



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA**

**ROSUETI DIÓGENES DE OLIVEIRA FILHO**

**INCORPORAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO EM FILMES  
BIODEGRADÁVEIS À BASE DE GALACTOMANANA E ÓLEO CANOLA**

**FORTALEZA**

**2015**

ROSUETI DIÓGENES DE OLIVEIRA FILHO

INCORPORAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO EM FILMES  
BIODEGRADÁVEIS À BASE DE GALACTOMANANA E ÓLEO CANOLA

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Bioquímica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. Renato de Azevedo Moreira.

Co-orientadora: Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos.

FORTALEZA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

- 
- O51i      Oliveira Filho, Rosueti Diógenes de.  
            Incorporação do óleo essencial de manjerição em filmes biodegradáveis à base de galactomanana e óleo canola / Rosueti Diógenes de Oliveira Filho. – 2015.  
            76 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular, Fortaleza, 2015.  
            Orientação: Prof. Dr. Renato de Azevedo Moreira.  
            Coorientação: Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos.  
            Área de Concentração: Bioquímica Vegetal.
1. *Delonix regia*. 2. Hemicelulose. 3. Atividade antibacteriana. I. Título.

---

CDD 574.192

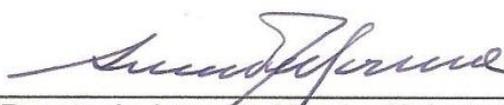
ROSUETI DIÓGENES DE OLIVEIRA FILHO

INCORPORAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO EM FILMES  
BIODEGRADÁVEIS À BASE DE GALACTOMANANA E ÓLEO CANOLA

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Bioquímica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Bioquímica.

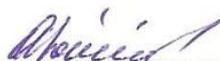
Aprovada em 12 / 08 / 2015

**BANCA EXAMINADORA**



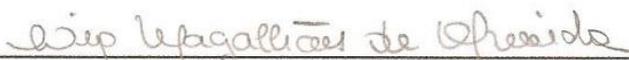
---

Prof. Dr. Renato de Azevedo Moreira (Orientador)  
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)



---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Lúcia Ponte Freitas  
Universidade Federal do Ceará (UFC)



---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lia Magalhães de Almeida  
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

*A Deus.*

*Aos meus pais, Rosueti e Edneide.*

*Aos meus irmãos, Gracielle e Ronny.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pela concessão da bolsa de estudos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento ao grupo de pesquisa do Laboratório de Desenvolvimento de Fármacos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade de Fortaleza (UNIFOR).

À Universidade de Fortaleza (UNIFOR), por todo o suporte e infraestrutura oferecidos.

Ao Núcleo de Biologia Experimental (NuBEx), por todo o suporte e infraestrutura oferecidos.

Ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará (UFC).

Ao Laboratório de Desenvolvimento de Fármacos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade de Fortaleza (UNIFOR), por todo o suporte, apoio técnico e infraestrutura oferecidos.

Ao Laboratório de Tecnologia de Embalagens para Alimentos da Embrapa Agroindústria Tropical da Universidade Federal do Ceará (UFC), por todo o suporte, apoio técnico e infraestrutura oferecidos.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por ter me concedido força, paciência, saúde e motivação para continuar seguindo em frente, mesmo nos momentos mais difíceis.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Renato de Azevedo Moreira por ter me recebido em seu laboratório, pelos conhecimentos transmitidos, pelos conselhos como amigo nos momentos de amparo e pelo apoio no crescimento profissional.

À Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos, por ter me recebido em seu laboratório, pela acessibilidade à Embrapa Agroindústria Tropical e todo o suporte que foi indispensável para este trabalho.

À Profa. Dra. Ana Cristina de Oliveira Monteiro Moreira, pela contribuição na realização deste trabalho, pelo apoio e valiosos conhecimentos transmitidos.

Aos meus pais, irmão e irmã, pelo apoio em todas as minhas decisões e mesmo morando longe nunca deixaram de estar presentes em meu crescimento pessoal e profissional. Obrigado meus pais por me darem educação e valores os quais são indispensáveis em minha vida, amo vocês.

Aos meus familiares, primos, tios, tias e avós, pela consideração, apoio e reconhecimento de minhas escolhas, vocês fazem parte de cada conquista minha.

Ao meu grande amigo Victor Gerônimo, pela amizade, ajuda no início do mestrado com moradia e conselhos. Nunca vou esquecer tal consideração.

Aos meus amigos de Tabuleiro do Norte, pela amizade e reconhecimento. Embora tenhamos diminuído o contato, mas o apoio de vocês nunca faltou em minhas jornadas.

A todos meus amigos de Mossoró, da minha turma de graduação e aos que conheci durante o tempo que reside lá, pela amizade, consideração e apoio que continuam me mantendo mesmo após ter saído de Mossoró. O apoio de vocês sempre me fortaleceu para continuar esta jornada.

Aos meus grandes amigos, companheiros e colegas de trabalho, Rogênio e Felipe, pela parceria, ajuda, conselhos, amizade e ótimos momentos durante todo

esta jornada, dentro e fora do laboratório. Ao lado de vocês encontrei forças, alegria e uma grande amizade.

Aos amigos e colegas de laboratório, Antônio Neto, Camilo, Cícero, Djaci, Fernanda Rheinheimer, Fernanda Rodrigues, Hyldecia, Kueirislene, Juvêncio, Lorena, Márcio, Marina, Melissa, Nydy, Ronielly, Taís e Wallace, pelo convívio, amizade e aprendizado, dentro e fora do Laboratório de Desenvolvimento de Fármacos, UNIFOR.

À Patrícia, pelo apoio técnico e suporte do Laboratório de Controle de Qualidade Microbiológico da Universidade de Fortaleza (UNIFOR).

Ao meu amigo e colega de laboratório Kelvi, pela parceria, ajuda, idas aos sábados para o laboratório quando precisei, ensinamentos compartilhados e disponibilidade. Obrigado pela ajuda.

Aos amigos e colegas de laboratório Dalila, Delane, Emanuela, Gabrielle, Luana, Lucas, Marília, Nadya, Ruan, Sara, Talita e Williara, pela ajuda, parceria, ensinamentos compartilhados e convívio no Laboratório de Tecnologia de Embalagens em Alimentos, Embrapa Agrodinústria Tropical, Universidade Federal do Ceará (UFC).

As todos que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma com muita energia positiva para que este trabalho fosse realizado.

“Se a educação sozinha não transforma a sociedade, sem ela tampouco a sociedade muda.” (Paulo Freire)

## RESUMO

Embalagens biodegradáveis são coberturas utilizadas em alimentos na forma de filmes ou revestimentos, formadas por macromoléculas tanto de origem vegetal como de origem animal, que garantem propriedades de barreira e podem servir como veículo para compostos antimicrobianos. Os polissacarídeos de reserva de parede celular, principalmente as hemiceluloses como as galactomananas, vêm sendo extensamente usadas como matrizes poliméricas de filmes biodegradáveis. O objetivo deste trabalho foi avaliar a incorporação de óleo essencial de manjeriço (OEM) (*Ocimum basilicum*) em filmes biodegradáveis à base de galactomanana endospermica de sementes de flamboyant (*Delonix regia*) e óleo canola (OC) (*Brassica napus* L.). A Galactomanana (Gal) foi isolada por extração aquosa, seguida por precipitação em etanol. O rendimento determinado foi de 12,0%, com alto grau de pureza apresentado pelo baixo teor de nitrogênio expresso em proteína (0,67%). A Gal apresentou viscosidade intrínseca média de 3,79 dL/g e massa molar estimada de  $1,04 \times 10^6$  g/mol. Os espectros de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram similares aos encontrados na literatura para outras galactomananas. A composição em ácidos graxos do OC por cromatografia a gás (GC-FID) apresentou teores de ácido oleico (62,07%), linoleico (18,91%) e heneicosanóico (6,61%). Os componentes majoritários do OEM determinados por cromatografia a gás acoplado à espectrometria de massas (GC-MS) foram cânfora (14,85%) e 1,8-cineol (3,48%). Os filmes foram formulados com Gal 1% (m/v), glicerol 0,5% (m/v) e OC em diferentes concentrações, 0,25, 0,5 e 0,75% (m/v). Os filmes foram obtidos pelo método de evaporação de solvente (*casting*) e caracterizados quanto ao teor de umidade, espessura, permeabilidade ao vapor de água (PVA), cor e opacidade. O OC promoveu aumento de PVA e diminuição do teor de umidade quando comparado ao filme apenas de galactomanana, mas sem diferença significativa entre as concentrações. O OEM foi testado frente às cepas bacterianas de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella choleraesuis*, *Staphylococcus aureus* e levedura *Candida albicans* por microdiluição em caldo e apresentou concentração inibitória mínima (CIM) variando entre 2,5 e 5,0 mg/mL e concentração bactericida mínima (CBM) entre 5,0 e 20,0 mg/mL. A partir do filme com formulação de 0,5 % (m/v) de OC incorporou-se OEM em diferentes concentrações (2,5, 5,0 e 7,5 mg/mL). Os filmes antimicrobianos foram obtidos por *casting* e discos de 1 cm de diâmetro foram excisados e testados por método de difusão em ágar e a zona de contato e os halos de inibição analisados. *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa* foram sensíveis ao filme contendo 5,0 mg/mL de OEM apresentando halos de 14, 15 e 16,3 mm, respectivamente. *K. pneumoniae* foi inibida apenas na zona de contato do filme, enquanto que *S. choleraesuis* e *C. albicans* foram resistentes à todas as formulações. Contudo, O OC promoveu alterações nas propriedades físicas e de barreira dos filmes de galactomanana e OEM quando incorporado ao filme apresentou uma atividade antimicrobiana moderada para potencial aplicação como embalagens bioativas.

**Palavras-chave:** *Delonix regia*; Hemiceluloses; Permeabilidade ao Vapor de Água; Atividade Antimicrobiana.

## ABSTRACT

Biodegradable Packaging are used in foods as films or coatings formed by plant macromolecules such as animal, ensuring barrier properties and can serve as a carrier for antimicrobial compounds. The cell wall polysaccharides reservation, especially hemicelluloses as galactomannans, have been used widely as biodegradable polymer matrices films. The objective of this study was to evaluate the Basil essential oil (BEO) (*Ocimum basilicum*) incorporation in biodegradable films based on endospermic galactomannan *Delonix regia* seeds and canola oil (CO) (*Brassica napus* L.). The galactomannan (Gal) was isolated by aqueous extraction, followed by ethanol precipitation. The yield was 12.0% with high purity presented by low nitrogen content expressed protein (0.67%). The Gal showed an average intrinsic viscosity of 3.79 dL/g and molecular weight estimated in  $1,04 \times 10^6$  g/mol. Infrared spectra by Fourier transform (FTIR) and nuclear magnetic resonance (NMR)  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  were similar to those found in the literature for other galactomannans. The fatty acid composition of CO by gas chromatography (GC-FID) showed oleic acid (62.07%), linoleic (18.91%) and heneicosanoico (6.61%) content. The major components of BEO determined by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) were camphor (14.85%) and 1.8-cineole (3.48%). The films were formulated with galactomannan 1% (w/v), glycerol 0.5% (w/v) and CO at different concentrations, 0.25, 0.5 and 0.75% (w/v). The films were obtained by the solvent evaporation method (*casting*) and characterized as the moisture content, thickness, water vapor permeability (WVP), color and opacity. The CO promoted increase of WPV and reduced moisture content when compared to the film based only in galactomannan but no significant difference between concentrations. BEO was tested against the bacterial strains of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella choleraesuis*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* yeast by broth microdilution and showed minimum inhibitory concentration (MIC) ranging between 2.5 and 5.0 mg/ml and minimum bactericidal concentration (MBC) between 5.0 and 20.0 mg/ml. BEO was incorporated into film formulation with CO 0.5% (w/v) in different concentrations (2.5, 5.0 and 7.5 mg/ml). The antimicrobial films were obtained by *casting* and disks of 1 cm in diameter were excised and tested by the agar diffusion method and a contact zone and inhibition halos analyzed. *S. aureus*, *E. coli* and *P. aeruginosa* were sensitive to film containing BEO 5.0 mg/ml showed halos of 14, 15 and 16.3 mm, respectively. *K. pneumoniae* was inhibited only in the contact zone of the film, while *S. choleraesuis* and *C. albicans* were resistant to all formulations. However, the OC promoted changes in physical and barrier properties of the films of with galactomannan. BEO when incorporated into the film showed a moderate antimicrobial activity for potential application as bioactive packaging.

**Keywords:** *Delonix regia*; Hemicellulose; Water Vapor Permeability; Antibacterial Activity.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Representação esquemática da parede celular primária. ....	18
Figura 2 - Modelo proposto para a arquitetura da parede celular vegetal com a distribuição e organização das matrizes básicas. ....	19
Figura 3 – Segmento representativo de uma cadeia de galactomanana. ....	20
Figura 4 – <i>Delonix regia</i> .....	23
Figura 5 – Determinação da viscosidade intrínseca da galactomanana de <i>D. regia</i> .42	
Figura 6 – Cromatograma de permeação em gel de galactomanana de <i>D. regia</i> . ....	43
Figura 7 – Gráfico de potencial zeta (P $\zeta$ ) de galactomanana de <i>D. regia</i> em suspensão. ....	44
Figura 8 – Espectro de na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) de galactomanana de <i>D. regia</i> .....	45
Figura 9 – Espectro de hidrogênio ( $^1\text{H}$ -RMN) da galactomanana. ....	47
Figura 10 - Espectro de carbono treze ( $^{13}\text{C}$ -RMN) da galactomanana. ....	48
Figura 11 – Cromatograma obtido pela análise por GC-FID de óleo canola. ....	49
Figura 12 – Filmes biodegradáveis obtidos pelo método de <i>casting</i> . ....	52
Figura 13 – Gráfico de teor de umidade (%) dos filmes. ....	53
Figura 14 – Gráfico de permeabilidade ao vapor de água em relação aos filmes de galactomanana. ....	55

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Rendimento e caracterização físico-química da galactomanana de <i>D. regia</i> .....	40
Tabela 2 – Parâmetros macromoleculares de galactomanana de <i>D. regia</i> .....	42
Tabela 3 – Frequências vibracionais de ligações químicas associadas à galactomanana.....	46
Tabela 4 - Teor dos componentes identificados através de CG-DIC do óleo de canola ( <i>Brassica napus</i> L.).....	50
Tabela 5 - Teor dos componentes identificados através do espectro de massas da amostra do óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> .....	51
Tabela 6 – Valores de permeabilidade e espessura dos filmes/blenda de galactomanana e óleo de canola.....	54
Tabela 7 – Valores da diferença de cor ( $\Delta E$ ), parâmetros de luminosidade ( $L^*$ ), cor verde ( $a^*$ ), amarelo ( $b^*$ ) e opacidade ( $Y$ ) dos filmes.....	56
Tabela 8 - Atividade antibacteriana do óleo essencial de Manjeriçãõ ( <i>Ocimum basilicum</i> ).....	58
Tabela 9 - Antibiograma dos filmes incorporados com óleo essencial.....	59

## LISTA DE ABREVEATURAS E SIGLAS

<b>[<math>\eta</math>]</b>	Viscosidade Intrínseca
<b>C</b>	Concentração do polímero (g/dL)
<b>CBM</b>	Concentração Bactericida Mínima
<b>CIM</b>	Concentração Inibitória Mínima
<b>EHL</b>	Equilíbrio hidrófilo-lipófilo
<b>EPM</b>	Erro Padrão Médio
<b>GC-MS</b>	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
<b>GPC</b>	Cromatografia de Permeação em Gel
<b>K<sub>H</sub></b>	Constante de Huggins
<b>K<sub>K</sub></b>	Constante de Kramer
<b>M:G</b>	Razão Manose:Galactose
<b>Man:Gal</b>	Razão Manose : Galactose
<b><math>\eta_r</math></b>	Viscosidade Relativa
<b><math>\eta_{sp}</math></b>	Viscosidade Específica
<b>OE</b>	Óleo Essencial
<b>PVA</b>	Permeabilidade ao Vapor de Água
<b>P<math>\zeta</math></b>	Potencial Zeta
<b>RMN</b>	Ressonância Magnética Nuclear
<b>UFC</b>	Unidade Formadora de Colônia
<b>UR</b>	Umidade Relativa
<b>Y</b>	Opacidade
<b>Y<sub>b</sub></b>	Opacidade no padrão branco
<b>Y<sub>p</sub></b>	Opacidade no padrão preto

## SUMÁRIO

1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
1.1 Polissacarídeos de Reserva de Parede Celular (PRPC).....	16
1.2 Hemiceluloses Vegetais .....	18
1.1.1 Galactomananas .....	19
1.2 <i>Delonix regia</i> (Bojer ex Hook.) Raffin .....	23
1.3 Filmes Biodegradáveis .....	24
1.3.1 Filmes à base de polissacarídeos .....	25
1.4 Óleo Canola ( <i>Brassica napus</i> L.).....	26
1.5 Filmes biodegradáveis ativos com propriedades antimicrobianas.....	27
1.6 Óleo Essencial de Manjeriçãõ ( <i>Ocimum basilicum</i> ) .....	28
2. OBJETIVOS .....	30
2.1 Objetivo Geral .....	30
2.2 Objetivos Específicos .....	30
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
3.1 Materiais.....	31
3.2 Extração da Galactomanana de sementes de <i>Delonix regia</i> .....	31
3.2.1 Caracterização físico-química da galactomanana extraída de <i>Delonix regia</i> ...	31
3.2.2 Viscosidade Intrínseca .....	32
3.2.3 Distribuição de Massa Molar .....	33
3.2.4 Potencial Zeta (Pζ) .....	33
3.2.5 Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	33
3.2.6 Análise Estrutural por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de Hidrogênio ( <sup>1</sup> H) e Carbono Treze ( <sup>13</sup> C).....	34

3.3 Determinação do teor de ácidos graxos do óleo de canola por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID).....	34
3.4 Análise do óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS).....	35
3.5 Preparação dos Filmes Biodegradáveis .....	35
3.5.1 Filmes/blenda à partir de galactomanana de <i>Delonix regia</i> e óleo canola .....	35
3.5.2 Filmes incorporados com óleo essencial de <i>O. basilicum</i> .....	36
3.5.3 Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL) .....	36
3.5.3 Determinação de teor de umidade .....	36
3.5.4 Medição de espessura dos filmes .....	37
3.5.5 Permeabilidade ao vapor de água.....	37
3.5.6 Propriedades Ópticas: Cor e Opacidade .....	37
3.6 Avaliação de Atividade Antibacteriana .....	38
3.6.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	38
3.6.2 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) .....	39
3.6.3 Antibiograma dos filmes dos filmes biodegradáveis incorporados com óleo essencial de <i>O. basilicum</i> .....	39
3.7 Análise Estatística .....	39
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4.1 Extração e caracterização físico-química da galactomanana de sementes de <i>Delonix regia</i> .....	40
4.2 Caracterização Reológica .....	41
4.3 Distribuição de Massa Molar .....	43
4.4 Potencial Zeta (Pζ).....	44
4.5 Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) .....	45
4.6 Análise Estrutural da Galactomanana de <i>D. regia</i> por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de Hidrogênio ( <sup>1</sup> H) e Carbono Treze ( <sup>13</sup> C) .....	46

4.7 Determinação da composição de ácido graxos do óleo canola por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID).....	48
4.8 Análise do óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS).....	51
4.9 Filmes Biodegradáveis .....	52
4.9.1 Teor de umidade dos filmes .....	53
4.9.2 Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA) .....	54
4.9.3 Propriedades ópticas: Cor e Opacidade.....	56
4.9.4 Atividade Antimicrobiana do óleo essencial de <i>O. basilicum</i> .....	58
4.9.5 Antibiograma com filmes contendo óleo essencial de <i>O. basilicum</i> .....	59
5. CONCLUSÕES .....	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	63

## 1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A *Leguminosae* é uma das três famílias mais numerosas dentre as angiospermas e da classe das cotiledôneas. Compreende cerca de 727 gêneros com 19.325 espécies e é tradicionalmente dividida em subfamílias: *Caesalpinioideae*, *Mimosoideae* e *Papilionoideae*, geralmente identificadas pela suas flores (LEWIS *et al.*, 2005). No Brasil, ocorrem cerca de 188 gêneros e 2.100 espécies estando entre as principais famílias que compõem a flora dos diversos ecossistemas (LIMA, 2000; SOUZA; LORENZI, 2005).

