



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

DESENVOLVIMENTO DE FILME
ATIVO DE POLI (BUTILENO ADIPATO CO-TEREFTALATO) E
APLICAÇÃO NA CONSERVAÇÃO DE FILÉS DE PESCADO

LUCAS GUIMARÃES CARDOSO

Salvador

2017

LUCAS GUIMARÃES CARDOSO

**DESENVOLVIMENTO DE FILME
ATIVO DE POLI (BUTILENO ADIPATO CO-TEREFTALATO) E
APLICAÇÃO NA CONSERVAÇÃO DE FILÉS DE PESCADO**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Prof. Dr^a. Aláise Gil Guimarães.

Coorientador: Dr. Johnson Clay Pereira Santos.

Salvador

2017

Guimarães Cardoso, Lucas
Desenvolvimento de Filme Ativo de Poli(butileno adipato co-
tereftalato) e Aplicação na Conservação de Filés de Pescado /
Lucas Guimarães Cardoso. -- Salvador, 2017.
75 f. : il

Orientadora: Alaíse Gil Guimarães.
Coorientador: Johnson Clay Pereira Santos.
Dissertação (Mestrado - Programa de pós-graduação em Ciência
de Alimentos) -- Universidade Federal da Bahia, Faculdade de
Farmácia, 2017.

1. Embalagem ativa. 2. Origanum vulgare. 3. Antimicrobiano.
4. PBAT. 5. Filé de pescado. I. Gil Guimarães, Alaíse. II. Clay
Pereira Santos, Johnson. III. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

TERMO DE APROVAÇÃO

LUCAS GUIMARÃES CARDOSO

DESENVOLVIMENTO DE FILME ATIVO DE POLI (BUTILENO
ADIPATO CO-TEREFTALATO) E APLICAÇÃO NA CONSERVAÇÃO DE
FILÉS DE PESCADO

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos
(nível Mestrado Acadêmico) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da
Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência de
Alimentos.

Aprovada em 31 de janeiro de 2017.

BANCA EXAMINADORA

Dr^a. Aláise Gil Guimarães
Universidade Federal da Bahia
Orientadora

Dr^a. Geany Peruch Camilloto
Universidade Estadual de Feira de Santana

Dr. Renato Souza Cruz
Universidade Estadual de Feira de Santana

“Elevo os meus olhos para os montes
De onde virá o meu socorro?
O meu socorro vem do Senhor
Que fez o céu e a terra.
Ele não permitirá que os meus pés vacilem
Não dormitará aquele que me guarda
O Senhor é quem me guarda
O Senhor é sombra a minha direita
De dia não me molestará o Sol
Nem de noite a lua
O Senhor me guardará de todo o mal
Guardará a minha alma
O Senhor Guardará a minha saída
E a minha entrada
Desde agora e para sempre.”

Salmos 121:1-8

AGRADECIMENTOS

À Deus por me proporcionar saúde, força e colocar em meu trilhar as oportunidades que me trouxeram até aqui, e me dar sabedoria e discernimento.

À Universidade Federal da Bahia - UFBA, por meio da Faculdade de Farmácia, Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, pela oportunidade e confiança.

A minha orientadora, Aláise Gil Guimarães, por ter acreditado e confiado em mim, por todas as palavras de conforto e carinho durante a execução deste trabalho. Por ter me proporcionado uma vivência acadêmica como jamais imaginei. Quero agradecer por ter sido uma grande mestre, ao qual os ensinamentos irei levar por toda a minha vida.

A Johnson meu coorientador, agradeço pela amizade, companheirismo e diversos momentos de descontração que tornaram a minha caminhada mais leve. E pelos diversos ensinamentos que me proporcionou.

Ao Fundo de Amparo à Pesquisa do estado da Bahia – FAPESB, pela concessão de bolsa de estudo. Aos funcionários da Universidade Federal da Bahia, como Miraildes que me deram forças sempre que as coisas não caminhavam bem, a Leonardo e Tamires por sempre estarem disponíveis e dispostos em ajudar, Ladislau e Lázaro (porteiros) pelas diversas vezes que me foram tão solícitos, a Maria, Nice, Jaime e Cezar por toda ajuda na limpeza do laboratório e equipamentos, Priscila e Carol (secretarias) por toda gentileza, disponibilidade e carinho.

À minha mãe Noemia, meu pai Eduardo, minhas irmãs Leiliane e Eduarda, por serem a razão, força, motivação e vontade de me trazer até aqui. Em especial agradeço a meu pai, por ser o homem que é, por todo esforço que me trouxe até este momento. A minha mãe por ser a minha base e o meu alicerce, minha amiga e confidente, te agradeço pelas orações.

Aos meus tios Helder e Veronice, que me acolheram em sua residência, me deram todas as ferramentas necessárias para que eu pudesse concluir mais esta etapa. Agradeço pelo cuidado, pelo carinho e atenção.

À Hugo, por todo apoio, incentivo, amizade e carinho. Esta vitória em grande parte devo a você, pois diversos momentos você me segurou a mão e me fez seguir em frente.

A minha avó pelas orações e pelo carinho, serei eternamente grato pelo amor que recebo. A meu avô (*in memoriam*), pelo amor, carinho e com toda sua sabedoria me fez ver a vida de uma forma diferente.

Aos meus colegas do LEMA (Laboratório de Estudos em Microbiologia de Alimentos) por todo companheirismo, momentos agradáveis e as diversas trocas de conhecimento. Em especial, gostaria de agradecer a Priscila, Ludymilla, César e Debora alunos de iniciação científica, por todo auxílio na execução deste trabalho, serei eternamente grato.

Aos colegas do LAPESCA, por me receberem, por todas os ensinamentos diários e principalmente amizade, em especial dedico a Normane, Cristiane, Jamile, Leonardo, Andréia, Carol e Samantha.

Aos meus colegas do programa de pós graduação, pela amizade, apoio e momentos que jamais serão esquecidos, em especial a Ana Claudia, Mayara e Paulo Romano.

Aos meus amigos: Irana, Barbara, Ivia, Priscila e Eduardo por terem dividido comigo todas as angústias, frustrações, alegrias e conquistas, agradeço pela amizade e por sempre estarem comigo.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO I

- Figura 1. Estrutura química do poli (butileno adipato co-tereftalato) onde “n” representa a cadeia aromática e “p” a alifática. 5
- Figura 2. Formulas estruturais do Timol (a) e Carvacrol (b). 7
- Figura 3. Possíveis formas de construção de sistemas de embalagens antimicrobianas para alimentos. (A) incorporação de materiais antimicrobianos na embalagem; (B) revestimento de embalagens convencionais com agentes antimicrobianos; (C) imobilização e agentes antimicrobianos em embalagens poliméricas; (D) uso de bandejas com antimicrobianos; (E) uso de sachês/voláteis contendo agentes antimicrobianos; (F) revestimento comestível antimicrobiano. Fonte: (Miranda, 2010). 13
- Figura 4. Embalagem a vácuo para utilização na conservação de pescado. 14
- Figura 5. Curva característica da relação de tração versus deformação ou força de tração versus alongamento. (Fonte: SARANTÓPOULOS et al., 2002). 19
- Figura 6. Comportamento de um polímero em ensaio mecânico em resposta a uma solicitação de tensão, através da deformação (ϵ). Fonte: adaptado de CANEVAROLO, 2013). 20

CAPÍTULO II

- Figura 1. Filmes de PBAT produzidos por meio da técnica de extrusão, onde (A) OEO_{0,0}; (B) OEO_{2,5}; (C) OEO_{5,0}; (D) OEO_{7,5} e (E) OEO_{10,0}. 33
- Figura 2. Gráficos das propriedades mecânicas dos filmes de PBAT produzidos por meio da técnica de extrusão, onde (A) Tensão máxima; (B) Deformação na ruptura e (C) Módulo de elasticidade. 34
- Figura 3: Microscopia eletrônica de varredura (MEV): Imagem horizontal (A) OEO_{0,0}; OEO_{5,0} e OEO_{10,0} e Imagem corte vertical (B) OEO_{0,0}; OEO_{5,0} e OEO_{10,0}. 37
- Figura 4. Filmes de polietileno utilizados em peixes, embalados a vácuo. Fonte: Embalagem ideal. 38
- Figura 5. Gráficos do comportamento térmico dos filmes de PBAT incorporados com diferentes concentrações de OEO: (a) Curvas de TG de todas as formulações; (b) Curvas de DTG de todas as formulações; (c) Curvas de TG; DSC e DTG formulação OEO_{0,0}; (d) Curvas de TG, DTG e DSC formulação OEO_{10,0} e (e) Curvas de DSC de todas as formulações. 40
- Figura 6. Permeabilidade ao vapor de água (PVA), dos filmes de PBAT incorporados com diferentes concentrações de OEO, (OEO_{0,0}) controle; (OEO_{2,5}) 2,5; (OEO_{5,0}) 5,0; (OEO_{7,5}) 7,5 e (OEO_{10,0}) 10,0g. 42
- Figura 7: Gráficos da ação antimicrobiana dos filmes de PBAT incorporados com diferentes concentrações de OEO, como embalagem para filés de peixe no período de estocagem de 10 dias, ação frente: (a) coliformes totais; (b) psicrotróficos; e (c) estafilococos coagulase positiva. 44
- Figura 8. Atividade antioxidante dos filmes de PBAT incorporados com diferentes concentrações de OEO, (OEO_{0,0}) controle; (OEO_{2,5}) 2,5; (OEO_{5,0}) 5,0; (OEO_{7,5}) 7,5 e (OEO_{10,0}) 10,0g. 46

CAPÍTULO III

Figura 1. Evolução Anual de Patentes Depositadas.	53
Figura 2. Número de Patentes Depositadas por País.	54
Figura 3. Patentes por Classificação Internacional.	54
Figura 4. Número de Patentes por Depositante.	56
Figura 5. Tipos de Polímeros por Número de Patentes.	57
Figura 6. Origem do Antimicrobiano por Número de Patentes.	57

LISTA DE TABELA

CAPÍTULO I

Tabela 1. Propriedades do polímero PBAT (poli (butileno adipato co-tereftalato)).	6
---	---

CAPÍTULO II

Tabela1. Formulações dos filmes biodegradáveis ativos incorporados com óleo essencial de orégano. OE _{0,0} – filme controle; OE _{2,5} – filme incorporado com 2,5g de OEO; OE _{5,0} – filme incorporado com 5,0g de OEO; OE _{7,5} – filme incorporado com 7,5g de OEO; OE _{10,0} – filme incorporado com 10g de OEO.	30
---	----

CAPÍTULO III

Tabela 1. Número de patentes por palavras-chave e códigos de classificação.	52
Tabela 2. Classificação dos códigos encontrados na pesquisa (<i>packing and food and antimicrobial</i>).	55

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1. Introdução Geral	1
2. Objetivos	2
2.1. Geral	2
2.2. Específico	2
CAPÍTULO I - Revisão Bibliográfica	
1.0. Embalagens plásticas	4
2.0. Poli (butileno adipato co-tereftalato) - PBAT	5
3.0. Óleo essencial de orégano	6
4.0. Embalagens antimicrobianas e antioxidantes	10
5.0. Embalagens antimicrobianas destinadas a pescado	14
6.0. Efeitos da incorporação de OEO em embalagens biodegradáveis	15
6.1. Morfologia dos filmes	16
6.2. Permeabilidade ao vapor d'água (PVA)	17
6.3. Propriedades mecânicas	18
6.4. Propriedades térmicas	20
7.0. Tendências futuras para as embalagens antimicrobianas biodegradáveis	22
8.0. Referências Bibliográficas	23
CAPÍTULO II - Desenvolvimento de filmes ativos biodegradáveis e aplicação em filés de pescado.	
1.0. Introdução	28
2.0. Material e Métodos	29
2.1. Preparação dos filmes	29
2.2. Estudo das propriedades mecânicas	30
2.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	30
2.4. Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	31
2.4. Análise Termogravimétrica (TGA)	31

2.5. Calorimetria de Varrimento Diferencial (DSC)	31
2.6. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	31
2.7. Avaliação da eficiência dos filmes antimicrobianos em contato com o alimento	32
2.8. Atividade Antioxidante	32
2.9. Análise estatística	32
3.0. Resultados e Discussão	32
3.1. Preparação dos filmes	33
3.2. Estudo das propriedades mecânicas	33
3.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	35
4.3. Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	37
3.4. Análise Termogravimétrica (TGA)	38
3.5. Calorimetria de Varrimento Diferencial (DSC)	38
3.6. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	41
3.7. Avaliação da eficiência dos filmes antimicrobianos em contato com o alimento	43
3.8. Atividade Antioxidante	45
4.0. Conclusão	46
5.0. Referências Bibliográficas	47
CAPÍTULO III - Prospecção Tecnológica de Patentes sobre a utilização de Embalagens Antimicrobianas em Alimentos	
RESUMO	50
ABSTRACT	50
1.0. Introdução	50
2.0. Metodologia	52
3.0. Resultados e Discussão	52
4.0. Conclusões	58
5.0. Referências	58

RESUMO

As embalagens ativas antimicrobianas funcionam como uma ferramenta para manutenção da qualidade de produtos altamente perecíveis, como os filés de pescado. A utilização de materiais sintéticos nestas embalagens, é considerada causadora de impactos ambientais, devido ao descarte inadequado. Portanto, materiais poliméricos renováveis e ecológicos, surgem como alternativas para diminuição destes impactos. Este estudo objetivou desenvolver filmes biodegradáveis antimicrobianos de poli (butileno adipato co-tereftalato) (PBAT) incorporados com OEO - óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) para aplicação em filés de pescado. Os filmes foram produzidos por meio de extrusão e caracterizados quanto à microscopia, propriedades mecânicas, físicas e térmicas e espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). As propriedades bioativas, antioxidante e antimicrobiana, também foram analisadas. A incorporação do OEO, aumentou a estabilidade térmica dos filmes, enquanto que as mecânicas: tensão máxima, deformação na ruptura e módulo de elasticidade, após a incorporação do OEO sofreram redução, após seus pontos de máximo e mínimo. As imagens de microscopia demonstraram que devido ao aumento na concentração do OEO, os filmes apresentaram superfície heterogênea e rugosa, mesmo comportamento nos cortes transversais. A permeabilidade dos filmes aumentou de acordo a elevação das concentrações de óleo. As análises de FTIR apresentaram grupos funcionais referentes aos compostos bioativos do óleo incorporado nos filmes. As análises microbiológicas demonstraram que os filmes tiveram ação efetiva na redução de microrganismos do grupo coliformes totais, estafilococos coagulase positiva e psicrotróficos. Constatou-se que quanto maior a concentração de OEO nos filmes maior foi a sua atividade antioxidante. Concluiu-se que os filmes foram eficientes para atuarem como embalagem ativa e promoverem a conservação, visando o controle da população microbiana, em files de peixe, exibiram propriedades mecânicas, térmicas e permeabilidade ao vapor de água viáveis para a utilização como embalagens destinadas a alimentos.

Palavras-chave: Embalagem ativa, *Origanum vulgare*, antimicrobiano.

ABSTRACT

The food industry has used active antimicrobial packaging as tools for maintaining the quality of highly perishable products such as fish fillets. The use of synthetic materials in these packages is considered to cause environmental impacts due to improper discard. Therefore, renewable and ecological polymer materials appear as alternatives to reduce these impacts. This study objected develop biodegradable antimicrobial films of poly(butylene adipate-coterephthalate) - PBAT incorporated with OEO - essential oil of oregano (*Origanum vulgare*) for application in fish fillets. The films were produced by extrusion and characterized by microscopy, mechanical, physical and thermal properties, water vapor permeability and Fourier transform infrared spectrometry (FTIR). The bioactive, antioxidant and antimicrobial properties were also analyzed. The incorporation of OEO did not influence the thermal properties of the films, however the mechanical properties: maximum tensile, rupture deformation and modulus of elasticity, after OEO incorporation were reduced. The microscopic images showed due to the increase in OEO concentration, the films presented heterogeneous and rough surface, identical images were observed in the cross sections. The permeability of the films increased with the increase of the oil concentrations. The FTIR analyzes presented functional groups related to the bioactive compounds of the oil incorporated in the films. Microbiological analyzes demonstrated effective action of the films in the reduction of microorganisms of the total coliforms group, staphylococci coagulase positive and psychrotrophic. It was observed that the higher the concentration of OEO in the films, the higher its antioxidant activity. It was concluded that the films were efficient as active packaging and promote the conservation, aiming the control of the microbial population, in fish files, exhibited mechanical properties, thermal and water vapor permeability suitable for use as packaging for food.

Keywords: Active packaging, *Origanum vulgare*, antimicrobial.

1.0. INTRODUÇÃO GERAL

É cada vez mais crescente o consumo mundial de pescado, segundo dados da FAO, atualmente a população mundial consome cerca de 19,2 quilos per capita por ano de peixe (FAO, 2014). Devido a sua rápida deterioração e por possuir características favoráveis para o crescimento de bactérias deteriorantes e patogênicas, as embalagens ativas surgem como alternativa, para promover a segurança alimentar e prolongar a vida de prateleira de alimentos, como o pescado, interagindo de maneira intencional prolongando sua vida de prateleira e conferindo características sensoriais e/ou nutricionais desejáveis (ALMEIDA et al., 2013).

Dentre essas embalagens estão as embalagens antimicrobianas, que exercem ação de inibição de crescimento microbiano por meio da incorporação de compostos bioativos, como o óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*), conhecido como um agente de ação antimicrobiana. Em diversos estudos foram apresentados resultados relacionados a inibição do crescimento de bactérias e síntese de metabólitos microbianos, incluindo os agentes patogênicos, devido aos seus compostos fenólicos (timol e carvacrol) (OLIVEIRA et al., 2010).

Estas embalagens são constituídas de materiais poliméricos onde seu descarte têm sido motivo de preocupação global, devido aos impactos ocasionados. Com a intenção de substituir parcialmente este tipo de material, vêm sendo realizadas pesquisas em busca de encontrar materiais poliméricos renováveis, ecológicos e que possam conferir um aumento na qualidade dos produtos alimentícios (KHWALDIA et al., 2010).

Os polímeros obtidos a partir de fontes renováveis tem sido utilizados na indústria de alimentos, sendo testados como matérias-primas na produção de um novo tipo de embalagem mais sustentável, com funcionalidade específica, como o controle do teor de umidade, gases e migração de aditivos alimentares ou nutrientes (Sousa et al., 2016). Dentre os polímeros de fontes renováveis o poli (butileno adipato co-tereftalato) - PBAT apresenta-se como uma alternativa sustentável, sendo completamente degradado em poucas semanas, quando despejado em lixões municipais (COSTA et al., 2015).

Diante disto, é importante analisar o papel do OEO como aditivo em filmes biodegradáveis destinados a embalagens de alimentos, buscando compreender seu efeito sobre as propriedades microestruturais e físicas, poder antioxidante e capacidade antimicrobiana dos filmes após a incorporação do composto bioativo.

2.0. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver filmes biodegradáveis antimicrobianos de poli (butileno adipato co-tereftalato) – PBAT, incorporado com o óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*), para atuar como embalagem ativa e promover a conservação visando o controle da população microbiana em files de peixe.

2.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

- Desenvolver os filmes por extrusão;
- Produzir filmes ativos de PBAT partir da incorporação de óleo essencial de orégano como agente antimicrobiano;
- Estudar a atividade antimicrobiana dos filmes antimicrobianos em contato com o alimento;
- Estudar o potencial antioxidante dos filmes produzidos;
- Avaliar as propriedades térmicas, mecânicas, microscópicas e de barreira dos filmes produzidos.

1.0. Embalagens plásticas

A importância da alimentação para a sobrevivência humana tornou a conservação de alimentos uma das primeiras práticas utilizadas pela humanidade (MOREIRA, 2010). Conservar um alimento significa reduzir a atividade de microrganismos a fim de manter as características físicas, químicas e biológicas de um produto por mais tempo, controlando a quantidade de populações microbianas que possam provocar doenças e a deterioração dos alimentos (VALSECHI, 2006). Um mecanismo muito utilizado para preservação dos alimentos são as embalagens.

Os sistemas de embalagens tradicionais têm como função principal atuar como uma barreira a impactos físicos e/ou mecânicos, reações químicas e invasão por microrganismos, além de prevenir a migração de seus próprios compostos para o alimento. Tradicionalmente, os materiais de embalagem são selecionados, visando o mínimo de interação com o alimento que acondicionam, constituindo, assim, barreira inerte (APPENDINI, 2012).

A grande problemática ambiental deste tipo de embalagem, está na forma que ocorre o seu descarte, no entanto, devido a degradação ambiental pela ação humana, busca-se soluções compatíveis com o crescimento social e econômico. Um dos principais problemas ambientais criados pela civilização contemporânea nas sociedades industriais é o aumento dos resíduos domésticos, dos quais uma parte significativa é constituída por embalagens plásticas destinadas a alimentos e outros recipientes como película, espuma e garrafas (COSTA et al., 2015).

Estima-se que anualmente sejam produzidos 200 milhões de toneladas de plásticos em todo o mundo. Estes plásticos são produzidos a partir de derivados do petróleo e como não são biodegradáveis, representam um enorme problema ambiental. Suas características mais apreciadas - durabilidade e resistência - são em simultâneo o maior problema de sua utilização, já que se trata de compostos não degradados pela ação microbiana, devido ao excessivo comprimento das cadeias moleculares. Este fato faz com que a degradação dos plásticos ocorra lentamente, podendo demorar dezenas de anos (COSTA, 2011).

