

## MORFOLOGIA E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOFIBRAS DE AMIDO DE BATATA INCORPORADAS COM CARVACROL

**LAURA MARTINS FONSECA<sup>1</sup>; CLAUDIO EDUARDO DOS SANTOS CRUXEN<sup>2</sup>;**  
**GRAZIELLA PINHEIRO BRUNI<sup>3</sup>; FRANCINE TAVARES DA SILVA<sup>4</sup>;**  
**ELESSANDRA DA ROSA ZAVAREZE<sup>5</sup>, ALVARO RENATO GUERRA DIAS<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas- laura\_mfonseca@hotmail.com*

<sup>2</sup>*Universidade Federal de Pelotas- cbrcruxen@hotmail.com*

<sup>3</sup>*Universidade Federal de Pelotas- graziellabruni@yahoo.com.br*

<sup>4</sup>*Universidade Federal de Pelotas- francine-ts@hotmail.com*

<sup>5</sup>*Universidade Federal de Pelotas- elessandrad@yahoo.com.br*

<sup>6</sup>*Universidade Federal de Pelotas- alvaro.guerradias@gmail.com*

### 1. INTRODUÇÃO

Embalagens ativas são utilizadas na indústria alimentícia com o objetivo não somente de conter e proteger alimentos, mas também de mantê-los seguros e prolongar sua vida útil. Essas embalagens podem interagir com o alimento de maneira direta ou indireta, como, por exemplo, pela ação de compostos voláteis como agentes antimicrobianos. Devido a grande demanda por inovações no setor alimentício, técnicas para produção dessas embalagens ativas vem sendo estudadas. A técnica de *electrospinning* apresenta grande potencial para encapsulação de compostos voláteis, protegendo-os contra elementos deletérios prolongando sua ação como bioativo. Essa técnica apresenta vantagens, como não serem utilizadas altas temperaturas durante o processo (o que é importante ao se incorporar compostos voláteis ao material polimérico) e produzir materiais em escala nanométrica (com grande relação área superficial/volume). Além disso, as nanofibras podem ser provenientes de polímeros naturais, como o amido, formando uma embalagem ativa biodegradável não causando danos ambientais quando descartadas (BHUSHANI & ANANDHARAMAKRISHNAN, 2014; WEN et al., 2016).

Entre os compostos voláteis com propriedades bioativas, os óleos essenciais ou seus compostos são largamente utilizados como agentes antimicrobianos. O carvacrol é o principal componente dos óleos de orégano ou tomilho. Sua ação ocorre ao acumular-se na membrana celular de uma bactéria, resultando em um aumento de cerca de 90% na permeabilidade celular do microrganismo, impedindo assim seu desenvolvimento e causando desidratação nas células bacterianas. Assim, seu uso em embalagens ativas como agente antimicrobiano pode ser eficaz na inibição de microrganismos patogênicos e que causam doenças transmitidas por alimentos (ALTAN, AYTAC, & UYAR, 2018).

Neste contexto visando a produção de um material biodegradável com atividade antimicrobiana para potencial formação de uma embalagem ativa que possa vir a ser aplicada no setor alimentício, o objetivo deste estudo foi produzir nanofibras de amido de batata solúvel incorporadas com carvacrol e a avaliação de sua morfologia, distribuição de tamanho e atividade antimicrobiana.

### 2. METODOLOGIA

Para produção das nanofibras foi preparada uma solução polimérica com 5 g (50%, p/v) de amido de batata solúvel (Sigma-Aldrich, CAS 9005-25-8) em 10 mL de ácido fórmico (75% em Milli-Q, v/v) sob agitação por 24 h. Após, o carvacrol ( $\geq 98\%$  pureza, Sigma-Aldrich, CAS 499-75-2) foi incorporado à solução