A Família *Leguminosae* é extremamente diversificada em plantas com ampla variação no habitat, desde ervas perenes até árvores de grande porte. A Subfamília *Caesalpinioideae* compreende 171 gêneros e 2.250 espécies, abundantes na América do Sul, África tropical e sudeste da Ásia, possui diversas espécies bem conhecidas como plantas ornamentais tropicais, dentre elas a *Delonix regia* (Flamboyant) (HICKEY, KING, 1997; LEWIS *et al.* 2005).

O Brasil apresenta grande potencial como produtor de recursos renováveis que ainda não foram suficientemente explorados, tendo vastas regiões apropriadas ao cultivo de leguminosas, principal fonte de galactomananas vegetais. As galactomananas são polissacarídeos formados por uma cadeia linear com unidades  $\beta$ -1,4-D-manopiranosose substituídas por unidades ligantes  $\alpha$ -1,6-D-galactopiranosose, desempenham função de reserva, onde são encontradas principalmente no endosperma das sementes da família *Leguminosae* (SOARES, 2009). As galactomananas são polissacáridos utilizados na indústria de alimentos, principalmente como estabilizante, espessante e emulsificante, sendo um dos materiais alternativos que podem ser utilizados para a produção de filmes e revestimentos comestíveis biodegradáveis (CERQUEIRA *et al.*, 2011).

A crescente demanda mundial por processos e produtos que visem sustentabilidade tem incentivado pesquisas no desenvolvimento de filmes biodegradáveis oriundos de fontes renováveis, a fim de reduzir os impactos ambientais decorrentes do acúmulo de embalagens à base de plásticos convencionais derivados do petróleo (ESPITIA *et al.*, 2013). As propriedades e vantagens oferecidas pelas embalagens biodegradáveis às tornam uma ótima

alternativa para as indústrias de alimentos, podendo substituir as embalagens convencionais não degradáveis (TELLES *et al.*, 2011).

A incorporação de compostos bioativos, tais como agentes antimicrobianos, em filmes, promove uma melhoria da segurança e da vida de prateleira de alimentos. Os óleos essenciais são substâncias naturais que atualmente ganham destaque como agentes antimicrobianos associados às embalagens para alimentos (LÓPEZ *et al.*, 2007; MONTES; NETA; CRUZ, 2013).

Os filmes antimicrobianos contendo óleo essencial, também denominados de embalagens ativas, ganharam atenção ultimamente, especialmente pela demanda dos consumidores por produtos alimentícios naturais e sem conservantes, sendo empregados como uma alternativa eficiente no controle de contaminação em alimentos promovendo uma maior qualidade e segurança (SUPPAKUL *et al.*, 2003; ALDANA *et al.*, 2015). Estudos *in vitro* mostram o efeito antibacteriano do óleo essencial de Manjericão (*Ocimum basilicum* L.) com potencial aplicação em tecnologias de embalagem (HOSSAIN *et al.*, 2010; MARTINS, 2010; GAIO *et al.*, 2015).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a incorporação de óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. em filmes biodegradáveis à base de blendas de galactomanana endospérmica de *Delonix regia* e óleo de Canola (*Brassica napus*), quanto às propriedades de barreira e antimicrobianas.

### **1.1 Polissacarídeos de Reserva de Parede Celular (PRPC)**

As Angiospermas apresentam diferentes estratégias de adaptação aos seus respectivos ambientes, entre as quais se encontra o acúmulo de certos compostos de reserva em suas sementes. Dentre as principais substâncias armazenadas pelas plantas, muitos polissacarídeos foram selecionados durante a evolução (LIMA, 2000). As células vegetais são delimitadas por uma resistente parede composta de polissacarídeos e glicoproteínas que conferem resistência mecânica, desenvolvimento e adaptações a mudanças ambientais (OIKAWA *et al.*, 2013).

Os Polissacarídeos consistem de longas cadeias contendo centenas e milhares de unidades de monossacarídeos ligados covalentemente e que podem ser

neutros ou carregados (VOET, 2011). Fazem parte do metabolismo energético de plantas (amido) e animais (glicogênio), da estrutura de células vegetais (celulose, pectina) ou do esqueleto de insetos e outros animais (quitina). O amido e celulose são os polissacarídeos mais abundantes sintetizados pelas plantas, com a celulose compreendendo 80% de seu peso (PINHEIRO, 2010).

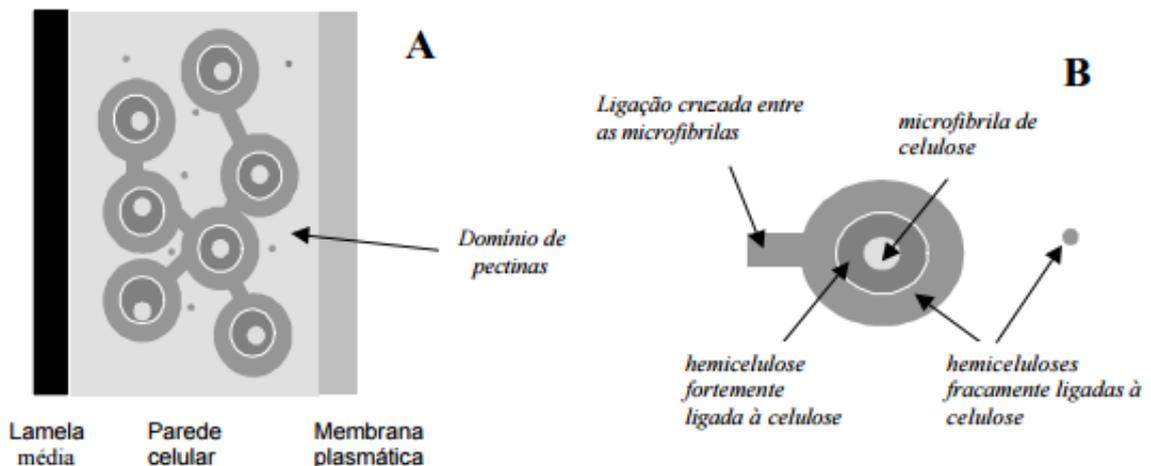
Os PRPCs são relativamente inertes quanto à sua reatividade química e apresentam diferentes graus de solubilidade em água, o que confere vantagens como alta compactação e baixa reatividade e tornam possível a existência de um compartimento celular especializado, ou seja, a parede celular permitindo o fluxo de água com um grau de liberdade considerável. Por outro lado, o custo energético para produzir tais polímeros é alto, pois necessitam de um complexo sistema de biossíntese, secreção e montagem no meio extracelular (BUCKERIDGE *et al.*, 2000).

Os diferentes componentes macromoleculares não celulósicos da parede celular se adaptaram, ao longo da evolução, ao papel de reserva nas sementes de diversas espécies (SOARES, 2009). A ocorrência destes polissacarídeos se dá principalmente em sementes, uma vez que são completamente degradados após a germinação e seus produtos são utilizados como fontes de carbono e energia para o crescimento inicial das plântulas. Esses polissacarídeos apresentam outras funções tais como dureza das sementes, participação em relações hídricas e expansão celular. Estas funções secundárias seriam importantes no mecanismo evolutivo que levou as plantas a utilizarem polissacarídeos da parede celular como reserva de carbono, relevantes em processos fisiológicos como amadurecimento de frutos, crescimento, desenvolvimento e senescência (BUCKERIDGE; RIED, 1996; ROSE; BENNETT, 1999; BUCKERIDGE, 2000)

Os modelos de arquitetura da parede celular propõem que esta seja formada de três domínios independentes (celulose/hemicelulose, pectinas e proteínas), em que os três domínios formam um compósito com características semelhantes a um cristal líquido (ROLAND *et al.*, 1992). Os PRPCs são observados como as hemiceluloses constituintes da parede celular. Neste modelo, a parede é vista em corte transversal como um compósito de polímeros em que as hemiceluloses

interligam a rede e envolvem as microfibrilas. Este domínio está imerso em uma matriz de polímeros pécnicos (Figura 1).

Figura 1- Representação esquemática da parede celular primária (A) em corte transversal. As microfibrilas de celulose estão cobertas por hemicelulose (xiloglucanas, arabinoxilanas ou mananas) que podem estar forte ou fracamente ligadas à celulose (B). O domínio celulose-hemicelulose está embebido em um domínio pécnico (A).



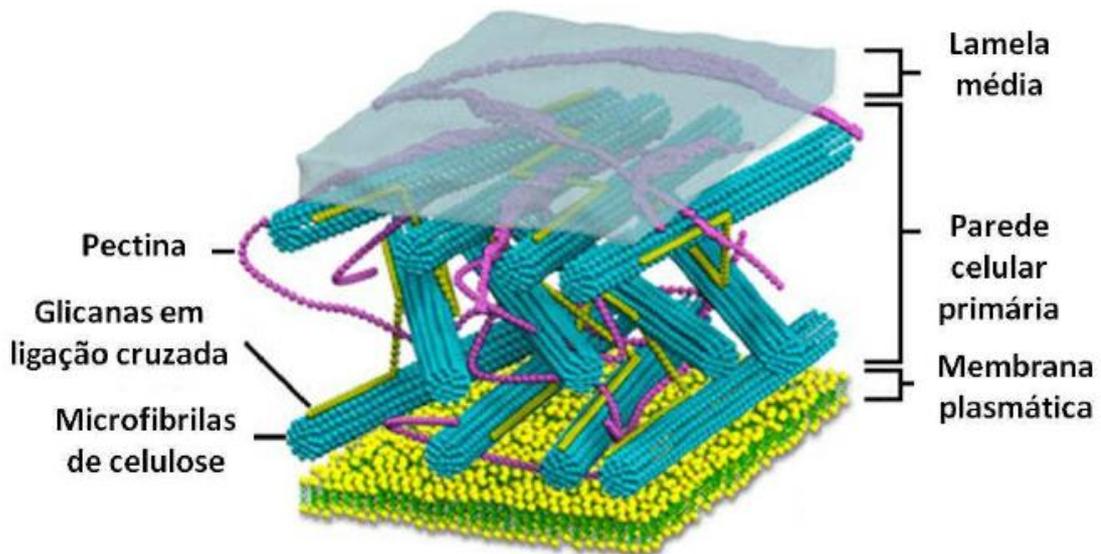
Fonte: Lima, 2000.

Os PRPCs são classificados de acordo com sua estrutura química em três grupos distintos: as xiloglucanas, as galactanas e as mananas, sendo estes últimos subdivididos em mananas puras, glucomananas e galactomananas (BUCKERIDGE *et al.*, 2000).

## 1.2 Hemiceluloses Vegetais

A parede primária de grande parte dos vegetais é composta por três estruturas independentes, as microfibrilas de celulose (~30%), os polissacarídeos não celulósicos, que incluem as hemiceluloses (~30%) e pectinas (~30%), e as proteínas estruturais (~10%). A estrutura detalhada das hemiceluloses e sua abundância varia amplamente entre diferentes espécies e tecidos das plantas (RAVEN *et al.*, 2001). A figura 2 representa um modelo proposto para a arquitetura da parede celular com as três matrizes básicas (celulose/hemicelulose, pectina e proteínas).

Figura 2 - Modelo proposto para a arquitetura da parede celular vegetal com a distribuição e organização das matrizes básicas.



Fonte: Soares, 2009.

As hemiceluloses são formadas por diversos grupos de polissacarídeos ramificados interligados às microfibrilas de celulose presentes na parede celular de todas as plantas terrestres. São polímeros que interagem fortemente com a celulose e possuem uma cadeia principal composta por ligações  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) em configuração equatorial (SILVA, 2009). Além de apresentarem uma configuração irregular e ausência de cristalinidade, motivo pelo qual absorve água facilmente, contribuindo para o aumento de flexibilidade das fibras, podem desempenhar um papel na defesa contra estresse hídrico (BUCKERIDGE *et al.*, 2000).

Dentre elas, a classificação ocorre em xiloglucanas, mananas, xilanas, glucomananas, além de glucanas ligadas por  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3,1 $\rightarrow$ 4). Essa classificação é baseada essencialmente na composição monossacarídica. As mananas, por sua vez, são divididas em mananas puras, glucomananas e galactomananas (SCHELLER; ULVSKOV, 2010)

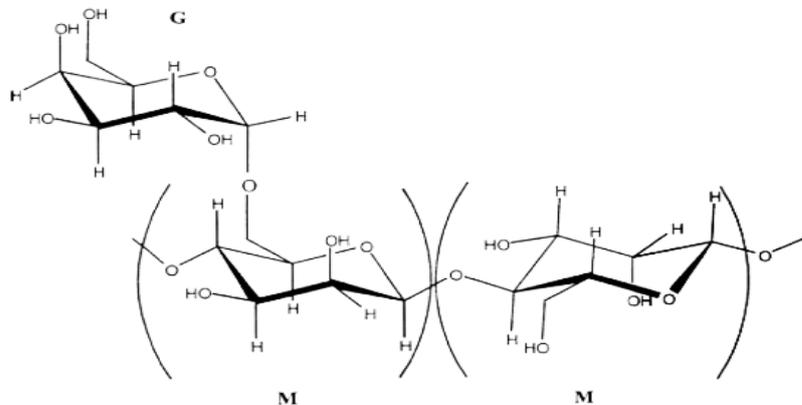
### 1.1.1 Galactomananas

As galactomananas são polissacarídeos neutros, comumente encontradas em maiores quantidades no endosperma das sementes da família *Leguminosae*, onde a principal função das células endospermicas está associada à reserva energética,

com rendimentos alcançando mais de 30% da massa seca de sementes em muitas espécies (FERREIRA, 2008; BUCKERIDGE, 2010). Elas também podem ser encontradas em fontes microbianas, leveduras e fungos (STEPHEN; PHILLIPS; WILLIAMS, 2006).

Constituem uma cadeia principal formada por unidades monossacarídicas de  $\beta$ -D-manopiranosose unidas por ligações glicosídicas  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4), substituídas por unidades monossacarídicas de D-galactopiranosose unidas por ligações  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6) em graus variados de acordo com a espécie (SIERAKOWSKI *et al.*, 2000; CUNHA *et al.*, 2009) (Figura 3). As galactomananas diferem entre si pela sua razão monossacarídica de manose e galactose (M:G), tamanho das cadeias, massa molecular e distribuição padrão das galactoses ao longo da cadeia principal, sendo este último determinante para suas propriedades físico-químicas (PRAJAPATI *et al.*, 2013).

Figura 3 – Segmento representativo de uma cadeia de galactomanana.



Fonte: Sierakowski *et al.*, 2000. M: manose (cadeia principal), G: galactose.

A grande vantagem das galactomananas é a sua capacidade de formar soluções muito viscosas a concentrações relativamente baixas, ligeiramente afetadas pelo pH, força iônica e processamento térmico (SITTIKIYOTHIN; TORRES; GONÇALVES, 2005). Em sistemas aquosos simples, elas são espessantes eficazes, uma propriedade que é essencialmente controlada pelo tamanho molecular (BRESOLIN *et al.*, 1999).

De acordo com a origem e espécie da galactomanana, podem ser observadas diferenças na razão M:G, pois a proporção e a forma como os substituintes estão

distribuídos ao longo da cadeia principal são importantes para compreender a capacidade de solubilização e interação molecular do polímero (AZERO, 1999). A solubilidade em água aumenta com o aumento do conteúdo de galactose, devido aos grupos laterais de galactose impedirem associações intercadeias e cristalização (MATOS, 2000; PRAJAPATI *et al.*, 2013).