Frente a esta problemática e a crescente exigência, por parte dos consumidores, de alimento com melhor qualidade, a utilização de filmes biodegradáveis é uma ferramenta que além de agir como barreira a elementos externos, podem proteger os produtos embalados de danos físicos e biológicos, assim como impedem a volatilização

de compostos e a perda de umidade, aumentando a vida útil do produto e produzindo um polímero plástico degradável (APPENDINI, 2012).

2.0. Poli (butileno adipato co-tereftalato) - PBAT

Os materiais plásticos biodegradáveis podem ser digeridos por microrganismos aeróbios (bactérias e bolores) normalmente presentes no solo e devolvidos ao meio ambiente na forma de dióxido de carbono e água em questão de meses, este processo não demanda anos ou séculos, como os polímeros sintéticos, sendo então uma alternativa extremamente interessante (COSTA et al., 2015).

De acordo com Avérous e Boquillon (2004), os polímeros biodegradáveis podem ser divididos em duas grandes famílias: os agropolímeros e os poliésteres biodegradáveis, Onde pelo fracionamento da biomassa são obtidos os agropolímeros, representados pelas proteínas e polissacarídeos, e os poliésteres biodegradáveis divididos em três grupos de obtenção: produzidos por microrganismos via fermentação, via biotecnológica e aqueles oriundos da indústria petroquímica, incluindo o PBAT.

O PBAT é constituído de 60% butileno adipato e 40% butileno tereftalato, é um poliéster aromático-alifático biodegradável de nome comercial Ecoflex, é degradado em poucas semanas e tem sua utilização viabilizada pelo processo de extrusão, formando filmes com elevada resistência mecânica (GU et al., 2008). Este (Figura 1) é obtido por meio da combinação de 50 mol% de 1,4 butanodiol, 27,8 mol % de ácido adípico, 22 mol % de ácido tereftálico e pequenas quantidades de diácidos de dióis (WITT et al., 2001). É polimerizado a partir de ácido adípico, butanodiol e ácido tereftálico, em que os monómeros aromáticos contribuem com boa estabilidade térmica e propriedades mecânicas e os monómeros alifáticos proporcionam flexibilidade e boa biodegradabilidade (KI e PARK, 2001).

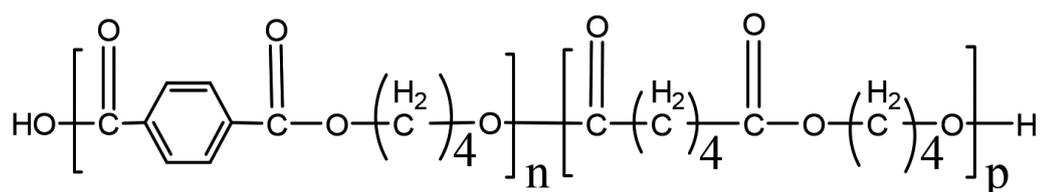


Figura 1. Estrutura química do poli (butileno adipato co-tereftalato) onde “n” representa a cadeia aromática e “p” a alifática.

O PBAT, comercialmente disponível, tem massa molar relativamente baixa (~ 50 000 g / mol) sendo apropriado para processamento como filme (Costa et al., 2015). Contém pequenas quantidades de um terceiro monômero multifuncional desconhecido, que confere um certo grau de ramificação ao copolímero de outra forma linear, possuindo uma densidade de 1,26g/cm³ a temperatura ambiente. Quanto a cristalinidade o PBAT possui um baixo grau de cristalinidade (10 a 15%) (Azevedo, 2013). Na tabela 1 estão expostos as propriedades do PBAT.

Tabela 1. Propriedades do polímero PBAT (poli (butileno adipato co-tereftalato).

Propriedade	PBAT
Temperatura de fusão (°C)	100-120
Temperatura de transição vítrea (°C)	-30
Temperatura inicial de decomposição (°C)	280
Resistência máxima à tração (N/mm ²)	35-44
Alongamento (%)	560-710
Taxa de permeabilidade ao vapor de água (g.m ² .d ⁻¹)	170
Densidade (g/cm ³)	1.2-1.5
Solubilidade em água	Insolúvel

Fonte: BASF, 2003.

Avella et al., (2005) avaliaram filmes elaborados por *casting* compostos por 52,4% de amido, 12-21,6% de água, 12% de glicerol e 14% de PBAT. Os filmes apresentaram um valor de módulo de Young igual a 682 MPa sob 15% de umidade relativa (UR) e de 150 MPa sob 60% de UR. A resistência máxima à tração foi de 7,5 MPa e 3,6 MPa, respectivamente, a 15% e 60% de UR. Lewitus et al., (2006) avaliaram filmes de PBAT elaborados por extrusão e condicionados com 50% de UR. Os filmes apresentaram valores de 49 MPa para a resistência à tração e cerca 1754 MPa para o módulo de Young. Comparando os resultados dos autores é possível verificar a versatilidade que compósitos contendo PBAT, podem ser produzidos e melhorar as propriedades mecânicas de polímeros como o amido, por meio de blendas poliméricas.

3.0. Óleo essencial de orégano - OEO

Embora a indústria de alimentos utilize os OE principalmente como aromatizantes, os mesmos representam uma fonte antimicrobiana e antioxidante natural, podendo ser utilizados na conservação dos produtos. No entanto, a aplicação dos OE na conservação de alimentos, requer conhecimentos detalhados sobre suas propriedades, ou

seja, a concentração inibitória mínima (CIM), os microrganismos envolvidos, modo de ação, além do efeito dos componentes da matriz do alimento sobre suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes (Hyldgaard et al., 2012).

A utilização de revestimento e imobilização covalente de agentes antimicrobianos (produtos químicos, antibióticos, aditivos) têm sido explorado quando incorporados a filmes (Muñoz-Bonilla e Fernández-Garcia 2012). O óleo essencial de *Origanum vulgare* possui alto conteúdo de compostos fenólicos, que têm sido considerados como os responsáveis pela sua atividade antimicrobiana (Souza et al., 2006). Esta atividade têm sido observada contra diversos microrganismos Gram-positivos, Gram-negativos e fungos, Silva et al. (2010).

Entretanto, sua eficácia depende do pH, da temperatura de armazenamento, da quantidade de oxigênio, a concentração de OE e de seus componentes ativos (Tajkarimi et al., 2010). Baser et al. (2003) realizaram estudos com vinte e quatro amostras de orégano, provenientes de vinte e três localidades da Turquia, constataram que o carvacrol era o composto de maior percentual de quase todas as amostras, variando de 23,43 a 78,73 %, o timol em segundo (Figura 2), com um máximo de 39,81%, seguidos do ρ -cimeno e γ -terpineno.

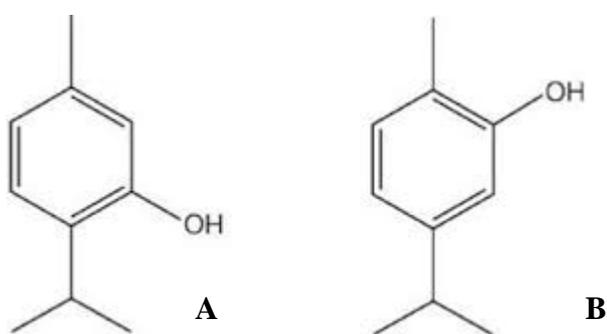


Figura 2. Formulas estruturais do Timol (a) e Carvacrol (b).

O carvacrol, 2-metil-5-(1-metiletil)-fenol, e seu isômero timol, 5-metil-2-(1-metiletil)- fenol, são monoterpênos encontrados em diversas plantas aromáticas sendo biossintetizados a partir do γ -terpineno e do ρ -cimeno (Nostro e Papalia, 2012). O timol foi sintetizado pela primeira vez por Caspar Neumann em 1719 (Friedrich, 2014); sendo estruturalmente muito semelhante ao carvacrol variando apenas a posição do grupo hidroxila no anel fenólico, como pode ser visto na Figura 2 (Lambert et al., 2001).

O carvacrol também é conhecido como isopropil-o-cresol, p-cimeno-2-ol, 5-isopropil-2-timol ou iso-timol (De Vincenzi et al., 2004). Ambos possuem fórmulas moleculares iguais a $C_{10}H_{14}O$ e pesos moleculares de $150,22 \text{ g mol}^{-1}$. No entanto, o carvacrol apresenta-se na forma líquida em temperatura ambiente cuja solubilidade em água é de $830 \pm 10 \text{ ppm}$ (Nostro e Papalia, 2012). Em contrapartida o timol em temperatura ambiente encontra-se na forma de cristais (Holland et al., 2014).

Considerando o grande número de diferentes grupos de compostos químicos presentes nos óleos essenciais, é importante dizer que a atividade antimicrobiana não é um mecanismo geral, tratando-se de um mecanismo específico, pois existem alguns sítios de ação nas células que podem ocorrer das seguintes formas: dano a membrana citoplasmática, degradação da parede celular, das proteínas, coagulação citoplasmática e diminuição da força motriz (LAMBERT et al., 2001).

Por exemplo, os mecanismos de ação dos óleos essenciais nos fungos, ocorre por meio do particionamento da camada lipídica da membrana celular fúngica, devido a hidrofobicidade dos OE e seus componentes, resultando na diminuição da integridade da membrana celular. Essas mudanças permitem maior permeabilidade para H^+ e troca de cátions K. Portanto, esses eventos podem causar uma fluxo de prótons, alterando assim os gradientes iônicos, modificando o pH da célula, afetando sua composição química e os processos metabólicos nas células patogênicas, resultando na morte celular (Beckman, 2000).

Acredita-se que os compostos fenólicos do OEO, possua mecanismo de ação similar ao de outros composto fenólicos, agindo provocando uma desordem na membrana citoplasmática, rompendo a força motriz dos prótons, aumentando o fluxo de elétrons e coagulando o conteúdo celular (Davidson, 1997). A diferença entre estes compostos e os muitos antibióticos existentes, está na capacidade que os constituintes hidrofóbicos possuem de penetrar no protoplasma das células Gram negativas através das proteínas da membrana externa (Lambert et al., 2001).

Além das propriedades antimicrobianas o OEO, possui excelentes propriedades antioxidantes, atribuídas ao elevado teor de compostos terpênicos (α -pinene, β -pinene, 1,8-cineol, mentol, linalool) ou compostos fenólicos já citados (carvacrol, eugenol e timol) (Burt, 2004). A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do metabolismo, onde radicais livres são produzidos naturalmente. O excesso desses radicais livres provocam uma peroxidação dos lipídios da membrana e agridem as proteínas dos tecidos,

no entanto, a ação dos compostos antioxidantes ocorre no substrato oxidável, inibindo a ação dos radicais livres (SALGADO et al., 2007).

Os antioxidantes podem ser classificados, segundo o mecanismo de ação, em primários ou secundários. Os antioxidantes primários atuam interrompendo a cadeia da reação pela doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres (Adegoke et al., 1998), enquanto os antioxidantes secundários atuam na complexação com metais, sequestro de oxigênio, decomposição de hidroperóxidos para formar uma espécie não radical, absorção da radiação ultravioleta ou desativação de oxigênio singleto (Decker, 2002).

De acordo com Bianchi et al. 1999 os antioxidantes são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poli-insaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular.

A oxidação lipídica e a utilização de OE, como o óleo de orégano, são umas das principais preocupações em Tecnologia de Alimentos, pois a oxidação é responsável por odores e sabores desagradáveis nos produtos, com conseqüente diminuição da segurança e qualidade nutricional, causados pela formação de compostos potencialmente tóxicos. A prevenção é economicamente importante e fundamental para a proteção da saúde humana (Tsai et al., 2005).

Segundo Cervato et al. (2000), analisando extratos de orégano (aquoso e metanólico), apresentaram eficácia na prevenção de todas as fases do processo oxidativo, primeiro pela neutralização dos radicais livres, depois pelo bloqueio da peroxidação catalisada pelo ferro (e presumivelmente por outros metais de transição) e, finalmente, pela interrupção do radical lipídico na cadeia de reações.

O regulamento técnico para especiarias, RDC n. 276 da Anvisa, reconhece o uso de duas espécies no Brasil: o orégano chileno (*Origanum vulgare L.*) e o orégano mexicano (*Lippia graveolens Kunth*), na forma de folhas e talos (BRASIL, 2005). Muito se questiona, quanto a ação nociva destes agentes, o óleo essencial de *Origanum spp.* são geralmente reconhecidos como seguros (GRAS) pelo “Food and Drug Administration” (FDA, 2006).

No entanto, o uso de óleos essenciais nos alimentos pode ser limitado, porque eles podem conferir sabores muito diferentes e odores não naturais para o alimento em questão, como por exemplo os peixes. O peixe é altamente perecível durante o armazenamento, mesmo refrigerado, principalmente devido ao crescimento microbiano

rápido de microrganismos naturalmente presentes em peixes ou oriundos de contaminação, o que pode ocasionalmente resultar em problemas econômicos ou relacionados à saúde. Muitas estratégias foram desenvolvidas para inibir a ação de microrganismos patogênicos e deteriorantes, mas ainda há uma necessidade de novos métodos para reduzir ainda mais ou eliminá-los (GÓMEZ-ESTACA et al., 2010).

A exemplo de novos métodos que apresentam características ideais para aplicação em peixes, estão as novas tecnologias de embalagem para alimentos, que se desenvolvem como uma resposta às demandas dos consumidores ou tendências de produção industrial para produtos de rápida deterioração mantendo-os frescos, saborosos com o intuito de prolongar a vida útil dos alimentos e controlar sua qualidade (DAINELLI et al., 2008). Uma tendência promissora nos últimos anos envolve a incorporação de extratos naturais (OE, extratos de plantas e seus constituintes) em materiais de embalagem.

4.0. Embalagens antimicrobianas e antioxidantes

Uma nova abordagem para ultrapassar limitações como a rápida deterioração de alguns tipos de alimentos, são as embalagens ativas, dentre estas embalagens estão aquelas com ação antimicrobiana (Emiroğlu et al., 2010). São utilizados vários termos para descrever novas tecnologias de embalagem, 'ativo', 'interativo', 'inteligente', 'indicadores', entre outros (Fabech et al., 2000; Gontard, 2000).

De acordo com o Framework Regulation on Food Contact Materials (1935/2004), os materiais e objetos ativos em contato com os alimentos são definidos como materiais e artigos que se destinam a prolongar a vida útil, manter ou melhorar as condições dos alimentos embalados. Eles contêm componentes deliberadamente incorporados, destinados a libertar ou absorver substâncias dentro ou fora do alimento embalado ou do ambiente que o rodeia. Os materiais e objetos ativos são autorizados a provocar alterações na composição ou nas características organolépticas dos alimentos, desde que as alterações respeitem as disposições previstas na legislação alimentar comunitária ou nacional.

Quando essas embalagens são incorporadas com agentes antimicrobianos sintéticos ou naturais, por exemplo OEO, são caracterizadas como embalagens ativas antimicrobianas. Nestas embalagens, os agentes antimicrobianos podem ser incorporados no próprio material de embalagem ou revestidos na superfície da película da embalagem, onde o composto antimicrobiano pode ser adicionado (Devlieghere et al., 2004).

Os filmes biodegradáveis podem ser usados para transportar ingredientes ativos, como antioxidantes e agentes antimicrobianos que fornecem um fator de estresse extra contra a deterioração oxidativa e microbiana dos alimentos (Sánchez-González, González-Martínez, Chiralt, & Cháfer, 2010, Ojagh, Rezaei, Razavi & Hosseini, 2013).

Alguns tipos de embalagens tem ação antioxidante, ou seja, retardam a oxidação lipídica dos produtos embalados, e são de grande importância para a indústria de alimentos (BRODY, 2001). É comum substâncias antioxidantes serem adicionadas ao produto e/ou a embalagem, com o objetivo de remover o oxigênio do meio ou impedir a reação em cadeia produzida pelos radicais livres formados durante o processo de oxidação. Os antioxidantes sintéticos mais utilizados são o BHA (Butil-hidroxianisol) e BHT (Butil-hidroxitolueno).

A utilização dos antioxidantes sintéticos tem sido alvo de discussões, devido ao aparecimento de diversos estudos que alegam que estes antioxidantes podem promover efeitos tóxicos e carcinogênicos no organismo. Devido a esta grande preocupação com a segurança alimentar da população, tem crescido a busca por produtos naturais que possam substituir os antioxidantes sintéticos (MARTINEZ-TOME et al., 2001; RIBEIRO et al., 2001; BERNARDO-GIL et al., 2002).

Muitos estudos tem relatado o uso de compostos antioxidantes naturais (BROINIZI et al., 2007; RIBEIRO et al., 2001) incorporados em filmes biodegradáveis para a obtenção de embalagens ativas com ação antioxidante. No estudo realizado por SOUZA et al. (2011), constatam que a incorporação de polpas de manga e de acerola como fontes de compostos ativos, principalmente carotenoides, em filmes a base de amido de mandioca, contribui de maneira eficiente para reduzir a oxidação do azeite de dendê embalado.

Resultados semelhantes são relatados por Reis (2011) que desenvolveu e caracterizou filmes ativos antioxidantes contendo extrato de erva-mate e polpa de manga a uma matriz de amido de mandioca plastificada com glicerol. O emprego de embalagens que levem ao decréscimo do aporte de O₂ e o aumento de CO₂ em frutas e hortaliças minimamente processados, como é o caso das embalagens de amido ou contendo amido, que apresentam baixa permeabilidade ao O₂, levam à indução de uma atmosfera modificada favorável à conservação destes produtos, isto porque, nestas condições, a respiração e outros processos metabólicos ficam retardados, assim como a produção de etileno, um metabólito acelerador da maturação.

Os microrganismos estão intimamente associados com a disponibilidade, a abundância e a qualidade do alimento para consumo humano. Alimentos são facilmente contaminados com microrganismos na natureza, durante manipulação e processamento. Após ter sido contaminado, o alimento serve como meio para o crescimento de microrganismos, podendo até mesmo mudar as características físicas, químicas e organolépticas do alimento levando o mesmo a deterioração (CHAN, KRIEG & PELCZAR, 1996).

A contaminação de alimentos por microrganismos e a sua proliferação em termos de saúde pública, juntamente com a preocupação em desenvolver métodos de controles em empresas alimentícias vem crescendo em todo mundo. O alimento por si próprio é um meio de cultura excelente para a proliferação de microrganismos e por meio destes microrganismos é possível avaliar o grau e a procedência da contaminação, bem como o período previsto para o consumo do alimento antes da sua deterioração (CUNHA, 2006).

Os óleos essenciais podem ser aplicados na formulação das embalagens ativas para promover propriedades antimicrobianas, e, por conseguinte, estender a vida de prateleira e reduzir ou inibir classes de microrganismos patógenos e deteriorantes, sendo encontrados diversas pesquisas que demonstraram tais propriedades, como por exemplo, nos filmes à base de alginato incorporados com óleo essencial de alho que exibiram atividade antimicrobiana satisfatória (BODINI, 2011).

O uso de embalagens contendo agentes antimicrobianos tem como vantagem a difusão desses compostos para a superfície do alimento de maneira controlada. Com isso, estão presentes em menores quantidades, atendendo a uma demanda atual do consumidor - que é a busca por alimentos livres de conservantes - e apenas onde sua presença é requerida, ou seja, especialmente na superfície do produto, onde a maior parte das deteriorações ocorre (Montes et al., 2013).

Quando o antimicrobiano é liberado da embalagem ao longo do tempo, a cinética de multiplicação microbiana e a atividade antimicrobiana na superfície do produto podem ser equilibradas (figura 3). As embalagens antimicrobianas apresentam-se de várias formas; a mais conhecida é como sachês antimicrobianos, contendo agentes voláteis que permitem o controle do desenvolvimento de microrganismos, como forma para reduzir o crescimento destes (Medeiros et al., 2011). Dessa forma, a atividade antimicrobiana da embalagem pode ser estendida, garantindo a segurança durante a distribuição dos alimentos (SOARES et al., 2009).

Medeiros et al., 2011 elaboraram sachês incorporados com OEO e capim-limão (*Cymbopogon citratus*) avaliaram as propriedades físico-químicas e microbiológicas de mangas armazenadas em saco de papel contendo estes sachês em seu interior. Observaram que os óleos inibiram o crescimento de *Colletotrichum gloeosporides*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferae* indica, *Alternaria alternata*, no entanto, o óleo de capim-limão apresentou melhores resultados quando comparado ao OEO.

Sousa et al., 2016 avaliaram a vida útil das massas de lasanha frescas intercaladas com películas extrusadas feitas de misturas de farinha de arroz, PBAT, glicerol e sorbato de potássio. Os filmes ativos controlaram o crescimento microbiano (coliformes termotolerantes e bolores e leveduras), aumentando assim a vida útil das massas frescas. Martucci et al., 2015 analisaram filmes de gelatina contendo OEO, foi observado que os filmes exibiam as propriedades antimicrobianas e antioxidantes mais elevadas, que o óleo de lavanda (OL), sendo eficientes na inibição de *Escherichia coli* e crescimento de *Staphylococcus aureus*.

