



AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO EM EMBALAGENS ATIVAS DE PBAT ADITIVADAS COM ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO DA ÍNDIA

MARIA CLARA BARBOSA NASCIMENTO; MARIA GOMES DA SILVA, GLÓRIA
MARIA VINHAS

RESUMO

Embalagens Tradicionais (ET) são produtos fabricados e utilizados em larga escala industrial e comercial devido suas características mecânicas, térmicas e impermeáveis, além de atender as necessidades e gosto dos consumidores devido aos compostos adicionados a sua matriz, o petróleo. No entanto, quando utilizadas para acondicionar alimentos, os mesmos ficam suscetíveis à ação microbiana, uma vez que as ET não apresentam capacidade de impedi-los. Sendo assim, os produtos alimentícios apresentam corriqueiramente contaminações oriundas de microrganismos que podem ocasionar danos à saúde humana, como infecções e inflamações, além de promover riscos de degradação e/ou estrago durante a estocagem. Diante dessa problemática, o trabalho teve por objetivo avaliar o potencial antimicrobiano de embalagens ativas de poli (butileno-adipato-co-tereftalato) (PBAT) produzido por meio do método *casting*, aditivadas com Óleo Essencial de Cravo da Índia (OEC). Para isso, foi realizado o teste de disco-difusão para fungo, feito por meio da adição de pequenos discos embebidos no OEC em placa de Petri contendo o inóculo, e aplicação das embalagens em pão de forma por meio do método *spread plate*. Os resultados evidenciaram que após realização do teste de disco-difusão, houve halo de inibição considerável para ser eficaz contra atividade microbiana por meio do OEC, devido a seus compostos. Além disso, houve também inibição de crescimento fúngico no pão acondicionado pelas embalagens de PBAT puro e PBAT com OEC, evidenciando a eficácia da adição do óleo de cravo da Índia como inibidor microbiano nas embalagens de PBAT com OEC a fim de garantir estocagem eficiente, além de promover segurança alimentar para os consumidores.

Palavras-chave: Embalagens Ativas; Óleo Essencial de Cravo da Índia; Atividade Microbiana.

1 INTRODUÇÃO

As embalagens alimentícias são produtos que apresentam diversas funções, dentre elas atuar como barreira de proteção contra contaminantes externos. Esses contaminantes impedem o prolongamento de vida útil dos alimentos devido a seus potenciais antioxidantes, térmicos, mecânicos ou antimicrobianos. No entanto, diante do crescimento populacional e das tendências de comércio atual, os consumidores têm exigido da indústria alimentícia materiais que proporcionem o estoque de alimentos saudáveis, seguros, além de apresentarem mecanismos que não afetam o meio ambiente e que prolonguem a vida útil dos alimentos. Para atender a essa demanda, a indústria, por meio de desenvolvimento tecnológico, investe na produção de embalagens que atendem as necessidades citadas, como exemplo as embalagens ativas (EA) (Herman *et al*, 2020).

As embalagens ativas podem ser definidas como ferramentas produzidas por uma

matriz, como as poliméricas, aditivadas com substâncias, como os óleos essenciais e extratos vegetais, consideradas alternativas à redução de compostos e melhor interação com o elemento-alvo. A biotecnologia apresenta diversos mecanismos de ação que podem ser empregados para obtenção de propriedades ativas, sendo eles os absorvedores e emissores. O primeiro promove a remoção de compostos ou fatores indesejáveis como os gases, e o segundo libera compostos que apresentam características antioxidantes, antimicrobianas, conservantes e aromatizantes que oferecem condições necessárias para manter a qualidade do produto alimentar, evitar sua deterioração, desperdício e surgimento de surtos alimentares em seus consumidores (Araguez *et al*, 2020).