Ao se estudar e trabalhar com galactomananas os parâmetros mais importantes que definem sua natureza são a razão M:G, massa molar e a viscosidade intrínseca. A primeira varia de acordo com a espécie e sua determinação envolve técnica de cromatografia gasosa, enquanto a massa molar pode ser determinada por cromatografia de exclusão molecular e a viscosidade intrínseca com o uso de viscosímetro capilar utilizando equações de Huggins e Kramer (SRIVASTAVA; KAPOOR, 2005).

A caracterização das propriedades físico-químicas de galactomananas envolve ainda cromatografia de troca iônica de alta pressão, espectroscopia de ressonância magnética nuclear do carbono treze ( $^{13}\text{C}$ -RMN), espectroscopia na região do infravermelho e reologia). (MIKKONEN *et al.*, 2007).

A ressonância magnética nuclear (RMN) é uma das mais poderosas técnicas espectroscópicas no estudo de aspectos estruturais e dinâmicos de moléculas orgânicas em solução. Para a química de carboidratos se tornou uma ferramenta largamente utilizada, principalmente na elucidação estrutural de polissacarídeos com estruturas complexas (KAISER, 2000).

A espectroscopia na região do infravermelho é uma técnica que pode fornecer informações sobre a estrutura molecular. Na molécula, todos os movimentos podem ser descritos em termos de dois tipos de vibrações, o estiramento e a deformação. O estiramento é um movimento rítmico e linear entre os átomos de modo que a distância interatômica vai aumentando ou diminuindo. Já a deformação ou flexão, resulta da mudança do ângulo de ligação. O estiramento pode ser simétrico ou assimétrico, e a deformação pode ocorrer no plano ou fora do plano da molécula. (THYGESEN *et al.*, 2003, FERREIRA, 2008).

### **1.1.1.1 Potencias Aplicações de Galactomananas**

Os polissacarídeos vêm se destacando significativamente nos últimos anos com fins de aplicações tecnológicas nas mais diversas áreas como biomedicina, materiais e alimentos. Quando modificados ou em sua forma original, apresentam boas propriedades mecânicas para aplicação de fibras, filmes, adesivos, espessantes, modificadores reológicos, hidrogéis, carreadores de drogas, emulsificantes, etc. (CRUZ, 2014).

A utilização de hemiceluloses vegetais tem ênfase em sua importância por serem biocompatíveis, de baixo custo, inertes, atóxicas e biodegradáveis como vantagens em relação aos polímeros sintéticos (PRAJAPATI *et al.*, 2013). A maioria dos estudos desenvolvidos com galactomananas visa o interesse comercial com aplicações em diversas áreas da indústria (AZERO; ANDRADE, 2002). As duas galactomananas produzidas comercialmente em grandes quantidades são a goma guar a partir de sementes de *Cyamopsis tetragonolobus* e a alfarroba a partir de sementes de *Ceratonia siliqua* (MAIER *et al.*, 1993).

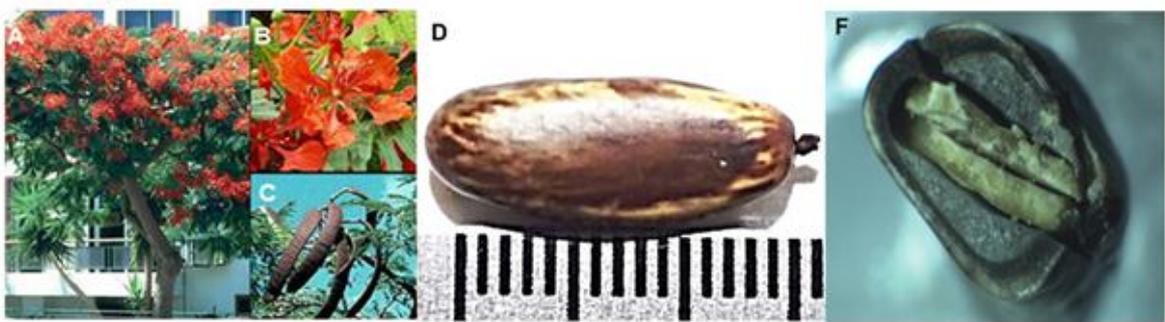
As galactomananas são utilizadas como ferramentas no isolamento e estudo de macromoléculas ligantes à galactose tais como lectinas, proteínas capazes de se ligarem reversivelmente a carboidratos, exclusivamente as  $\alpha$ -D-galactose-ligantes (BRAGA *et al.*, 2011). Muitas galactomananas são utilizadas em linhas de pesquisa com fins biotecnológicos como as de *Caesalpinia pulcherrima* e *Delonix regia* como excipiente em comprimidos (SELVI *et al.*, 2010; KALE *et al.*, 2009), *Mimosa scabrella* como matriz para liberação controlada de fármacos (VENDRUSCOLO *et al.*, 2005) e *Adenantha pavonina* no desenvolvimento de revestimentos comestíveis para frutos (LIMA *et al.*, 2008).

Na literatura, muitos trabalhos apresentam a caracterização e aplicação de galactomananas como filmes/revestimentos, porém ainda é limitado quando comparada aos outros polissacarídeos (Lima *et al.*, 2010). A aplicação destes polissacarídeos é principalmente devido à propriedade característica de formarem soluções viscosas a concentrações relativamente baixas e só precisar de água na sua preparação (MARTINS *et al.*, 2010, CERQUEIRA *et al.*, 2011)

## 1.2 *Delonix regia* (Bojer ex Hook.) Raffin

Neste trabalho foi utilizada como fonte de galactomanana a espécie *Delonix regia*, conhecida popularmente por Flamboyant. É uma árvore de porte médio nativa da ilha de Madagascar e característica de regiões quentes e úmidas da Índia, África e América, pertencente à família *Leguminosae*, família *Fabaceae* e subfamília *Caesalpineae*. É uma espécie empregada na arborização de parques e jardins, devido às qualidades ornamentais de suas flores, que possuem propriedades antimicrobianas e antifúngicas, utilizadas no preparo de extratos aquosos em áreas rurais (ADJÉ *et al.*, 2012). Suas vagens são compridas e largas contendo em média 20 sementes com tegumento cinza escuro com marcas longitudinais mais claras em um endosperma gomoso e espesso (Figura 4) (MATOS, 2008; ALVES, 2013).

Figura 4 – *Delonix regia* (A), flores (B), vagens (C), sementes (D) e corte transversal da semente (E)



Fonte: MATOS, 2008; ALVES, 2013; SOUSA, 2014.

Apesar de ser uma espécie amplamente utilizada para propósitos ornamentais, algumas de suas moléculas bioativas têm sido purificadas, caracterizadas e avaliadas quanto ao potencial farmacológico, como derivados de aminoácidos, carotenoides, galactomananas, lectinas e inibidores enzimáticos (RUBENSTEIN *et al.*, 2009).

As sementes de *D. regia* possuem um grande conteúdo de galactomananas com razão M:G de 4:1 e estrutura química elucidada por ressonância magnética nuclear (TAMAKI *et al.*, 2010). Em medicamentos, as galactomananas de *D. regia* foram usadas como aglutinantes, onde baixas concentrações desta goma melhoraram o equilíbrio entre a associação e desintegração de comprimidos, quando uma rápida desintegração é desejada. Para se obter o contrário utiliza-se altas concentrações (ADETOGUN; ALEBIOWU, 2009). Galactomanana

carboximetilada de flamboyant foi eficaz para encapsular papaína, como proposta para sistema de entrega no tratamento anti-inflamatório ou preventivo de úlceras gástricas (BETANCUR-ANCONA *et al.*, 2011).

### 1.3 Filmes Biodegradáveis

Um considerável interesse tem sido demonstrado no desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis como possíveis substitutos das embalagens sintéticas utilizando fontes renováveis e biodegradáveis é possível aumentar o tempo de prateleira dos alimentos, por meio da adição de agentes antimicrobianos, antifúngicos e antioxidantes possibilitando uma proteção mais eficaz (CERQUEIRA *et al.*, 2011).

Os filmes comestíveis ou biodegradáveis são películas de variadas espessuras constituídas por diferentes substâncias naturais e/ou sintéticas que protegem e isolam o alimento, sem riscos à saúde do consumidor (MAIA *et al.*, 2000). Filmes biodegradáveis tem a habilidade de retardar o transporte de umidade, oxigênio, aromas e solutos (GENNADIOS; WELLER, 1990). As características dos filmes à base de biopolímeros dependem fortemente do processo de formação do filme, o que torna a elaboração desses filmes finos um grande desafio (LAFARGUE; LOURDIN; DOUBLIER, 2007).

Os filmes podem ser produzidos com uma grande variedade de produtos, tais como polissacarídeos, proteínas, lipídeos, resinas, com ou sem a adição de outros componentes (por exemplo, plastificantes e agentes tensoativos) (LIN; ZHAO, 2007; RINAUDO, 2008). Filmes constituídos por proteínas e polissacarídeos normalmente apresentam alta resistência mecânica e permeabilidade seletiva a gases, mas são sensíveis à umidade, sendo que aqueles elaborados apenas com lipídios são resistentes à passagem de água, mas apresentam-se opacos e quebradiços (GALLO *et al.*, 2000; PÉROVAL *et al.*, 2002). Dessa forma, a combinação de compostos pode resultar em melhores propriedades funcionais dos filmes dando origem às blends.

A obtenção de novos materiais com melhores características físicas, químicas e mecânicas desejadas, através da combinação de propriedades de interesses entre

dois ou mais biopolímeros de forma a compensar a deficiência do outro, sem que ocorram reações químicas entre os componentes é chamada de blenda (WORK *et al.*, 2004). A principal vantagem das blendas é a simplicidade da preparação e fácil controle das propriedades físicas com a mudança das concentrações dos componentes. (AMORIM, 2004).

### 1.3.1 Filmes à base de polissacarídeos

As propriedades hidrofílicas dos polissacarídeos fornecem uma boa barreira ao dióxido de carbono e oxigênio sob certas condições, mas apresentam propriedades mecânicas diferentes e são uma barreira pobre quanto ao vapor de água (PARK, 1999). Devido às interações entre as moléculas do polímero os filmes formados são quebradiços e exigem na maioria dos casos, a presença de um plastificante. A água é um dos plastificantes mais eficazes na composição de filmes e revestimentos, sendo a umidade relativa de armazenagem dos filmes um dos parâmetros mais analisados devido a sua influência na estrutura do filme (PINHEIRO *et al.*, 2010).

Os polissacarídeos usados para produção de filmes e/ou revestimentos comestíveis incluem: amido, alginatos, carragenatos, quitosana e gomas. Como fonte de gomas naturais tem-se, por exemplo, extratos de algas marinhas (alginatos, agar) e gomas de sementes (galactomananas). As galactomananas são um dos materiais alternativos que podem ser utilizados para a produção de filmes com base em sua comestibilidade e biodegradabilidade (CERQUEIRA *et al.*, 2011).

A eficiência funcional dos filmes biodegradáveis depende da composição, do processo de formação e de sua aplicação. Uma alternativa para melhorar as propriedades físicas é a preparação de blendas poliméricas, mediante o uso combinado de dois ou mais polímeros em conjunto com um plastificante e um solvente (ALMEIDA *et al.*, 2013).

Plastificantes como o glicerol são capazes de garantir boa qualidade no filme biodegradável a ser produzido. Os plastificantes são moléculas pequenas, de baixa volatilidade que adicionado à solução filmogênica modifica a organização molecular das cadeias do polímero aumentando o volume livre na molécula. Proporciona o

aumento de flexibilidade, extensibilidade, distensibilidade e barreira a gases e vapor de água seguido por diminuição na resistência mecânica (GROSSMAN, 2007). Um grande número de trabalhos avaliou a utilização de diferentes materiais e a mistura com outros tipos de biopolímeros para melhorar as propriedades de filmes à base de polissacarídeos (CERQUEIRA *et al.*, 2010).

Os lipídios são um dos materiais mais utilizados com o objetivo de diminuir hidrofobicidade dos filmes à base de polissacárido levando a uma melhora das propriedades de barreira e solubilidade em água. Muitos tipos de lipídeos têm sido utilizados, dentre eles as ceras (PÉREZ-GAGO; KROCHTA, 2001), ácido esteárico (BOZDEMIR; TUTAS, 2003) e óleo de milho (CERQUEIRA *et al.*, 2012).

#### **1.4 Óleo Canola (*Brassica napus* L.)**

O óleo vegetal canola é proposto neste trabalho como lipídeo para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis. O nome canola é derivado da sigla Canadian Oil Low Acid, que indicam as sementes obtidas por modificação genética das espécies *Brassica napus* e *Brassica rapa*. As cultivares de canola se caracterizam por conter baixo teor de ácido erúico e glucosinolatos, e são diferentes em propriedades físicas, químicas e nutricionais em relação ao óleo de colza (PRZYBYLSKI *et al.*, 2005). O óleo de canola é considerado uma fonte acessível de ácidos graxos essenciais, contendo tanto ômega-3 quanto ômega-6 (COLONI, 2008).

Os programas de reprodução da canola abordam modificações genéticas desde a década de 80 a fim de aumentar o rendimento, teor de óleo e proteína, amadurecimento das sementes, resistência às doenças e pragas, além do desenvolvimento de cultivares com baixo teor de ácido linolênico e alto teor de oleico. A canola é o único cultivo oleaginoso adaptado para as regiões temperadas possibilitando a germinação e o crescimento em baixas temperaturas (ESKIN *et al.*, 2006).

Nos óleos vegetais três ácidos graxos são dominantes: palmítico, oléico, linoléico e por vezes acompanhado de ácido esteárico e pelo ácido linolênico. Os outros, que ocorrem em óleos especiais, incluem o mirístico, láurico, erúico,

hexadecenóico, ácido  $\gamma$ -linolênico, eleostearico e isômeros, ricinoléico e vernólico (GUNSTONE, 2005).

A composição de ácidos graxos é determinada por cromatografia gasosa aplicável aos ésteres metílicos de ácidos graxos com 8 a 24 átomos de carbono de gordura animal, óleos vegetais, óleos marinhos e ácidos graxos após a sua conversão em ésteres metílicos. O método permite separar quantitativamente as misturas de ésteres metílicos saturados e insaturados (AOCS, 2004).

### **1.5 Filmes biodegradáveis ativos com propriedades antimicrobianas**

Grandes perdas em alimentos são causadas por deterioração microbiana. Várias ações podem ser melhoradas para diminuir o contato entre os microrganismos e os alimentos entre eles, o uso de embalagens ao produto e sua conservação é fundamental (BURT, 2004).

Filmes também podem servir como veículos de aditivos alimentares, tais como: agentes antimicrobianos, corantes, aromatizantes, nutrientes e especiarias (CUTTER; SUMNER, 2002; CAGRI; USPUNOL; RYSER, 2004; HAN; GENNADIOS, 2005). A liberação de aditivos por embalagens ativas aumenta a segurança do consumidor, já que esses compostos, ao invés de diretamente adicionados ao alimento, são liberados gradualmente, mantendo-se presentes em menores quantidades e apenas onde sua presença é requerida, a saber, na superfície do produto (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2004).

A tecnologia de embalagens ativas é um conceito para relacionar a interação do alimento com o material da embalagem, enquanto sustenta o microambiente em seu interior. O objetivo é preservar as propriedades nutricionais e qualidades sensoriais, bem como mantendo sua segurança microbiológica (DURANGO *et al.*, 2006; FLORES *et al.*, 2007). Muitos estudos demonstraram que agentes antimicrobianos quando incorporados em filmes podem ser eficazes para reduzir níveis de microrganismos de origem alimentar (CUTTER, 2006).

A busca por novos compostos com propriedades antimicrobianas a partir de fontes naturais, tais como os óleos essenciais, tem se intensificado (MARTINS *et al.*, 2010). A incorporação de óleos essenciais (OEs) em filmes biodegradáveis é uma

alternativa para desenvolvimento de embalagens ativas. Diversos autores mostram a incorporação de óleos essenciais em filmes biodegradáveis, tais como blenda de quitosana e gelatina incorporados com óleo essencial de tomilho (GÓMEZ-ESTACA *et al.*, 2010), de hidroxipropilmetilcelulose com óleo de limão (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2011), de proteína do soro com óleo de orégano (SEYDIM; SARIKUS, 2006) e de pectina com óleo de limão mexicano (ALDANA *et al.*, 2015).

### **1.6 Óleo Essencial de Manjeriço (*Ocimum basilicum*)**

Os óleos essenciais são formados principalmente por monoterpenos (C<sub>10</sub>) e sesquiterpenos (C<sub>15</sub>) voláteis de forma cíclica e acíclica. Possuem, geralmente, odor característico e auxiliam nas interações entre plantas, insetos e outros organismos. São comumente encontrados nas folhas e flores, cavidades especializadas, denominadas canais secretores e pelos glandulares (SIMÕES *et al.*, 2004). Os óleos essenciais são usados para conferir aroma e odores especiais a diversos produtos alimentícios e de perfumaria. Também é grande o seu uso como medicamentos analgésicos, antissépticos, sedativos, expectorantes, estimulantes, entre outros (MARTINS *et al.*, 2010).

Entre as plantas medicinais comumente usadas na medicina popular está o manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), o qual pertence à família *Lamiaceae*, possuindo espécies originárias de regiões tropicais e subtropicais da Ásia, da África e da América Central e do Sul. O Gênero *Ocimum* é composto por diversas espécies de Manjeriço com as variadas indicações farmacológicas, dentre elas ação antiespasmódica, antisséptica intestinal, diurética, anti-helmíntica e antimicrobiana (VENANCIO, 2006).

O óleo essencial de manjeriço com alta concentração de linalol é valorizado no mercado internacional e amplamente utilizado na indústria de condimentos e cosméticos. Esta espécie possui importância econômica para o Brasil na obtenção de óleo essencial, sendo seu consumo tanto *in natura* quanto para processamento industrial. Seu óleo é utilizado na culinária, na aromatização de alimentos e bebidas, na indústria de cosméticos e perfumaria. Apresenta propriedades inseticidas, repelentes e antimicrobianas (LABRA *et al.*, 2004).