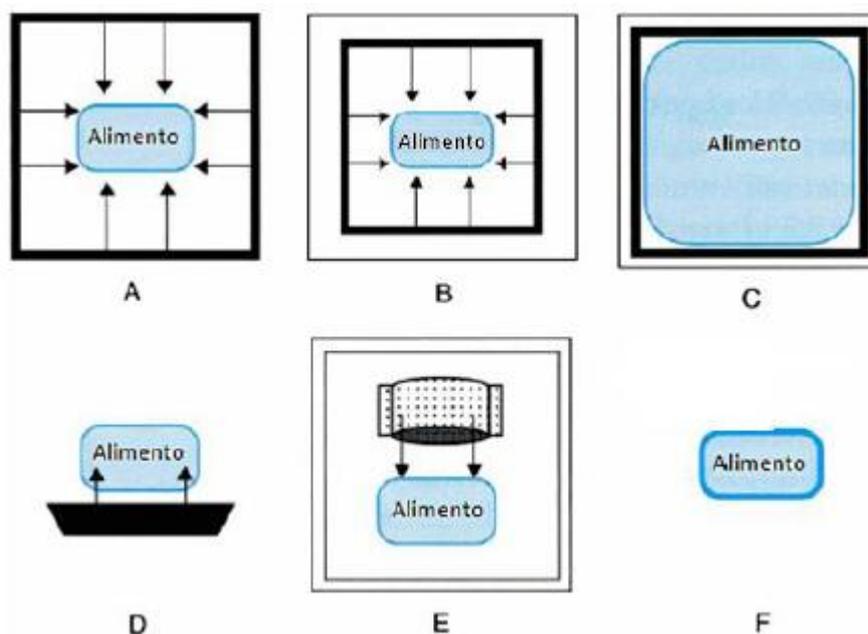


Figura 3. Possíveis formas de construção de sistemas de embalagens antimicrobianas para alimentos. (A) incorporação de materiais antimicrobianos na embalagem; (B) revestimento de embalagens convencionais com agentes antimicrobianos; (C) imobilização e agentes antimicrobianos em embalagens poliméricas; (D) uso de bandejas com antimicrobianos; (E) uso de sachês/voláteis contendo agentes antimicrobianos; (F) revestimento comestível antimicrobiano. Fonte: (Miranda, 2010).

Recentemente foram publicados vários relatos sobre a atividade antimicrobiana de vários óleos essenciais incorporados em filmes biodegradáveis usando aplicação direta, por meio do contato direto entre microrganismos e agentes antimicrobianos. Alguns autores relataram que a fase de vapor dos óleos essenciais, onde não existem o contato direto entre o óleo essencial e a superfície do meio, exibem bom poder inibidor contra patógenos transmitidos pelos alimentos e bactérias deteriorantes, sendo cada vez mais eficaz do que a aplicação direta, que por sua vez pode reduzir a alteração organoléptica induzida por óleos essenciais (SHOJAE-ALIABADI et al., 2013).

5.0. Embalagens antimicrobianas destinadas a pescado

Microrganismos deteriorantes e patogênicos, necessitam de alguns fatores que permitem seu desenvolvimento, sendo intrínsecos ao pescado, como pH próximo da neutralidade, elevada atividade de água, teor de nutrientes facilmente utilizáveis por microrganismos, alta atividade metabólica da microbiota acompanhante, desta forma reduzindo a vida de prateleira do pescado (Silva et al., 2008). Ao se pensar em consumo, a população mundial consome cerca de 19,2 quilos per capita por ano de peixe segundo dados da FAO (FAO, 2014).

Para aumentar a oferta de pescado fresco no mercado, foi necessário recorrer a novas técnicas de preservação, que permitissem aumentar a vida útil desse produto, para que pudesse suportar uma cadeia de distribuição mais longa, típica dos mercados atuais. Por estes motivos, embalagens destinadas a peixes (Figura 4) vem sendo estudadas, na tentativa de aumentar a sua vida de prateleira (OLIVEIRA e SANTOS, 2012).



Figura 4. Embalagem a vácuo para utilização na conservação de pescado. Fonte: Embalagem ideal.

Min & Oh (2009) estudaram a atividade antimicrobiana do óleo de *Origanum* (OG) em um revestimento de gelatina extraída de peixe gato contendo concentrações de OG (0,5%, 1,0% e 2,0%, v/v), contra *Salmonella* Typhimurium e *E. coli* O157: H7. A eficácia foi investigada em carnes de bagre irradiadas, inoculadas com as bactérias em questão e armazenadas a 4°C e 10°C durante 12 dias. A incorporação de OG em revestimento de gelatina extraída de peixe-gato, apresentou maior atividade antimicrobiana contra *S. Typhimurium* que contra *E. coli* O157: H7.

Gómez-Estaca et al. (2010) elaboraram películas comestíveis utilizando gelatina de quitosana incorporadas com óleo essencial de cravo e sua atividade antimicrobiana foi testada contra seis microrganismos selecionados: *Pseudomonas fluorescens*, *Shewanella putrefaciens*, *Photobacterium phosphoreum*, *Listeria innocua*, *Escherichia coli* e *Lactobacillus acidophilus*. Os filmes foram aplicados aos peixes durante o armazenamento refrigerado, onde observou-se que o crescimento de bactérias Gram-negativas foi drasticamente reduzido especialmente enterobactérias, enquanto as bactérias de ácido láctico permaneceram praticamente constante durante o período de armazenamento.

Iturriaga et al. (2012), produziram filmes de gelatina tipo A e metilcelulose, incorporados com óleo essencial de orégano e a atividade antimicrobiana dos mesmos foi testada contra duas bactérias responsáveis pela deterioração de peixes (*Pseudomonas fluorescens* e *Aeromonas hydrophila / caviae*) e *Listeria innocua*, a fim de avaliar sua potencial utilização na preservação e segurança de produtos minimamente processados de peixe. Todos os filmes desenvolvidos mostraram efetividade antimicrobiana contra as bactérias alvo, a bactéria mais sensível em relação aos filmes ativos foi *L. innocua*.

Segundo Lee et al., (2016) filmes de proteína com farinha de sementes de pimenta vermelha (RMP), contendo 0; 0,1; 0,3;0,5; 0,7 e 1% de OEO, reduziu as populações de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* Typhimurium em 0,73 e 0,89 log UFC/mL, respectivamente, após armazenamento a 4°C durante 12 dias em carnes de atum. Além disso, o filme compósito RMP contendo 0,5% de OEO diminuiu o grau de oxidação lipídica na carne de atum gordo.

Apenas os peixes, crustáceos e moluscos que possuam uma melhor qualidade inicial, podem beneficiar-se das vantagens de um maior período de vida útil, conseguido por meio da técnica de embalagem. As vantagens também dependem de cada espécie, do seu teor em gordura, da sua carga microbiana inicial, da mistura de gases da atmosfera e da temperatura utilizada no armazenamento (SANTOS & OLIVEIRA, 2012).

6.0. Efeitos da incorporação de OEO em embalagens biodegradáveis

As diversas propriedades dos polímeros que servirão de matriz para a produção das embalagens antimicrobianas, podem ser modificadas pela incorporação do antimicrobiano, dependendo do polímero utilizado (composição química), da interação entre o polímero e o(s) aditivo(s) utilizado(s) e do processamento ao qual foi submetido o material. Sendo assim, o efeito da incorporação de óleos essenciais em filmes sobre suas propriedades, por exemplo, dependerá da característica de cada óleo e de sua interação com a matriz polimérica (ATARÈS et al., 2010).

Por este motivo, diversos autores tem estudado os efeitos que a incorporação do OEO podem causar em um determinado polímero, modificando algumas das suas propriedades físicas, químicas e térmicas, Shojaee-Aliabadi et al. (2013) - filme de k-carragenina contendo óleo essencial de *Satureja hortensis*; Lee et al. (2016) – filme farinha de sementes de pimenta vermelha contendo óleo de orégano; Martucci et al. (2015) - OEO incorporado em filmes de gelatina biogênica.

6.1. Morfologia dos filmes

A principal função de qualquer microscópio é tornar visível ao olho humano o que for muito pequeno para tal, os microscópios ópticos convencionais ficam, então, limitados a um aumento máximo de 2000 vezes, porque acima deste valor, detalhes menores são imperceptíveis. Para a análise morfológica de filmes, é utilizado o microscópio eletrônico de varredura (MEV), onde seu funcionamento é baseado na utilização de um feixe de elétrons no lugar de fótons (utilizados em um microscópio óptico convencional), permitindo solucionar o problema de resolução (DEDAVID et al., 2007).

O MEV é um aparelho que pode fornecer rapidamente informações sobre a morfologia e identificação de elementos químicos de uma amostra sólida. Sua utilização é comum em biologia, odontologia, farmácia, engenharia, química, metalurgia, física, medicina e geologia. A principal razão de sua utilidade é a alta resolução, que pode ser obtida quando as amostras são observadas em valores na ordem de 2 a 5 nanômetros. Instrumentos de pesquisa avançada são capazes de alcançar uma resolução menor que 1nm (NAGATANI et al. 1987).

Devido a sua alta resolução a utilização do MEV em análises morfológicas de filmes é eficiente, pois permite uma observação apurada, possibilitando inferir até a

respeito da dispersão do OEO na matriz, segundo Martucci et al. (2016) com a adição de OE, a seção transversal das películas tornou-se ligeiramente mais áspera em comparação com o controle, no entanto, não foram observadas gotículas de óleo nos filmes, mesmo na concentração mais elevada, indicando que houve uma boa dispersão.

Em contraste, Hosseini et al. (2015) notaram uma superfície lisa nos filmes adicionados com óleo essencial, independentemente do teor de óleo. No entanto, a presença de OEO causou descontinuidades na matriz do filme, provavelmente devido à interação proteína-polissacarídeo mais fraca (Bonilla et al., 2012). À medida que o teor de óleo aumentou de 0,4 para 1,2% (p / v), as gotículas lipídicas foram ligeiramente aumentadas, talvez devido às forças de deformação que agiram durante a agregação da cadeia polimérica por evaporação do solvente (Sánchez-González et al., 2009) Conseqüentemente, o aumento do tamanho das gotas de óleo pode aumentar a formação de gotículas e a separação de fases. O óleo essencial de orégano possui alto teor lipídico que pode ser separado e centrado na superfície superior do filme, durante o passo de secagem.

Alguns autores relatam a existência de poros em filmes produzidos com mucilagem de sementes de marmelo (QSM) incorporados com concentrações 1,5 e 2% de OEO, estes apresentaram uma textura solta com estrutura tipo esponja, com poros distribuídos por toda a matriz QSM. Segundo os autores o OEO pode ter evaporado durante a secagem levando à formação de micro poros ao longo dos filmes (AHMAD, BENJAKUL, PRODPRAN, & AGUSTINI, 2012).

A existência de orifícios ou poros pode estar relacionada com a volatilidade do óleo essencial de orégano. Na verdade, esses espaços foram preenchidos com óleo essencial que se evaporou da superfície do filme (Sanchez-Gonzalez et al., 2011). Observações como esta podem explicar a baixa permeabilidade ao vapor d'água (PVA), em filmes QSM com maior teor de óleo.

6.2. Permeabilidade ao vapor d'água (PVA)

Segundo a ASTM E96-95 permeabilidade é a taxa de transmissão de vapor de água por unidade de área através do filme, de espessura conhecida, induzida por um gradiente de pressão entre duas superfícies específicas, de umidade relativa e temperatura especificada (ASTM, 1995). A obtenção de filmes com boas propriedades de barreira ao vapor de água, isto é, com baixa permeabilidade dentro de uma grande faixa de umidade relativa, implica na utilização de material insolúvel ou de pouca solubilidade em água,

mas isto não desqualifica o filme, pois a sua aplicação, dependerá do produto à ser aplicado (FARIAS et al., 2012).

A taxa de permeabilidade está diretamente ligada a qualidade do alimento, pois a aplicação de filmes em alimentos com altas taxas de permeância, poderá desencadear reações físico-químicas e o crescimento de microrganismos deteriorantes no alimento. Entretanto, a utilização de um revestimento incluindo elementos hidrofóbicos (por exemplo, óleos, gorduras, ceras, emulsionantes, óleos essenciais, etc.) pode ser aplicada para isolar ou manter a separação de constituintes variando a atividade da água dentro de um alimento composto (LACROIX, 2009).

A incorporação de óleo de lavanda e orégano reduziu a PVA de filme de gelatina, devido à natureza hidrofóbica dos óleos essenciais, que afeta o equilíbrio hidrofílico/hidrofóbico do filme e conseqüentemente a capacidade de absorção de água. (Ojagh et al., 2010; Teixeira et al., 2014). Du et al. (2009) descobriram que as propriedades de PVA em filmes de tomates não foram afetadas pela incorporação do OEO, em comparação com os filmes controle, os autores presumem que devido aos compostos existentes no óleo não serem de origem lipídica, como por exemplo terpenos, não irão influenciar o balanço hidrofílico/hidrofóbico dos filmes.

De acordo com Perez-Gago e Krochta (2001) as interações dos constituintes do óleo com alguns domínios proteicos hidrofílicos, podem promover a diminuição da propriedade hidrofóbica da matriz polimérica. No entanto, outros trabalhos sobre a adição de óleos essenciais apresentaram melhorias na PVA (Benavides et al., 2012, Pelissari et al., 2009, Tongnuanchan et al., 2012).

6.3. Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos polímeros são caracterizadas pelo modo como estes materiais respondem as solicitações mecânicas aplicadas, podendo estas serem do tipo tensão ou deformação. A determinação do comportamento mecânico, pode ser realizada pelas características como: modulo de elasticidade, tensão máxima e deformação na ruptura. A natureza da resposta aos ensaios mecânicos a que filmes são submetidos, dependem da estrutura química, temperatura, tempo e da história (condições) de processamento do polímero (CANEVAROLO, 2013).

Compreende-se por tensão máxima (MPa ou N/m²), a resistência máxima oferecida pelo material quando submetido à tração, tratando-se da relação entre a força medida pela área transversal inicial do corpo de prova. Módulo de elasticidade ou Young

(MPa ou N/m²) é a relação entre a tensão de tração *versus* deformação. Deformação na ruptura é a relação percentual entre o alongamento do corpo-de-prova e seu comprimento inicial (Sarantópoulos et al 2002). A Figura 5 representa o comportamento dos polímeros e suas principais propriedades de tração.

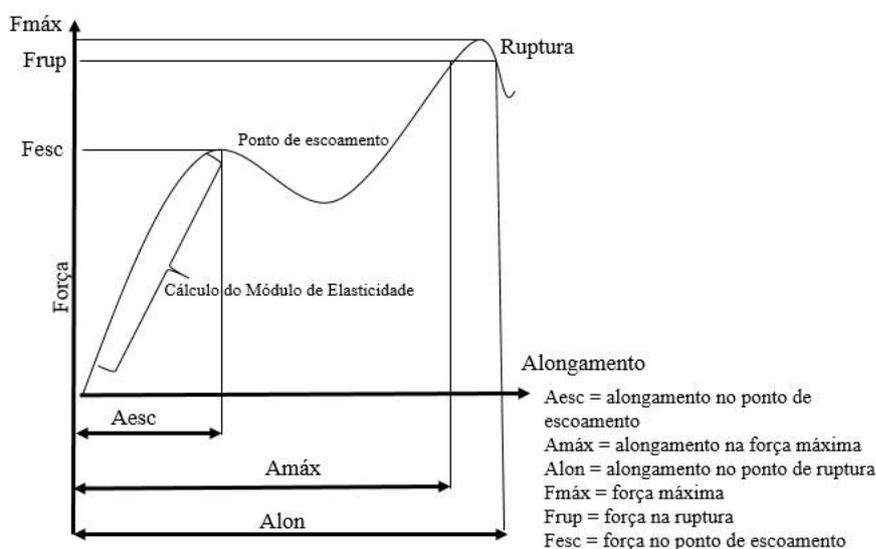


Figura 5. Curva característica da relação de tração versus deformação ou força de tração versus alongamento. (Fonte: SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Autores como Atarés et al. (2010) afirmam que o efeito da incorporação de óleos essenciais em filmes sobre as propriedades mecânicas dos mesmos, dependem das características de cada óleo e de sua interação com a matriz polimérica. Zivanovic et al. (2005) observaram que após a incorporação do OEO em filmes de quitosana, ocorreu uma diminuição da força de punção, resistência à tração e a percentagem de alongamento foi aumentada. Este comportamento é justificado pelo aumento do peso molecular da matriz polimérica, após a adição do OEO. A depender da estrutura química que o polímero é constituído, pode ocorrer uma interação entre as moléculas do OEO e a matriz, desta forma, aumentando seu peso molecular e sua espessura.

Alguns estudos apontam que o OEO e outros óleos, possuem ação plastificante, esta afirmação está atribuída à interrupção que ocorre nas cadeias agregadas da matriz polimérica devido a presença do óleo, que suporta o deslizamento das cadeias durante o alongamento da película, confirmando o papel plastificante do óleo essencial (Bonilla et al., 2012). Este efeito foi encontrado por autores como Hosseini et al. (2015); Zivanovic et al. (2005), todos os autores observaram aumento na deformação dos seus filmes.

Os componentes lipídicos presentes nos óleos podem afetar a matriz polimérica. Pois a inclusão de lipídios ou óleos em proteínas ou películas à base de polissacárideos podem interferir nas interações cadeia-cadeia do polímero e produzir domínios flexíveis (Tongnuanchan et al., 2012). As interações entre as moléculas de um polímero polar são muito mais poderosas do que as moléculas lipídicas não polares contidas nos óleos, estas características promovem a obtenção de filmes menos rígidos e menos flexíveis (YANG & PAULSON, 2000).

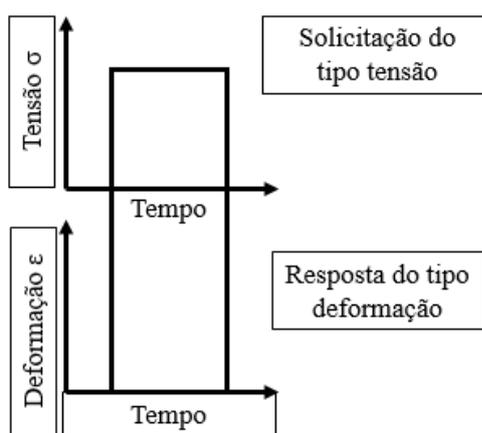


Figura 6. Comportamento de um polímero em ensaio mecânico em resposta a uma solicitação de tensão, através da deformação (ϵ). Fonte: adaptado de CANEVAROLO, 2013).

Rojas-Graü et al. (2007) observaram aumento na porcentagem de alongamento em filmes de alginato e purê de maçã adicionados de OEO. Não foi identificada diferença estatística significativa ($p < 0,05$) comparando o controle e os tratamentos adicionados com OE, portanto, a incorporação não apresentou efeito sobre o alongamento do material de embalagem nos diferentes tratamentos. Assim, não aconteceu alterações na matriz, ou seja, não existiu uma interação entre os componentes moleculares ou esta não foi suficientemente forte para ocasionar uma mudança nas características da matriz.

6.4. Propriedades térmicas

As propriedades térmicas dos polímeros são obtidas por meio das análises térmicas, que definem-se como um grupo de técnicas nas quais uma propriedade física de uma substância e/ou seus produtos de reação é medida em função da temperatura, enquanto a substância é submetida a um programa controlado de temperatura, segundo a Confederação Internacional de Análise Térmica, e Calorimétrica (ICTAC). Dentre as

técnicas mais utilizadas, estão as Análise Termogravimétrica (TGA) e a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).

Estas técnicas permitem a obtenção de informações como a variação de massa, estabilidade térmica, pureza, ponto de fusão, ponto de ebulição, calores de transição, calores específicos, diagramas de fase, cinética de reação, estudos de catalisadores, transições vítreas, entre outras (Ionashiro, 2004). Quando destinados a análises de polímeros, podem ser obtidas informações como ponto de fusão, ebulição, transições vítreas, variação de massa e estabilidade térmica, estas informações resultam em curvas denominadas termogramas.

As técnicas termogravimétrica, TG, e de DSC, vêm sendo realizadas sob controle sistemático de alguns parâmetros, tais como: a taxa de aquecimento, a atmosfera, o ganho ou a perda de massa, a temperatura e o fluxo de calor, sendo exo ou endotérmico. Estes controles foram estabelecidos para a identificação e a investigação de processos, se existentes, como a isomerização, oxidação, desidrogenação, vaporização, polimerização e degradação térmica, conforme as características dos picos, a faixa de temperatura e a ocorrência ou ausência da perda de massa pela amostra (TUREK & STINTZING, 2013).

Curvas térmicas de OEO, mostram que o óleo possui um único evento de perda de massa, iniciada a partir de 171 ° C e com o pico a 195 ° C, ou seja, seu ponto de máximo de degradação térmica (Hosseini et al., 2015). A incorporação de OEO em algumas matrizes poliméricas a exemplo copolímero de álcool vinílico etileno, reduz o processo de cristalização e a entalpia de fusão do polímero, devido ao alto teor de aditivos dentro da matriz (MURIEL-GALET et al., 2015).

Alguns autores analisando curvas de DSC, relatam que com a incorporação do OEO, ocorre uma alteração que pode ser descrita pela ação plastificante do óleo, ocasionando um aumento no volume livre dentro da rede polimérica e a mobilidade segmentar das cadeias poliméricas (Sobral et al., 2001). Resultados semelhantes foram encontrados por Aliheidari et al. (2013) em filmes à base de caseinato de sódio contendo óleo essencial de *Matricaria recutita*.

De acordo com Lee et al., 2016 analisando película composta de gelatina de semente de pimenta, contendo 0,5% de OEO apresentaram uma temperatura de degradação térmica de 35,8 ° C e perda de peso de 3,4%, enquanto que o filme controle apresentou degradação de 34,3 ° C e 5,6%. De uma forma geral, os autores perceberam que o filme compósito incorporado com 0,5% de OEO, aumentou a estabilidade térmica em comparação ao filme controle.