Os mecanismos de ação das EA proporcionam também a diminuição de surtos alimentares oriundos de infecções e inflamações por alimentos contaminados. No Brasil, segundo os dados do Sistema de Informações Hospitalar (SIH) do Ministério da Saúde, ocorrem por ano cerca de 570 mil casos de doenças transmitidas por alimentos. No entanto, grande parte dos casos não são notificados devido a sintomas leves como febre, dores abdominais e náuseas causados por ação microbiana no organismo, dentre eles a *Salmonella sp* (Santos *et al*, 2020).

Diante da problemática discutida, o objetivo deste trabalho foi desenvolver embalagens de PBAT por meio do método *casting*, aditivadas com óleo essencial de cravo da Índia para avaliar seu potencial antimicrobiano por meio de dois testes: o teste de disco-difusão, e o segundo caracteriza-se pela aplicação da embalagem em pão de forma, e posterior utilização do método *spread plate* a fim de corroborar com a indústria alimentícia na busca de novos materiais de estocagem de alimentos, bem como amenizar a transmissão de doenças transmitidas por meio de alimentos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

PRODUÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS

Os filmes de PBAT puro e PBAT + OEC foram produzidos por meio do método *casting*, uma das técnicas mais utilizadas para o preparo de biofilmes resultante da combinação de biomoléculas, solventes e aditivos com posterior secagem em estufa. Para essa produção foram utilizados 2,1g de PBAT, 50,4 mL de clorofórmio e 302 µL de OEC que representa 15% (massa de OEC/ massa de PBAT). Os reagentes foram misturados no início do processo e agitados durante 50 minutos, com exceção dos filmes de PBAT + OEC que foram aditivados com óleo essencial durante os 40 minutos de agitação e, após isso, completaram os 50 minutos totais. Por fim, os filmes foram vertidos em placas de Petri e secos a 30 °C ± 3 por 24h.

EFICIÊNCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO DA ÍNDIA

A fim de verificar a presença de atividade microbiana, foi realizado o teste de disco-difusão para fungos por meio da metodologia adaptada de Sharma *et al*. (2022). Para tal, um pedaço de pão nas dimensões 4X4 cm foi deixado durante alguns dias até seu apodrecimento. Após isso, ele foi adicionado em 10 mL de água peptonada (0,1%), homogeneizado por 2 minutos e distribuídos 0,1 mL em quatro placas (experimento realizado em triplicata) de Petri, em meio Sabouraud (SB), espalhando-se com alça de Drigalski. Por último, foi adicionado nas placas discos embebidos no óleo essencial e incubados durante quatro dias numa temperatura de 35°C. Ademais, uma placa contendo apenas o inóculo, sem o disco de papel, foi incubada a fim de acompanhar o crescimento dos microrganismos na ausência do aditivo.

APLICAÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS

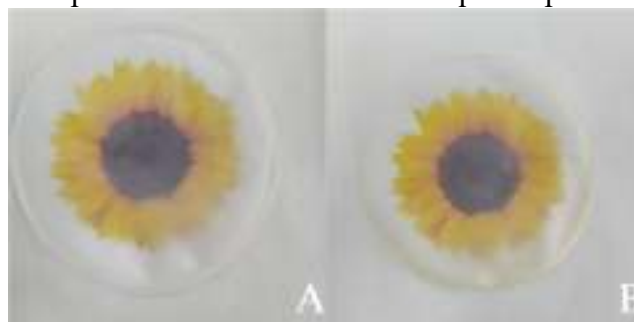
Aplicação dos filmes em pães de forma

Os pães de forma foram adquiridos em uma padaria local, cortados na dimensão 2X2 cm e reembalados nos filmes produzidos. Estes foram previamente descontaminados por 10 minutos em luz ultravioleta (UV). Além disso, pedaços de pães na mesma dimensão foram mantidos na embalagem original para acompanhar o crescimento de microrganismos. Para acompanhar a possível evolução, foram analisados os corpos de prova a partir da unidade formadora de colônia (UFC) durante 0, 7, 14 e 21 dias. Para isso, dissolveu-se o pão em 10mL de água peptonada (0,1%), durante 2 minutos, e diluiu-se sucessivas vezes até a proporção 1:7. Após isso, foi distribuído em duplicata em placas de Petri 0,1 ml de todas as concentrações em meio SB, espalhadas com alça de Drigalski e incubadas por 4 dias numa temperatura de 30 ± 3 °C.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO PRODUÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS

Filmes de PBAT puro e PBAT com óleo essencial de cravo da Índia foram produzidos por meio do método *casting* como podem ser analisados na Figura 1.