Duarte *et al.* (2007) estudaram o efeito de óleos essenciais de plantas medicinais usadas no Brasil, incluindo o manjeriço, frente às cepas de *Escherichia coli* enteropatogênicas (EPEC) e enterotoxigênicas (ETEC), e classificaram a atividade antibacteriana do óleo essencial como sendo de atividade moderada. Martins *et al.* (2010) testaram o óleo essencial frente às cepas de subgrupos de EPEC e atribuiu a ação antibacteriana aos componentes majoritários identificados, metil chavicol e linalol.

Dessa forma, acredita-se que o óleo essencial de manjeriço seja um potencial agente antimicrobiano para incorporação em filmes biodegradáveis à base de galactomanana de *Delonix regia* e óleo canola com propriedades antimicrobianas.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Avaliar quanto às propriedades de barreira e antimicrobiana a incorporação do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*) em filmes de blendas de galactomanana de *Delonix regia* com óleo canola.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Determinar a pureza da galactomanana isolada por meio da determinação de teor de nitrogênio total;
- Determinar parâmetros macromoleculares como viscosidade intrínseca e distribuição de massa molar da galactomanana;
- Caracterizar os constituintes do óleo de canola por cromatografia gasosa;
- Avaliar as alterações proporcionadas pela adição do óleo de canola aos filmes à base de galactomanana;
- Determinar a melhor concentração de óleo canola para incorporação de óleo essencial de acordo com a permeabilidade ao vapor de água;
- Determinar a concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima do óleo essencial de *O. basilicum*;
- Avaliar a adição de óleo essencial de *O. basilicum* no filme, com melhores propriedades de barreira, quanto às suas propriedades antimicrobianas.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Materiais

As sementes de *Delonix regia* foram coletadas no campus da Universidade de Fortaleza (UNIFOR), Fortaleza, Ceará. Uma exsicata foi depositada no Hebário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará sob o número 57491. As sementes foram retiradas das vagens, limpas e estocadas a temperatura ambiente até o momento da extração da galactomanana.

O Óleo Vegetal de Canola foi adquirido em comércio local da cidade de Fortaleza, Ceará.

O Óleo Essencial de Manjeriçãõ (*Ocimum basilicum*) foi adquirido da empresa FERQUIMA®, São Paulo.

#### 3.2 Extração da Galactomanana de sementes de *Delonix regia*

A extração foi realizada segundo metodologia descrita por Cerqueira *et al.* (2009). As sementes foram submetidas à fervura em água para separação do endosperma manualmente. Os endospermas foram suspensos em água na razão 1:5 (m/v) e mantidos à 8 °C por aproximadamente 12 h, para entumescimento do material. Em seguida, as suspensões foram adicionadas de dez volumes de água destilada, trituradas e homogeneizadas em moinho de lâminas e filtradas em malha de nylon. A solução obtida foi adicionada de dois volumes de etanol 96% e a galactomanana precipitada foi imersa em acetona razão 1:5 (m/v), por 15 min, seguido de secagem em fluxo de ar frio. A galactomanana seca obtida foi macerada e o pó dissolvido em água 1:100 (m/v) e o processo de precipitação repetido. Por fim, o polissacarídeo obtido foi triturado e filtrado em peneira granulométrica de 100 mesh.

##### 3.2.1 Caracterização físico-química da galactomanana extraída de *Delonix regia*

A galactomanana foi caracterizada quanto as suas propriedades físico-químicas de acordo com algumas modificações das metodologias reportadas por Sousa (2014).

### **3.2.1.1 Determinação de teor de umidade**

Aproximadamente 1 g da amostra foi pesado e colocado em um cadinho previamente calcinado e tarado, sendo submetido à secagem em estufa durante 24 h à temperatura de 105 °C. Os resultados foram expressos em percentual % m/m. O teste foi feito em triplicata.

### **3.2.1.2 Determinação de teor de cinzas**

O teor de cinzas foi determinado pelo método Gravimétrico de acordo com Pereira e colaboradores (2001), onde foram analisados os cadinhos que continham a galactomananas após análise de umidade, deixando-os em capela de incineração por 30min e em seguida levando ao forno mufla a 550°C por 3 h até a completa carbonização (cinzas esbranquiçadas), ou seja, queima de toda a matéria orgânica.

### **4.2.1.3 Determinação de teor proteico**

A quantidade de nitrogênio total foi determinada de acordo com a curva padrão obtida de sulfato de amônio pelo método de Baethgen e Alley (1989) e associado ao percentual de proteína pelo fator de conversão N x 6,25.

### **3.2.1.4 Percentual de carboidratos**

O percentual de carboidratos foi estimado por subtração do teor de cinzas e de proteínas ao total de massa seca da galactomanana (100%).

### **3.2.2 Viscosidade Intrínseca**

A viscosidade intrínseca foi realizada a  $26 \pm 0,1$  °C em um viscosímetro capilar Ostwald-Fensk, série 200. Uma solução estoque de galactomanana em água destilada na proporção de 1:100 (m/v). A partir desta foram feitas diluições de modo a contemplar 6 diluições e promover um intervalo de diluições  $1,2 < \eta_r < 2,0$ , onde  $\eta_r$  é a viscosidade relativa. Valores de diluições adequados para manter as soluções dentro do platô newtoniano.

A plotagem de  $\eta_{sp}/C$  e  $\ln\eta_r/C$  versus C, segundo Huggins-Kramer, foi utilizada para estimar a viscosidade intrínseca  $[\eta]$ , de acordo com as 1 e 2:

$$[\eta_{sp}]/C = [\eta] + K_H C \quad \text{Equação de Huggins (1)}$$

$$\ln(\eta_r)/C = [\eta] - K_k[\eta]^2C \quad \text{Equação de Kramer (2)}$$

Onde  $\eta_{sp}$  = viscosidade específica;  $\eta_r$  = viscosidade relativa;  $[\eta]$  = viscosidade intrínseca; C = concentração do polímero (g/dL);  $k_H$  = Constante de Huggins e  $k_K$  = constante de Kramer.

#### 4.2.3 Distribuição de Massa Molar

A distribuição da massa molar foi determinada através de Cromatografia de Permeação em Gel (GPC), utilizando um cromatógrafo Shimadzu LC-20AD acoplado a detector de índice de refração RID-10<sup>a</sup> e uma coluna PolySep Linear (7,8 x 300 mm), com fase móvel NaNO<sub>3</sub> 0,1 M como eluente, à temperatura ambiente e fluxo de 1,0 mL/min. Foram preparadas soluções de galactomanana 0,1% (m/v) em água ultrapura filtrada e desaerada. As soluções foram filtradas com membrana MILIPORE de porosidade 0,45  $\mu$ m e em seguida adicionado etilenoglicol como padrão interno. O volume de injeção foi de 20  $\mu$ L. A curva de calibração para a determinação da massa molar foi construída utilizando-se padrões moleculares de pululana (Shodex P-82, da Shawa Denko) com massas molares (Mw) de  $5.9 \times 10^3$ ,  $2.28 \times 10^4$ ,  $4.73 \times 10^4$ ,  $1.12 \times 10^5$ ,  $4.04 \times 10^5$  e  $7.88 \times 10^5$  g/mol.

#### 3.2.4 Potencial Zeta (P $\zeta$ )

Suspensões de galactomanana nas concentrações de 1,0 % (m/v) foram preparadas e mantidas sob agitação mecânica por 15 min no homogeneizador ultrassônico a 11000 rpm durante 1h. Em seguida, as medidas de P $\zeta$  foram realizadas no equipamento ZetaSizer modelo ZEN 3600 (Mavern Instrument) em celas capilares (modelo DTS 1060) conectadas a um titulador automático MPT-2 da Malvern Instrument (MPT-2 multi purpose titrator) (ALVES, 2013).

#### 3.2.5 Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Para as análises por FTIR foram obtidas pastilhas com 100 mg de KBr (MERCK®) seco e 2 mg (base seca) da galactomanana. A mistura de KBr e da amostra foram homogeneizadas utilizando pistilo e almofariz, levadas a uma prensa hidráulica manual (DQUI-UFPR) e submetida a pressão de aproximadamente 8 ton

por 5 min. As análises foram realizadas utilizando um espectrofotômetro de Infravermelho modelo Nicolet6700 – FTIR (DQI-IQ-UFPR) com  $4\text{ cm}^{-1}$  de resolução e transformada de Fourier. Os espectros foram obtidos na região de  $4000 - 420\text{ cm}^{-1}$  em transmitância T (%) e os dados tratados utilizando o programa Origin 8.

### *3.2.6 Análise Estrutural por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de Hidrogênio ( $^1\text{H}$ ) e Carbono Treze ( $^{13}\text{C}$ )*

Para a galactomanana foram realizadas análises de  $^{13}\text{C}$ -RMN e  $^1\text{H}$ -RMN. Os hidrogênios da galactomanana foram previamente trocados por deutério, num procedimento de solubilização em  $\text{D}_2\text{O}$  e liofilização por três vezes. A galactomanana deuterada foi então solubilizada em  $\text{D}_2\text{O}$  numa concentração de 25 g/L, a temperatura de  $40^\circ\text{C}$  e mantida em agitação magnética por 12 h. A solução resultante foi centrifugada e o sobrenadante condicionado em tubo de vidro (5 mm) específico para RMN.

As análises de RMN foram realizadas em espectrômetro BRUKER, modelo AVANCE – DRX 400 (Departamento de Química/UFRJ) acoplado a transformada de Fourier, com temperatura de análise de  $70^\circ\text{C}$ . Para a calibração dos espectros os deslocamentos da água ( $\delta\ 4,7$ ) e da acetona ( $\delta\ 32,3$ ) foram utilizados como padrão interno para  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , respectivamente, e a frequência de observação do núcleo foi de 100 MHz para  $^{13}\text{C}$  e 400 MHz para  $^1\text{H}$ . Todos os parâmetros foram fornecidos pelo software do próprio equipamento. Os resultados da análise por RMN foram compilados pelo programa MestreC®.

### **3.3 Determinação do teor de ácidos graxos do óleo de canola por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID)**

Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foram preparados usando-se o método proposto por Maia e Rodriguez-Amaya (1993). 100 mg da amostra foram saponificados e adicionados de 5mL do reagente esterificante (metanol, cloreto de amônio, ácido sulfúrico, 30:1:1,5 V/M/V ) e uma solução saturada de NaCl, agitando-se por 30 segundos e acrescentando-se a seguir 5 mL de hexano. Os ésteres metílicos foram analisados no Laboratório de Análise de Alimentos na Embrapa Agroindústria Tropical em um cromatógrafo Shimadzu 2010 Plus com detector de ionização de chama, coluna apolar SP 2560, 100 m, com temperatura programada

para elevar de 80 °C para 180 °C a uma razão de 11 °C/min e de 180 °C por 220 °C a uma razão de 5 °C/min, temperatura do injetor e detector de 220 e 230 °C, respectivamente e pressão na coluna de 168,9 kPa.

### **3.4 Análise do óleo essencial de *Ocimum basilicum* por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS)**

A análise por cromatografia em fase gasosa acoplada ao espectrômetro de massas por impacto de elétrons e analisador íon trap (GC-MS-IE-Ion trap), equipamento CG-MS Agilent, foi realizada utilizando hélio como gás de arraste com fluxo na coluna de 1 mL/min; temperatura do Injetor: 270 °C, injeção direta em coluna HP5MS 30 m, programação de temperatura do forno de 70 °C a 180 °C com taxa de aquecimento de 4 °C/min, e de 180 °C a 250 °C com taxa de aquecimento de 10 °C/min. Foram injetadas alíquotas de 1,0 µL da amostra de óleo essencial diluída na proporção de 20 µL em 1,5 mL de hexano. Os picos dos espectros de massa foram selecionados e identificados através da comparação dos respectivos espectros de massas com a espectroteca NIST02.

### **3.5 Preparação dos Filmes Biodegradáveis**

#### *3.5.1 Filmes/blenda à partir de galactomanana de *Delonix regia* e óleo de canola*

As soluções foram preparadas com 1 % (m/v) de galactomanana em água contendo 0,5 % (m/v) de glicerol e diferentes concentrações de óleo de canola (0,25, 0,5 e 0,75 %) (m/v). Nas emulsões óleo/água foram adicionados Tween 80 e SPAN 80, como surfactantes para promover o Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL). Inicialmente as misturas óleo/água foram adicionadas de surfactantes e as soluções foram sonicadas por 5 minutos, a fim de garantir o máximo de solubilidade e homogeneização, em seguida, a galactomanana foi adicionada e as soluções foram deixadas sob agitação constante e temperatura ambiente, overnight. As soluções filmogênicas foram levadas à degaseificação em bomba a vácuo, para retirada das bolhas de ar. Os filmes foram elaborados pela metodologia de evaporação de solvente (*casting*) (SILVEIRA *et al.*, 2007). As soluções foram dispersas em uma base fixa de aproximadamente 15 x 45 cm, para modelagem e padronização dos filmes e a espessura das camadas foi nivelada para 1,0 mm com o auxílio de uma

barra de alumínio. As soluções foram secas em estufa com circulação de ar a 50 °C, por 12 horas. Os filmes foram identificados e armazenados em dessecador durante 24 horas até posterior análise.

### 3.5.2 Filmes incorporados com óleo essencial de *O. basilicum*

A formulação de filme com melhores características físicas e de barreira foi escolhida para ser incorporada com óleo essencial de *O. basilicum* em diferentes concentrações (0,25, 0,5, e 0,75 mg/mL) para a formulação de um filme biodegradável bioativo. A metodologia foi a mesma empregada no tópico 4.5.1.

### 3.5.3 Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL)

O percentual de cada surfactante foi determinado de acordo com o valor de EHL do óleo de canola e sua concentração na emulsão óleo/água das diferentes formulações de filmes. A mistura de surfactantes foi composta de monoleato de sorbitano - SPAN 80 (EHL = 4,3) e monoleato de polioxietileno de sorbitano - Tween 80 (EHL = 15,0). A mistura de surfactantes correspondeu a 20% da massa total de óleo utilizada na formulação. As concentrações foram calculadas de acordo com a equação 4 e 5:

$$\% (A) = (100 (X - EHL_{(B)})) / (EHL_{(A)} - EHL_{(B)}) \quad (4)$$

$$\% (B) = 100 - \% (A) \quad (5)$$

Onde (A) = surfactante A (Tween 80); (B) = surfactante B (SPAN 80);  $EHL_{(A)}$  = equilíbrio hidrófilo-lipófilo do emulsificante A;  $EHL_{(B)}$  = equilíbrio hidrófilo-lipófilo do emulsificante B.

### 3.5.3 Determinação de teor de umidade

O teor de umidade dos filmes foi calculado a partir de 50 mg de cada amostra de filme e segundo o método utilizado no tópico 4.2.1.1. O teste foi realizado em triplicata.

### 3.5.4 Medição de espessura dos filmes

A espessura dos filmes foi medida com um micrômetro digital (Mitutoyo, Brasil) com 0,001 mm de precisão. Oito medições de espessura foram feitas em cada amostra, duas no centro e seis em torno do perímetro de forma aleatória e em seguida, a média foi calculada.

### 3.5.5 Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada segundo método proposto por Gontard (1991), baseado no teste ASTM E96-80 (American Society for Testing and Material, 1989). Os filmes foram aplicados em células de permeação, contendo 6 mL de água destilada. As células foram colocadas em dessecadores contendo sílica em gel. As células foram pesadas 8 vezes, em uma balança analítica, no intervalo de 24 horas. Calculou-se a permeabilidade ao vapor de água (PVA) utilizando-se a equação 6:

$$PVA = (g/tA)(x/\Delta P) \quad (6)$$

Onde  $x$  é a espessura média dos filmes e  $\Delta P$  é a diferença de pressão de vapor do ambiente contendo sílica gel (0) e contendo água pura (2,642 kPa, a 22°C), 75% UR (Umidade Relativa). O termo  $g/t$  foi calculado por regressão linear entre os pontos de ganho de peso e tempo, no regime constante. Foram analisadas 5 repetições de cada amostra de filme.

### 3.5.6 Propriedades Ópticas: Cor e Opacidade

As cores dos filmes foram medidas por meio dos padrões CIE Lab:  $L^*$ , variando de 0 (preto) a 100 (branco);  $a^*$ , do verde (-) ao vermelho (+); e  $b^*$ , do azul (-) ao amarelo (+) (GENNADIOS *et al.*, 1996), determinados com um colorímetro Miniscan XE (HunterLab) trabalhando com  $D_{65}$  e luz do dia. Os filmes foram aplicados na superfície de uma placa branca padrão, e os padrões  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  foram medidos e transferidos em tempo real, para um microcomputador. A diferença de cor ( $\Delta E^*$ ) foi calculada com a seguinte equação 7:

$$\Delta E^* = \sqrt{(L^* - L_a^*)^2 + (a^* - a_a^*)^2 + (b^* - b_a^*)^2} \quad (7)$$

Onde  $L^* = 94,86$ ,  $a^* = -0,76$  e  $b^* = 1,96$ , são os padrões do fundo branco e  $L_a^*$ ,  $a_a^*$  e  $b_a^*$  são os valores de medida da amostra.

A opacidade dos filmes foi determinada segundo método Hunterlab (Hunter Associates Laboratory, 1997), utilizando-se um colorímetro. Por esse método, a opacidade (Y) da amostra é calculada como a relação entre a opacidade da amostra colocada sobre o padrão preto (Yp) e a opacidade da amostra colocada sobre o padrão branco (Yb). A opacidade assim medida (entre 0 e 100%) apresenta escala arbitrária, segundo a equação 8:

$$Y = (Yp/Yb) \times 100 \quad (8)$$

### 3.6 Avaliação de Atividade Antibacteriana

#### 3.6.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

O óleo essencial de *O. basilicum* foi testado frente às cepas de bactérias gram-negativas de *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 e *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708 e gram-positivas *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, incluindo *Candida albicans* ATCC 10231 como levedura. As cepas dos microrganismos foram obtidas do Laboratório de Controle de Qualidade Microbiológico, Centro de Ciências da Saúde, Universidade de Fortaleza (UNIFOR).