Este aumento pode ser atribuído à rede de filmes, que possivelmente pode ter sido reforçada após a incorporação do OEO. Resultados similares foram encontrados por Ahmad et al. (2012) em filmes de gelatina com bergamota e óleo de capim-limão, observaram que após incorporação houve um aumento da estabilidade térmica, comparada ao filme controle.

7.0. Tendências futuras para as embalagens antimicrobianas biodegradáveis

O uso de embalagens tem se tornado indispensável para a sociedade, pois desempenha diversas funções importantes, em diversos momentos do cotidiano e para as mais diversas finalidades, dentre elas, garantir a qualidade dos alimentos. Neste contexto, a ciência buscando atender as exigências de um novo mercado consumidor e as necessidades da indústria alimentar, têm buscado o desenvolvimento de embalagens sustentáveis, ativas e inteligentes. As indústrias, principalmente de alimentos, devem cada vez mais buscar desenvolver tecnologias de embalagens, que utilizam a menor quantidade possível de material para um mesmo produto. Além disso, cada vez mais a população será conscientizada, por meio de políticas públicas, a reduzir o consumo e o descarte inadequado de embalagens sintéticas (LANDIM et al., 2015).

É importante enfatizar que as embalagens ativas e inteligentes são componentes de um sistema complexo de embalagens, em que nela estão envolvidas interações complexas de migrações de compostos e aspectos toxicológicos que demonstram a necessidade de pesquisas e geração de conhecimentos na área. Desta forma, a combinação de tecnologias básicas e a interação entre as diversas áreas de conhecimento, irão apontar tendências futuras de pesquisas e gerar conhecimentos necessários, que possam ser empregados no processamento de embalagens ativas e inteligentes, sendo essencial para que ocorra maior segurança dos alimentos e aumento da vida de prateleira dos produtos acondicionados.

8.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adegoke, G.O., Vijay Kumar, M., Gopalakrishna, A. G., Varadaraj, M. C., Sambaiah, K., Lokesh, B. R. Antioxidants and lipid oxidation in food - a critical appraisal. **Journal of Food Science & Technology**, v.35, n.4, p. 283-98, 1998.

Ahmad, S.M., Tansey, T.R., Busser, B.W., Nolte, M.T., Jeffries, N., Gisselbrecht, S.S., Rusan, N.M., Michelson, A.M. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicornleatherjacket incorporated with essential oils. **Food Hydrocolloides**, v. 28, p. 188-199, 2012.

Aliheidari, N., Fazaeli, M., Ahmadi, R., Ghasemlou, M., Emam-Djomeh, Z., Comparative evaluation on fatty acid and *Matricaria recutita* essential oil incorporated into casein-based film. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 56, p. 69-75, 2013.

Almeida, M. M. B., Sousa, P. H. M., Arriaga, A. M. C., Prado, G. M., Magalhães, C. E. C., Maia, G. A., Lem, T. L. G. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v.44, p.2155-2159, 2013.

American Society for Testing and Materials (ASTM). 2009. Designation D882-09: Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. Philadelphia: ASTM. Annual book of ASTM standards.

Appendini, P.; Hotchkiss, J. H. Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science & Emerging Technologies, Amsterdam**, v. 3, p.113-126, 2012.

Atarés, L., Jesús, L., Talens, P., Chiralt, A. Characterization of SPI-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. **Journal of Food Engineering**, v. 99, p. 384–391, 2010.

Avella, M., De Vlieger, J. J., Errico, M. E. BRODY, A. L. What´s active in Active Packaging biodegradable starch/clay. **Food Technology**, v. 55, n. 9, 2001.

Avérous, L.; Boquillon, N. Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behaviours. **Carbohydrate Polymers**, v.56, p. 111-122, 2004.

Azevedo, H. M. C.; Faria, J. A. F.; Azeredo, A. M. C. Embalagens ativas para alimentos. **Ciência e Tecnologia de alimentos**, v. 20, n. 3, p. 337-341, 2013.

Baser, K .H. C., Ozek, T., Tumen, G., Sezik, E. Composition of the essential oils of Turkish *Origanum* species with commercial importance. **Journal of Essential Oil Research**, v. 5, n. 6, p. 619-623, 2003.

Beckman, C.H. Phenolic-storing cells: key to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defense response in plants. Physiological and Molecular Plant Pathology. v. 57, p. 101-110, 2000.

Bernardo-Gil, M. G., Ribeiro, M. A., Esquível, M. M. Produção de extratos para a indústria alimentar: uso de fluidos supercríticos. **Boletim de Biotecnologia**, v. 73, p. 14-21, 2002.

Bianchi, M. L.P & Antunes, L. M. G. Radicais Livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 23- 130, 1999.

Bodini, R. B. Desenvolvimento de materiais poliméricos bioativos a base de gelatina e própolis. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga-SP.

Bonilla, J., Atarés, L., Vargas, M., Chiralt, A.. Effect of essential oils and homogenization conditions on properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloides**, v. 26, p. 9–16, 2012.

Bonilla, M & Garcia, F. Polymeric materials with antimicrobial activity. **Progress in Polymer Science**, v.37, n.2, p.281–339, 2012.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA. (2001). Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. *Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil.

Broinizi, P. R. B.; Andrade-Wartha, E. R. S.; Silva, A. M. O.; Novoa, A. J. V.; Torres, R. P.; Azeredo, H. M. C.; Alves, R. E.; Mancini-Filho, J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale L.*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.27, n.4, p.902-908, 2007.

Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 223-253, 2004.

Canevarolo, 2013. *Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros*. São Paulo: Artliber Editora.

Cervato, C., Carabelli, M., Gervasio, S., Cittera, A., Cazzola, R., Cestaro, B. Antioxidant properties of oregano [*Origanum vulgare*] leaf extracts. **Journal of Food Biochemistry**, v.24, n.6, p.453-65, 2000.

Chan, E.C.S., Pelczar Jr., M.J., Krieg, N.R., *Microbiologia: Conceitos e Aplicações*, v.1, ed. 2, São Paulo, Makron Books (1996).

Costa, R.S.T. Produção de Bioplásticos por Culturas Mistas em SBR. Universidade de Aveiro, p. 90, 2011.

Costa, S. S., Druzian, J. I., Machado, B. A. S., Souza, C. O. Guimarães, A. G. Bi-Functional Biobased Packing of the Cassava Starch, Glycerol, Licuri Nanocellulose and Red Propolis. **Plos One**, v. 9, n. 11, 2015.

Cunha, M.A. Métodos de detecção de microrganismos indicadores. **Saúde & Ambiente em Revista**, v.1, n.1, p.09-13, jan-jun 2006.

Dainelli, D., Gontard, N., Syropoulos, D., Zondervan-van, D. P. Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns. **Trends in Food Science and Technology**, v. 19, p. 103-112, 2008.

Davidson, P. M. Antimicrobial compounds. In: Francis, F. J. Encyclopedia of Food Science and Technology. New York: John Wiley & Sons, v.1, p. 63-75, 2000.

De Vincenzi, M., Stamatii, A., De Vincenzi, A., Silano, M. Constituents of aromatic plants: carvacrol. **Fitoterapia**, v. 75, p. 801-804, 2004.

Decker, E.A., Akoh, C.C., Min, D.B. Antioxidant Mechanisms. In: Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 2002. p.517-42.

Dedavid, B.A., Costa, E.M., Ferreira, C.R.F.. A Study of Precipitates nanocomposites films for food packaging applications. **Food Chemistry**, v. 93, p. 467 – 474, 2005.

Devlieghere, F., Verneulen, A., Debevere, J. Chitosan Antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. **Food Microbiology**, v. 21, p.703-714.

Du, W-X., Olsen, C.W., Avena-Bustillos, R.J., Mchugh, T.H., Levin, C.E., Mandrell, F. M. Antibacterial Effects of Allspice, Garlic, and Oregano Essential Oils in Tomato Films Determined by Overlay and Vapor-Phase Methods. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 7, p.390-397, 2009.

Emirođlu, Z. K., Yemiř, G. P., Cořkun, B. K., & Candođan, K. Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. **Meat Science**, v. 86, n. 2, p. 283-288, 2010.

Farias, M. G., Carvalho, C. W. P., Takeiti, C. Y., Ascheri, J. L. R. O efeito da permeabilidade ao vapor de água molhabilidade e solubilidade em água em filmes de amido e polpa de acerola. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 2012.

Fabech, B., Hellstrøm, T., Henrysdotter, G., Hjulmand-Lassen, M., Nilsson, J., Rüdinger, L. Active and intelligent packaging, a nordic report on the legislative aspects. **Tech & Doc Editions Lavoisier**, 2000.

FAO – Organização das nações unidas para a agricultura e alimentação. The State of World Fisheries and Aquaculture, 2014. Disponível em:

<http://www.fao.org/fishery/sofia/en>. Acesso em 22/11/2015.

FDA - Food and Drug Administration. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook, Office of the Commissioner, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Department of Health and Human Services, College Park, MD, 2009.

Friedrich, C. Pharmacists in German Cultural History. Anales de la Real Academia Nacional de Farmácia, v. 80, p. 600- 613, 2014.

Gómez-Estaca, J., Bravo, L., Gomez-Guillen, M.C., Aleman, A., Montero, P. Antioxidant properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films induced by the addition of oregano and rosemary extracts. **Food Chemistry**, v. 112, p. 18–25, 2009.

Gu, S. Y., Zhang, K., Ren, J., Zhan, H. Melt rheology of polylactide/poly (butylene adipate co-terephthalate) blends. **Carbohydrate Polymer**, v. 74, n. 1, p. 79-85, 2008.

Holland, R.D., Wilkes, J.G., Cooper, W.M., Alusta, P., Williams, A., Pearce, B., Beaudoin, M., Buzatu, D. Thymol treatment of bacteria prior to matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometric analysis aids in identifying certain bacteria at the subspecies level. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, v. 28, p. 2617– 2626, 2014.

Hosseini, S.F., Rezaeia, M., Zandib, M., Farahmandghavi, F. 2015. Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. *Industrial Crops and Products*, v. 67, p. 403–413.

Hyldgaard, M., Mygind, T., Meyer, R.L. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, 2012.

Ionashiro, M. *Giolito: Fundamentos da termogravimetria, análise térmica diferencial, calorimetria exploratória diferencial*. Araraquara: Giz editorial, 2004. 96p.

Iturriaga, L., Olabarrieta, I., Martínez, I. M. Antimicrobial assays of natural extracts and their inhibitory effect against *Listeria innocua* and fish spoilage bacteria, after incorporation into biopolymer edible films. **International Journal of Food Microbiology**, v.158, p. 58–64.

Ki, H.M., Park, B. Preparation and rheological characteristics of ethylene-vinyl acetate copolymer/organoclay nanocomposites. **Journal of Macromolecular Science**, v.46, p.261 – 273, 2007.

Khwalidia, K.; Arab-Tehrany, E.; Desobry, S. Biopolymer coatings on paper packaging materials. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 1, p. 82-91, 2010.

Lambert, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote, P., Nychas, G.-J.E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, p. 453–462, 2001.

Landim, A. S.; Filho, G. R.; Assunção, R. M. N. D. Use of polystyrene sulfonate produced from waste plastic cups as an auxiliary agent of coagulation, flocculation and flotation for water and wastewater treatment in Municipal Department of Water and Wastewater in Uberlândia-MG, Brazil. **Polymer Bulletin**, v. 58, n. 2, p. 457–463, 2015.

Lee, S., Jeong, E., Lee, M. Y., Lee, M., Lee, Y. Improvement of the mechanical and thermal properties of polyethersulfone-modified epoxy composites. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 33, p. 73–79, 2016.

Lewitus, D., McCarthy, S., Ophir, A., Keing, S. The effect of nanoclays on the properties of PLLA-modified polymers part1: mechanical and thermal properties. **Journal Polymers Environmental**, v. 14, p. 171-177, 2006.

Martucci, J.F., Gende, L.M., Neira, R.A. Oregano and lavender essential oils as L.B antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films. **Industrial Crops and Products**, v. 71, p. 205–213, 2015.

Min, S., Krochta, J. M. Ascorbic Acid-Containing Whey Protein Film Coatings for Control of oxidation. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 55, n. 8, p. 2964-2969, 2009.

Montes, S. S., Neta, L. G. S., Cruz, R. S. Óleos Essenciais Em Embalagens Para Alimentos – Revisão De Literatura De 2000 A 2012. **Perspectivas Da Ciência E Tecnologia**, v.5, n. 1/2, 2013.

Moreira, S. A. Alimentação e comensalidade: aspectos históricos e antropológicos. **Ciência e Cultura, Campinas**, v. 62, n. 4, 2010. Disponível em: Acesso em: 18 jun. 2014.

Muriel-Galet, V., Cerisuelo, J. P., López-Carballo, G., Lara, M., Gavara, R., Hernández-Muñoz, P. Development of antimicrobial films for microbiological control of packaged salad. **International Journal of Food Microbiology**, v. 157, p.195–201, 2012.

Nagatani, T.; Saito S.; Sato, M.; Yamada, M. Development of an ultra high resolution scanning electron microscope by means of a field emission source and in-lens system. **Scanning Microscopy**. v.11, p. 901-909, 1987.

Nostro, A., Papalia, T. Antimicrobial Activity of Carvacrol: Current Progress and Future Prospectives. **Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery**, v. 7, p. 28-35, 2012.

Ojaghc, S. M., Ghasemloub, M., Hosseinia, S. M., Khaksar, R. Characterization of antioxidant-antimicrobial-carrageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 52, p. 116– 124, 2013.

Oliveira, C.E.V.; Stamford, T.L.M.; Gomes Neto, N.J.; Souza, E.L. Inhibition of *Staphylococcus aureus* in broth and meat broth using synergies of phenolics and organic acids. **International Journal Food Microbiology**, v. 137, p. 312-316, 2010.
Perez-Gago, M.B., Krochta, J.M. Lipid particle size effect on water vapour permeability and mechanical properties of whey protein/beeswax emulsion films. **Journal Agriculture Food Chemistry**. 49, 996–1002, 2001.

REIS, L. C. B. Formulação e caracterização de filmes biodegradáveis de fécula de mandioca e incorporados com polpa de manga e extrato de erva mate, e seu efeito na preservação de alimentos. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador – BA. p.151, 2011.

Rojas-Graü, M.A., Avena-Bustillos, R.J., Olsen, C., Friedman, M., Henika, P.R., Martín-Belloso, O., Pan, Z., Mchugh, T.H. Effects of plant essential oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films. **Journal of Food Engineering, Essex**, v. 81, n. 3, p. 634-641, 2007.

Salgado, P.R., Schmidt, V.C., Ortiz, S.E.M., Mauri, A.N., Laurindo, J.

Biodegradable foams based on cassava starch, sunflower proteins and cellulose fibers obtained by a baking process. **Journal of Food Engineering**, Vol. 85, p. 435-443, 2008.

Sánchez-González, L., González-Martínez, C., Chiralt, A., Cháfer, M. Physical and antimicrobial properties of chitosan–tea tree essential oil composite films. **Journal of Food Engineering**, v. 98, p. 443–452, 2010.

Santos, J. S. E., Oliveira, M. B. P. P. Revisão: Alimentos frescos minimamente processados embalados em atmosfera modificada. *Brazilian Journal Food Technology*, v. 15, n. 1, p. 1-14, 2012.

Sarantópoulos, C. G. L., Oliveira, L. M., Padula, M., Coltro, L., Alves, R. M. V., Garcia, E. E. C. Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades. Campinas: CETEA/ITAL, 2002.

Shojaee-Aliabadia, S., Hosseinia, H., Mohammadifara, M. A., Mohammadia, A., Ghasemloub, M., Ojaghc, S. M., Hosseinia, S. M., Khaksar, R. Characterization of antioxidant-antimicrobial-carrageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 52, p. 116– 124, 2013.

Silva, M. L., Matté, G. R., Matté, M. H. Aspectos sanitários da comercialização de pescado em feiras livres da cidade de São Paulo, SP/Brasil. *Revista do Instituto Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 67, n. 3, p. 208-214, 2008.

Soares, J., Ramos, Fernandes, J., Tavaría, F. O., Monteiro, M., Pintado, M. Antimicrobial effects of chitosans and chito oligosaccharides, upon *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, in food model systems. **Food Microbiology**, v. 25, p. 922-928, 2008.

Sobral, P. J. A. et al. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. **Food Hydrocolloids**, v. 15, n. 4-6, p. 423-432, 2001.

Sousa, G. M., Yamashita, F., Soares Júnior, M. S. Application of biodegradable films made from rice flour, poly(butylene adipate-co-terphthalate), glycerol and potassium sorbate in the preservation of fresh food pastas. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 39–45, 2016.

Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S.A., Cliver, D. O. Antimicrobial herb and spice compounds in food. **Food Control**, v. 21, p. 1199–1218, 2010.

Teixeira, B., Marques, A., Pires, C., Ramos, C., Batista, I., Saraiva, J.A., Nunes, M.L. Characterization of fish protein films incorporated with essential oils of clove, garlic and *origanum*: physical, antioxidant and antibacterial properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, p. 533–539, 2014.

Costa, D. L. M. G. Produção por extrusão de filmes de alto teor de amido termoplástico de mandioca com poli(butileno adipato co-tereftalato) (PBAT). 2008. 90p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

Tsai, T.H., Tsai, P.J., Su, S.C. Antioxidant and anti-inflammatory activities of several commonly used spices. **Journal of Food Science**, v.70, n.1, p.93-97, 2005.

Turek, C., Stintzing, F.C. Impact of different storage conditions on the quality of selected essential oils. **Food Research International**, v. 46, p. 341–353, 2012.

Valsechi, O. C. Microbiologia dos alimentos. Araras: Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Tecnologia Agroindustrial e Socioeconômica Rural, Universidade Federal de São Carlos, 2006.

Witt, U., Einig, T., Yamamoto, M., Kleeberg, I., Deckwer, W –D., Muller, R –J. Biodegradation of aliphatic-aromatic copolyesters: evaluation of the final biodegradability and ecotoxicological impact of degradation intermediates. **Chemosphere**, v. 44, p. 289-299, 2001.

Yang, L., Paulson, A. T. Mechanical and water vapour barrier properties of edible gellan films. **Food Research Internacional**, Canada, v. 33, n. 7, p. 563-570, 2000.
Zivanovic. S., Chi. S., Draughon. A.F. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. **Journal Food Science**, v. 70, p. 45–51, 2005.

CAPÍTULO II

Desenvolvimento de filmes ativos biodegradáveis e aplicação em filés de pescado.

1.0. INTRODUÇÃO

O impacto ambiental, a partir de resíduos de materiais plásticos não biodegradáveis, constitui uma crescente preocupação global. Com a intenção de substituir parcialmente esse tipo de material, pesquisas estão sendo realizadas na busca por encontrar materiais poliméricos renováveis, ecológicos e que possam conferir um aumento na qualidade dos produtos alimentícios (KHWALDIA et al., 2010).

Como alternativa de substituição dos polímeros sintéticos tem-se o poli (butileno adipato-co-tereftalato) PBAT que é um poliéster aromático-alifático biodegradável de nome comercial *Ecoflex*[®], que se degrada em poucas semanas, e sua utilização é viabilizada por meio do processo de extrusão, formando filmes com elevada resistência mecânica (GU et al., 2008).

Estas características possibilitam a utilização do PBAT em novas tendências tecnológicas voltadas a embalagens, já que durante muitos anos as embalagens foram desenvolvidas apenas com a finalidade de proteção do alimento, sem apresentar nenhuma interação com ele. Com o avanço tecnológico, a fabricação de embalagens que interagem intencionalmente com o alimento, ganhou destaque. Nestas embalagens, compostos ativos com função antioxidante e antimicrobiano, são incorporadas ou revestidos sobre os polímeros, conferindo a estes função ativa, denominadas embalagens ativas, (WORANUCH et al., 2015) tecnologia promissora para o controle de microrganismos deteriorantes e patogênicos (KAPETANAKOU et al., 2015).

As embalagens ativas podem ser constituídas, além dos agentes ativos por polímeros ambientalmente corretos; estes sistemas são uma alternativa para reduzir os impactos negativos das embalagens sintéticas de alimentos no ambiente. Simultaneamente, reforçam a segurança do consumidor, reduzindo o risco de desenvolvimento de microrganismos deterioradores ou patogênicos, aumentando a vida de prateleira dos produtos alimentícios (WORANUCH et al., 2015).

As embalagens ativas, podem ser utilizadas em filés de peixe, com a finalidade de aumentar a vida de prateleira e manter a sua qualidade, visto que o pescado possui uma vida de prateleira curta, devido a suas características intrínsecas como: pH neutro, elevada atividade de água, teor de nutrientes facilmente utilizáveis por microrganismos e alta atividade metabólica da microbiota acompanhante. (SILVA et al., 2008).

Neste tipo de embalagem, o agente antimicrobiano migra em pequenas quantidades e de forma controlada, ao invés de ser adicionado diretamente ao alimento (ANDRADE-MOLINA et al., 2013). Devido a migração, do ponto de vista da segurança

alimentar, substâncias antimicrobianas utilizadas no desenvolvimento de filmes ativos devem ser aprovadas para uso alimentar (SOUSA et al., 2016). Visando a redução do uso de aditivos químicos nos alimentos, é crescente o interesse da indústria por aditivos alimentares naturais com propriedades antimicrobianas e antioxidantes que não tenham efeitos negativos para a saúde humana (ALVES-SILVA et al., 2013). Como por exemplo, os óleos essenciais, produtos voláteis orgânicos de origem vegetal, obtidos por processo físico (BOTRE et al., 2010).

