

IMPACTO DO TIPO DE PLASTIFICANTE NA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EMBALAGEM ATIVA INCORPORADA COM ÓLEO ESSENCIAL DE ALHO

RESUMO

Plastificantes são utilizados em embalagens a fim de melhorar o desempenho dos materiais. Na área de embalagens ativas, contudo, pouco é estudado se esses compostos afetam a ação antimicrobiana da embalagem. Nesse contexto, investigou-se a influência de dois plastificantes, glicerol e tributirina, na atividade antimicrobiana de filmes de acetato de celulose e óleo essencial de alho (OEA) frente a *Listeria innocua*. Foram elaborados quatro filmes: dois com glicerol (concentração de OEA: 0 % e 10 % m/m), e dois com tributirina (0 % e 10 % de OEA). Placas de Petri inoculadas com *L. innocua* foram recobertas com os filmes e incubadas em duas condições: 24 h a 37 °C, e 10 dias a 7 °C. Independente do plastificante e da condição de incubação, os filmes controles (0% OEA) apresentaram contagens na ordem de 9 ciclos log. Após incubação a 37 °C, foram verificadas reduções decimais de 2,7 ciclos log (glicerol + 10 % OEA) e 0,6 ciclos log (tributirina + 10 % OEA). Após incubação a 7 °C, as reduções foram na ordem de 5,7 ciclos log e 3,2 ciclos log, respectivamente. O tipo de plastificante de fato impactou a atividade antimicrobiana dos filmes testados. Portanto, sugere-se que a escolha do plastificante deve ser uma variável a ser considerada na elaboração de embalagens ativas.

INTRODUÇÃO

Plastificantes são compostos frequentemente utilizados na área de embalagens com a finalidade de melhorar as características dos materiais quanto às suas propriedades mecânicas, térmicas, óticas ou de barreira a gases e líquidos (1,2). Particularmente, no caso de embalagens sustentáveis elaboradas com polímeros *bio-based*, sua incorporação é imprescindível para a obtenção de materiais mais flexíveis e menos quebradiços (1,3). De forma geral, são moléculas de baixo peso molecular que se alojam entre as cadeias poliméricas, afastando-as e, conseqüentemente, permitindo uma maior mobilidade da cadeia (4). Dentre os plastificantes utilizados em embalagens sustentáveis, destacam-se o glicerol, uma pequena molécula hidrofílica aplicada com sucesso em filmes de polímeros *bio-based*, como os derivados de celulose, poli vinil álcool e amido, e o tributirato de glicerol, ou tributirina, uma molécula hidrofóbica também aplicada em filmes sustentáveis (1,3,5,6).

Além da incorporação de plastificantes, existe uma tendência de adicionar compostos bioativos em embalagens visando a elaboração de materiais com propriedades diferenciadas, tais como flavorizante, antimicrobiana e antioxidante. Essas embalagens são ditas embalagens ativas uma vez que, ao contrário das embalagens convencionais (passivas), são capazes de interagir com o alimento, contribuindo com suas características sensoriais e/ou extensão da vida de prateleira (7).

Seguindo a vertente sustentável e natural, que é outra forte tendência na área de alimentos, muitas pesquisas investigam a aplicação de óleos essenciais como componentes ativos de embalagens, uma vez que alguns desses compostos apresentam potencial de aplicação como conservantes de alimentos (8). Como exemplo, cita-se o óleo essencial de alho (OEA), reconhecido por sua interessante propriedade antimicrobiana, apresentando ação frente a diversos microrganismos de importância em alimentos (3,9).

OBJETIVO

No contexto apresentado, o presente trabalho objetivou avaliar se o tipo de plastificante, glicerol (hidrofílico) ou tributirina (hidrofóbico), influenciaria a atividade antimicrobiana de filmes de acetato de celulose (AC) incorporados com OEA quando testados, *in vitro*, frente ao microrganismo *Listeria innocua*.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Filmes de AC foram elaborados pelo método *casting*, conforme descrito por Marques et al. (2022) (10), com incorporação de 30 % (m/m, referente à massa do polímero) de plastificante (glicerol ou tributirina) e duas concentrações de OEA: 0 % (controle) e 10 % (m/m, referente à massa do polímero). Imagens dos filmes obtidos estão apresentadas na Figura 1.