As cepas bacterianas foram cultivados em Caldo BHI (Brain Heart Infusion) a 37 °C por 24 horas e, após o período de incubação, foram realizadas diluições sucessivas para a obtenção da turbidez de 0,5 na escala de MacFarland ( $10^8$  UFC/mL). As concentrações inibitória e bactericida mínimas foram determinadas pelo método de microdiluição em caldo em placas de 96 poços (microplacas) estéreis de acordo com a Comissão Nacional de Diretrizes Padrões de Laboratório Clínicos (NCCLS, 1993). Diluições seriadas do óleo essencial foram obtidas em Dimetilsulfóxido (DMSO) a 10% e Tween 80 a 0,5%, como solução diluente, a fim de aumentar a solubilidade da amostra. Em cada poço foi adicionado 20 µl de uma concentração específica da amostra, 100 µl de caldo nutritivo BHI e 80 µl do inóculo na concentração de  $10^6$  UFC/mL. As microplacas foram incubadas durante 24 h a 37 °C e os resultados da susceptibilidade às amostras foram monitorados pela

determinação da densidade óptica em leitor de microplacas a 620 nm. A concentração mais baixa de óleo essencial que não apresentou crescimento visível foi definida como a CIM. Os testes foram realizados em triplicata.

### 3.6.2 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

A CBM foi determinada com alíquotas de 5 µl do inóculo removidas assepticamente a partir dos poços que não apresentaram turbidez visível, utilizada para determinar os valores de CIM e depois semeada em ágar Mueller Hilton e incubadas durante 24 h a 37 ° C. A CBM foi definida como a menor concentração de óleo essencial que inibiu o crescimento de 99,99% ou mais do inóculo inicial. Os testes foram realizados em triplicata.

### 3.6.3 Antibiograma dos filmes dos filmes biodegradáveis incorporados com óleo essencial de *O. basilicum*

A avaliação da atividade antimicrobiana dos filmes foi realizada pelo método do halo de inibição, segundo metodologia descrita por Pires (2006), e sua ação testada contra as cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, incluindo *Candida albicans* ATCC 10231 como levedura. As culturas microbianas puras foram ativadas e realizadas diluições sucessivas para a obtenção da turbidez de 0,5 na escala de MacFarland ( $10^8$  UFC/mL) e inoculadas em placas de Petri contendo ágar Mueller Hilton. Em seguida, os filmes antimicrobianos com diferentes concentrações de óleo essencial (0,25, 0,5, e 0,75 mg/mL), medindo 1 cm de diâmetro e previamente esterilizados em câmara com lâmpada ultravioleta (UV), foram colocados sobre as placas inoculadas, as quais foram incubadas a 37 °C por 24 horas. Após o período de incubação, verificou-se a ação dos filmes sobre o crescimento das cepas com o cálculo da média dos halos de inibição. O mesmo procedimento foi realizado com o filme controle (sem a adição do óleo essencial de *O. basilicum*). Os testes foram realizados em triplicata.

## 3.7 Análise Estatística

Os resultados foram analisados por meio do software Statistica® 10.0., sendo utilizada análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey com  $p < 0,05$ .

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Extração e caracterização físico-química da galactomanana de sementes de *Delonix regia*

O rendimento da extração de galactomanana em relação à massa das sementes e a caracterização físico-química (teor de umidade, cinzas, nitrogênio (proteínas) e percentual de carboidratos) estão apresentados na tabela 1. O rendimento obtido de 12,0 %, mediante a metodologia de extração utilizada, é um valor considerado baixo para espécies da subfamília *Caesalpinioideae* (BUCKERIDGE *et al.*, 1995), entretanto este rendimento é semelhante ao obtido por Kapoor (1972) de 12,3 % e das espécies do gênero *Bauhinia*, cujas espécies *B. hollophylla* e *B. obtusata* apresentaram rendimentos de 13,7 e 10,8%, respectivamente (DEA; MORRISON, 1975).

Outros trabalhos relatam rendimentos de 20% (ANDERSON, 1949) e 31,07 % (SOUSA, 2014) para galactomanana de *D. regia*, em que essas diferenças são atribuídas a variações genéticas e/ou ambientais para as proporções dos polissacarídeos, assim como a metodologia empregada ou o de grau de maturação com relação aos teores do polímero nas sementes.

Tabela 1 – Rendimento e caracterização físico-química da galactomanana de *D. regia*.

<b>Teor</b>	<b>Percentual*</b>
<b>Rendimento</b>	12,0 ± 0,0%
<b>Umidade</b>	7,15 ± 0,21%
<b>Cinzas</b>	0,27 ± 0,09%
<b>Proteínas</b>	0,67 ± 0,12%
<b>Carboidratos Totais</b>	99,06 ± 0,0%

Fonte: elaborada pelo autor; \*MÉDIA ± EPM (Erro Padrão Médio).

O valor encontrado para umidade (7,15 %) foi inferior aos valores encontrados em trabalhos com galactomananas extraídas de *Caesalpinia férrea* (14,0 %) e *Caesalpineia pulcherrima* (11,11 %) (SOUZA, 2010; BURITI *et al.*, 2014). Segundo Whistler e Miller (1997), em geral os polissacarídeos devem apresentar um teor de umidade na faixa de 8,0 a 12,0 %.

O percentual de cinzas de 0,27 % foi similar ao valor reportado por Soares (2009) para galactomanana de *Adenantha pavonina* (0,24 %), assim como goma de *loctus bean* que varia de 0,28 a 0,80 % (SITTIKIYOTHIN *et al.*, 2005). Esses valores variam muito conforme a espécie. Na goma alfarroba, por exemplo, o teor pode variar entre 1% a 4% (PANEGASSI *et al.*, 2000). O baixo percentual de cinzas demonstra um baixo teor de material inorgânico no polissacarídeo extraído. O Teor de carboidratos totais foi semelhante ao mostrado para extração de galactomanana de *Caesalpinia pulcherrima* com 99,1% (AZERO; ANDRADE, 1999).

O isolamento do endosperma antes do intumescimento, na metodologia empregada, garantiu a extração da galactomanana com uma pureza mais elevada quando se observa o baixo percentual de nitrogênio (proteínas) obtido de 0,67 %. As proteínas são contaminantes muito frequentes nos polissacarídeos extraídos de sementes e sua composição varia com o método de extração e a espécie. Valores entre 4,0 % e 6,0 % de proteínas foram encontrados para galactomanana extraída da *Mimosa scabrella* (VENDRUSCOLO *et al.*, 2009) e 8,8 % em *Caesalpinia férrea* (SOUZA, 2010). Além disso, há fontes de galactomananas cujo teor de proteína pode alcançar de 8,3% a 16,8% (CUNHA *et al.*, 2009). A baixa quantidade de proteínas é desejável para análises reológicas, pois uma alta quantidade pode promover a formação de agregados com carboidratos e afetar a viscosidade das soluções (SOUSA, 2014).

A partir dos resultados de características físico-químicas e de dados da literatura para gomas e galactomananas, pode-se verificar que o processo de purificação foi eficiente para eliminar cinzas e proteínas.

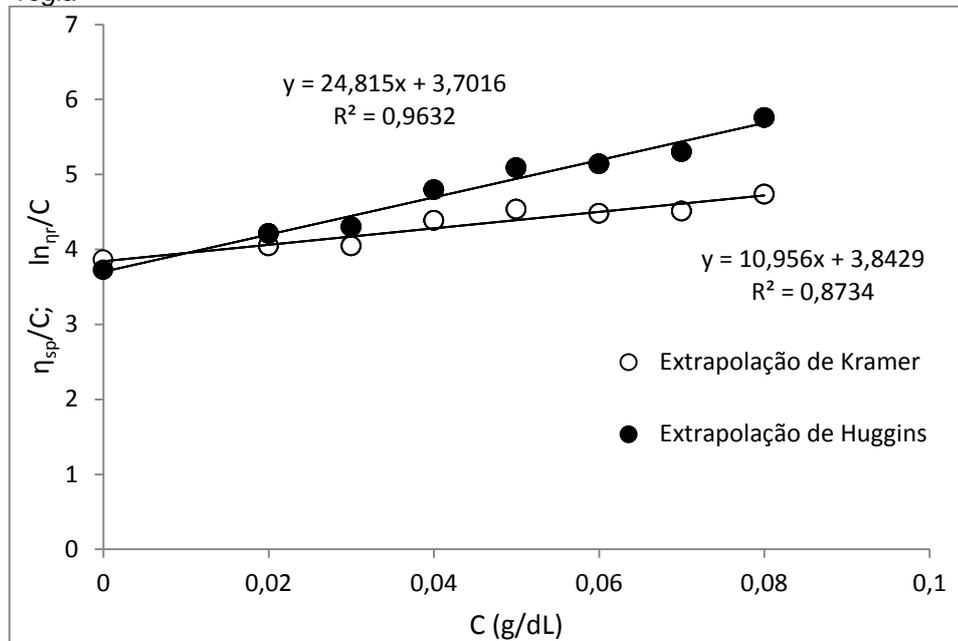
## 4.2 Caracterização Reológica

Para a determinação de viscosidade intrínseca  $[\eta]$ , os resultados médios de viscosidade relativa de soluções diluídas no platô Newtoniano foram considerados. A viscosidade intrínseca foi obtida pela plotagem de  $\eta_{sp}/C$  e  $\ln\eta_r/C$  para extrapolações às concentrações tendendo a zero (Figura 5). Os valores de média para viscosidade intrínseca e constante de Huggins ( $K_H$ ) estão representados na Tabela 2.

A constante  $K_H$  caracteriza a variação da viscosidade com a concentração do polímero e é considerada como um índice que mede as interações polímero-

solvente e seu estado de agregação entre as macromoléculas. Normalmente,  $K_H$  varia de 0,3 a 0,7 em bons solventes (KWAAMBWA *et al.*, 2007). Nesse estudo a constante de Huggins  $K_H = 1,75$  reflete agregações intermoleculares da galctomanana.

Figura 5 – Determinação da viscosidade intrínseca da galactomanana de *D. regia*



Fonte: elaborado pelo autor. C = concentração polímero/solvente.

Tabela 2 – Parâmetros macromoleculares de galactomanana de *D. regia*.

Galactomanana	Viscosidade	Viscosidade	Viscosidade	Coeficiente de Huggins ( $K_H$ )
	Intrínseca Huggins (dL/g)	Intrínseca Kramer (dL/g)	Intrínseca média (dL/g)	
<b><i>Delonix regia</i></b>	3,72	3,86	3,79	1,75

Fonte: elaborado pelo autor.

O trabalho realizado por Sousa (2014) caracterizou hemiceluloses de fontes não convencionais quanto às suas características macromoleculares e relatou viscosidade intrínseca média de 3,66 dL/g para galactomanana de *D. regia*, similar ao valor estimado no presente estudo de 3,79 dL/g. Entretanto, com uma constante  $K_H = 0,86$ , menor que a calculado nesse estudo. Segundo Dea *et al.* (1986), isso pode ser atribuído à existência de emaranhados físicos não específicos nas soluções com tais polissacarídeos.

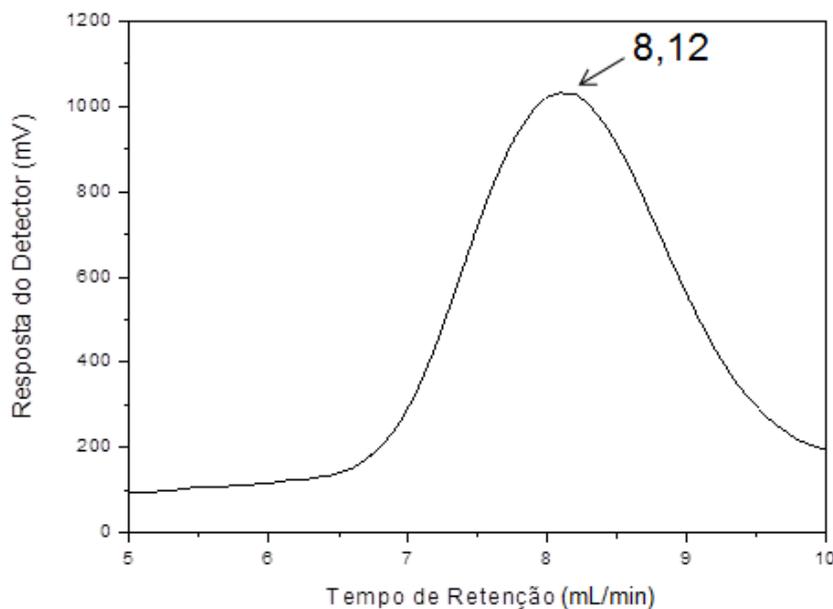
### 4.3 Distribuição de Massa Molar

A distribuição da massa molar ( $M_w$ ) e polidispersão foram estimados pelo máximo pico com relação a padrões de pululana representados no cromatograma (Figura 6). Os valores variaram entre  $5,9 \times 10^3$  e  $7,88 \times 10^5$  g/mol. É possível observar pelo cromatograma que a galactomanana de *D. regia* é bastante polidispersa. A análise dos cromatogramas dos padrões de pululana permitiu estabelecer uma relação linear entre o logaritmo da massa molar e os respectivos tempos de retenção definidos pelos picos de cada padrão, expressos na equação 10:

$$\log M_p = 14,6827 - 1,069607 V_e \quad (10)$$

Onde,  $M_p$  = Massa molar das pululanas e  $V_e$  = Volume de eluição.

Figura 6 – Cromatograma de permeação em gel de galactomanana de *D. regia*.



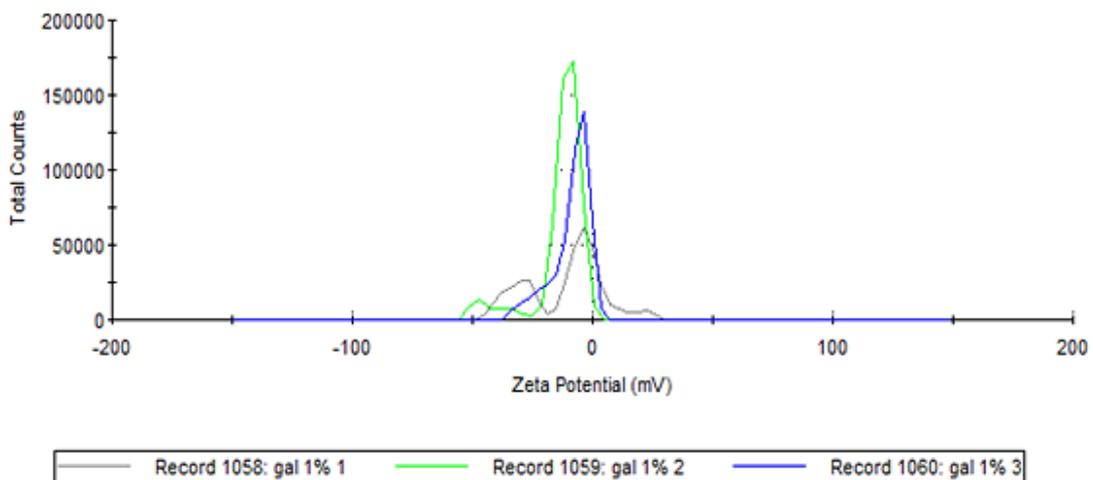
Fonte: elaborado pelo autor.

A massa molar estimada para a galactomanana de *D. regia* é de  $1,04 \times 10^6$  g/mol, à qual foi eluída com 8,12 mL, menor em relação ao valor obtido por Sousa (2014) de  $0,64 \times 10^7$  g/mol e maior que o valor obtido por Tamaki *et al.* (2010) de  $2,5 \times 10^5$  g/mol. Segundo Monteiro (2009), o valor baixo de massa molar pode estar relacionado à diminuição de proteínas ligadas (complexo glicoprotéico), proporcionada pelo método de purificação, comprovada pelos resultados da caracterização físico-química com baixo percentual de proteínas.

#### 4.4 Potencial Zeta (P $\zeta$ )

O potencial zeta (P $\zeta$ ) determinado para a galactomanana de *D. regia* em suspensão foi de  $-10,9 \pm 1,4$  mV (Figura 7), um pouco abaixo dos valores obtidos por Alves (2013) entre  $-0,47$  e  $6,02$  mV para galactomanana de *D. regia*. Esse valor de P $\zeta$  para todas as amostras pode ser explicado pela natureza neutra desses polissacarídeos. A estabilização de sistemas aquosos ocorre quando  $-30$  mV > P $\zeta$  >  $+30$  mV, pois neste intervalo as cargas superficiais do material tendem a se repelir favorecendo a estabilização coloidal. Por outro lado, quando  $+30$  mV > P $\zeta$  >  $-30$  mV, se aproximando de  $0$  mV, não existem cargas suficientes, logo o sistema se torna instável (CARNEIRO-DA-CUNHA *et al.*, 2011).

Figura 7 – Gráfico de potencial zeta (P $\zeta$ ) de galactomanana de *D. regia* em suspensão.



Fonte: elaborado pelo autor.