Dentre os óleos essenciais o *Origanum vulgare* (orégano) é conhecido como um agente de ação antimicrobiana e antioxidante relacionado à presença de compostos ativos, fenólicos, tais como timol, carvacrol e eugenol (BURT, 2004). Diversos resultados demonstraram a eficácia de filmes incorporados com OEO, na inibição do desenvolvimento de bactérias e síntese de metabólitos microbianos, incluindo microrganismos patogênicos tais como: *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli* (HOSSEINI et al., 2009); *S. aureus* (OLIVEIRA et al., 2010); *S. aureus* e *E. coli* (JAVIDI et al., 2016).

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi desenvolver filmes biodegradáveis ativos de polibutileno tereftalato co-adipato (PBAT) incorporados com diferentes concentrações de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) para atuarem como embalagem ativa e promoverem a conservação de filés de pescado, visando o controle da população microbiana.

2.0. Material e Métodos

Material

A embalagem ativa foi produzida utilizando o poli (adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT) (BASF, Alemanha), de nome comercial Ecoflex[®]-f e o óleo essencial de orégano (Ferquima, Brasil).

2.1. Preparação dos filmes

Os componentes dos tratamentos foram processados em extrusora dupla rosca (AX Plásticos, modelo DR 1640) com oito zonas de aquecimento. Foi utilizado um perfil de temperatura de 80, 120, 130, 130, 140, 140, 145, 145 e 130 °C e velocidade da rosca de 70 rpm, condições estas definidas em testes preliminares. Na tabela 1, estão as formulações obtidas para a produção dos filmes:

Tabela1. Formulações dos filmes biodegradáveis ativos incorporados com óleo essencial de orégano. OE_{0,0} – filme controle; OE_{2,5} – filme incorporado com 2,5g de OEO; OE_{5,0} – filme incorporado com 5,0g de OEO; OE_{7,5} – filme incorporado com 7,5g de OEO; OE_{10,0} – filme incorporado com 10g de OEO.

Formulações	PBAT (g)	Óleo Essencial de Orégano (g)
OE _{0,0}	100	0,0
OE _{2,5}	100	2,5
OE _{5,0}	100	5,0
OE _{7,5}	100	7,5
OE _{10,0}	100	10,0

2.2. Estudo das propriedades mecânicas

Os filmes foram caracterizados quanto à espessura, mediante leitura com micrômetro digital (Mitutoyo Corp), e submetidos a ensaios mecânicos para avaliação da tensão máxima, deformação na ruptura e módulo de elasticidade, de acordo com a norma ASTM D882–09 (ASTM, 2009), utilizando a máquina Universal de Testes Mecânicos (EMIC DL-200MF, BRA). Foram testados dez corpos de prova de cada tratamento, seguindo as dimensões 9,0 cm (comprimento do corpo de prova) e 1,5 cm (largura). A máquina foi operada com célula de carga de 1 KN a uma velocidade de tração de 500 mm·min⁻¹.

2.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A caracterização morfológica e topográfica foram realizadas na superfície e nos cortes transversais dos filmes, mediante microscopia eletrônica de varredura (MEV, JEOL série 6390LV, Tokio, Japão). Uma amostra de 0,5 cm² de cada filme, foi fixada em *stubs* e coberta com uma camada de ouro de 20 a 30 nm de espessura, realizada no metalizador Sputter Coater (Balzers - Modelo SCD 010). Logo após, as amostras foram colocadas em *holders* para focalização e captura das respectivas fotomicrografias.

2.4. Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As medidas de FTIR foram realizadas no espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier modelo Spectrum 100 da Perkin Elmer, por método de refletância total atenuada (ATR) com varredura entre 4000 e 600 cm^{-1} .

2.5. Análise Termogravimétrica (TGA)

As análises termogravimétricas foram realizadas utilizando um analisador termogravimétrico (TGA, Pyris 1, Massachusetts, EUA). Aproximadamente 5 mg dos filmes foram gradualmente aquecidos a 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, iniciando à temperatura de 25 $^{\circ}\text{C}$ até 700 $^{\circ}\text{C}$, sob fluxo de nitrogênio (20 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$). A temperatura inicial de degradação (T_{onset}), isto é, a temperatura à qual existe uma perda de massa de 5% registrada. A temperatura à qual a taxa máxima de degradação foi observada (T_{max}), ou seja, a temperatura dos picos nos primeiros gráficos derivados, bem como a percentagem de perda de massa no fim do teste (700 $^{\circ}\text{C}$), foram igualmente registradas.

2.6. Calorimetria de Varrimento Diferencial (DSC)

Aproximadamente 10 mg de amostra foram pesados e selados em cadinhos de alumínio, sendo que um cadinho vazio foi utilizado como referência. A varredura foi realizada, nas temperaturas de 25 $^{\circ}\text{C}$ à 700 $^{\circ}\text{C}$, com uma taxa de 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Foram calculadas a T_{onset} (Temperatura de transição vítrea - Tg) e Tf (Temperatura de fusão ou *melting*) a partir do termograma gerado na varredura. Os testes foram realizados com instrumento universal (Perkin Elmer, modelo DSC 7) com fluxo de nitrogênio de 20 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

2.7. Permeabilidade ao vapor de água

O método dessecante, segundo a metodologia ASTM E 96/E 96M – 09 (ASTM, 2009), foi aplicado com algumas modificações. Potes contendo 15 g de cloreto de cálcio anidro foram hermeticamente vedados e acondicionados em câmara dessecadora à temperatura média de 22,4 $^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa média de 71,3%, contendo solução saturada de cloreto de sódio em seu interior. O peso foi registado em duas pesagens diárias até um total de 30 pesagens, onde foi calculada a permeabilidade (*Equação 1*), conforme equações abaixo:

$$\text{permeabilidade (g/h} \cdot \text{m} \cdot \text{mmHg)} = \text{g/A} \times e$$

Equação 1

Onde:

A = área do filme por onde o vapor de água pode permear (m²);

g = coeficiente angular do trecho linear da reta;

e = espessura do filme (m).

2.8. Avaliação da eficiência dos filmes antimicrobianos em contato com o alimento

Os filmes foram testados quanto à eficiência microbiológica por meio do contato direto com o filé do pescado. Os filmes foram cortados em tamanhos suficientes para cobrirem as superfícies dos filés e todos os seus lados foram esterilizados em luz UV, por cerca de 2 minutos. Os filés foram acondicionados nos filmes, selados e posteriormente armazenados em refrigerador doméstico, à temperatura de 7°C. A pesquisa de microrganismos do grupo coliformes totais, estafilococos coagulase positiva e psicotróficos, foi realizada de acordo com a metodologia descrita pela APHA (2001) nos tempos 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 dias.

2.9. Atividade Antioxidante

A atividade sequestradora de radicais DPPH foi determinada de acordo com o método de Jongjareonrak et al. (2008) com modificações. Os filmes (0,1 g) foram cortados em pequenos pedaços e misturados com 2 ml de metanol. A mistura foi agitada em vórtex durante 3 min e deixada em repouso à temperatura ambiente durante 3 h. Em seguida, novamente misturada em vórtex durante mais 3 minutos e centrifugada a 2300 rpm durante 10 min. O sobrenadante obtido foi analisado quanto à atividade do radical DPPH. Uma alíquota do extrato de metanol (500 µL) foi misturada com 2 ml de 0,06 mM DPPH em metanol. A mistura foi vigorosamente agitada em vórtex durante 1 minuto e deixada em repouso, em local escuro a temperatura ambiente, durante 30 min. A absorbância foi medida a 517 nm utilizando um espectrofotômetro UV-visível (modelo UV-2101PC, Shimadzu, MD, EUA). O metanol foi utilizado como controle e misturado com 0,12 mM DPPH. A atividade sequestradora do radical livre de DPPH foi calculada seguindo SINGH e RAGINI (2004):

$$\text{Atividade sequestradora de radicais (\%)} = (1 - (A_{\text{amostra}} - A_{\text{controle}})) \times 100$$

Onde, A_{amostra} = absorbância da amostra; A_{controle} = absorbância do controle

3.0. Análise estatística

A influência da concentração de óleo essencial de orégano nas propriedades dos filmes foi avaliada através de delineamento inteiramente casualizado (DIC), por meio da Análise de Regressão com auxílio do programa *Statistical Analysis System* (SAS, USA, versão 9.1).

4.0. Resultados e Discussão

A partir da técnica de extrusão foi possível a obtenção dos filmes biodegradáveis antimicrobianos de PBAT incorporados com diferentes concentrações de OEO (Figura 1). Os filmes apresentaram-se visualmente homogêneos, contínuos e sem falhas nas superfícies, sendo possível observar uma tonalidade amarelada em decorrência do aumento da concentração de OEO nos filmes.



Figura 1. Filmes de PBAT produzidos por meio da técnica de extrusão, onde (A) OEO_{0,0}; (B) OEO_{2,5}; (C) OEO_{5,0}; (D) OEO_{7,5} e (E) OEO_{10,0}.

4.1. Estudo das propriedades mecânicas

Através dos modelos matemáticos encontrados para as propriedades mecânicas dos filmes (Figura 2), foi possível observar que a tensão máxima até uma determinada concentração de OEO (ponto máximo 4,01) ocorre um aumento do valor de tensão máxima e a partir deste ponto, ocorre uma diminuição nos valores desta propriedade,

comportamento semelhante foi observado no módulo de elasticidade, apresentando ponto máximo de 3,46.

De acordo com Kokoszka et al. (2010), plastificantes enfraquecem as interações intermoleculares entre as cadeias poliméricas de uma forma que aumentam a mobilidade das moléculas, levando à diminuição da rigidez, melhorando a extensibilidade, alongamento e flexibilidade dos filmes. Entretanto, este efeito de enfraquecimento das interações intermoleculares, em filmes com elevadas concentrações de OEO, pode aumentar os espaços livres entre as cadeias, desencadeando um efeito antiplastificante, comportamento inverso ao esperado.

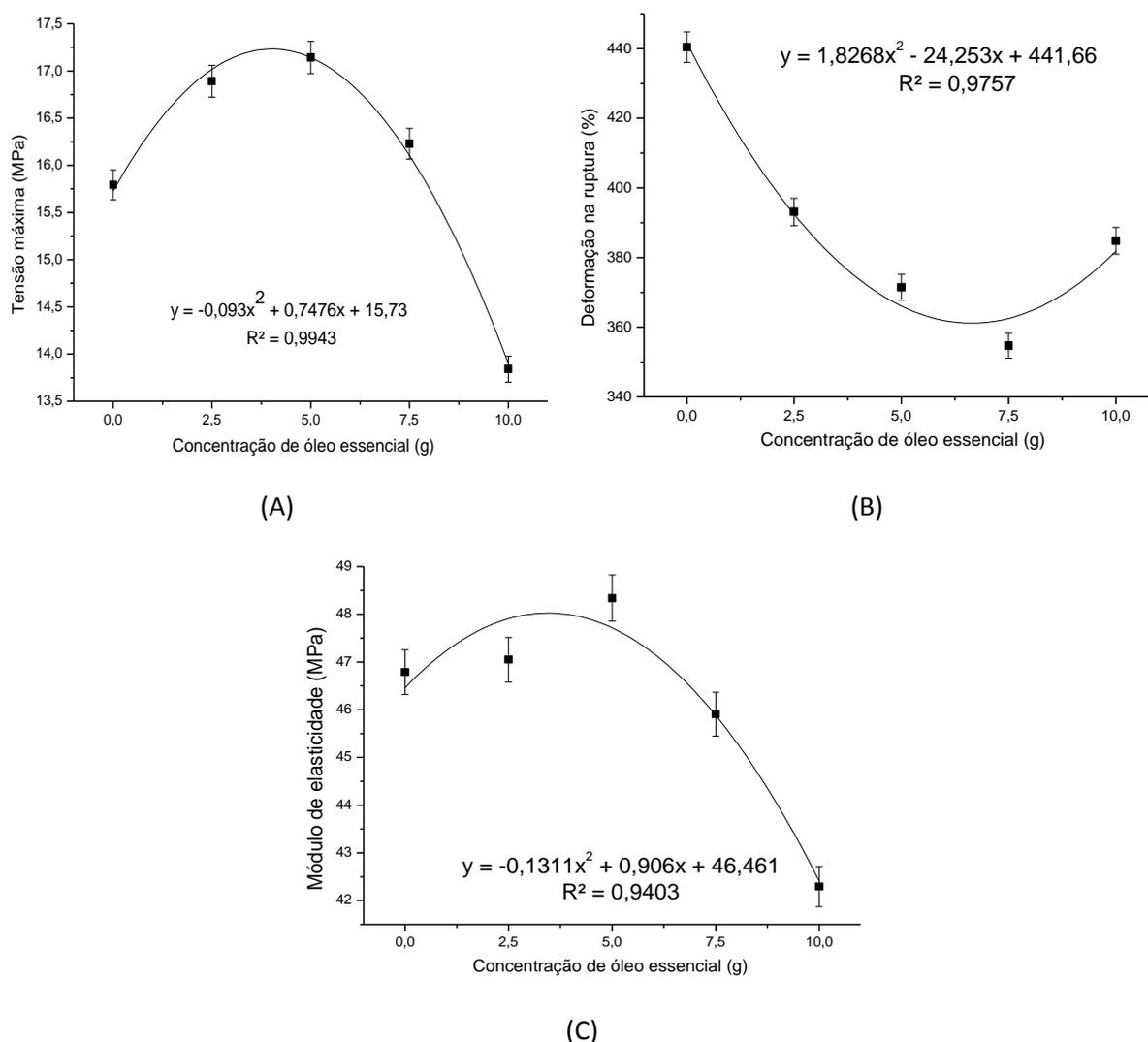


Figura 2. Gráficos das propriedades mecânicas dos filmes de PBAT produzidos por meio da técnica de extrusão, onde eixo x = concentração de óleo (g) e o eixo y = (A) Tensão máxima; (B) Deformação na ruptura e (C) Módulo de elasticidade.

Quanto a deformação na ruptura, pode ser observado comportamento inverso, onde as equações demonstraram ponto mínimo de 6,66, desta forma, as menores formulações apresentaram uma redução na sua deformação, enquanto as formulações com maior concentração de OEO (OE_{10,0}) um aumento em relação as formulações OE_{5,0} e OE_{7,5}. Diversos estudos reportam comportamento similar ao encontrado no presente estudo, como aqueles executados por Guo et al. (2015), que analisaram filmes de isolado de proteína de soja (SPI) e PBAT, e por Martucci et al. (2015), sobre filmes de gelatina biogênica incorporadas com OEO.

De acordo com Bonilla et al. (2012) o contato molecular maior entre os compostos C-H e o óleo pode enfraquecer as forças de agregação entre as cadeias poliméricas, tornando a matriz menos compacta, reduzindo a coesão cinética entre elas e, desta forma, prejudicando a resistência mecânica do material. Neste contexto, observa-se um aumento do módulo de elasticidade nos filmes com menor concentração de OEO e uma redução nos filmes de maior concentração, resultando em materiais menos rígidos. O arranjo molecular do PBAT apresenta três ligações C-H, sendo estes pontos passíveis de enfraquecimento devido à ação do OEO, acarretando a redução do módulo de elasticidade em decorrência do aumento da concentração de OEO nos filmes.

Segundo Espitia et al. (2014) filmes contendo componentes lipídicos, limitam a capacidade dos filmes de formarem uma película coesiva. Este fato implica na redução do nível de coesão intermolecular, que por sua vez são responsáveis pela resistência e rigidez do material em questão. De modo geral, concentrações intermediárias (OE_{2,5} e OE_{5,0}), ou não tiveram efeito sobre a resistência à tração e módulo de elasticidade ou então reforçaram e enrijeceram os filmes de PBAT.

Pelissari et al. (2009) analisando as propriedades mecânicas de filmes de amido e quitosana incorporados com OEO, observaram que a resistência à tração dos biopolímeros foi afetada pela adição do óleo, causando a redução da resistência à tração nos filmes. Os autores como Zivanovic et al. (2005) relacionam este comportamento à capacidade de plastificação do óleo, observando uma diminuição na resistência à tração e um aumento no alongamento de filmes de quitosana combinados com óleos essenciais, o que corrobora com os resultados apresentados no presente estudo, onde as maiores concentrações de OEO (OE_{7,5} e OE_{10,0}) reduziram à tração e o alongamento dos filmes.

4.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Na Figura 3 estão as imagens da microscopia eletrônica de varredura dos filmes (A) – imagens da superfície e (B) – imagens dos cortes transversais. Não foram observadas gotículas de óleo presentes nos filmes, de acordo com Bonilla et al. (2012) a redução das gotas de OE está relacionada com a técnica de homogeneização, tratando-se de filmes obtidos por meio de extrusão. O desenho da rosca permite um efeito homogêneo mais eficiente; deste modo, dificultando o aparecimento de gotas de OEO nos filmes.

Na sessão (A) está o filme controle OEO_{0,0} que apresentou uma superfície lisa e compacta, característica de filmes de PBAT puro. Quando incorporados com OEO, foi possível observar que a medida em que houve o acréscimo das diferentes concentrações, o filme OEO_{10,0}, apresentou superfície heterogênea e rugosa. Javidi et al. (2016), analisando filmes produzidos por *casting* de poliácido láctico (PLA) incorporados com OEO, observaram que a interação entre ambos não foi suficientemente forte para evitar a separação de fase durante a evaporação do solvente (clorofórmio), ocasionando uma superfície descontínua. Deste modo, pode-se dizer que o fato de não existir uma interação completa do PBAT com OEO, criou-se regiões em que o OEO foi impossibilitado de interagir com a matriz polimérica.

A morfologia dos filmes produzidos foi semelhante ao observado por Atarés et al. (2011) em filmes de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), onde a adição de OEO causou uma descontinuidade nos filmes, originando filmes com estrutura mais espessa e aberta. Nos filmes produzidos por Javidi et al. (2016) foi relatada uma descontinuidade após a adição de 0,5 a 1,5% (m/m) de OEO, quando comparados ao filme controle. No presente estudo, a formulação que demonstrou morfologia semelhante foi o tratamento OEO_{10,0}, podendo estar relacionada a disponibilidade do OEO na matriz, devido ao arranjo molecular após a fusão do PBAT com o óleo no processo de extrusão.

O corte transversal apresentou comportamento igual a superfície dos filmes, após o incremento do OEO, onde os cortes demonstraram-se mais ásperos. Este mesmo comportamento foi observado por Martucci et al. (2015) em filmes de gelatina biogênica, em que a adição de óleos essenciais, tornou-as ligeiramente mais ásperas, em comparação ao controle. As descontinuidades observadas nos cortes, transversais e horizontais, estão relacionadas às propriedades mecânicas dos filmes, visto que estas descontinuidades podem promover uma redução nas propriedades mecânicas quando incorporados com OEO, devido ao poder plastificante do óleo (LI et al., 2014).

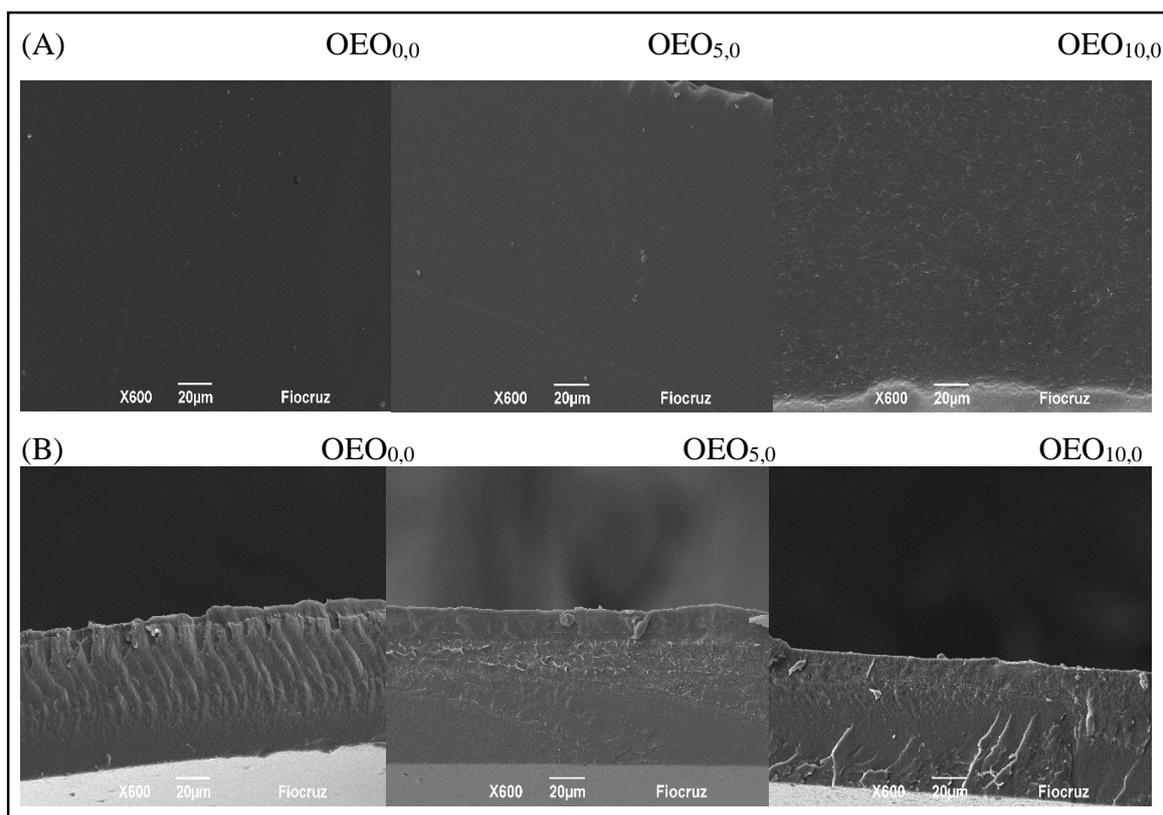


Figura 3: Microscopia eletrônica de varredura (MEV): Imagem horizontal (A) OEO_{0,0}; OEO_{5,0} e OEO_{10,0} e Imagem corte vertical (B) OEO_{0,0}; OEO_{5,0} e OEO_{10,0}.