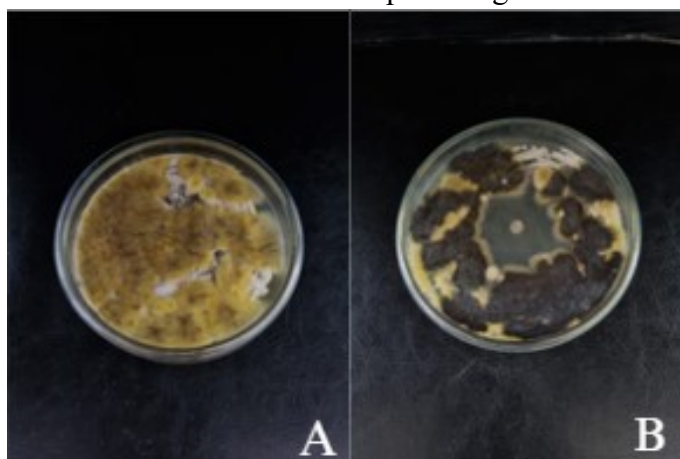
Figura 1-Filmes de PBAT puro e PBAT com OEC da esquerda para direita, respectivamente.



EFICIÊNCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO DA ÍNDIA

Extraído da planta *Syzygium aromaticum*, o óleo essencial de cravo da Índia foi escolhido para o teste em questão devido às suas características farmacêuticas como a anti inflamatórias, antioxidantes e antimicrobianas atribuídas a um de seus componentes, o eugenol, que compõe cerca de 90% do OEC (Amorim, 2019). Nesse contexto, foram realizados testes para verificar o potencial do óleo como agente antimicrobiano em embalagens para alimentos. Sendo assim, para comprovar a ação microbiana do OEC, realizou-se o teste de disco-difusão para fungos presentes em um pão contaminado (Figura 2).

Figura 2-Teste do disco difusão do óleo de cravo para fungo.



Na busca de avaliar a inibição de crescimento microbiológico, a Figura 2 apresenta um acompanhamento do crescimento microbiano sem o aditivo de OEC. A partir da Figura 2 B), observa-se que o OEC apresentou halos de inibição para o crescimento de fungos com diâmetros de $4,03 \pm 0,70$ cm. Além disso, observa-se que houve crescimento de diferentes espécies fúngicas, sugerindo uma competição entre os microrganismos.

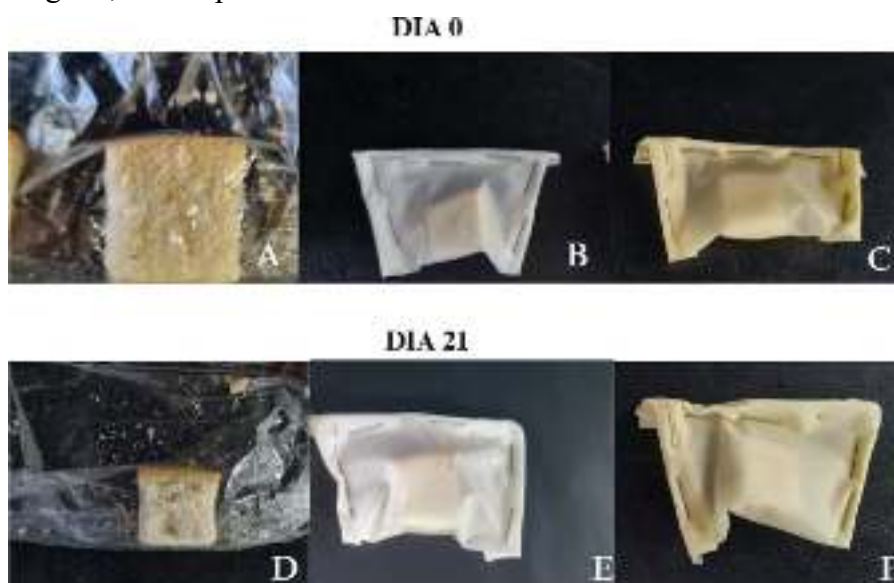
Diante do exposto, verificou-se que o óleo essencial de cravo da Índia tem potencial para ser aplicado como aditivo em embalagens ativas para alimentos amiláceos, uma vez que a literatura indica que quando o halo de inibição é superior a 2 mm, o óleo essencial é eficiente, argumento que fortalece os resultados do teste realizado.

APLICAÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS

Aplicação dos filmes em pão de forma

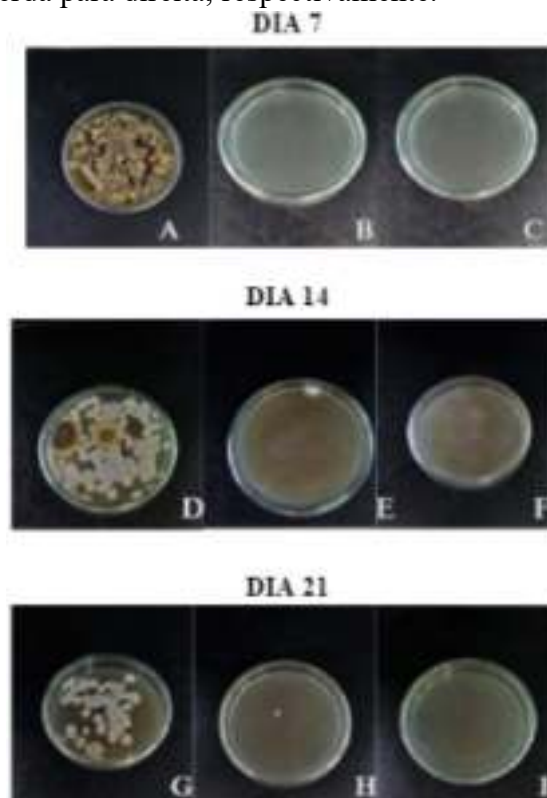
Os materiais produzidos foram aplicados como embalagens de pães. Para isso, avaliou-se o crescimento microbiano nos alimentos acondicionados nas embalagens de PBAT puro, PBAT + OEC e original, durante 21 dias. As características macroscópicas dos pães durante o período analisado estão representadas na Figura 3.

Figura 3-Características macroscópicas dos pães embalados no dia 0 e após 21 dias nas embalagens original, PBAT puro e PBAT mais OEC.



A partir da Figura 3 A), B) e C), observa-se que os pães acondicionados, inicialmente, não apresentaram contaminações visíveis. Entretanto, pode-se verificar que o alimento armazenado na embalagem original após 21 dias (Figura 3 D)) apresentou bolores, enquanto os das embalagens de PBAT puro e PBAT + 15% de OEC (Figura E) e F)) mantiveram suas características macroscópicas constantes. A partir dos resultados obtidos, analisou-se o crescimento microbiológico dos alimentos durante 7, 14 e 21 dias, através da contagem de UFC, como apresentado na Figura 4.

Figura 4-Análise microbiológica dos pães embalados nas embalagens original, PBAT puro e PBAT com OEC da esquerda para direita, respectivamente.



A partir da Figura 4 A), D) e G), é possível concluir que os alimentos mantidos na embalagem original apresentaram diferentes espécies de fungos filamentosos. Por outro lado, os pães acondicionados nos filmes de PBAT (Figura 4 B), E) e H)) apresentaram baixo crescimento microbiano, contabilizando apenas uma UFC nos dias 14 e 21. Por fim, os alimentos mantidos nos filmes de PBAT + OEC (Figura 4 C), F) e I)) não apresentaram crescimento de fungos, possivelmente devido ao potencial antimicrobiano do óleo essencial presente nos filmes. Sendo assim, estas características conferem ao PBAT + OEC potencial de controle contra o crescimento microbiano durante os 21 dias de experimento.

