

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO EM FILMES DE POLI (CLORETO DE VINILA)

Evaluation of the antimicrobial effect of clove essential oil on polyvinyl chloride films

Resumo:

Novos sistemas de embalagens de alimentos podem incluir substâncias com propriedades antimicrobianas que ajudam na preservação do alimento, além de prolongar seu tempo de prateleira. Para o desenvolvimento desses sistemas, agentes com ação antimicrobiana são incorporados ao polímero. Uma alternativa de agentes antimicrobianos naturais são os óleos essenciais (OEs). Esses vêm sendo avaliados com sucesso para fins de embalagens antimicrobianas. Neste trabalho foi avaliado a ação antimicrobiana do óleo essencial de cravo (OEC) em filmes de poli (cloreto de vinila). Os filmes de PVC puro e PVC/OEC foram analisados por FTIR e determinados os grupos funcionais em ambos os filmes. A atividade antimicrobiana apresentou total inibição do filme PVC/OEC para a bactéria *E. coli*. Os resultados obtidos indicam que os filmes incorporados com o agente antimicrobiano tem grande potencial para ser aplicado na área alimentícia.

Abstract:

New food packaging systems may include substances with antimicrobial properties that help in preserving food, in addition to prolonging shelf life. For the development of these systems, agents with antimicrobial action are incorporated into the polymer. An alternative of natural antimicrobial agents are the essential oils (OEs). These have been successfully evaluated for antimicrobial packaging purposes. This work evaluated the antimicrobial action of clove essential oil (OEC) on polyvinyl chloride films. The pure PVC and PVC / OEC films were analyzed by FTIR and the functional groups were determined in both films. The antimicrobial activity showed complete inhibition of the PVC / OEC film for *E. coli* bacteria. The obtained results indicate that the films incorporated with the antimicrobial agent have great potential to be applied in the food area.



***Marília Silva Duarte de Lima,
Daiane de Souza Carvalho,
Sanderson Hudson da Silva
Malta, Viviane Fonseca Caetano,
Glória Maria Vinhas ¹***

¹Universidade Federal de Pernambuco
E-mail: marilia04duarte@gmail.com

Contato principal

Marília Silva Duarte de Lima ¹



Palavras chave: Agente antimicrobiano; PVC; óleo essencial de cravo

Keywords: Antimicrobial agent; PVC; clove essential oil



INTRODUÇÃO

Devido as crescentes exigências da sociedade moderna, as embalagens alimentícias vêm se aperfeiçoando cada vez mais para agradar a uma gama maior de consumidores (REALINI e MARCOS, 2014). Por isso, novos tipos de embalagens vêm sendo desenvolvidos visando à preservação dos alimentos como também o aumento do tempo de prateleira (SUNG et al, 2013). Dentre os vários tipos de embalagens existentes no mercado, têm-se as embalagens antimicrobianas. Nesse tipo de embalagem ocorre a migração lenta de agentes ativos incorporados na matriz polimérica para a superfície do alimento, combatendo assim a ação microbiana (BARBOSA et al, 2014; PIRES et al 2014).

Os óleos essenciais são uma possibilidade de agentes antimicrobianos naturais que podem ser incorporados em matrizes poliméricas. Os óleos essenciais são constituídos de uma mistura líquida de compostos voláteis que são extraídos de diversas fontes naturais, como folhas, flores, caules, raízes, sementes ou cascas de frutas (AMORATI et al 2013; SIDDIQUE et al 2012). Uma alternativa interessante para aplicações de embalagens antimicrobianas seria a utilização do polímero poli (cloreto de vinila) – PVC com o óleo essencial de cravo (OEC). O PVC é um dos termoplásticos mais consumidos mundialmente, pois apresenta como características bom custo-benefício, além da sua capacidade de incorporar-se a diversos tipos de aditivos, possibilitando assim diversas aplicações (SILVA et al 2015; MADALENO et al, 2009; NUNES et al, 2006). Enquanto que o óleo essencial de cravo é um agente antimicrobiano natural em potencial, pois tem como principal constituinte o eugenol, que apresenta propriedades antioxidantes e antibacterianas (SILVESTRI et al, 2010).