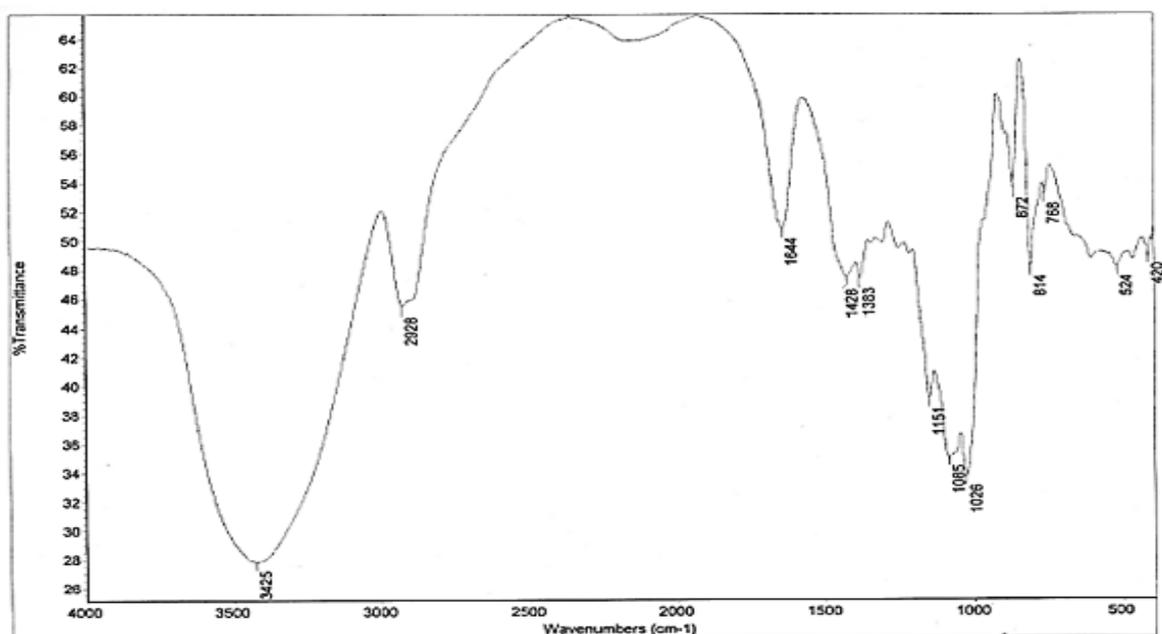
O P $\zeta$  é uma medida do potencial eletrodinâmico que circundam os materiais macroscópicos ou particulados em suspensão (DALTIM, 2011). Os materiais macroscópicos ou particulados em suspensão apresentam uma carga superficial, em que o potencial zeta corresponde potencial elétrico nesse campo hidrodinâmico (SHAW, 1992). No caso dos polissacarídeos, o potencial zeta é um indicativo para avaliar a estabilização de suspensões, processos de dispersão e agregação (floculação) nas mais diversas aplicações (DALTIM, 2011). O valor negativo de P $\zeta$  encontrado para a galactomanana confirma o caráter neutro do polissacarídeo estudado.

## 4.5 Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A análise por FTIR permitiu classificar algumas bandas relativas a vibrações em relação a estiramentos e deformações dos grupos funcionais. O espectro de absorção no infravermelho apresentados na Figura 8 estão em concordância com trabalhos da literatura (Tabela 3), relacionados à galactomananas e carboidratos.

Bandas de vibração em  $814\text{ cm}^{-1}$  e  $872\text{ cm}^{-1}$  foram atribuídas à  $\alpha$ -D-galactopiranosose e  $\beta$ -D-manopiranosose, respectivamente. Absorções comuns em galactomananas foram observadas na banda entre  $1.026\text{ cm}^{-1}$  e  $1.065\text{ cm}^{-1}$  atribuída ao estiramento vibracional referente ao grupo C-O, enquanto em  $1.151\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída à ligação do módulo de tensão angular vibracional do grupo C-O atribuída às vibrações de estiramento do anel piranosose. A região entre  $1.383\text{ cm}^{-1}$  a  $1.428\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída a deformações e vibrações de grupos C-H e O-H. A banda em  $1.644\text{ cm}^{-1}$  é característica do estiramento da ligação C=O. Absorção em  $2.928\text{ cm}^{-1}$  foi detectada como vibrações simétricas e assimétricas do estiramento do grupamento C-H, em especial do grupo C-H<sub>2</sub>. A maior banda de absorção em  $3.425\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída ao estiramento dos grupos hidroxila (O-H).

Figura 8 – Espectro de na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) de galctomanana de *D. regia*



Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 3 – Frequências vibracionais de ligações químicas associadas à galactomanana

Frequência (cm <sup>-1</sup> )	Ligação química	Referências
818 e 867		Souza-Filho et al. (2013)
811 e 874	$\alpha$ -D-galactopiranosose e $\beta$ -D-	Souza (2009)
813 e 870	manopiranosose, respectivamente	López-Franco et al. (2013)
835-855 e 870-890		Sócrates (2004)
950-1.150	Estiramento C-O-H	Tamaki et al. (2010)
1.016		Nkafamiya et al. (2011)
1.145	Estiramento C-O	Tamaki et al. (2010)
1.000-1.160		Sócrates (2004)
1.200-1.460	Deformações e vibrações de C-H e O-H	Sócrates (2004)
1.350-1.450	Deformação C-H no plano	Nkafamiya et al. (2011)
1.640-1.735	Estiramento assimétrico C=O	Souza (2009)
2.922		Matos (2000)
2.900	Estiramento C-H	Tamaki et al. (2010)
2.800-3.000		Cerqueria et al. (2011)
3.398	Estiramento O-H, grupos	Matos (2000)
3.100-3.500	hidroxila	Cerqueria et al. (2011)

Fonte: adaptada de Souza-Filho (2013).

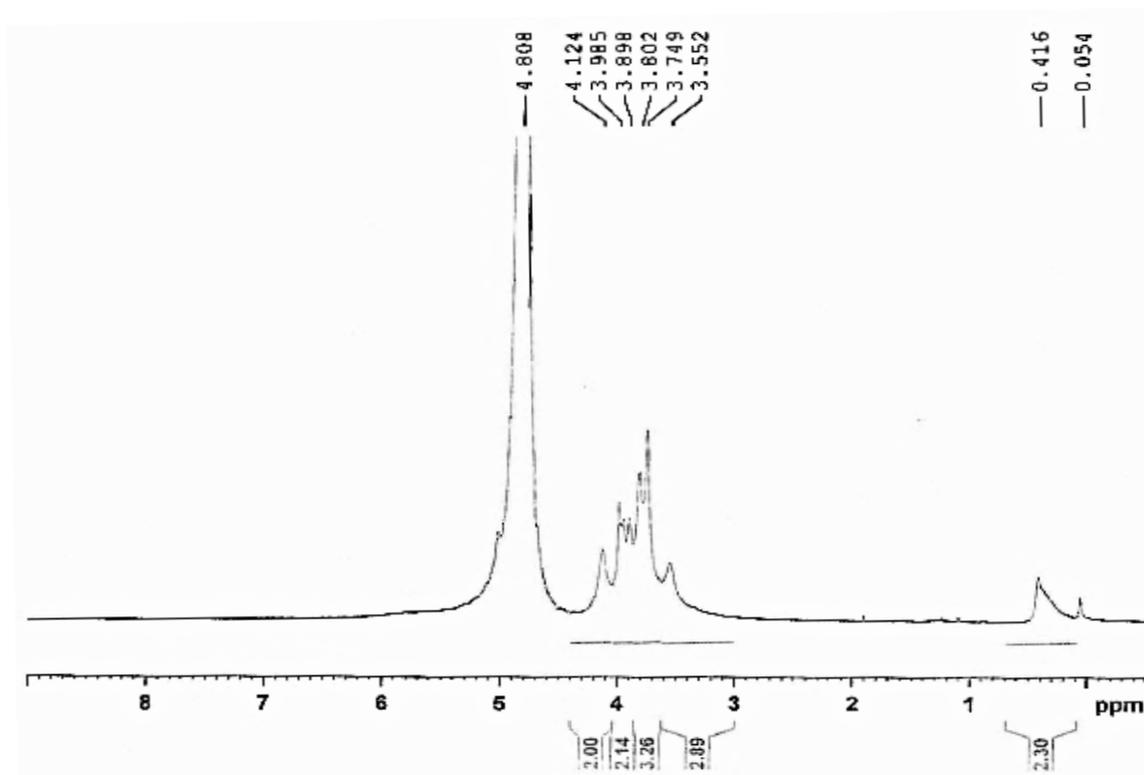
#### 4.6 Análise Estrutural da Galactomanana de *D. regia* por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de Hidrogênio (<sup>1</sup>H) e Carbono Treze (<sup>13</sup>C)

Pelas análises de RMN e de acordo com dados da literatura para a atribuição dos deslocamentos químicos para galactomanans foi possível identificar os componentes das unidades monossacarídicas da galactomanana de *D. regia*.

Analisando o espectro de hidrogênio (<sup>1</sup>H-RMN) representado na figura 9 observaram-se sinais sobrepostos na região entre  $\delta$  4,6 e  $\delta$  5,3 os quais dificultaram a atribuição por esse espectro, que são referentes aos hidrogênios ligados aos carbonos anoméricos das unidades monossacarídicas de  $\alpha$ - D-galactopiranosose e  $\beta$ -

D-manopiranosose, respectivamente, relatados em outros trabalhos com galactomananas (SOUZA, 2009). A baixa resolução nesta região inviabilizou a determinação da razão Manose:Galactose que pode ser realizada pela integração dos picos. Os sinais em  $\delta$  3,55 são atribuídos ao H-5 da manose livre, em  $\delta$  3,74 ao H-6 da galactose, em  $\delta$  3,98 ao H-2 da galactose e  $\delta$  4,12 de H-2 da manose quando comparados com os espectros encontrados para outras galactomananas (PIRES *et al.*, 2001; CUNHA *et al.*, 2009).

Figura 9 – Espectro de hidrogênio ( $^1\text{H}$ -RMN) da galactomanana de *Delonix regia*. Análise em 400 MHz de frequência, em  $\text{D}_2\text{O}$ , a  $70^\circ\text{C}$ . Deslocamentos químicos expressos em ppm ( $\delta$ ).

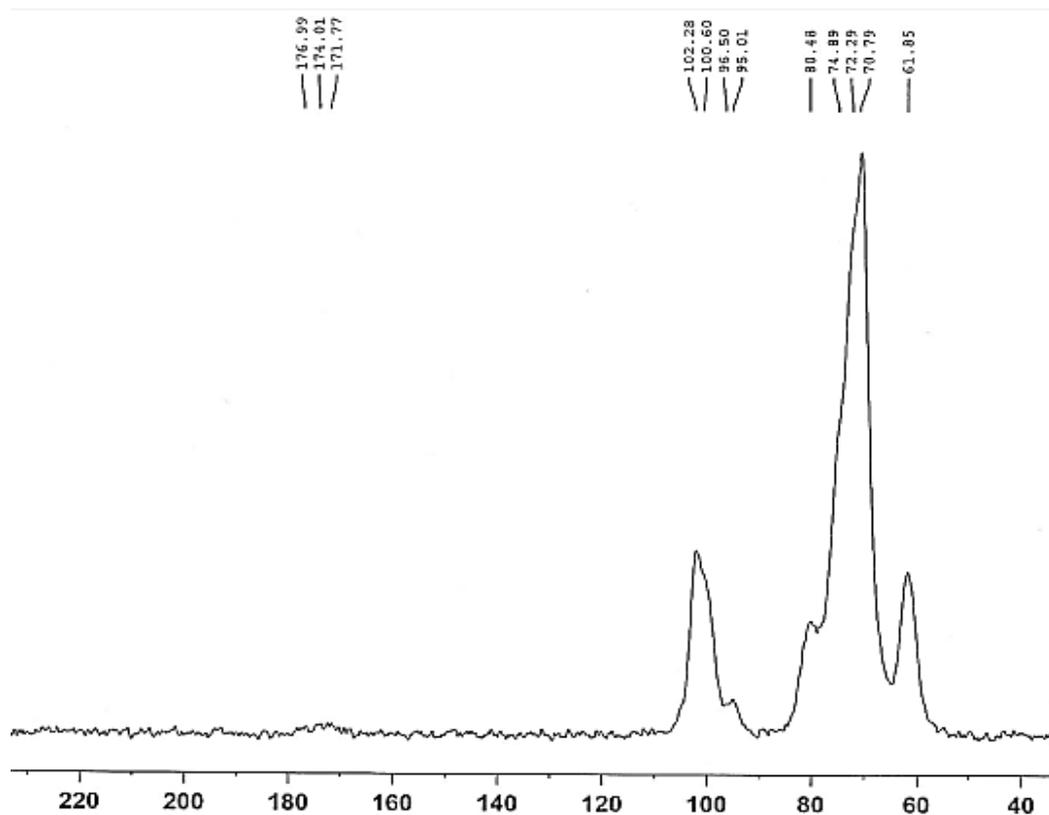


Fonte: Elaborado pelo autor.

O espectro de carbono treze ( $^{13}\text{C}$ -RMN) está representado na figura 10. A resolução do espectro permitiu visualizar as regiões específicas dos carbonos anoméricos (entre  $\delta$  102,2-96,5) referentes a  $\alpha$ -D-galactopiranosose (C-1) e  $\beta$ -D-manopiranosose (C-1), atribuídos em  $\delta$  100,6 e 102,2, respectivamente para campo mais baixo, dos carbonos substituídos e não substituídos (entre  $\delta$  70,7–80,4) e regiões do C-6 da Galactose ( $\delta$  61,8 (CUNHA *et al.*, 2009). Sinal em  $\delta$  80,4 foi atribuída ao C-4 da manose ramificada no carbono C-6, enquanto que o sinal  $\delta$  72,2 refere-se ao C-4 da galactose. Tal diferença se deve ao fato de que na manose o C-

4 está participando da ligação glicosídica. O sinal em  $\delta$  74,8 é referente ao C-5 da galactose e  $\delta$  70,7 ao C-6 da manose (CUNHA, 2006; SIERAKOWISK *et al.*, 2000). Os sinais foram de acordo com os padrões para outras galactomananas descritos na literatura.

Figura 10 - Espectro de carbono treze ( $^{13}\text{C}$ -RMN) da galactomanana de *D. regia*. Análise em 100 MHz de frequência, em D<sub>2</sub>O, a 70 °C. Deslocamentos químicos expressos em ppm ( $\delta$ ).

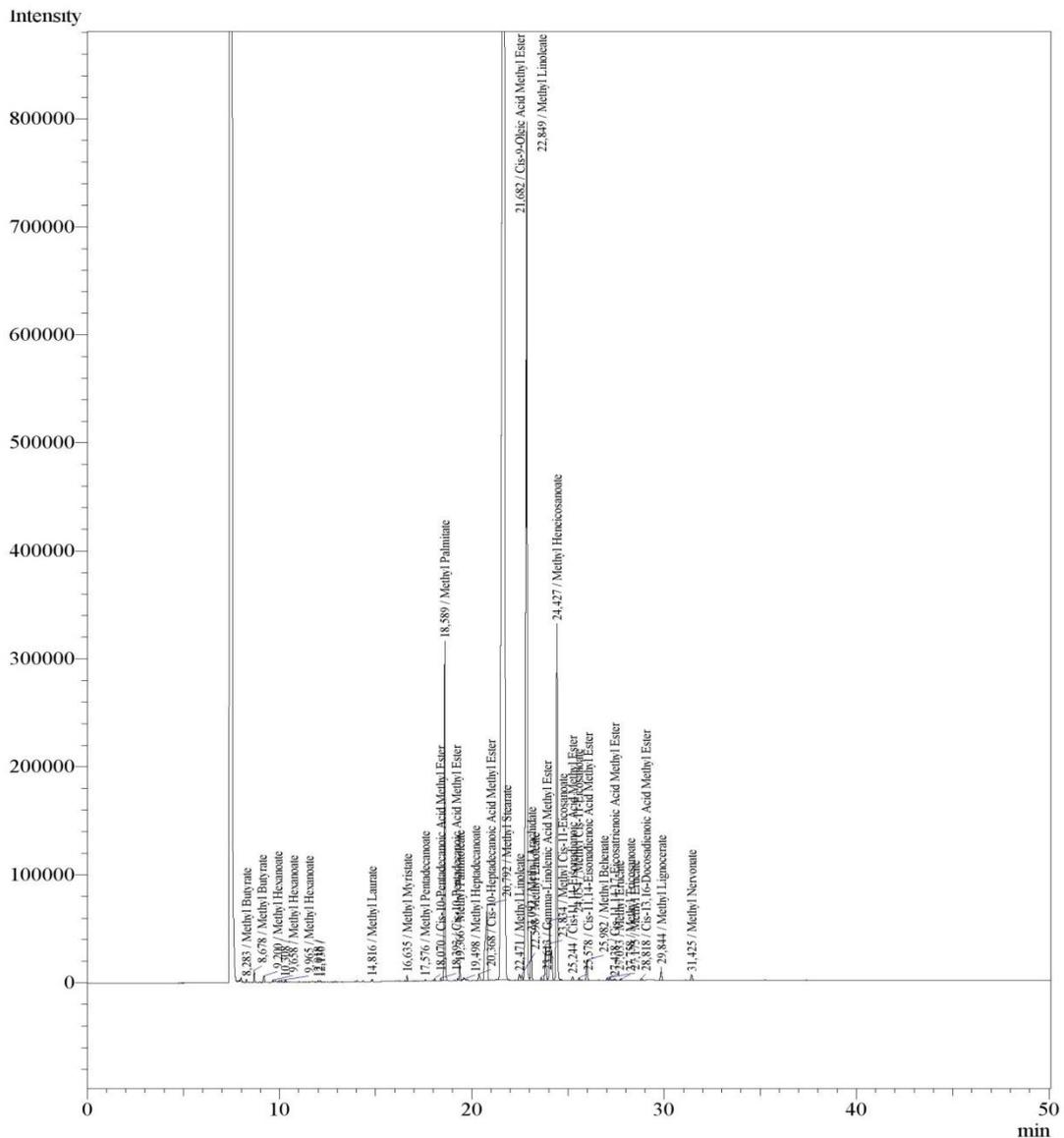


Fonte: Elaborado pelo autor

#### 4.7 Determinação da composição de ácido graxos do óleo de canola por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID)

O óleo de canola foi submetido ao processo de transesterificação para a preparação dos ésteres metílicos de ácidos graxos. A esterificação das amostras foi realizada em triplicata, com injeções de 1 $\mu$ L em triplicatas para cada amostra esterificada. O cromatograma da análise em cromatografia gasosa está representado na figura 11.