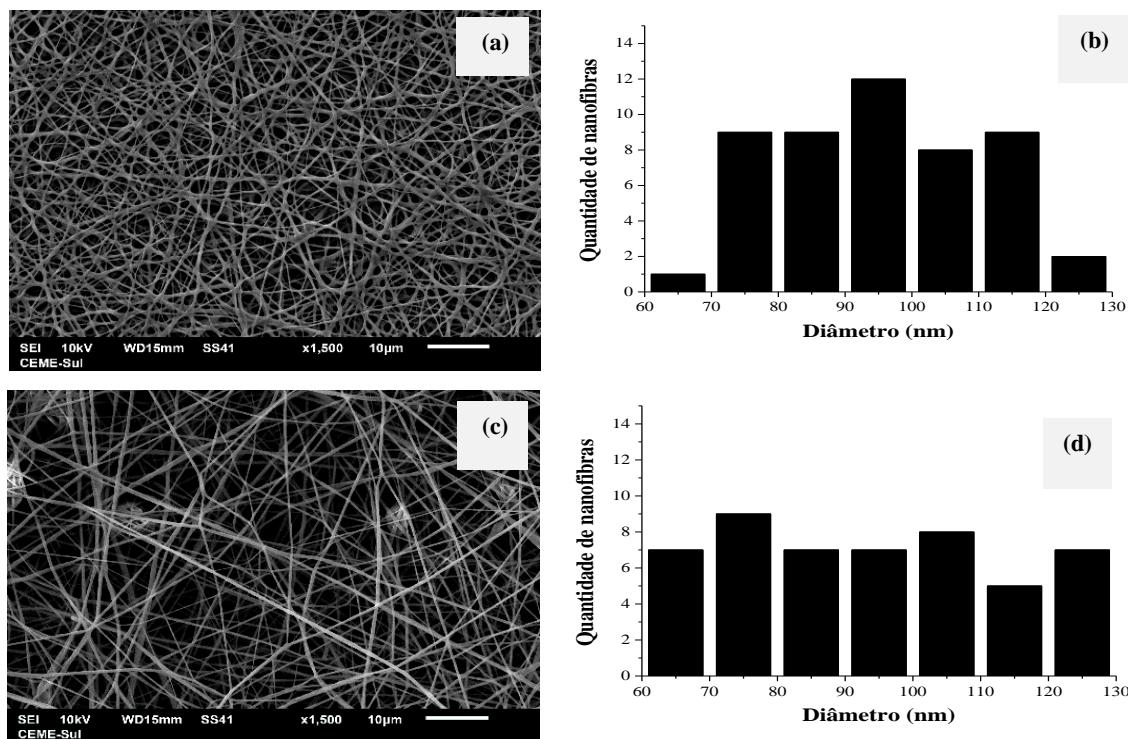
na concentração de 30% (v/p, em base seca), permanecendo sob agitação por 15 min. As nanofibras foram produzidas pela técnica de *electrospinning* utilizando-se um fluxo de alimentação de 0,6 mL/h, alta voltagem de 25kV e distância de 20 cm do coletor a ponta da agulha. Nanofibras sem o carvacrol (0%) foram utilizadas como controle. A avaliação da morfologia das nanofibras foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV, Jeol, JSM-6610LV, EUA) e utilizando as micrografias obtidas foi medida a distribuição de tamanho em 50 nanofibras pelo software ImageJ (versão 2015).

Para avaliação antimicrobiana do carvacrol foi realizado um ensaio em micro atmosfera de acordo com GHABRAIE et al. (2016), com modificações. *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), *Salmonella Typhimurium* (ATCC 14028), *Escherichia coli* O:157 H:7 (NCTC 12900) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25933) foram inoculadas em *Trypticase Soy Agar* (TSA, K25-610052, KASVI, Itália). O carvacrol foi então inoculado nas concentrações de 20, 30 e 40% em discos estéreis posicionados em placas de petri que foram incubadas a 37 °C por 24 h. A atividade antimicrobiana do carvacrol foi expressa em mm de zona de inibição. Para avaliação das nanofibras de amido com carvacrol na concentração de 30%, foi utilizada a mesma metodologia sendo agora as nanofibras colocadas na tampa das placas de petri e os resultados expressos em porcentagem redução de crescimento das bactérias, calculada pela diferença entre as células viáveis no ensaio das nanofibras controle (Nanofibras 0%) e das nanofibras com carvacrol (Nanofibras 30%).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A morfologia e a distribuição de tamanho das nanofibras de amido de batata solúvel com e sem carvacrol são apresentadas na Figura 1. Pode-se observar que as nanofibras sem carvacrol (controle, 0%) apresentaram-se fundidas e na forma de fita. Isso pode ser atribuído ao curto estiramento da solução durante o processo de formação de nanofibras por *electrospinning*. Já as nanofibras com incorporação de carvacrol (30%) apresentaram morfologia homogênea, com forma cilíndrica e orientadas aleatoriamente. Assim, pode-se dizer que a adição de carvacrol aprimorou a morfologia das nanofibras ocorrendo uma melhor volatilização do solvente no processo. A adição de carvacrol não influenciou na distribuição de tamanho das nanofibras, sendo que as sem carvacrol apresentaram valores de diâmetro mínimo de 69,1 nm, máximo de 123,9 nm e médio de 95,1 nm. As nanofibras com carvacrol apresentaram valores mínimo, máximo e médio de 60,9, 124,5 e 93,5 nm, respectivamente. Assim, podem ser consideradas nanofibras uma vez que apresentam diâmetros de até 100 nm.