4.3. Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A finalidade da realização das análises de FTIR (Figura 4) ocorre pela necessidade de entender a interação existente entre o OEO e PBAT. A presença de alguns espectros tornou possível a identificação de alguns grupos funcionais constituintes do OEO, visto que a utilização de altas temperaturas poderiam degradar tais compostos.

Foi observada a presença de diversas bandas no comprimento de onda entre 1265-1118 cm^{-1} , que segundo Al-Itry et al. (2012) são atribuídas à ligação C-O, a partir dos grupos carbóxilos (C-O-C), ocorrendo aumentos e diminuições dos espectros devido às vibrações de alongamento, no entanto, não foi observada modificações de espectro no presente estudo.

Com o aumento da concentração do OEO nos filmes, foi observada a formação de um pico no comprimento de onda de 810 cm^{-1} , que Hosseini et al. (2015) atribuíram ao espectro do carvacrol, principal agente antioxidante e antimicrobiano do OEO. A presença e a formação de picos em bandas relacionadas a compostos funcionais do OEO,

demonstram a resistência destes às temperaturas elevadas e sua presença, possibilitando conferir aos filmes função ativa.

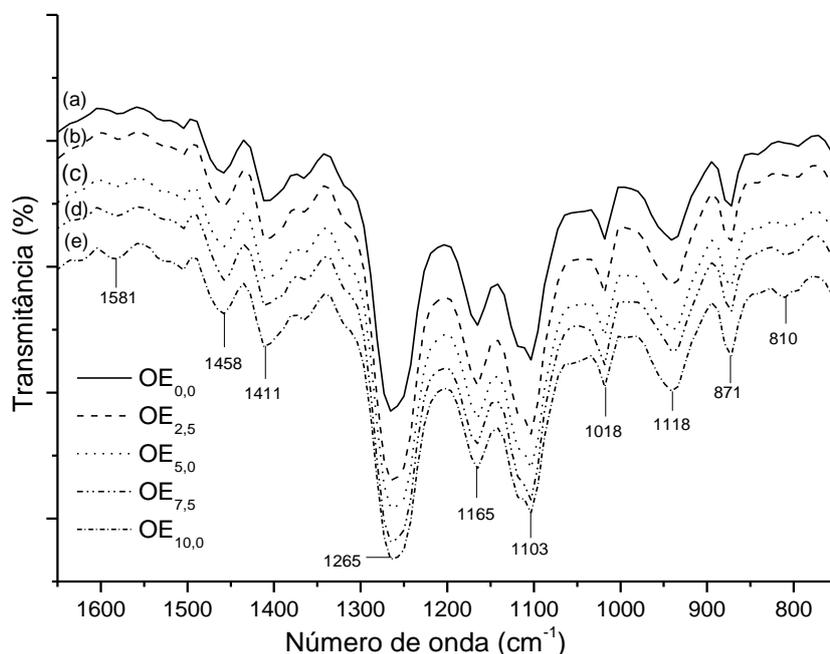


Figura 4: Espectro de FTIR dos filmes de PBAT incorporados com diferentes concentrações de OEO: (a) OEO_{0,0}; (b) OEO_{2,5}; (c) OEO_{5,0}; (d) OEO_{7,5} e (e) OEO_{10,0} g.

De acordo com Arrieta et al. (2013), os pronunciamentos de bandas presentes no número de onda entre 1600 e 1400 cm⁻¹ podem ser atribuídos a existência de um anel aromático na molécula do carvacrol. Entretanto, o PBAT também apresenta em sua constituição um anel aromático, permitindo desta forma ser observado o aumento no pico 1581 cm⁻¹, com o incremento de OEO, indicando uma possível interação entre o arranjo aromático do PBAT e o anel aromático presente na molécula do carvacrol.

4.4. Análises Termogravimétrica (TGA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A estabilidade térmica foi averiguada por meio de curvas de TG, DTG e DSC (Figura 5), onde os perfis de TG dos filmes com diferentes concentrações de OEO, são apresentados na Figura 5(a). Observou-se que amostras de PBAT sem nenhuma adição de óleo (OEO_{0,0}), apresentaram-se termicamente estáveis até 310°C (T_{onset}). Em análises termogravimétricas realizadas por Guo et al. (2015) amostras de PBAT puro apresentaram estabilidade até 350°C, ocorrendo acentuada perda de massa com pico a

400°C, observado na curva de DTG, evento atribuído a degradação de macromoléculas do PBAT.

Nas curvas de TG foi possível observar que todas as formulações incorporadas com OEO foram estáveis abaixo de 200°C. Este fato não indica que as misturas reduziram a estabilidade térmica dos filmes, pois esta primeira perda de massa está relacionada apenas com a degradação do OEO, não representando a degradação do PBAT. Isso está fundamentado por meio das curvas de DTG, Figura 5(b), onde foi possível observar um primeiro evento relacionado a degradação do OEO, apresentando pico de degradação em torno de 170°C. Resultado similar foi encontrado por Guo et al. (2015), em blendas de PBAT, incorporados com proteína isolada de soja (PIS), onde o primeiro evento nas curvas de DTG representou a degradação da PIS (310°C).

Por meio das análises térmicas também foi possível estabelecer uma relação entre os valores de decomposição encontrados e o principal composto de ação antimicrobiana do OEO, o carvacrol, afim de garantir que o processo de extrusão não tenha degradado tal composto, visto que os filmes e o OEO tiveram temperaturas de degradação > 200°C e 170°C, respectivamente. Keawchaon e Yoksan (2011) relatam que o carvacrol possui temperatura de degradação 186,4°C, possibilitando inferir que o processo de extrusão não afetou a disponibilidade do composto bioativo nos filmes.

O comportamento térmico dos filmes foi examinado por DSC (Figura 5(c)), apresentando dois picos endotérmicos em todas as formulações e segundo Gan et al. (2004) o pico a aproximadamente 60,4°C é atribuído à fusão da fração cristalina AB - adipato butileno do PBAT. No presente estudo o PBAT sem acréscimo de OEO apresentou pico de fusão de aproximadamente 52,56°C.

Com a adição do OEO, foi observado um alargamento do pico de fusão nos filmes (62,62°C), apresentando um acréscimo de 10,06°C. Pode-se atribuir este aumento do ponto de fusão às somas dos eventos de fusão da fração AB do PBAT (52,56°C) que após a incorporação somou-se a fusão do OEO, 62,62°C, ocasionando este comportamento. De acordo com Dufresne (2008), a temperatura de fusão depende dos domínios cristalinos e quando esta área é aumentada a temperatura de fusão irá aumentar.

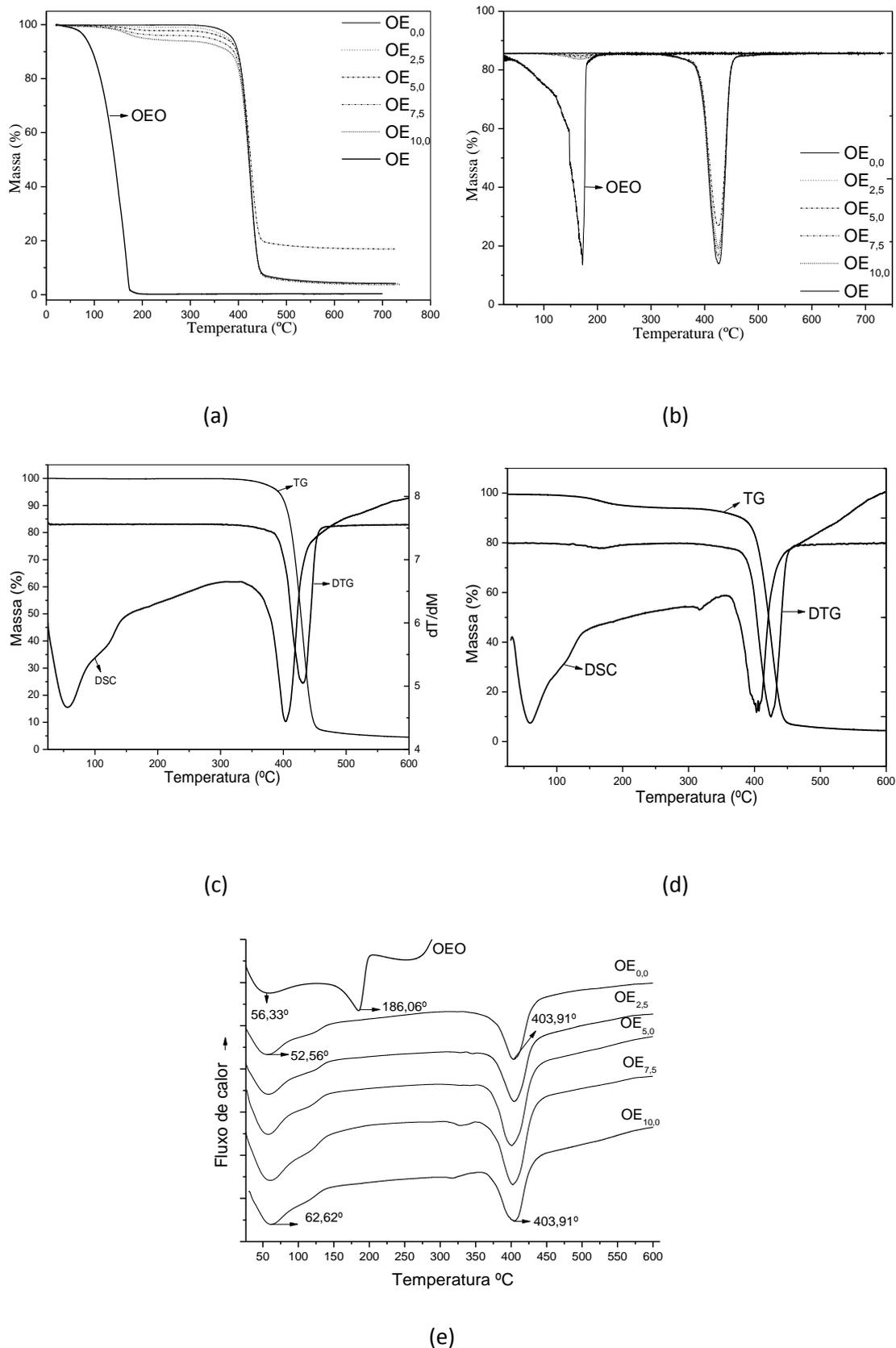


Figura 5. Gráficos do comportamento térmico dos filmes de PBAT incorporados com diferentes concentrações de OEO: (a) Curvas de TG de todas as formulações; (b) Curvas de DTG de todas as formulações; (c) Curvas de TG; DSC e DTG formulação OEO_{0,0}; (d) Curvas de TG, DTG e DSC formulação OEO_{10,0} e (e) Curvas de DSC de todas as formulações.

Na figura 5 é possível observar o comportamento do OEO, onde a curva TG apresentou temperatura de decomposição de aproximadamente 171,08°C. As curvas de DSC apresentam dois eventos endotérmicos o primeiro a 56,33°C responsável pelo aumento do pico de fusão nos filmes e o segundo a 186,06°C, referente a decomposição completa do óleo. Portella et al. (2014) caracterizando termicamente o óleo essencial de *Siparuna guianensis* relatam que a curva TG mostrou decomposição gradativa acentuada entre 100°C e 225°C, e DSC mostrou evento exotérmico a 148,3°C, possivelmente, pela oxidação parcial da amostra, e um pico endotérmico com ápice de pico a 194,7 °C, atribuído à sua volatilização ou decomposição.

O outro evento endotérmico encontrado nos filmes (403,91°C) está relacionado a decomposição do PBAT. De acordo com a BASF (2003) o PBAT possui uma temperatura inicial de decomposição de 280°C e nas análises de TG foi possível observar uma temperatura final de 450°C, sendo que com a adição do OEO não houve mudança, onde este se decompõe primeiro que o PBAT, tornando difícil alguma influência em temperaturas tão elevadas.

O comportamento térmico que os filmes apresentaram, foram semelhantes ao encontrado por Jouki et al. (2014), que observaram uma separação parcial das duas fases (fusão e decomposição), analisando os termogramas dos filmes de mucilagem de sementes incorporados com diferentes concentrações de OEO, onde dois picos endotérmicos foram encontrados, 167 e 230°C, respectivamente.

4.5. Permeabilidade ao vapor de água

As análises de permeabilidade ao vapor de água (PVA) demonstraram de acordo com as curvas um perfil linear e uma tendência de aumentar em relação a elevação da concentração de OEO (Figura 6). O filme OE_{10,0} aumentou significativamente, chegando a um incremento de 1,2 (g/h·m·mm Hg). Andrade - Molina et al. (2013) encontraram comportamento diferente do presente estudo, analisando filmes de PBAT e amido, incorporados com sorbato de potássio. Observaram uma redução da permeabilidade, provavelmente como resultado do envelhecimento e a subsequente recristalização do amido. Javidi et al. (2016) encontraram o mesmo resultado para filmes de PLA incorporados com OEO, atribuindo essa redução à sua natureza hidrofóbica.

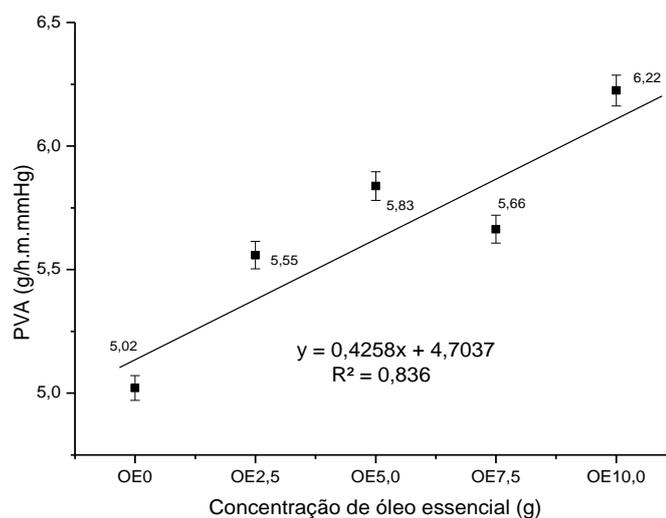


Figura 6. Permeabilidade ao vapor de água (PVA), dos filmes de PBAT incorporados com diferentes concentrações de OEO, (OEO_{0,0}) controle; (OEO_{2,5}) 2,5; (OEO_{5,0}) 5,0; (OEO_{7,5}) 7,5 e (OEO_{10,0}) 10,0g.

Geralmente a hidrofilicidade do polímero e o caráter hidrofóbico dos óleos são utilizados para justificar a redução na PVA em filmes. No entanto, Atarés et al. (2010) analisando filmes de proteína isolada de soja, incorporados com óleo essencial de gengibre e canela, atribuíram a diminuição da propriedade de barreiras dos filmes às interações dos componentes do óleo com as proteínas, que poderiam promover a diminuição do caráter hidrofóbico da matriz proteica. Um dos motivos do aumento da PVA no presente estudo, pode estar relacionado ao comportamento do PBAT e OEO, onde a ação plastificante, aumenta a passagem das moléculas de água nos filmes, diminuindo as propriedades de barreira.

Pranoto et al. (2005) analisando filmes de alginato comestível incorporado com óleo de alho, observaram que o óleo contribuiu para estender interações intermoleculares da matriz estrutural nos filmes, devido ao seu caráter hidrofóbico, aumentando a quantidade de água que passa através da película comestível. Outro fato que justifica o aumento da permeabilidade nos filmes, seria devido aos agentes antimicrobianos não se ligarem à estrutura do polímero, mas provavelmente ao aprisionamento dentro dos espaços entre as cadeias poliméricas. Assim, por não existir uma ligação entre PBAT e o composto bioativo, estes espaços podem não ser completamente preenchidos pelo OEO, servindo como um canal para a permeação da água (COOKSEY, 2005).

A quantidade de OEO utilizada na preparação dos filmes, é relativamente menor que a quantidade de PBAT (100g), pois em pesquisas com filmes de proteína de soro de leite com emulsão de cera de abelha, foi constatado que a baixa quantidade de emulsão,

provocou descontinuidades dos lipídeos na matriz proteica não sendo relevantes para aumentar a tortuosidade, assim facilitando a permeância de moléculas de água, responsáveis pelo aumento da permeabilidade ao vapor de água (PEREZ-GAGO e KROCHTA, 2001). No presente estudo, a quantidade de óleo utilizada foi baixa em relação a quantidade de PBAT, o que pode ter ocasionado uma redução da tortuosidade intermolecular, facilitando a penetração da água nos filmes.

4.6. Avaliação da eficiência dos filmes antimicrobianos em contato com o alimento

Os resultados das análises microbiológicas (Figura 7), demonstram que os filmes foram eficientes na redução de coliformes totais, estafilococos coagulase positiva e microrganismos psicrotróficos. A legislação vigente no Brasil; RDC nº 12, estabelece os seguintes padrões microbiológicos sanitários para pescados refrigerados: estafilococos coagulase positiva ($< 5.10^3$ UFC/g) e *Salmonella* (ausência), visto que sua presença condena o pescado (BRASIL, 2001). No momento que os filés foram embalados com os respectivos filmes, foi realizada pesquisa de estafilococos coagulase positiva (3,85 logUFC/g), coliformes totais (3,34 logUFC/g), psicrotróficos (4,94 logUFC/g) e *Salmonella* (ausente), considerado como tempo zero.

Na Figura 7 (c) é possível observar que os gráficos apresentam uma tendência de redução e inativação de células bacterianas de estafilococos coagulase positiva. A formulação OE_{10,0} foi capaz de estender a vida de prateleira dos filés por até 10 dias, mantendo-o dentro dos padrões microbiológicos preconizados pela legislação vigente (BRASIL, 2001).

Os estudos relacionados com incorporação de agentes antimicrobianos em filmes de PBAT são recentes. A avaliação de vida de prateleira de massas de lasanha frescas intercaladas com películas feitas por extrusão a partir de misturas de farinha de arroz, PBAT, glicerol e sorbato de potássio, com a adição de 3g de sorbato, apresentou ação antimicrobiana contra bolores e leveduras, coliformes a 45°C, *S. aureus*, *Bacillus cereus* e reduziu a taxa de crescimento de microrganismos psicrotróficos (SOUSA et al., 2016).

Javidi et al. (2016) testaram a eficiência antimicrobiana de filmes de PLA, obtidos pelo método de *casting*, incorporados com 1,5% (w / w) de OEO em contato direto com trutas arco-íris. As películas demonstraram melhor ação antimicrobiana frente a bactérias Gram-positivas (*S. aureus*), resultado semelhante ao presente estudo. No entanto, é amplamente estudado e conhecido a maior eficiência do carvacrol frente a bactérias

Gram-negativas, devido ao seu alto poder hidrofóbico, com capacidade de desintegrar a membrana externa dessas bactérias, permitindo a saída dos lipopolissacarídeos pelo aumentando da permeabilidade da membrana citoplasmática (BURT et al., 2007).