Figura 11 – Cromatograma obtido pela análise por GC-FID de óleo canola analisado pelas seguintes condições cromatográficas: coluna SP 2560; programação de temperatura de coluna: 80 °C para; 1º rampa 11 °C/min até 180 °C, 2º rampa 5 °C/min até 220 °C; 168,9 kPa.



Fonte: elaborado pelo autor.

A quantificação foi realizada por normalização das áreas dos picos, e a identificação dos picos por comparação dos tempos de retenção das amostras com os de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Tabela 4).

O óleo de canola apresentou alto teor de ácido oleico (C18:1) com 62,07% de (ácido metil cis-9-oléico) e de ácido linoleico (C18:2) com 18,91% (metil linoleato), sendo uma fonte rica em ácidos graxos insaturados importantes para dieta humana (AUED-PIMENTEL *et al.*, 2009). O baixo teor de ácido erúcido com

0,05% (metil erucato) é evidenciado como resultado dos estudos de melhoramento genético desta cultivar, o que antes com altos teores apresentava toxicidade e impossibilitava o uso na alimentação humana (GUNSTONE, 2005).

Tabela 4- Teor dos componentes identificados através de GC-FID do óleo de canola (*Brassica napus* L.).

Composto (éster metílico)	tR (min)	Área (%)
Metil Butirato	8,678	0,149
Metil Hexanoato	9,200	0,119
Metil Laurato	14,816	0,018
Metil Miristato	16,635	0,063
Metil Pentadecanoato	17,576	0,017
Ácido Éster Metil cis-10-pentadecanóico	18,393	0,028
Metil Palmitato	18,589	4,890
Metil Palmitoleato	19,366	0,198
Metil Heptadecanoato	19,498	0,004
Ácido Éster Metil cis-10-heptadecanóico	20,368	0,139
Metil Estaerato	20,792	2,527
Ácido Metil cis-9-oléico	21,682	62,077
Metil Linoleato	22,849	18,914
Metil Ariquidato	23,092	0,678
Ácido Éster Metil Gama-linoléico	23,613	0,052
Metil cis-11-eicosanóico	24,054	1,526
Metil Heneicosanoato	24,427	6,615
Ácido Éster Metil cis-11,14-eisonadienóico	25,244	0,061
Metil Behenato	25,982	0,344
Metil Erucato	27,175	0,055
Ácido Éster Metil cis-11,14,17-eicosatrienóico	27,438	0,045
Metil Tricosanoato	27,758	0,027
Ácido Éster Metil cis-13,16-docosadienóico	28,818	0,042
Metil Lignocerato	29,844	0,178
Metil Nervonato	31,425	0,126

Fonte: Elaborada pelo autor. tR = tempo de retenção.

#### 4.8 Análise do óleo essencial de *Ocimum basilicum* por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS)

A Tabela 5 apresenta os teores dos componentes do óleo essencial, identificados através do espectro de massas. É notável o alto teor relacionado ao componente identificado como sendo cânfora (14,85%), o que evidencia esse composto como o componente majoritário do óleo essencial de *O. basilicum*, seguido de 1,8-Cineol (3,48%) e  $\alpha$ -Bergamoteno (3,24%).

Tabela 5 - Teor dos componentes identificados através do espectro de massas da amostra do óleo essencial de *Ocimum basilicum*.

Componente	tR (min)	IK <sub>cal</sub>	IK <sub>lit</sub>	Teor (%)
$\alpha$ -Pinenos	3,989	941	939	0,19
Sabineno	4,644	979	976	0,13
$\beta$ -Pinenos	4,733	984	980	0,32
Mirceno	4,905	993	991	0,14
D-Limoneno	5,745	1034	1031	0,19
1,8-Cineol	5,815	1037	1033	3,48
(Z)- $\beta$ -Ocimeno	6,127	1051	1040	1,06
Fenchono	7,183	1093	1087	0,14
Linalol	7,393	1101	1098	0,48
Cânfora	8,697	1151	1143	14,85
Metil cavicol	10,275	1202	1195	0,54
Bornil acetato	12,858	1289	1285	1,19
$\beta$ -Elemeno	16,128	1394	1391	0,17
Metil eugenol	16,459	1405	1401	0,4
(E)-Cariofileno	16,980	1423	1418	0,16
$\alpha$ -Bergamoteno	17,438	1439	1436	3,24
$\alpha$ -Bulneseno	19,544	1508	1505	0,15
$\gamma$ -Cadineno	19,786	1517	1513	0,49
tau-Cadinol	23,387	1645	1640	0,46

Fonte: elaborada pelo autor. tR = tempo de retenção; IK<sub>cal</sub> = índice de kovats calculado; IK<sub>lit</sub> = índice de kovats da literatura.

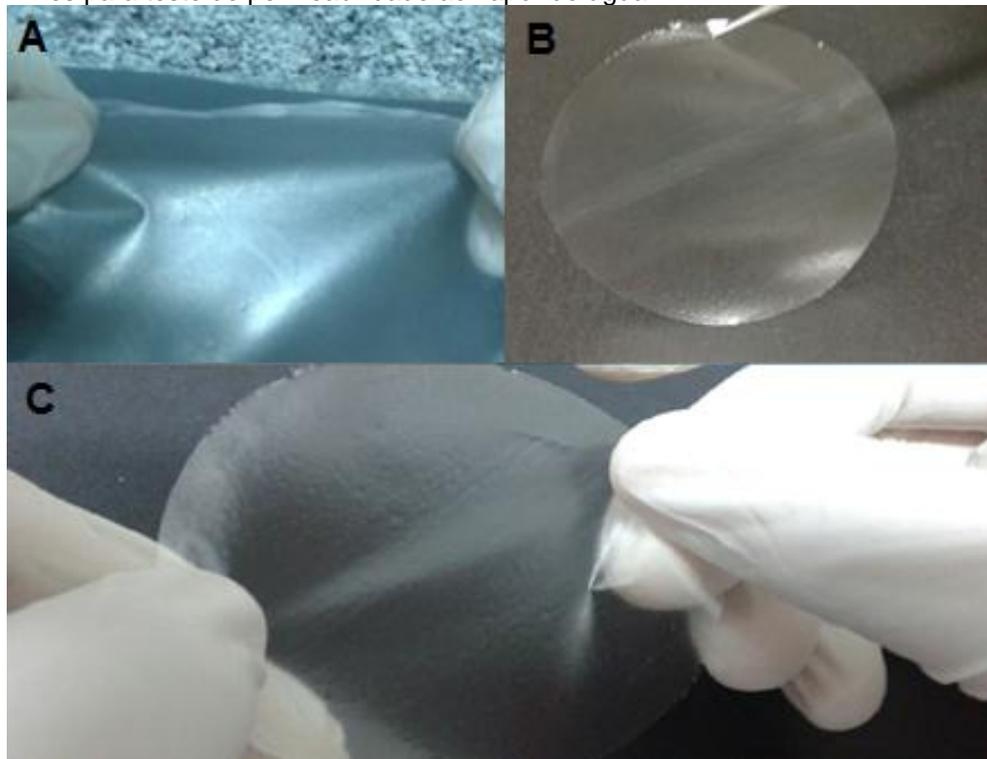
Martins *et al.* (2010) identificou por GC-MS seis componentes como sendo os principais constituintes do óleo essencial de manjeriço com um percentual de

abundância significativo, entre eles o metil chavicol (62,39%), linalol (25,88%),  $\alpha$ -farneseno (6,14%), 1,8-cineol (eucaliptol) (3,48%),  $\alpha$ -terpineol (1,43%) e  $\alpha$ -cadinol (0,67%). Dos componentes identificados, apenas o 1,8-cineol apresentou similaridade no teor relatado de 3,48%.

#### 4.9 Filmes Biodegradáveis

A partir do equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL) do óleo de canola (EHL = 7,0) o percentual de surfactantes foi determinado para corresponder a 20% da massa total de óleo utilizado na formulação filmogênica. A mistura de surfactantes correspondeu a Tween 80 (25%) e SPAN 80 (75%). Os filmes foram obtidos pelo método de *casting* (Figura 12) e mostraram-se transparentes, manuseáveis e bem homogêneos, sem característica de filmes quebradiços. Todas as formulações (com e sem óleo essencial) foram armazenadas em dessecador e analisadas posteriormente.

Figura 12 – Filmes biodegradáveis obtidos pelo método de casting. (A) retirada do filme da base fixa, (B) corte dos filmes para serem analisados e (C) diâmetro dos filmes para teste de permeabilidade ao vapor de água.

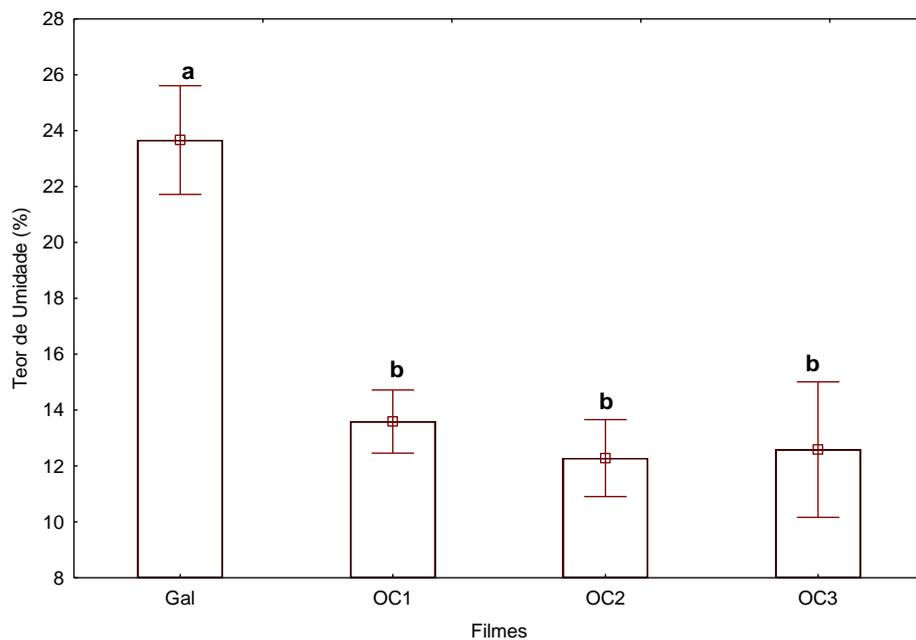


Fonte: elaborado pelo autor.

#### 4.9.1 Teor de umidade dos filmes

Observou-se que o filme sem óleo de canola (galactomanana/glicerol) apresentou maior teor de umidade, uma vez que o glicerol é um composto de natureza hidrofílica, ele altera a rede de cadeias da galactomanana criando regiões móveis com distâncias maiores entre as cadeias promovendo maior agrupamento e retenção de água (OLIVA; BARBOSA-CÁNOVAS, 2008). Os filmes/blenda galactomanana e óleo de canola apresentaram baixos teores de umidade, devida à natureza hidrofóbica do lipídeo que diminui a retenção de água na matriz do filme (figura 13). O resultado está de acordo com Cerqueira et al. (2012), que mostraram a diminuição do teor de umidade em filmes de galactomanana de *Gleditsia triacanthos*, apenas com glicerol, após a adição de óleo de milho, além de avaliar o aumento da umidade relacionado com o aumento da concentração de glicerol.

Figura 13 – Gráfico de teor de umidade (%) dos filmes em relação à concentração e óleo de canola.



Fonte: elaborado pelo autor. Gal = filmes de galactomanana/glicerol, OC1 = filme de Gal/óleo canola 0,25% (m/v), OC2 = filme de Gal/óleo canola 0,5% (m/v) e OC3 = filme de Gal/óleo canola 0,75% (m/v). <sup>a,b</sup>Médias com expoente diferente são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

A adição de óleo de canola apresentou diferença significativa quando comparado ao teor de umidade do filme controle (galactomanana/glicerol), enquanto o aumento das concentrações de óleo não apresentaram diferença entre si.

Vários alimentos são susceptíveis à deterioração devido ao aumento do teor de umidade. Crescimento de microrganismos, alterações de cor e sabor, mudança de textura são alguns efeitos indesejáveis causados pelo aumento da umidade de um alimento (FELDMAN, 2001).

#### 4.9.2 Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)

Nos ensaios de PVA, os filmes somente com galactomanana (controle) apresentaram menor permeabilidade, enquanto a adição o óleo de canola nos filmes apresentaram valores maiores de PVA e foram considerados significativamente diferentes em relação ao controle. Os filmes apresentaram diferentes espessuras que variaram de 0,029 a 0,052 mm, apesar das condições operacionais serem as mesmas, é muito difícil o controle rígido da espessura dos filmes, principalmente em escala laboratorial. As espessuras foram influenciadas significativamente pela adição do óleo de canola, mas sem diferença para as concentrações de 0,5 e 0,75% (m/v) (Tabela 6).

Tabela 6 – Valores de permeabilidade e espessura dos filmes/blenda de galactomanana e óleo de canola.

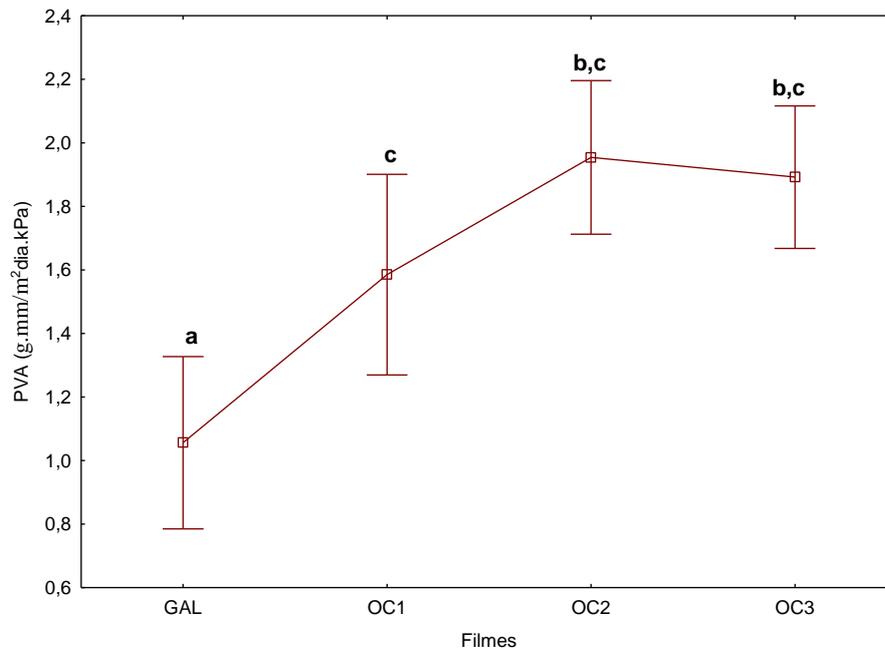
Filme/blenda	Permeabilidade ao Vapor de Água (g.mm/m <sup>2</sup> .dia.kPa)	Espessura (mm)
Gal	1,056 ± 0,085 <sup>a</sup>	0,029 ± 0,002 <sup>b</sup>
OC1	1,585 ± 0,113 <sup>c</sup>	0,039 ± 0,001 <sup>a</sup>
OC2	1,954 ± 0,075 <sup>bc</sup>	0,054 ± 0,002 <sup>c</sup>
OC3	1,892 ± 0,070 <sup>bc</sup>	0,052 ± 0,001 <sup>c</sup>

Fonte: elaborado pelo autor. Gal = filmes de galactomanana/glicerol, OC1 = filme de Gal/óleo canola 0,25% (m/v), OC2 = filme de Gal/óleo canola 0,5% (m/v) e OC3 = filme de Gal/óleo canola 0,75% (m/v). <sup>a-c</sup>Médias ± Erro Médio Padrão com expoente diferente são significativamente diferentes (p < 0,05).

A permeabilidade ao vapor de água é a maior preocupação no desenvolvimento de barreiras nas embalagens a fim de obter a vida-de-prateleira desejada. Quando os filmes possuem baixas permeabilidades não devem ser utilizados para uso em pós-colheita ou para embalar alimentos, devido a problemas de fermentação (PINHEIRO *et al.*, 2010). Segundo Cerqueira *et al.* (2009), a alta hidrofiliabilidade dos filmes de galactomanana se deve a alta polaridade do polissacarídeo, favorecendo a permeação de moléculas de água.

Na figura 14, o gráfico apresenta a influência de PVA nos filmes com a adição de óleo canola. Os filmes contendo óleo 0,5 e 0,75% (m/v) apresentaram maior permeabilidade e sem diferença significativa.

Figura 14 – Gráfico de permeabilidade ao vapor de água em relação aos filmes de galactomanana com diferentes concentrações de óleo de canola.



Fonte: elaborado pelo autor. Gal = filmes de galactomanana/glicerol, OC1 = filme de Gal/óleo de canola 0,25% (m/v), OC2 = filme de Gal/óleo de canola 0,5% (m/v) e OC3 = filme de Gal/óleo de canola 0,75% (m/v). <sup>a-c</sup>Médias ± Erro Médio Padrão com expoente diferente são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Embora os óleos vegetais e ácidos graxos se apresentem como hidrofóbicos, eles contêm grupos carboxílicos altamente polares que podem interagir com moléculas de água e, conseqüentemente, facilitar a transferência de umidade através do filme (YANG; PAULSON, 2000). Segundo Gontard et al. (1994), se os componentes lipídicos, geralmente esféricos, não forem capazes de se associar com a cadeia de polissacarídeo, a estrutura da matriz pode ser rompida, resultando em perda global das propriedades de barreira à umidade do filme. A organização do complexo polissacarídeo-lipídeos e a interação entre esses dois componentes é um fator crítico na permeabilidade dos filmes. O aumento da PVA observado com o aumento da concentração de óleo de canola pode ser explicado devido à desestabilização da matriz filmogênica de galactomanana, permitindo assim que facilmente houvesse a migração de vapor de água.