**Figura 1.** Morfologia e distribuição de tamanho das nanofibras de amido de batata solúvel sem carvacrol (a, b) e nanofibras com 30% de carvacrol (c, d).



Na Tabela 1 pode ser observada a atividade antimicrobiana avaliada pelo ensaio de micro atmosfera do carvacrol e das nanofibras com 30% de carvacrol. Um aumento gradual no diâmetro das zonas de inibição foi observado com o aumento na concentração de carvacrol. Dentre as concentrações de carvacrol observadas de 20, 30 e 40% a de 30% foi a menor capaz de gerar zonas de inibição contra as quatro bactérias patogênicas estudadas, assim foram produzidas nanofibras de amido com a incorporação de carvacrol nessa contração. Essas fibras reduziram a viabilidade das bactérias em 89,0%, 68,0%, 62,0% e 49,0% para *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*, *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente. As nanofibras apresentam grande área superficial em relação ao seu volume o que auxilia na liberação controlada do agente antimicrobiano prevenindo ou retardando o crescimento de microrganismos.

**Tabela 1.** Atividade antimicrobiana do carvacrol em diferentes concentrações (20, 30 e 40%) e das nanofibras incorporadas com 30% de carvacrol.

Carvacrol (%) <sup>1</sup>	<i>L. monocytogenes</i> (ATCC 7644)	<i>S. aureus</i> (ATCC 7644)	<i>S. Typhimurium</i> (ATCC 14028)	<i>E. coli</i> O:157 H:7 (NCTC 12900)
	Diâmetro das zonas de inibição (mm)			
20	-	21,5 ± 2,5	16,8 ± 6,5	20,5 ± 0,5
30	15,5 ± 0,5	22,5 ± 2,5	20,0 ± 0,0	25,0 ± 2,0
40	19,0 ± 1,0	24,5 ± 0,5	21,5 ± 0,5	28,0 ± 2,0

Nanofibras com carvacrol (%) <sup>2</sup>	<i>L. monocytogenes</i> (ATCC 7644)	<i>S. aureus</i> (ATCC 7644)	<i>S. Typhimurium</i> (ATCC 14028)	<i>E. coli</i> O:157 H:7 (NCTC 12900)
	Redução do crescimento bacteriano (%)			
30	89,0 ± 8,6	49,0 ± 0,8	68,0 ± 6,6	62,0 ± 4,0

Resultados expressos em médias (n=3) ± desvio padrão

<sup>1</sup> Concentração de carvacrol no ensaio de micro atmosfera

<sup>2</sup> Concentração de carvacrol nas nanofibras de amido no ensaio de micro atmosfera

### 3. CONCLUSÕES

A incorporação de carvacrol em nanofibras de amido aprimorou a morfologia das nanofibras apresentando diâmetros na ordem de nanômetros (D<sub>médio</sub> de 93,5 nm). O carvacrol apresentou elevada atividade antimicrobiana pela ação volátil avaliada em micro atmosfera. Quando incorporado nas nanofibras apresentou percentuais de redução de crescimento bacteriano satisfatórios, principalmente para a bactéria *S. aureus* na qual uma redução de 50% é suficiente para inibir seu crescimento até concentrações que não permitam a formação de enterotoxinas. Assim, as nanofibras de amido com carvacrol apresentam potencial para serem aplicadas na formação de embalagens ativas de alimentos.

### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BHUSHANI J. A., ANANDHARAMAKRISHNAN C. Electrospinning and electrospraying techniques: Potential food based applications, **Trends Food Sci. Technol.**, v. 38, p. 21–33, 2014.
- WEN P., ZHU D.-H., WU H., ZONG M.-H., JING Y.-R., HAN S.-Y. Encapsulation of cinnamon essential oil in electrospun nanofibrous film for active food packaging, **Food Control**, v. 59, p. 366–376, 2016.
- ALTAN A., AYTAC Z., UYAR T. Carvacrol loaded electrospun fibrous films from zein and poly (lactic acid) for active food packaging, **Food Hydrocoll.**, v. 81, p. 48–59, 2018.
- GHABRAIE M., VU K. D., TATA L., SALMIERI S. Antimicrobial effect of essential oils in combinations against five bacteria and their effect on sensorial quality of ground meat, **LWT - Food Sci. Technol.**, v. 66, p.332–339, 2016.