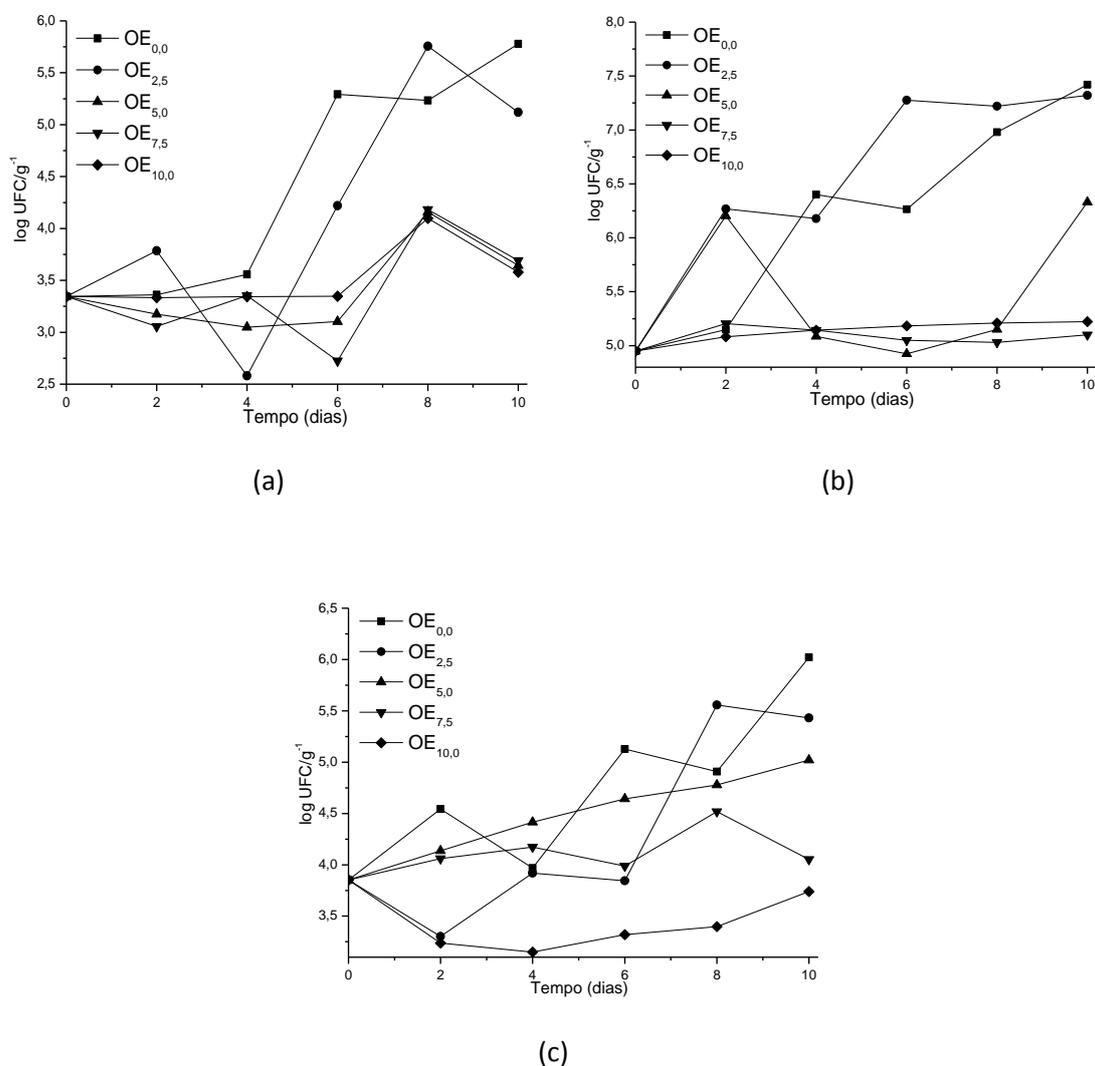


Figura 7: Gráficos da ação antimicrobiana dos filmes de PBAT incorporados com diferentes concentrações de OEO, como embalagem para filés de peixe no período de estocagem de 10 dias, ação frente: (a) coliformes totais; (b) psicrotróficos; e (c) estafilococos coagulase positiva.

Resultados semelhantes foram encontrados por Sousa et al. (2016) para filmes de PBAT, feitos por extrusão, considerando a técnica empregada, demonstrando que esta pode afetar a forma de ação do composto bioativo. De acordo com Hosseini et al. (2009) a natureza e a característica estrutural da matriz, em que o óleo essencial é disperso juntamente com o método de preparação dos filmes, tem um papel crucial no efeito sobre a atividade antimicrobiana. Desta forma, o comportamento do OEO no presente estudo, pode ser justificado por estas características.

Compondo o grupo das bactérias Gram-negativas, os coliformes totais apresentaram maior sensibilidade aos filmes OE_{5,0}; OE_{7,5} e OE_{10,0} e nenhuma sensibilidade ao filme controle e OE_{2,5}. Moreno et al. (2015) avaliaram a eficiência antimicrobiana dos filmes de amido de batata contendo proteínas bioativas (lactoferrina - LF e lisozima- LZ), em contato com carne picada. Após 14 dias de incubação demonstraram redução de cerca de 1 log na concentração de coliformes nas amostras, diferente ao deste estudo, onde a inativação das células bacterianas ao final de 10 dias alcançou próximo de 3 log UFC/g.

Geralmente, o aumento da temperatura de armazenamento pode acelerar a migração dos agentes ativos nos filmes, enquanto que a refrigeração retarda essa taxa de migração (QUINTAVALLA e VICINI, 2002). Este efeito não foi observado no presente estudo, visto que o acondicionamento dos filés de peixe foi realizado a 7°C, podendo estar relacionado as interações existentes entre o agente antimicrobiano, o material de revestimento, as bactérias alvo e a própria matriz alimentar, influenciando na taxa de liberação do composto ativo.

Os filmes antimicrobianos (OE_{5,0}; OE_{7,5} e OE_{10,0}), em relação a inibição de estafilococos coagulase positiva demonstraram uma proporcionalidade direta, isto é quanto maior a quantidade de OEO maior a inibição bacteriana, constatando-se que os agentes antimicrobianos não se ligaram à estrutura do polímero. Provavelmente, de acordo com Cooksey (2005), os agentes antimicrobianos estão aprisionados dentro dos espaços entre as cadeias poliméricas permitindo uma maior difusão em relação ao aumento na concentração de OEO. Com relação aos coliformes totais e psicotróficos, os gráficos apresentaram pouca alteração entre as mesmas concentrações.

4.7. Atividade Antioxidante

Os principais compostos bioativos antioxidantes do OEO ativo são carvacrol, timol, C-therpinene e p-cimeno com um amplo espectro de capacidade antioxidante (BURT, 2004). Com os resultados das análises de atividade antioxidante (Figura 8), é possível observar uma relação linear entre a capacidade antioxidante dos filmes e o aumento da concentração de OEO. Shojae-Aliabadi et al. (2013) analisando o poder antioxidante de filmes biodegradáveis de kappa-carragenina incorporados com óleo de *Satureja hortensis* (SEO), observaram que o próprio polímero mostrou baixa atividade antioxidante, provavelmente em função dos polifenóis presentes na matriz polimérica.

Não foi observado no filme controle (OE_{0,0}) ação antioxidante, podendo-se concluir que o PBAT não possui nenhum composto em sua matriz, com poder antioxidante.

Pela linearidade apresentada neste trabalho, pode-se afirmar que quanto maior a concentração de OEO nos filmes, maior foi a sua atividade antioxidante, resultado semelhante observado por Jouki et al. (2014) em que essa atividade antioxidante em filmes de mucilagem de sementes (QSM) apresentou-se significativamente aumentada com a elevação da concentração de OEO. Gómez-Estaca et al. (2009) relataram que o potencial antioxidante de filmes biodegradáveis geralmente é proporcional à quantidade de aditivos antioxidantes adicionados.

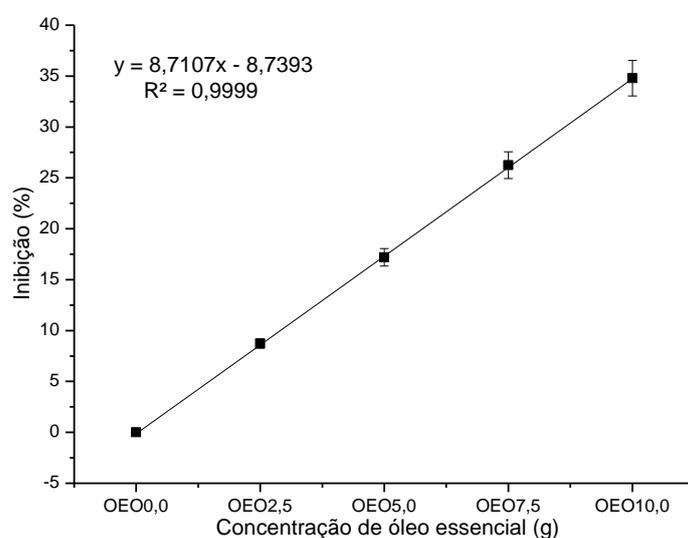


Figura 8. Atividade antioxidante dos filmes de PBAT incorporados com diferentes concentrações de OEO, (OE_{0,0}) controle; (OE_{2,5}) 2,5; (OE_{5,0}) 5,0; (OE_{7,5}) 7,5 e (OE_{10,0}) 10,0g.

5.0. Conclusão

Os filmes biodegradáveis produzidos a partir das misturas de óleo essencial de orégano (OEO) e poli butileno adipato-co-tereftalato (PBAT), foram eficientes para atuarem como embalagem ativa e promoverem a conservação, visando o controle da população microbiana em filés de peixe. Quanto às propriedades mecânicas, térmicas e permeabilidade ao vapor de água, os filmes apresentaram características viáveis para aplicação em embalagens ativas para alimentos, visto que a incorporação de óleo não afetou as respectivas propriedades do PBAT.

A eficiência ativa dos filmes, referente a ação antioxidante foi elevada. Demonstrando também eficiência em relação a atividade antimicrobiana, destinados a

redução de coliformes totais, estafilococos coagulase positiva e psicrotróficos, apresentando no final do período de estocagem valores abaixo dos preconizados pela legislação brasileira (formulação OEO_{10,0}), prolongando a vida de prateleira do filé de pescado em até 10 dias sob refrigeração.

Referências Bibliográficas

- Al-Itry, R., Lamnawar, K., Maazouz, A. Improvement of thermal stability, rheological and mechanical properties of PLA, PBAT and their blends by reactive extrusion with functionalized epoxy. **Polymer Degradation and Stability**, v. 97, p. 1898-1914, 2012.
- Alves-Silva, J.M., Dias dos Santos, S.M., Pintado, M. E., Pérez-Álvarez, J. A., Fernández-López, J., Viuda-Martos, M. Chemical composition and in vitro antimicrobial, antifungal and antioxidante properties of essential oils obtained from some herbs widely used in Portugal. **Food Control**, v. 32, p. 371-378, 2013.
- American Public Health Association (APHA). (2001). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, DC.
- American Society for Testing and Materials – ASTM. (2009). **Designation D882-09: standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting**. Philadelphia: ASTM. Annual book of ASTM standards.
- American Society for Testing and Materials - ASTM. ASTM E 96/E 96M-05: **Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials**. Philadelphia: ASTM, 2005. p. 11.
- Andrade-Molina, T. P. C., Shirai, M. A., Grossmann, M. V. E & Yamashita, F. Active biodegradable packaging for fresh pasta. **LWT - Food Science and Technology**, v. 54, p. 25-29, 2013.
- Arrieta, M. P., Peltzer, M. A., Garrigos, M. C., & Jiménez, A. Structure and mechanical properties of sodium and calcium caseinate edible active films with carvacrol. **Journal of Food Engineering**, v. 114, p. 486–494, 2013.
- Atarés, L., Jesús, L., Talens, P., Chiralt, A. Characterization of SPI-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. **Journal of Food Engineering**, v. 99, p. 384–391, 2010.
- Atares, L., Perez- Masia, R., & Chiralt, A. The role of some antioxidants in the HPMC film properties and lipid protection in coated toasted almonds. **Journal of Food Engineering**, v. 104, n.4, p. 649-656, 2011.
- Bonilla, J., Atares, L., Vargas, M., & Chiralt, A. Effect of essential oils and homogenization conditions on properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 26, p. 9-16, 2012.
- Botre, D.A.; Soares, N.F.F.; Epitia, P.J.P.; Sousa, S.; Renhe, I.R.T. Avaliação de filme incorporado com óleo essencial de orégano para conservação de pizza pronta. **Revista Ceres**; v. 573, p. 283-291, 2010.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: < [http://www. Anvisa.org.br](http://www.Anvisa.org.br)>. Acesso em: 25 set de 2016.
- Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 223-253, 2004.
- Cooksey, K. Effectiveness of antimicrobial food packaging materials. **Food Additives and Contaminants**, v. 22, n. 10, p. 980–987, 2005.

Dufresne, A. Polysaccharide nanocrystal reinforced nanocomposites. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 86, p. 484-494, 2008.

Espitia P. J. P., Du. W., Jesús. R., Bustillos. A., Soares. N. F. F, McHugh T H. Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties - A review. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 287-296, 2014.

Gan, Z., Kuwabara, K., Yamamoto, H. M., Doi, A. Y. Solid-state structures and thermal properties of aliphatic aromatic poly (-butylene adipate-co-butylene terephthalate) copolyesters, **Polymer Degradation and Stability**, v. 83, p. 289-300, 2004.

Gómez-Estaca, J., Bravo, L., Gomez-Guillen, M.C., Aleman, A., Montero, P. Antioxidant properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films induced by the addition of oregano and rosemary extracts. **Food Chemistry**, v. 112, p. 18–25, 2009.

Gu, S. Y; Zhang, K.; Ren, J.; Zhan, H. Melt rheology of polylactide/poly (butylenes adipate-co-terephthalate) blends. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, p. 79-85, 2008.

Guo, G., Zhang, C., Du, Z., Zou, W., Tian, Z., Xiang, A., Li, A. Structure and property of biodegradable soy protein isolate/PBAT blends. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 731–736, 2015.

Hosseini, S. F., Rezaeia, M., Zandib, M., Farahmandghavi, F. Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 67, p. 403–413, 2015.

Javidi, Z., Hosseini, S. F., Rezaei, M. Development of flexible bactericidal films based on poly(lactic acid) and essential oil and its effectiveness to reduce microbial growth of refrigerated rainbow trout. **LWT - Food Science and Technology**, v. 72, p. 251-260, 2016.

Jongjareonrak, A.; Benjakul, S.; Visessanguan, W.; Tanaka, M. Effects of plasticizers on the properties of edible films from skin gelatin of big eye snapper and brown stripe red snapper. **European Food Research Technology**, v.222, p.229-235, 2008.

Jouki, M., Mortazavi, S. A., Yazdi, F. T., Koocheki, A. Characterization of antioxidant-antibacterial quince seed mucilage films containing thyme essential oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 537– 546, 2014.

Kapetanakou, A. E.; Karyotis, D.; Skandamis, P. N. Control of *Listeria monocytogenes* by antimicrobial edible films on ham slices and microwave reheating of frankfurters. **Food Microbiology**, v. 54, p. 2013, 2013.

Keawchaoon L, Yoksan R. Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles. **Colloids Surfaces B: Biointerfaces**, v. 84, n.1, p. 163-71, 2011.

Kokoszka, S., Debeaufort, F., Hambleton, A., Lenart, A., & Voilley, A. Protein and glycerol contents affect physico-chemical properties of soy protein isolate based edible films. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, p. 503-510, 2010.

Khwaldia, K.; Arab-Tehrany, E.; Desobry, S. Biopolymer coatings on paper packaging materials. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 1, p. 82-91, 2010.

Li, J.-H., Miao, J., Wu, J.-L., Chen, S.-F., Zhang, Q.-Q. Preparation and characterization of active gelatin-based films incorporated with natural antioxidants. **Food Hydrocolloids** v. 37, p. 166–173, 2014.

Martucci, J.F., Gende, L.M., Neira, R.A. Oregano and lavender essential oils as L.B antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films. **Industrial Crops and Products**, v. 71, p. 205–213, 2015.

Moreno, O., Atares, L., Chiralt, A. Effect of the incorporation of antimicrobial/antioxidant proteins on the properties of potato starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 133, p. 353–364, 2015.

Oliveira, C.E.V.; Stamford, T.L.M.; Gomes Neto, N.J.; Souza, E.L. Inhibition of *Staphylococcus aureus* in broth and meat broth using synergies of phenolics and organic acids. **International Journal Food Microbiology**, v. 137, p. 312-316, 2010.

Pelissari, F. M., Grossmann, M. V., Yamashita, F., & Pineda, E. A. G. Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch-chitosan films incorporated with oregano essential oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 7499-7750, 2009.

Perez-Gago, M.B., Krochta, J.M. Lipid particle size effect on water vapour permeability and mechanical properties of whey protein/beeswax emulsion films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 996–1002, 2001.

Portella, A. C. F., Munaro, M., Ascêncio, S. D., Siqueira, C. A., Ferreira, T. P. S., Aguiar, R. W. S., Caracterização Físico-Química Do Óleo Essencial Da *Siparuna guianensis*. **Química Nova**, v. 37, n. 5, p. 844-849, 2014.

Pranoto, Y., Vilas, M., Sudip K., Rakshit. Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. **Food Research International**, v. 38, p. 267–272, 2005.

Quintavalla, S., Vicini, L. Antimicrobial food packaging in meat industry. **Meat Science**, v. 62, n. 373–380, 2002.

Shojaee-Aliabadia, S., Hosseinia, H., Mohammadifara, M. A., Mohammadia, A., Ghasemloub, M., Ojaghc, S. M., Hosseinia, S. M., Khaksar, R. Characterization of antioxidant-antimicrobial-carrageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 52, p. 116– 124, 2013.

Silva, M. L., Matté, G. R., Matté, M. H. Aspectos sanitários da comercialização de pescado em feiras livres da cidade de São Paulo, SP/Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 67, n. 3, p. 208-214, 2008.

Singh, N., Ragini, P.S. Free radical scavenging activity of an aqueous extract of potato peel. **Food Chemistry**, v. 85, p. 611–616, 2004.

Sousa, G. M.; Yamashita, F.; Soares Júnior, M. S. Application of biodegradable films made from rice flour, poly(butylene adipate-co-terphthalate), glycerol and potassium sorbate in the preservation of fresh food pastas. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 39–45, 2016.

Woranuch, S.; Yoksan, R.; Akashi, M. Ferulic acid-coupled chitosan: Thermal stability and utilization as an antioxidant for biodegradable active packaging film. **Carbohydrate polymers**, v. 115, p. 744–51, 2015.

Zivanovic. S., Chi. S., Draughon. A. F. Antimicrobial Activity of Chitosan Films Enriched with Essential Oils. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 1, 2005.

CAPÍTULO III

Prospecção Tecnológica de Patentes sobre s utilização de embalagens antimicrobianas em alimentos.

RESUMO

As embalagens destinadas aos alimentos, atualmente, possuem finalidades além da proteção do produto, podendo interagir com os alimentos proporcionando a eles características desejadas, é o caso das embalagens ativas. O objetivo desta prospecção tecnológica, foi realizar um levantamento do número de documentos destinadas a utilização de embalagens incorporadas com agentes antimicrobianos aplicados à alimentos. As buscas foram realizadas através do ESPACENET, utilizando as seguintes nomenclaturas packing, food e antimicrobial. A Coréia do Sul é o país com maior número de patentes e inventores independentes são os maiores depositantes. O polímero mais utilizados é o Polietileno e antimicrobianos sintéticos são os mais empregados. Existem poucas patentes acerca do tema, com isso abre-se uma nova perspectiva de pesquisa e inovação.

Palavras-chaves: embalagem ativa; antimicrobianos; alimentos.

ABSTRACT

Packages intended for food currently possess purposes besides protection of the product to interact with the foods they introducing the desired characteristics in the case of active packaging. The objective was to carry out a survey of the number of patents designed using embedded packaging with antimicrobial agents applied to food. It was noted that South Korea is the country with the highest number of patents and that individuals are the largest depositors. Most widely used polymer is polyethylene and synthetic antimicrobials are more employees. There are few patents on the subject, thus opens up a new perspective of research and innovation.

Keywords: packing active; antimicrobial; food.

Área Tecnológica: Ciência de Tecnologia de Alimentos.

1.0. Introdução

A embalagem trata-se de um recipiente ou envoltura que temporariamente armazena produtos individualmente ou agrupando unidades, tornando viável sua distribuição, identificação e consumo. As embalagens tradicionais têm como função principal atuar como uma barreira a impactos físicos e/ou mecânicos, reações químicas e

desenvolvimento de microrganismos, além de prevenir a migração de seus próprios compostos para o alimento (ABRAE, 2015).

Mediante o avanço tecnológico, foram criadas as embalagens ativas, onde polímeros são incorporados com compostos que possuem ação antimicrobiana, antioxidante, redução da atividade de água, neutracêuticos e agentes aromatizantes, interagindo com o produto através da migração de um composto desejado da embalagem para o alimento. Cada composto atua com uma finalidade específica nos alimentos (AZEREDO et al., 2000).

A segurança alimentar trata-se de um quesito de grande interesse pelo consumidor, através da incorporação de compostos ativos, torna-se possível diminuir a ação de microrganismos nos alimentos, desta forma, garantindo um produto seguro ao consumidor. Diversos compostos antimicrobianos são utilizados, dividindo-se em naturais e sintéticos (APPENDINI e HOTCHKISS, 2001).

Uma alternativa para a indústria alimentar, diante da preocupação relacionada ao uso de aditivos químicos, são os aditivos naturais com propriedades antimicrobianas, tais como óleos essenciais que parecem ser uma alternativa promissora. Pesquisas focadas no emprego de substâncias antimicrobianas naturais, ganhou extrema atenção de todo o mundo da indústria de embalagens de alimentos (KUREK et al., 2013).

A incorporação de compostos com ação antimicrobiana tem como objetivo reduzir o risco do desenvolvimento de micro-organismos deterioradores ou patogênicos e aumentar a vida de prateleira de produtos alimentícios. Assim como a diversidade dos antimicrobianos, os polímeros utilizados podem ser divididos em dois grupos: os biodegradáveis e os materiais plásticos derivados de petróleo constituem uma crescente preocupação global, devido ao seu descarte acumulação, desta forma, existe a intenção de substituir parcialmente esse tipo de material por polímeros biodegradáveis (KHWALDIA et al., 2010).

Na seleção de um composto antimicrobiano, deve ser considerada a eficácia contra os microrganismos alvo e também a possível interação entre os componentes do biopolímero o composto antimicrobiano, formando o filme e os alimentos. Estas interações podem modificar tanto a atividade de cinética e as características antimicrobianas, estes fatores são as chaves para o desenvolvimento de filmes e revestimentos antimicrobianos de sucesso (KUREK et al., 2013).

Produtos tecnológicos vem sendo produzidos na busca de encontrar materiais poliméricos renováveis, ecológicos e que ofereçam aos produtos alimentícios uma maior

vida de prateleira. Os polímeros mais usados têm sido poli (ácido lático) (PLA), poli (ácido glicólico) (PGA), poli (ácido glicólico-ácido lático) (PGLA), poli(e-caprolactona) (PCL) entre outros, estes polímeros são ésteres alifáticos biodegradáveis, por possuírem cadeias carbônicas hidrolisáveis (MARTINS e CARLOS, 2006).