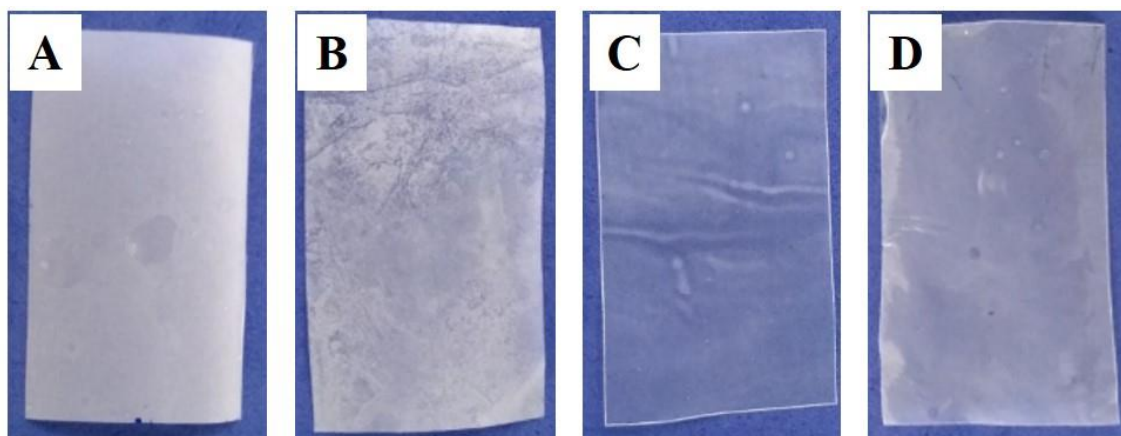


Figura 1. Imagens dos filmes elaborados com acetato de celulose, plastificantes e óleo essência de alho (OEA): glicerol e OEA (0 %, A; 10 %, B); tributirina e OEA (0 %, C; 10 %, D).

Os filmes foram testados *in vitro* frente a *L. innocua*, seguindo metodologia proposta por Marques et al. (2022) (10). Resumidamente, alíquotas de 1 mL de uma suspensão de *L. innocua* ($1,0 \times 10^4$ UFC/mL) foram adicionadas a placas de Petri. Em seguida, 15 mL de ágar triptona de soja com extrato de levedura foram adicionados e, após solidificação, a superfície do ágar foi completamente recoberta pelos filmes, previamente recortados em formato circular ($\varnothing = 60$ mm). As placas foram incubadas em duas situações: 37 °C por 24 h, e 7 °C por 10 dias. Após a incubação, o filme foi retirado e 10 g do ágar foi homogeneizado com solução peptonada (0,1 % m/v). As diluições seriadas necessárias foram realizadas e alíquotas de 20 μ L foram plaqueadas pelo método de microgotas para contagem de colônias após incubação por 20 h a 37 °C (11). Os resultados obtidos, expressos em log UFC/g, estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Contagem de colônias de *L. innocua*, em log UFC/g, após exposição a filmes de acetato de celulose com diferentes plastificantes e concentrações de óleo essencial de alho (OEA) e incubação em duas condições (24 h a 37 °C, e 10 dias a 7 °C).

Condição / Filme	Glicerol e 0% OEA	Glicerol e 10 % de OEA	Tributirina e 0 % de OEA	Tributirina e 10 % de OEA
37 °C / 24 h	9,2 Aa	6,5 Ac	9,2 Aa	8,6 Ab
7 °C / 10 dias	9,1 Aa	3,4 Bc	9,2 Aa	5,9 Bb

*Médias (3 repetições) seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) (12).

De acordo com os resultados obtidos, é possível verificar que, independente da condição de incubação, o tipo de plastificante utilizado impactou a atividade antimicrobiana dos filmes contendo OEA quando testados frente ao microrganismo *L. innocua*. Em ambas situações, filmes elaborados com glicerol e OEA apresentaram maior atividade antimicrobiana do que filmes elaborados com tributirina e OEA. Inclusive, a diferença de contagem entre os filmes com OEA foi na ordem de 2 ciclos logarítmicos nas duas situações de incubação, indicando que os filmes com glicerol e OEA apresentaram um efeito antimicrobiano aproximadamente 100 vezes maior do que os filmes com tributirina.

Glicerol é uma molécula hidrofílica de baixo peso molecular (92,1 g/mol). Embora seja bastante usada como plastificante em filmes de matriz de AC, estudos indicam que há baixa compatibilidade entre o polímero (hidrofóbico) e o composto (3,13). Tributirina, por sua vez, é um composto um pouco maior (302,3 g/mol) por se tratar de um triglicerídeo com três moléculas de butirato esterificadas a uma molécula de glicerol. É hidrofóbica e possui boa compatibilidade com polímeros também hidrofóbicos (3,6).

Embora a tributirina, por possuir melhor compatibilidade com os outros componentes do filme, todos hidrofóbicos, aparentava ser uma melhor escolha como plastificante do que o glicerol, sua presença teve um efeito deletério na atividade antimicrobiana do filme frente a *L. innocua*. Apesar de tal comportamento não estar completamente elucidado, Marques et al. (2022) (3) sugeriram que isso possa ter ocorrido devido a interações plastificante-OEA-AC, dificultado a liberação do OEA do filme e, conseqüentemente, sua ação contra a bactéria de interesse. Uma vez que o glicerol é hidrofóbico, espera-se que não haja interação plastificante-OEA, apenas OEA-AC. Dessa forma, o óleo essencial seria liberado mais facilmente do filme, atuando como agente antimicrobiano. Para complementar e reforçar as hipóteses levantadas, seria interessante a realização de um estudo de liberação do OEA dos filmes elaborados.

