobiana dos filmes de gelatina incorporados com EB, queijo frescal processado UHT (Polengui®) foi utilizado como modelo experimental. O queijo foi contaminado experimentalmente com um isolado de STEC caracterizado em estudos anteriores. O inóculo bacteriano foi preparado e ajustado na concentração $1,5 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹, então 300 µL foram dispostos na superfície do queijo (~20 g). Após os queijos foram

totalmente envoltos nos filmes de gelatina contendo EB e estocados sob refrigeração a 4 °C. Como controle foram utilizados filmes de gelatina sem a adição de EB. A análise microbiológica do queijo foi realizada nos tempos 0 e 24 h. Para a análise microbiológica os queijos foram pesados, homogeneizados em água peptonada 0,1% (Acumedia, EUA), na proporção de 1:9. Diluições decimais seriadas foram realizadas e alíquotas de 0,1 mL foram semeadas em placas de Petri contendo ágar MacConkey (Oxoid, Inglaterra). As placas foram incubadas a 37° C por 24 h e, após esse período, foram selecionadas as placas contendo entre 25 e 250 colônias e as colônias típicas de *E. coli* foram contadas. O resultado foi expresso em UFC.g⁻¹. Para verificar se houve redução na contagem de STEC com a adição da embalagem com o filme de gelatina com EB os resultados da contagem desse tratamento foram comparados com os queijos embalados com filmes de gelatina sem EB.

Como resultados, foi observada uma redução na contagem de STEC de $5,65 \times 10^3$ UFC.g⁻¹ para $4,97 \times 10^3$ UFC.g⁻¹ com a adição do EB nos filmes de gelatina, após 24 h de estocagem do queijo. Esses resultados preliminares demonstram que o EB possui atividade antimicrobiana, que poderia ser evidenciada com a avaliação em um período maior de estocagem do produto. Porém, mais estudos devem ser realizados a fim de determinar a influência da embalagem ativa contendo EB nas características sensoriais do queijo.

4. RESULTADOS ESPERADOS E IMPACTO

A embalagem ativa desempenha tem potencial para a redução da contaminação por STEC em queijos, prevenindo surtos de DTHA, conferindo benefícios para a saúde pública, além de evitar prejuízos para a indústria alimentícia. Somada a sua atividade antimicrobiana, ela é biodegradável e utiliza extrato bioativo (EB), um composto natural que atende à crescente demanda dos consumidores por produtos naturais, sustentáveis e seguros. O uso de um ingrediente natural, como o butiá, reforça a preferência dos consumidores por produtos que unem inovação, saúde e respeito ao meio ambiente. Essa abordagem contribui tanto para a preservação dos recursos naturais quanto para o bem-estar coletivo, promovendo um ciclo mais saudável e sustentável na cadeia de produção alimentar. Essa inovação oferece uma solução ambientalmente responsável, ao mesmo tempo em que reforça a segurança dos alimentos, promovendo assim, um impacto positivo tanto para a saúde quanto para o meio ambiente.

5. CONCLUSÕES

A embalagem ativa apresenta potencial para reduzir a contaminação por STEC em queijos, beneficiando a saúde pública quanto e a indústria alimentícia. Com sua atividade antimicrobiana e biodegradabilidade, ela atende à demanda por produtos naturais e sustentáveis, promovendo um ciclo mais saudável na produção dos alimentos. A embalagem ainda está em processo de desenvolvimento e mais testes serão realizados, gerando resultados que vão compor uma tese de doutorado, o depósito de uma patente e publicação de um artigo científico.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, H.M. Plantas como fonte de fitofármacos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n.3, p.10-14, 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO. **Mercado global de queijos bate recorde em 2019. 2021.** Disponível em: https://www.abiq.com.br/noticias_ler.asp?codigo=2373&codigo_categoria=6&codigo_subcategoria=5. Acesso em: 24 set. 2024.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Portaria Interministerial nº. 163, de 11 de maio de 2016. **Diário Oficial da União: seção 1**, Brasília, DF, n. 94, p. 58-60, 18 maio 2016. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/images/noticias_arquivos/pdf/socioobio.pdf>. Acesso em: 24 set. 2024.

EMBRAPA. **ANUÁRIO leite 2019: novos produtos e novas estratégias da cadeia do leite para ganhar competitividade e conquistar os clientes finais.** 2019. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1109959>. Acesso em: 24 set. 2024.

EWERS, C.; JANBEN, T.; WIELER, L. H. **Avian pathogenic Escherichia coli (APEC).** Berliner und Munchener tierarztliche Wochenschrift, Berlim/Alemanha, v. 116, p. 381-395, 2003.

SCHWARTZ, E.; FACHINELLO, J. C.; BARBIERI, R. L.; SILVA, J. B. Avaliação da população de *Butia capitata* de Santa Vitória do Palmar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, p. 736 - 745, 2010.

EFSA/ECDC, European Food Safety Authority/European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. **EFSA Journal**, v. 21, n. 12, 2023.

CORTIMIGLIA, C.; BORNEY, M. F.; BASSI, D.; COCCONCELLI, P. S. Genomic Investigation of Virulence Potential in Shiga Toxin *Escherichia coli* (STEC) Strains From a Semi-Hard Raw Milk Cheese. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2021.

CDC, U.S. Centers for Disease Control and Prevention. *E. coli* Outbreak Linked to Raw Cheddar Cheese. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/ecoli/outbreaks/raw-milk-cheese-2-24.html>>. Acesso em: 24 set. 2024.

GOMEZ, C. B.; MARKS, B. P. Monetizing the Impact of Food Safety Recalls on the Low-Moisture Food Industry. **Journal of Food Protection**, v. 83, n. 5, p. 829–835, 2020. CHANG, S.; MOHAMMADI NAFCHI, A.; BAGHAIE, H. Development of an active packaging based on polyethylene containing linalool or thymol for mozzarella cheese. **Food Science & Nutrition**, v. 9, n. 7, p. 3732–3739, 2021.

ALI, E. A.; NADA, A. A.; AL-MOGHAZY, M. Self-stick membrane based on grafted gum Arabic as active food packaging for cheese using cinnamon extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 189, p. 114–123, 2021.

MAIA, D. S. V.; HAUBERT, L.; DOS SANTOS SOARES, K.; DE FÁTIMA RAUBER WÜRFEL, S.; DA SILVA, W. P. *Butia odorata* Barb. Rodr. extract inhibiting the growth MARKETSANDMARKETS. **Gobal Active, Smart and Intelligent packaging market by products, applications, trends and forecasts (2010 - 2015)**. MarketsandMarkets. [S.l.], p. 18. 2011.

of *Escherichia coli* in sliced mozzarella cheese. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 3, p. 1663–1668, 2019.

LEITE, L. S. F.; BILATTO, S.; PASCHOALIN, R. T.; SOARES, A. C.; MOREIRA, F. K. V.; OLIVEIRA, O. N.; MATTOSO, L. H. C.; BRAS, J. Eco-friendly gelatin films with rosin-grafted cellulose nanocrystals for antimicrobial packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 165, p. 2974–2983, 2020.

REHIM, M. A.; ZAHRAN, H. A.; AL-MOGHAZY, M. Synthesis of active packaging films from *Lepidium sativum* gum/polyvinyl alcohol composites and their application in preserving cheddar cheese. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 1647, 2023.