Este estudo prospectivo teve como objetivo realizar um levantamento de informações tecnológicas através do número de documentos de patentes depositadas acerca da utilização de embalagens incorporadas com agentes antimicrobianos aplicados para alimentos.

2.0. Metodologia

Para realização das buscas por documentos de patentes relacionados ao tema de interesse, foram utilizadas as palavras (*packing, food e antimicrobial*), seguido do conectivo *and* entre cada palavra, formando a busca *packing and food and antimicrobial*, sendo a pesquisa realizada em títulos e abstracts.

A combinação dessas palavras-chaves foi escolhida por fornecer um quantitativo de documentos de patentes adequado e satisfatório para o objetivo do trabalho. O banco de dados utilizado foi o Espacenet (EPO), por abranger patentes depositadas e publicadas em mais de 90 países, incluindo os pedidos de patentes depositadas no Brasil e USA, sendo o buscador de maior variedade e facilidade de acesso. Foram analisadas um total de 39 patentes em Janeiro de 2016, onde o foco foram as embalagens destinadas a alimentos com utilização de antimicrobianos.

3.0. Resultados e Discussão

De acordo com a busca de documentos de patentes realizada e as palavras chaves utilizadas nas buscas (*packing and food and antimicrobial*), foi possível delimitar o número de patentes para o trabalho (tabela 1):

Tabela 1. Número de patentes por palavras-chave e códigos de classificação.

Packing	Packing Active	Food	Antimicrobial	A23L3	B65D	B65B55	Nº de Patente
X							10.000
		X					10.000
			X				10.000
X		X					10.000
X	X						4.030
	X						3.937
		X	X				2.516
X	X	X					1.100

	X	X					1.100
X			X				137
X		X	X				44
X		X	X		X		17
X		X	X	X			14
X	X		X				9
X		X	X			X	8
X	X	X	X				3
	X	X	X				3

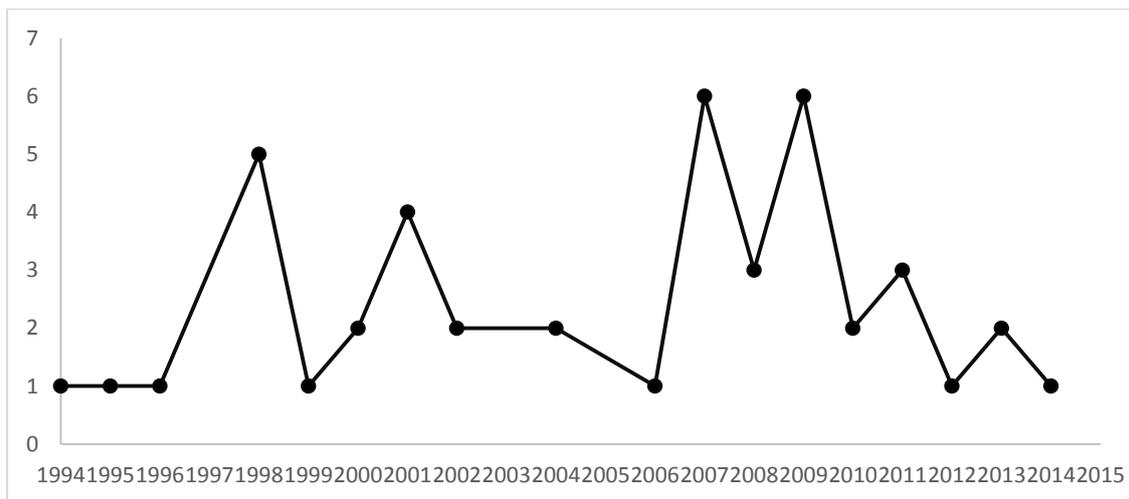


Figura 1. Evolução Anual de Patentes Depositadas.

O ano de 1988, foi o início dos depósitos de patentes voltadas a polímeros incorporados com agentes antimicrobianos (figura 1), pois na década de 90 o conceito de segurança alimentar passou a incorporar também a noção de acesso a alimentos seguros (não contaminados biologicamente ou quimicamente). É importante ressaltar que um pedido de patente depositado, segundo as normas que emanam da Convenção da União de Paris, leva 18 meses em sigilo, contados da data de depósito ou da prioridade mais antiga, até sua publicação, isto justifica a falta de dados nos anos de 2015 e 2016.

A primeira patente depositada nos últimos 20 anos (1995), trata da elaboração de uma embalagem com ação antimicrobiana, resistente ao mofo e altas temperaturas, sem influenciar o alimento. Esta embalagem é obtido por amassamento de uma resina sintética com a inclusão dos compostos ciclodextrina (carboidrato complexo composto de unidades de Glicose a (α -D-glicopiranoses) unidas pelas ligações tipo α -1,4 com estruturas iguais a um tronco de cone) e isotiocianato (é um composto formado a partir dos glicosinolatos através da ação de uma enzima chamada mirosinase, presente em vegetais como couve-flor).

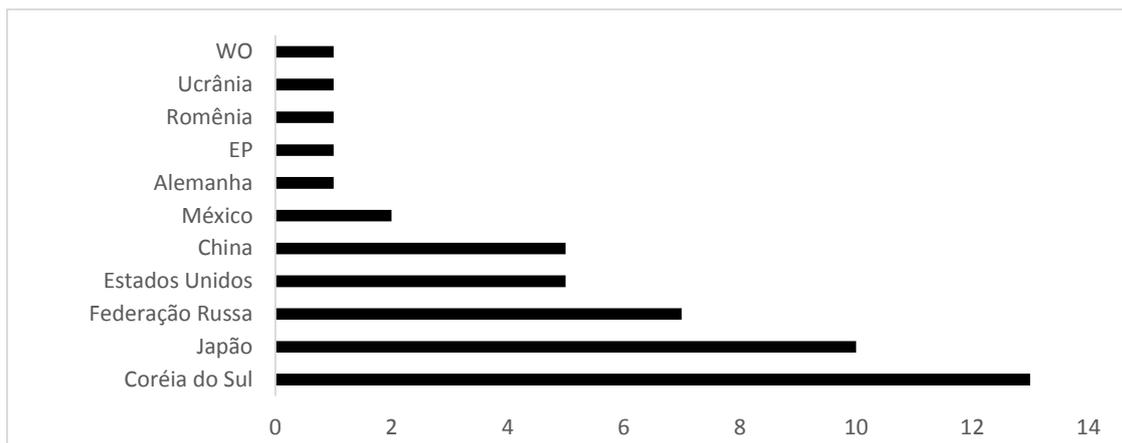


Figura 2. Número de Patentes Depositadas por País.

A Coréia do Sul foi o país mais representativo no que diz respeito ao número de depósitos de patentes depositadas (figura 2), com um total de 29,54% das patentes depositadas, seguido pelo Japão (22,72%) e Rússia (15,90%). Países como China e Estados Unidos ambos foram depositantes de 15,90% das patentes e a Romênia, Ucrânia e México foram responsáveis pelo depósito de 2,27% de patente. Esses dados foram resultados da consulta entre os anos de 1995 a 2015.

Países como Coréia do Sul e Japão tem demonstrado um grande crescimento de depósitos de patentes, devido a sua política de incentivo a inovação e tecnologia, diferentes do Brasil, que no aspecto da presente pesquisa não aparece como depositante, podendo ser verificado no gráfico os depositantes líderes no que diz respeito a embalagens com ação antimicrobianas.

Os depositantes desta patente foram inventores independentes, classificada no código A23L3/00. Com o comportamento do gráfico é possível observar que existe uma crescente preocupação e evolução no estado da arte no que diz respeito a patentes com embalagens antimicrobianas.

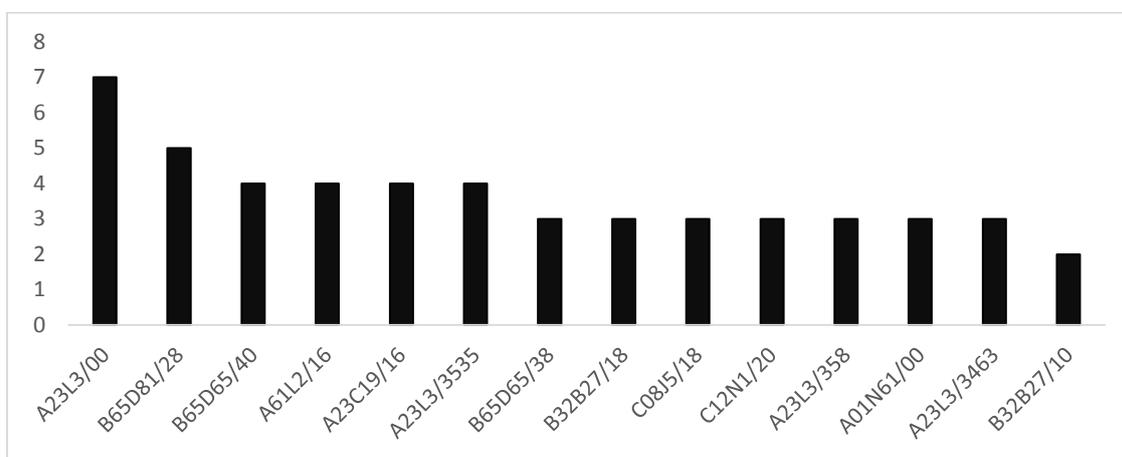


Figura 3. Patentes por Classificação Internacional.

Foram encontrados uma diversidade de 14 códigos (figura 3) de classificação diferentes, como demonstrado no gráfico 3. As seções que estiveram presentes nas buscas foram A classificando 73,33% das patentes, esta sessão trata das necessidades humanas e B (26,67%), tratando da execução de operações e transporte.

O código A23 trata de alimentos ou produtos alimentícios; seu beneficiamento. Justificando assim, porque este código esteve presente em 26 documentos, representando o maior código de classificação dos documentos de patentes encontrados nesta pesquisa (tabela 2). Já o código B65 classifica estes documentos em transporte; embalagem; armazenamento; manipulação de material delgado ou filamental, classificando 10 documentos destas pesquisa.

Tabela 2. Classificação dos códigos encontrados na pesquisa (*packing and food and antimicrobial*).

Código	Classificação
A01N61/00	Biocidas, repelentes ou atrativos de pestes ou reguladores do crescimento de plantas contendo substâncias de composição desconhecida ou indeterminada, p. ex. substâncias caracterizadas apenas pelo modo de ação.
A23L3/00	Conservação de alimentos ou produtos alimentícios, em geral, p. ex. pasteurização, esterilização, especialmente adaptada a alimentos ou produtos alimentícios ...
A23L3/3454	... na forma de líquidos ou sólidos.
A23L3/3463	... compostos orgânicos; Micro-organismos; Enzimas.
A23L3/3472	... compostos de constituição indeterminada obtidos a partir de animais ou plantas.
A23L3/3508	... contendo grupos carboxila.
A23L3/3517	... Ésteres de ácido carboxílicos.
A23L3/3535	... compostos orgânicos contendo enxofre.
A23L1/212	... produtos à base de frutas ou legumes; Seu preparo ou tratamento.
A23L2/00	... bebidas não alcoólicas; Composições secas ou concentrados para as mesmas; Suas preparações.
A23C 19/16	Queijo; Preparações à base de queijo; Preparação dos mesmos e revestimento da superfície do queijo, p. ex. com cera de parafina.

B65D65/40	Envoltórios ou coberturas flexíveis; Materiais de embalagem de tipo ou forma especial utilizando laminados para fins especiais de embalagem.
B65D65/38	Envoltórios ou coberturas flexíveis; Materiais de embalagem de tipo ou forma especial. Materiais de embalagem de tipo ou forma especial.
B65D81/28	Recipientes, elementos de embalagem ou pacotes, para conteúdo que apresente problemas especiais de transporte ou armazenamento ou adaptados para outros fins que não embalagem depois da remoção do conteúdo e utilização de meios para conservar alimentos, fungicidas, pesticidas ou repelentes contra animais.
B32B27/18	Produtos em camadas compreendendo, essencialmente, resina sintética caracterizada pelo uso de aditivos especiais.

Fonte: Autoria própria (2015).

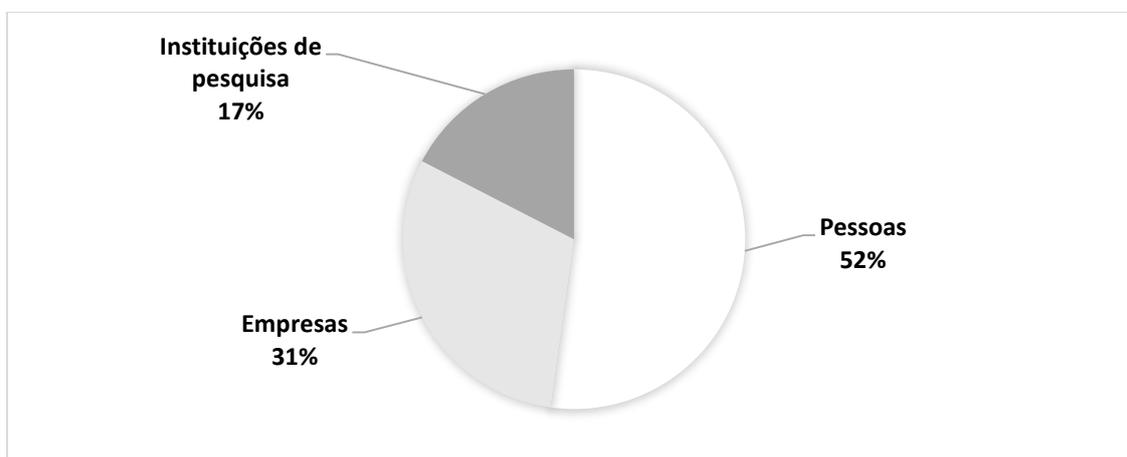


Figura 4. Número de Patentes por Depositante.

Quanto aos detentores da tecnologia, o maior número de patentes depositadas foram por inventores independentes (figura 4), cerca de 52%, sendo que a maioria destes depositantes estão divididos entre a Coreia do Sul, Japão e Rússia. As empresas depositaram 31% das patentes no período e 17% tiveram como depositantes as Instituições de pesquisa, totalizando 5 instituições depositantes, sendo 3 depósitos pertencentes a China, 2 ao México, Coreia do Sul e Romênia, depositaram 1 patente cada.

Ao que se refere ao tipo de polímero mais empregado na criação de embalagens com ação antimicrobiana (figura 5), estão os polietilenos, sendo utilizados em 13 patentes. A vasta utilização deste polímero se dá devido a sua alta flexibilidade, dentre os polímeros existentes é o quimicamente mais simples, tendo um baixo custo, resistência a altas temperaturas, boa qualidade, leveza, transparência, alta resistência a tração,

compressão e tensão. Quanto ao emprego em alimentos, são desejados por serem inertes e atóxicos.

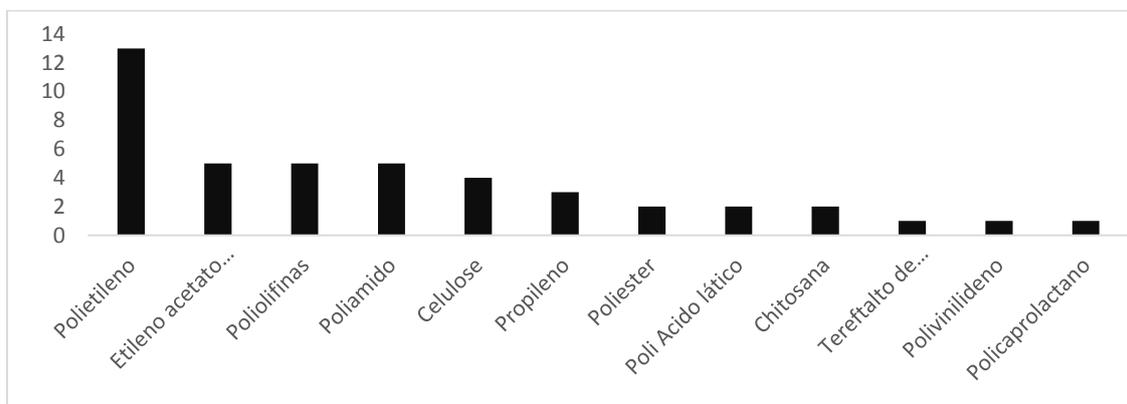


Figura 5. Tipos de Polímeros por Número de Patentes.

Pode-se observar a utilização de polímeros biodegradáveis, como o Poli Acido lático, justificada pela crescente preocupação ambiental por parte da indústria de embalagens para alimentos, preocupada com a crescente necessidade da substituição dos polímeros sintéticos por polímeros biodegradáveis.

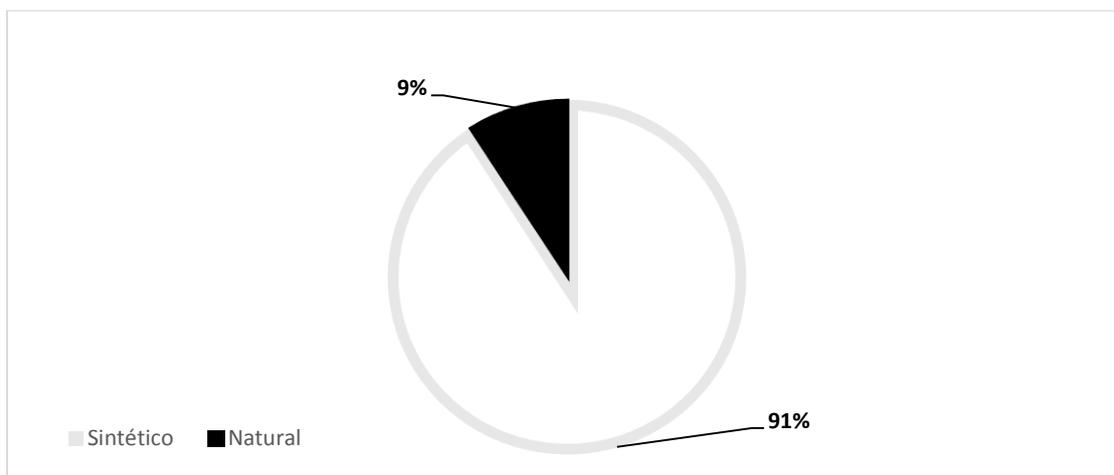


Figura 6. Origem do Antimicrobiano por Número de Patentes.

Em relação a origem do antimicrobiano utilizado (figura 6), os sintéticos (37) representaram a maior percentagem, 91% das patentes, enquanto os naturais 9%. Os compostos antimicrobianos sintéticos mais utilizados foram: diversos tipos de ácidos (cítrico, fosfórico, acético, benzoico e outros), Nanopartículas de prata, Cobre, Partículas de Selênio e Íons de Prata.

Quanto aos naturais (2) o Extrato de Semente de Uva e Extrato de Artemísia, foram utilizados em uma patente cada. Atualmente, pesquisas têm se voltado a utilização dos antimicrobianos naturais, devido ao fato de não se conhecer a toxicidade destes

compostos, portanto, a utilização de compostos naturais surge como uma alternativa segura, ao que se refere a alimentação humana.

4.0. Conclusões

As embalagens com ação antimicrobianas são de grande importância, principalmente para a indústria de alimentos, onde se necessita de uma melhor qualidade os produtos alimentícios. Ao longos os anos observa-se um crescimento no número de depósitos de patentes, pertinentes ao tema.

A Coréia de Sul foi o país com maior número de depósitos (13 patentes) relacionadas a busca efetuada, o Brasil não possui destaque neste tema, devido ao seu baixo investimento em pesquisas. O código AL23L3 é o código internacional mais usado por ser genérico. A proporção de patentes com inventores independentes é bem maior que a de empresas e instituições de pesquisa.

O polímero mais utilizado no emprego destas embalagens trata-se de um polímero não biodegradável o Polietileno. O maior índice de apropriação patentária utilizam antimicrobianos sintéticos como composto ativo.

Existem poucas aplicações de polímeros incorporados com antimicrobianos naturais voltados a alimentos e polímeros biodegradáveis, isto torna este aspecto vantajoso para investimentos de pesquisa, desenvolvimento e apropriação de tecnologia. Destacando a área como promissora, podendo ser novos pontos de pesquisa, ampliando o conhecimento da área de embalagens e criando novas tecnologias sustentáveis.

5.0. Referências

- ABRAE** – Associação Brasileira de Embalagem, 2015. Disponível: <<http://www.abre.org.br>>, acesso: 10/12/2015.
- APPENDINI, P & HOTCHKISS, J. H. Surface modification of poly (styrene) by the attachment of an antimicrobial peptide. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 81, p. 609-616, 2001.
- AZEREDO, H. M. C.; FARIA, J. A. F & AZEREDO, A. M. C. Embalagens Ativas Para Alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n, 3, p 337 – 341, 2000.
- KHWALDIA, K.; ARAB-TEHRANY, E & DESOBRY, S. Biopolymer coatings on paper packaging materials. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 9, n. 1, p. 82-91, 2010.
- KUREK, M. et al. Antimicrobial efficiency of carvacrol vapour related to mass partition coefficient when incorporated in chitosan based films aimed for active packaging. **Food Control**, v. 32, n. 1, p. 168–175, 2013.
- MARTINS, S. M. F & CARLOS, J. M. Polímeros Biodegradáveis – Uma Solução Parcial Para Diminuir A Quantidade Dos Resíduos Plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811-816, 2006.