Neste trabalho foram preparados filmes de PVC aditivados com o óleo essencial de cravo nas composições de 0 e 15% m/m. A partir desses filmes avaliou-se a sua atividade antimicrobiana perante as bactérias *Escherichia coli* e *Enterobacter aerogenes*, visando a aplicação desses filmes em embalagens antimicrobianas para o setor de alimentos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparação dos filmes de PVC

Os filmes poliméricos foram preparados pela técnica de evaporação do solvente (*solution casting*). Para a preparação dos filmes puros pesou-se 2,0 g do PVC e adicionou-se 60 mL do solvente Tetrahidrofurano – THF. A solução foi deixada a temperatura ambiente e em agitação constante durante 20 minutos. Em seguida as soluções preparadas foram dispostas em placas de Petri e deixadas à parte para evaporação do solvente. O tempo de evaporação teve uma variação de quatro a cinco dias. Além dos filmes puros, também foram preparados filmes com 15% do Óleo Essencial de Cravo – OEC. Para isso fez-se o procedimento semelhante ao do PVC puro

mudando a massa do polímero e adicionando o OEC. A massa foi de 1,7 g do PVC e 0,3 g do OEC. Após a formação dos filmes, os mesmos foram guardados em sacos herméticos e estéreis. Os filmes produzidos, tanto os puros quanto os incorporados com o OEC, foram utilizados na análise de caracterização e na atividade antimicrobiana.

Caracterização dos filmes poliméricos por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR

A técnica de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR foi empregada para examinar a presença de grupos funcionais dos compostos orgânicos contidos nos filmes poliméricos, bem como avaliar a incorporação do óleo essencial de cravo na matriz polimérica. As análises foram realizadas para os filmes de PVC, puro e com 15% de óleo essencial de cravo. Os espectros foram obtidos nas seguintes condições: faixa espectral de 4000 a 650 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} e 16 varreduras.

Atividade antimicrobiana

Teste do halo

Discos de papel de filtro, esterilizados, foram impregnados com o OEC e dispostos em placas de Petri contendo o Ágar Nutriente e a suspensão bacteriana. Essas placas foram incubadas a temperatura ambiente por 48h, e em seguida verificada a formação de halo. As cepas utilizadas no teste de inibição foram: *Escherichia coli* e *Enterobacter aerogenes*. O teste foi reproduzido em duplicata para ambos os microrganismos.

Filmes de PVC com OEC

Os filmes de PVC, tanto o puro quanto os incorporados com OEC foram testados a partir da metodologia de padronização japonesa - JIS Z 2801: 2000 - para avaliar a eficácia dos agentes antimicrobianos. Esse método consiste em dispor filmes poliméricos de 50 mm em placas de Petri esterilizadas e pipetar 0,4 mL do inoculo bacteriano. Após adicionar o inoculo o filme de PVC foi coberto com filme de polietileno. As placas foram incubadas por 24h a 35°C. Após o período de incubação, os filmes foram colocados em Erlenmeyer contendo 10 mL de caldo nutritivo. Retirou-se 1 mL do Erlenmeyer e colocou no tubo de ensaio contendo 9 mL de água estéril, a partir desse ponto foram feitas diluições na escala de 10^{-1} até 10^{-10} . Foram retiradas alíquotas de 1 mL de cada diluição e transferidas para placas de Petri, logo em seguida foi adicionado meio nutritivo. Quando o meio solidificou as placas foram armazenadas na estufa por 48h a 35°C. Para cada diluição o procedimento foi feito em duplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Espectros de infravermelho médio

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO EM FILMES DE POLI (CLORETO DE VINILA)

A Tabela 1 apresenta as principais regiões espectrais dos filmes de PVC puro e do PVC com 15% do OEC.

Tabela 1: Região Espectral do filme de PVC puro e com óleo de cravo.

| Ligação | Região Espectral (cm ⁻¹) |
|-------------------|--------------------------------------|
| C – Cl | 1000 a 600 |
| Aromático – O – C | 1200 a 1000 |
| C – H | 3000 a 2700 |
| O – H | 3700 a 3450 |

Fonte: autora

A figura 1 mostra os espectros dos filmes de PVC puro e PVC/OEC. No espectro do filme de PVC puro é observado suas principais bandas características que são:

2900 cm⁻¹ correspondendo ao estiramento C – H do CHCl; 1300 cm⁻¹ referente a CH₂; e em 800 cm⁻¹ equivalente ao estiramento C – Cl (SILVA, 2008; VINHAS, 2004; RAMESH, 2009). Já no filme de PVC/OEC pode ser observado que houve a incorporação do óleo essencial de cravo na matriz polimérica através dos picos máximos de 1500 cm⁻¹ e de 3500 cm⁻¹ que correspondem às vibrações das ligações C=C do grupo aromático e da ligação O-H, respectivamente (SILVERSTEIN et al, 2007). Essas vibrações correspondem aos grupos funcionais presentes no eugenol, constituinte majoritário deste óleo. A absorção entre 1200 cm⁻¹ a 1050 cm⁻¹ são atribuídas ao estiramento da ligação C – O de éter aromático e de fenóis (PEREIRA, 2007).