4 CONCLUSÃO

Diante de melhores condições de armazenamento de alimentos, a indústria alimentícia vem buscando novos modelos de embalagens, como as EA, que apresentam o potencial de absorver ou emitir compostos indesejáveis e assim acondicionar os produtos com maior qualidade. Além disso, as EA podem ser uma ferramenta de promoção de qualidade de vida, uma vez que ao inibir ações microbianas, os seres humanos deixam de ser infectados por eles. Sendo assim, por meio dos resultados obtidos, é possível concluir que a embalagem aditivada com OEC apresenta potencial para ser utilizada para alimentos, uma vez que por meio dos testes realizados, houve inibição de crescimento microbiano pela presença do óleo essencial na embalagem de PBAT produzida.

REFERÊNCIAS

AMORIM, G. E. P. **Desenvolvimento e caracterização do filme antimicrobiano de poli butileno adipato-co-tereftalato (PBAT) com óleo essencial de cravo da índia para utilização em embalagem ativa**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, 2019.

ARAGUEZ, L. *et al.* Active packaging from triticale flour films for prolonging storage life of cherry tomato. **Food Packaging and Shelf Life**, ano 25, n. 1, Fev. 2020. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214289420300703?casa_token=jHOo5bFOSdwAAAAA:GVE_pQ1hc-behS1GRZguM7MOyTYIvzL_O4O4DarSLfus3KFRdhUXBr_FhtLEqqwm3dv1DnkKxI. Acesso em: 28 fev. 2023.

Guilherme, A. A. Pinto, G.A.S. Rodrigues, S. Optimization of Trace Metals Concentration on Citric Acid Production by *Aspergillus niger* NRRL 2001. **Food and Bioprocess Technology**, n. 1, set. 2008. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/226949230_Optimization_of_Trace_Metals_Concentration_on_Citric_Acid_Production_by_Aspergillus_niger_NRRL_2001?enrichId=rgreq-7eafecbf54453d1151f8a2a513c0fba2-XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzIyNjk0OTIzMDtBUzoxMTQzMtI4MTIyMTk4ODU0M0AxNzA3MDAxNzY2NDM2&el=1_x_2&_esc=publicationCoverPdf. Acesso em: 03 mar. 2024.

REHMAN, A. *et al.* Trends in Food Science & Technology Development active food packaging via incorporation of biopolymeric nanocarriers containing essential oils. **Trends in Food Science & Technology**, ano 101, n. 1 [s.l.], Abril. 2020. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224420304623?casa_token=gLbHvHo8NAgAAAAA:U1UjfdjrPT9ML5abpeMOkeHCKVJ3Nfzq_OaP28FqNdU1T_fG56ZXE0bgVNuikZedMjIEC9J7WhU. Acesso em: 01 mar. 2024.

SANTOS, K; P; O. *et al.* Salmonella spp. como agente causal em Doenças Transmitidas por Alimentos e sua importância na saúde pública: Revisão. **Pubvet**, ano. 14, n. 1, out. 2020. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Alexandre-Costa-54/publication/346149345_Salmonella_spp_como_agente_causal_em_Doencas_Transmitidas_por_Alimentos_e_sua_importancia_na_saude_publica_Revisao/links/63e4f316c002331f7266bb6f/Salmonella-spp-como-agente-causal-em-Doencas-Transmitidas-por-Alimentos-e-sua-importancia-na-saude-publica-Revisao.pdf. Acesso em: 01 mar. 2024.

VIANNA, G.; BURIN, M, R.; DIEL, V, B, N. Avaliação do potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Eugenia uniflora* sobre microrganismos causadores da mastite bovina. **Revista Interdisciplinar em Ciências da Saúde e Biológicas**. Rio Grande do Sul, v. 6, n. 1, p. 1-12, 2022.