CONCLUSÃO

A análise dos resultados permite concluir que o plastificante pode afetar a propriedade antimicrobiana de filmes ativos de AC contendo OEA. Portanto, a escolha do plastificante deve ser criteriosamente estudada de forma que o filme ativo elaborado não tenha sua ação antimicrobiana prejudicada pelo plastificante escolhido.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

1. STACHOWIAK, N.; KOWALONEK, J.; KOZLOWSKA, J. Effect of plasticizer and surfactant on the properties of poly(vinyl alcohol)/chitosan films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 2100–2107, 2020.
2. QUINTANA, R.; PERSENAIRE, O.; LEMMOUCHI, Y.; SAMPSON, J.; MARTIN, S.; BONNAUD, L.; DUBOIS, P. Enhancement of cellulose acetate degradation under accelerated weathering by plasticization with eco-friendly plasticizers. **Polymer Degradation and Stability**, v. 98, p. 1556-1562, 2013.
3. MARQUES, C. S.; SILVA, R. R. A.; ARRUDA, T. R.; FERREIRA, A. L. V.; OLIVEIRA, T. V.; MORAES, A. R. F.; DIAS, M. V.; VANETTI, M. C. D.; SOARES, N. F. F. Development and investigation of zein and cellulose acetate polymer blends incorporated with garlic essential oil and β -cyclodextrin for potential food packaging application. **Polysaccharides**, v. 3, p. 277-291, 2022.
4. CANEVAROLO JR., S. **Ciência dos Polímeros**. 2ª Edição. São Paulo: Artliber Editora Ltda, 2006.
5. OLIVEIRA, T. V.; FREITAS, P. A. V.; POLA, C. C.; TERRA, L. R.; SILVA, J. O. R.; BADARÓ, A. T.; JÚNIOR, N. S.; OLIVEIRA, M. M.; SILVA, R. R. A.; SOARES, N. F. F. The influence of intermolecular interactions between maleic anhydride, cellulose nanocrystal, and nisin-Z on the structural, thermal, and antimicrobial properties of starch-PVA plasticized matrix. **Polysaccharides**, v. 2, p. 661-676, 2021.
6. IGLESIAS MONTES, M. L.; D'AMICO, D. A.; MANFREDI, L. B.; CYRAS, V. P.; Effect of natural glyceryl tributyrate as plasticizer and compatibilizer on the performance of bio-based polylactic acid/poly(3-hydroxybutyrate) blends. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 27, p. 1429-1438, 2019.
7. FIROUZ, M. S.; MOHI-ALDEN, K.; OMID, M. A critical review on intelligent and active packaging in the food industry: Research and development. **Food Research International**, v. 141, 110113, 2021.
8. CARPENA, M.; NUÑEZ-ESTEVEZ, B.; SORIA-LOPEZ, A.; GARCIA-OLIVEIRA, P.; PRIETO, M. A. Essential oils and their application on active packaging systems: a review. **Resources**, v. 10, n. 1, 7, 2021.
9. HARRIS, J. C.; COTTRELL, S. L.; PLUMMER, S.; LLOYD, D. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 57, p. 282-286, 2001.
10. MARQUES, C. S.; ARRUDA, T. R.; SILVA, R. R. A.; FERREIRA, A. L. V.; OLIVEIRA, W. L. A.; ROCHA, F.; MENDES, L. A.; OLIVEIRA, T. V.; VANETTI, M. C. D.; SOARES, N. F. F. Exposure to cellulose acetate films incorporated with garlic essential oil does not lead to homologous resistance in *Listeria innocua* ATCC 33090. **Food Research International**, v. 160, 111676, 2022.
11. TAVARES, A. G.; ANDRADE, J.; SILVA, R. R. A.; MARQUES, C. S.; SILVA, J. O. R.; VANETTI, M. C. D.; MELO, N. R.; SOARES, N. F. F. Carvacrol-loaded liposome suspension: optimization, characterization and incorporation into poly(vinyl alcohol) films. **Food and Function**, v. 12, n. 14, p. 6549-6557, 2021.
12. R CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2021. Disponível em <https://www.R-project.org/>. Acesso em 29 set. 2022.
13. TEIXEIRA, S. C.; SILVA, R. R. A.; OLIVEIRA, T. V.; STRINGHETA, P. C.; PINTO, M. R. M. R.; SOARES, N. F. F. Glycerol and triethyl citrate plasticizer effects on molecular, thermal, mechanical, and barrier properties of cellulose acetate films. **Food Bioscience**, v. 42, 101202, 2021.