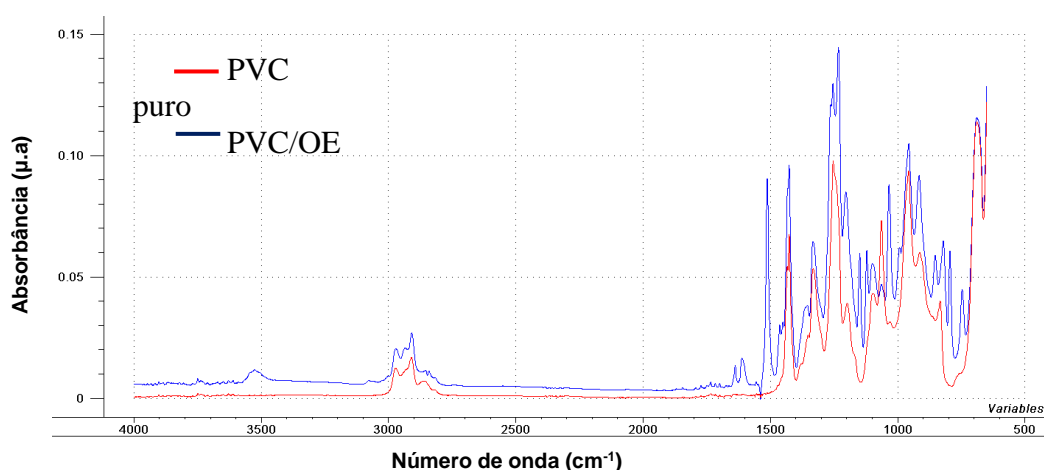


Figura 1: Espectro dos filmes de PVC puro e PVC com óleo essencial de cravo.

Atividade Antimicrobiana

Teste do halo

O resultado do teste do halo mostrou maior inibição do OEC para a *Escherichia coli* comparada com a *Enterobacter aerogenes*. O halo de inibição para a *E. coli*

foi de 5,4 mm enquanto que para a *E. aerogenes* foi de 2,5 mm como mostra a figura 2. Por este motivo a *E. coli* foi escolhida para a realização da atividade antimicrobiana dos filmes de PVC com o OEC.

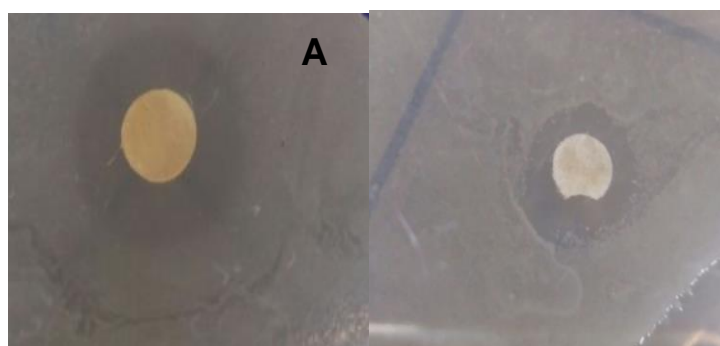


Figura 2. Teste de inibição microbiana em meio sólido do óleo essencial de cravo.

(A) *E. coli* e (B) *E. aerogenes*

Filmes de PVC com OEC

Os resultados mostraram a eficiência dos filmes de PVC com 15% m/m de OEC para todas as diluições

das concentrações microbianas com a ausência de Unidades Formadoras de Colônias – UFC. Estudos com a *E. coli* são de grande importância, pois esse

microrganismo é utilizado como indicador de contaminação fecal em água e alimentos (OLANIRAN et al, 2011).

Como era previsto, os resultados para os filmes de PVC puro apresentaram formação de colônias

bacterianas em todas as diluições, como mostra a Tabela 2. Nas concentrações de 10^{-1} não foi possível determinar a quantidade de colônias, pois a partir de 300 colônias fica inviável realizar a contagem.

Tabela 2: Concentração bacteriana para os filmes de PVC puro

| Diluição | 10^{-1} | 10^{-2} | 10^{-3} | 10^{-4} | 10^{-5} | 10^{-6} | 10^{-7} | 10^{-8} | 10^{-9} | 10^{-10} |
|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| Duplicata 1/UFC | I | 204 | 102 | < 30 | < 30 | < 30 | < 30 | < 30 | < 30 | < 30 |
| Duplicata 2/UFC | I | 128 | 82 | < 30 | < 30 | < 30 | < 30 | < 30 | < 30 | < 30 |

I = Incontável

CONCLUSÃO

A análise no FTIR mostrou a incorporação do eugenol no filme de PVC que ficou evidenciado com a presença de ligações químicas específicas deste componente. O teste do halo mostrou uma boa inibição do OEC para os microrganismos testados indicando a potencialidade desse óleo como agente antimicrobiano natural. Os resultados da análise antimicrobiana com o filme polimérico comprovou a ação bactericida do óleo essencial de cravo para a *E. coli*.

Os resultados apresentados indicam que filmes poliméricos incorporados com agente antimicrobiano têm grande potencial para ser aplicado na área alimentícia como embalagens bioativas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORATI, R., FOTI, M. C., & VALGIMIGLI, L. Antioxidant Activity of Essential Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 61(46), 10835-10847, 2013.

BARBOSA-PEREIRA, L., AURREKOETXEA, G. P., ÂNGULO, I., PASEIRO-LOSADA, P., & CRUZ, J. M. Development of new active packaging films coated with natural phenolic compounds to improve the oxidative stability of beef. **Meat Science**, 97(2), 249-254, 2014.

MADALENO, E., ROSA, D. S., ZAWADZKI, S. F., PEDROZO, T. H., & RAMOS, L. P. Study of the Use of Plasticizer from Renewable Sources in PVC Compositions. **Polímeros**, 19(4), 263-270, 2009.

NUNES, L. R., RODOLFO, A. Jr., & ORMANJI, W. *Tecnologia do PVC*. São Paulo: **ProEditores/Braskem**, 2006.

OLANIRAN, A.O.; NAICKER, K.; PILLAY, P. Toxigenic *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae*: Classification, pathogenesis and virulence determinants. **Biotechnology and Molecular Biology Review**, v. 6, n.4, p. 94-100, 2011.

PEREIRA, T. Microencapsulação do óleo eugenol pelo método de spray drying. Florianópolis – SC, 2007.

PIRES, M., PETZHOLD, C. L., SANTOS, R. V., PERÃO, L., & CHIES, A. P. Effect of Antimicrobial Compound Migration on Final Properties of Polyethylene Based Film. **Polímeros**, 24(2), 237-242, 2014.

RAMESH, S., & Yi, L. J. FTIR spectra of plasticized high molecular weight PVC–LiCF₃SO₃ electrolytes. **Ionics**, 15(4), 413-420. 2009.

REALINI, C. E., & MARCOS, B. Active and intelligent packaging systems for a modern society. **Meat Science**, 98(3), 404–419, 2014.

SIDDIQUE, A. B., RAHMAN, S. M. M., & HOSSAIN, M. A. Chemical composition of essential oil by different extraction methods and fatty acid analysis of the leaves of *Stevia Rebaudiana* Bertoni. **Arabian Journal of Chemistry**, 9(2), 1185–1189, 2012.

SILVA, A. M. S. **Fases sensoras de PVC para a determinação de hidrocarbonetos aromáticos e clorados em águas utilizando Espectroscopia no Infravermelho Médio**. Recife – PE, 2008.

SILVA, T. H., DE OLIVEIRA, J. E., & DE MEDEIROS, E. S. Obtenção de micro e nanofibras de PVC pela técnica de Fiação por Sopros em Solução. **Polímeros**, 25(2), 229-235, 2015.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7ª edição, p. 116-120, 2007.

SILVESTRI, J. D. F.; PAROUL, N.; CZYEWski, E.; LERIN, L.; IEDA 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.) **Rev. Ceres** vol.57 no.5 Viçosa Sept./Oct. 2010.

SUNG, S.-Y., SIN, L. T., Tee, T. T., BEE, S.-T., RAHMAT, A. R., RAHMAN, W. A. W. A., Tan, A.-C., & VIKHRAMAN, M. Antimicrobial agents for food packaging applications. **Trends in Food Science & Technology**, 33(2), 110-123, 2013.

*AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO EM FILMES DE POLI
(CLORETO DE VINILA)*

VINHAS, G. M. **Estabilidade à radiação gama do poli (cloreto de vinila) aditivado e do poli (cloreto de vinila) quimicamente modificado.** Recife – PE, 2004.