A partir dos filmes/blenda de galactomanana e óleo de canola e os resultados quanto à permeabilidade ao vapor de água, devido a formulação OC2 com 0,5% (m/v) de óleo de canola aumentar a PVA em relação à ao filme OC1 e não apresentar diferença significativa do filmes OC3, foi escolhida como formulação padrão para a incorporação de óleo essencial de manjeriço (em diferentes concentrações) como base na CIM do teste antimicrobiano do óleo isolado.

#### 4.9.3 Propriedades ópticas: Cor e Opacidade

Dentre as propriedades ópticas de filmes para aplicação em embalagem, destacam-se a cor e a transparência. Os valores obtidos para as coordenadas L\*, a\* e b\*, diferença de cor ( $\Delta E$ ) e opacidade (Y) dos filmes estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Valores da diferença de cor ( $\Delta E$ ), parâmetros de luminosidade (L\*), cor verde (a\*), amarelo (b\*) e opacidade (Y) dos filmes.

Filmes	$\Delta E$	L*	a*	b*	Opacidade (%)
Gal	1,72	95,08 ± 0,06 <sup>ab</sup>	-0,35 ± 0,01 <sup>b</sup>	3,56 ± 0,18 <sup>cd</sup>	14,00 ± 0,10 <sup>a</sup>
OC1	1,40	95,27 ± 0,13 <sup>b</sup>	-0,35 ± 0,01 <sup>b</sup>	3,14 ± 0,07 <sup>d</sup>	14,69 ± 0,20 <sup>ac</sup>
OC2	2,74	94,69 ± 0,11 <sup>ab</sup>	-0,56 ± 0,02 <sup>cd</sup>	4,46 ± 0,22 <sup>abc</sup>	15,70 ± 0,03 <sup>b</sup>
OC3	1,64	95,40 ± 0,06 <sup>b</sup>	-0,43 ± 0,02 <sup>bc</sup>	3,50 ± 0,06 <sup>cd</sup>	15,28 ± 0,27 <sup>bc</sup>
O1	2,74	94,39 ± 0,11 <sup>a</sup>	-0,72 ± 0,02 <sup>a</sup>	4,72 ± 0,17 <sup>ab</sup>	15,58 ± 0,22 <sup>b</sup>
O2	3,33	95,18 ± 0,30 <sup>b</sup>	-0,87 ± 0,09 <sup>a</sup>	4,97 ± 0,44 <sup>a</sup>	14,63 ± 0,07 <sup>ac</sup>
O3	2,04	95,39 ± 0,10 <sup>b</sup>	-0,58 ± 0,03 <sup>cd</sup>	3,86 ± 0,16 <sup>bcd</sup>	15,22 ± 0,20 <sup>bc</sup>

Fonte: elaborado pelo autor. Gal = filmes de galactomanana/glicerol, OC1 = filme de Gal/óleo canola 0,25% (m/v); OC2 = filme de Gal/óleo canola 0,5% (m/v); OC3 = filme de Gal/óleo canola 0,75% (m/v); O1 = filme/óleo essencial (2,5 mg/ml); O2 = filme/óleo essencial (5,0 mg/ml) e O3 = filme/óleo essencial (7,5 mg/ml). <sup>a-c</sup>Médias ± Erro Médio Padrão com expoente diferente são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) na mesma coluna.

Verificou-se que os filmes OC2, O1, O2 e O3 apresentaram maior diferença de cor ( $\Delta E$ ), com maior efeito pela a incorporação do óleo essencial devido à cor característica do mesmo (UGALDE, 2014). Segundo Liporacci (2005), alguns fatores podem influenciar o grau de cor dos filmes como: teor de polissacarídeo e concentração de lipídios. Mehdizadeh et al. (2012) verificaram que em filmes biodegradáveis à base de polissacarídeos (amido e quitosana), a adição de óleo essencial de tomilho (*Thymus kotschyanus*) afetou a cor e a transparência dos mesmos.

Todos os filmes apresentaram luminosidade ( $L^*$ ) alta, de forma que quanto mais próximos de 100 mais claros e transparentes. Observou-se que a incorporação, tanto de óleo canola como de óleo essencial, apresentou diferença significativa nos valores de  $L^*$ , mas a luminosidade manteve-se alta. Segundo Rigo (2006), para uma boa apresentação visual do produto, é desejável que os filmes apresentem elevado brilho e alta transparência.

Os valores do croma  $a^*$ , apresentaram-se negativos nos filmes, indicando a presença do componente verde, enquanto que os dados do croma  $b^*$  apresentaram valores positivos, indicando o componente amarelo, ambos os parâmetros tiveram maiores valores para filmes com o óleo essencial de manjeriço. O mesmo foi observado por Ugalde (2014) para parâmetros de cor em filmes biodegradáveis incorporados com óleos essenciais. A cor é considerada um importante parâmetro de caracterização dos filmes, pois está associada à matéria-prima utilizada na elaboração dos mesmos (RIGO, 2006).

Em relação à opacidade dos filmes, a mesma apresentou-se baixa e significativamente diferente à medida que maiores concentrações de óleo essencial foram adicionadas, coincidindo com o aumento dos valores de  $L^*$ . A adição do óleo promove um aumento na difração dos raios luminosos que atravessam o filme, produzindo menor opacidade. Souza et al. (2010) obtiveram filmes de galactomanana de *Anacardium Occidentale* com valores de opacidade inferiores a 15 %. A opacidade de um filme é um indicador da quantidade de luz que o atravessa. Quanto maior o valor de opacidade, menor será a quantidade de luz que atravessa o filme podendo esta barreira ser importante para controlar a incidência de luz nos produtos alimentares (PINHEIRO et al., 2010).

Cerqueira et al. (2009) mostraram que em filmes à base de polissacarídeo, a adição de óleo de milho promoveu um aumento da opacidade. Outro fator para a diminuição da opacidade filmes é o uso de glicerol como plastificante, por ser um produto incolor, transparente e favorecer a redução das interações intermoleculares (ROCHA, 2009).

#### 4.9.4 Atividade Antimicrobiana do óleo essencial de *O. basilicum*

A atividade antimicrobiana do óleo essencial de manjeriço foi testada contra seis cepas microbianas pelo método de microdiluição em caldo. O óleo essencial foi preparado nas concentrações entre 2,5 e 20 mg/ml, num intervalo de 2,5 mg/ml. A atividade foi expressa como concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM), apresentadas na tabela 8.

Tabela 8 - Atividade antimicrobiana do óleo essencial de Manjeriço (*Ocimum basilicum*).

Microrganismo	Atividade Antimicrobiana	
	CIM (mg/ml)	CBM (mg/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	2,5	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	5	20
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	5	15
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	5	5
<i>Salmonella choleraesuis</i> ATCC 10708	5	5
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	2,5	5

Fonte: elaborado pelo autor. ATCC = American Type Culture Collection; CIM = concentração inibitória mínima; CBM = concentração bactericida mínima.

O óleo essencial de manjeriço apresentou um alto espectro de ação antimicrobiana contra todas as cepas testadas, com maior sensibilidade observada para *S. aureus* e *C. albicans* com CIM de 2,5 mg/ml, em ambas as cepas. Quando comparado aos resultados de Freira et al. (2014), mostraram uma CIM de 36 mg/ml para *S.aureus*, uma concentração alta em relação à este trabalho. Cavalcanti et al. (2011) mostraram uma alta sensibilidade apresentada por *C. albicans* ao óleo de manjeriço com a CIM de 1,12 mg/ml. Bozin et al. (2006) mostraram que cepas bacterianas gram-positivas apresentaram maior sensibilidade ao óleo essencial de manjeriço. Aquino et al. (2010) verificou a atividade do óleo de *O. basilicum* contra 8 cepas diferentes de *S. aureus* e, em todas, o óleo apresentou ação bactericida e bacteriostática.

Cavalcanti et al. (2011) sugerem que a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais se deve à interação desse produto natural e de seus constituintes com as membranas celulares, o que pode levar à alteração da permeabilidade celular, ao desequilíbrio hidroeletrólítico e à lise de membrana.

#### 4.9.5 Antibiograma com filmes contendo óleo essencial de *O. basilicum*

A partir dos valores de CIM do óleo essencial encontrados para as cepas microbianas testadas, incorporaram-se diferentes concentrações do óleo na formulação de filme OC2. O óleo essencial foi incorporado em três concentrações no filme (2,5, 5,0 e 7,5 mg/ml). A inibição na zona de contato do filme e os halos de inibição foram medidos (Tabela 9).

Tabela 9 - Antibiograma dos filmes incorporados com óleo essencial de *O. basilicum*.

Microrganismo	Óleo essencial % (mg/mL)	Atividade antimicrobiana	
		Halo de Inibição <sup>1</sup>	Zona de Contato <sup>2</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	2,5	-	+
	5,0	14	+
	7,5	11,6	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	2,5	12	+
	5,0	16,3	+
	7,5	11,6	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	2,5	-	+
	5,0	-	+
	7,5	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	2,5	-	+
	5,0	15	+
	7,5	12,3	+
<i>Salmonella choleraesuis</i> ATCC 10708	2,5	-	-
	5,0	-	-
	7,5	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	2,5	-	-
	5,0	-	-
	7,5	-	-

Fonte: elaborado pelo autor; (+) = representa efeito inibitório; (-) = sem efeito inibitório.<sup>1</sup> Valores medidos do diâmetro do halo de inibição expressos em mm. <sup>2</sup> Zona de contato do filme diretamente no ágar na placa de Petri.

O filme OC2 sem incorporação de óleo essencial foi utilizado como controle, onde não houve inibição de nenhuma cepa microbiana. Observou-se que as cepas de *S. choleraesuis* e *C. albicans* apresentaram-se resistentes em contato com os filmes incorporados com óleo essencial, em todas as concentrações. O filme incorporado com 5,0 mg/ml de óleo essencial apresentou maiores halos de inibição para *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli* com 14, 16,3 e 15 mm, respectivamente. Os filmes testados contra *K. pneumoniae* apresentaram inibição apenas na zona de

contato dos filmes. Pode-se constatar com estes resultados que filmes com maior concentração, 7,5 mg/ml de óleo essencial, apresentaram baixo efeito inibitório devido à menor quantidade de óleo incorporado promover uma maior compatibilidade com o filme, facilitando desta maneira seu arranjo na matriz de galactomanana.

Por estes resultados, não se pode afirmar que não houve atividade antimicrobiana, já que esta pode ocorrer sem migração dos compostos ativos do óleo essencial, resultando em uma inibição em contato direto com a superfície do filme (Pranoto *et al.*, 2005). Segundo Cagri *et al.* (2001), uma interação entre grupamentos do polímero e os compostos ativos do agente incorporado pode reduzir ou até impedir a migração de compostos ativos para o sistema. Seydim e Sarikus (2006) observaram que os discos de filme biodegradável incorporados com óleo essencial de *R. officinalis* (Alecrim) em diferentes concentrações não foi capaz de formar halo inibitório.

Ugalde (2014) avaliou em um prazo de tempo a liberação gradual de óleos essenciais em filmes biodegradáveis em diferentes matrizes de polissacarídeos. Vários são os efeitos combinados na cinética de liberação de óleo essencial em filmes. O principal deles é o aumento do caminho da difusão do óleo essencial do interior da matriz polimérica para o meio aquoso externo associado a interações físicas e químicas do óleo essencial com a estrutura da matriz polimérica. Assim, a liberação do óleo essencial nesta etapa acontece de maneira lenta e constante (BEIRÃO-DA-COSTA *et al.*, 2013). Filmes comestíveis podem reduzir a difusão, uma vez que o OE faz parte da sua estrutura, interagindo com o polímero e o plastificante.

## 5. CONCLUSÕES

A galactomanana de sementes de *Delonix regia* apresentou um percentual baixo de nitrogênio (proteínas) (0,67%), mostrando uma pureza acentuada em relação à preparação e obtenção dessa hemicelulose. A galactomanana foi caracterizada pelas técnicas de FTIR e RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de acordo os perfis de outras galactomananas encontrados na literatura.

O óleo canola foi caracterizado como uma fonte rica em ácido oleico, considerado um óleo vegetal saudável, fator importante para a composição de filmes comestíveis biodegradáveis.

A metodologia de evaporação de solvente (*casting*) em pregada na preparação das blendas biodegradáveis a partir de galactomanana e óleo canola foi eficiente. A presença do óleo canola alterou a estrutura dos filmes em relação à espessura, teor de umidade e permeabilidade ao vapor de água. Os filmes obtidos foram considerados transparentes e com baixa opacidade.

O óleo essencial de *O. basilicum* apresentou composição diferente dos padrões informado pela empresa FERQUIMA<sup>®</sup>. Os valores de CIM e CBM verificados demonstram que o óleo essencial apresentou um espectro de ação amplo para os microrganismos testados.

Os filmes incorporados com óleo essencial apresentaram diferença significativa na diferença de cor ( $\Delta E$ ) e opacidade ( $Y$ ) em relação aos filmes/blendas de galactomanana e óleo de canola. No teste antimicrobiano, as cepas de *C. albicans* e *S. choleraesuis* não foram sensíveis aos filmes, enquanto *P. aeruginosa* apresentou o maior halo de inibição (16,3 mm). Os filmes com 5,0 mg/ml de óleo essencial apresentaram mais ação inibitória em relação às outras concentrações. A interação polissacarídeo-óleo essencial dificultou a difusão do óleo para o meio, sendo importante avaliar a cinética de liberação. Contudo, os filmes incorporados com óleo essencial de manjerição apresentaram uma atividade antimicrobiana moderada para potencial aplicação como embalagens bioativas.

Portanto, é possível obter filmes biodegradáveis para embalagens de alimentos a partir de galactomanana de *Delonix regia* e óleo canola, utilizando o

processo de *casting*, como uma alternativa viável para a redução de lixos plásticos sintéticos no meio ambiente, em substituição aos materiais já existentes. Porém, algumas características precisam ser testadas como propriedades mecânicas e estruturais para serem melhores aplicados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADETOGUN, G.E.; ALEBIOWU, G. Properties of *Delonix regia* seed gum as a novel tablet binder. **Acta Polica Pharmacology**, v.66, p.433-438, 2009.
- ADJÉ, F.A.; LOZANO, Y.F.; GERNEVÉ, C.; LOZANO, P.R. MEUDEC, E.; ADIMA, A.A.; GAYDOU, E.M. Phenolic acid and flavonol water extracts of *Delonix regia* red flowers. **Industrial Crops and Products**, v.37, p.303-310, 2012.
- ALDANA, D.S.; ANDRADE-OCHOA, S.; AGUILAR, C.N.; CONTRERAS-ESQUIVEL, J.C.; NEVÁREZ-MOORILLÓN, G.V. Antibacterial activity of pectic-based edible films incorporated with Mexican lime essential oil. **Food Control**, v.50, p.907-912, 2015.
- ALENCAR, J.W.; CRAVEIRO, A A.; MATOS, F.J.A. Kovat's indexes as pre-selection routine in mass spectra library search of volatiles. **Journal of Natural Production**, v. 47, p. 890-892, 1984.
- ALMEIDA, D.M.; WOICIECHOWSKI, A.L.; WOSIACKI, G. Propriedades Físicas, Químicas e de Barreira em Filme Formados por Blenda de Celulose Bacteriana e Fécula de Batata. **Polímeros**, vol. 23, n. 4, p. 538-546, 2013.
- ALVES, R. C. **Caracterização de gomas extraídas de seis tipos de sementes de leguminosas**. 2013. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.
- AMERICAN OIL CHEMISYS SOCIETY – AOCS - **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society**. Washington, 2004.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. **Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting**. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 1995.
- AMORIM, A. M. **Estudo da miscibilidade de blendas de poli(óxido de etileno) e poli(succinato de etileno)**. 2004. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.
- ANDERSON, E. Endosperm mucilages of legumes: occurrence and composition. **Industry and Engineer Chemists**, v. 41, p. 2887-2890, 1949.
- AQUINO, L.C.L.; SANTOS, G.G.; TRINDADE, R.C.; ALVES, J.A.B.; SANTOS, P.O.; ALVES, P.B.; BLANK, A.F.; CARVALHO, L.M. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de erva-cidreira e manjeriço frente a bactérias de carnes bovinas. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.21, n.4, p.529-535, 2010.
- ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of materials. D638-02. In: **Annual book of American standard testing methods**. Philadelphia: ASTM, 2002.

AUED-PIMENTEL, S.; KUMAGAI, E.E.; KUS, M.M.M.; CARUSO, M.S.F.; TAVARES, M.; ZENEON, O. Ácidos graxos trans em óleos vegetais refinados poli-insaturados comercializados no estado de São Paulo, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.3, p.646-651, 2009.

AZERO, E.G.; ANDRADE, C.T. Extração e Caracterização de sementes de *Caesalpinia pulcherrima*. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, p.54-59, 1999.

AZERO, E.G.R. **Galactomananas de fontes não-tradicionais e sua utilização em misturas**. 1999. Tese de doutorado apresentada no instituto de macromoléculas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999.

BAETHGEN, W.E.; ALLEY, M.M. A manual colorimetric procedure for measuring ammonium nitrogen in soil and plant Kjeldahl digest. **Soil Scienc Plant Analysis**, v.20, p. 961-969, 1989.

BARBARO, N.R.; STELATO, M.M. Atividade anti-candida de óleos essenciais de plantas utilizadas na culinária. **Anais do XIV Encontro de Iniciação Científica da PUC**, Campinas, 2009.

BEIRÃO-DA-COSTA, S.; DUARTE, C.; BOURBON, A.I.; PINHEIRO, A.C.; JANUÁRIO, M.I.N.; VICENTE, A.A.; BEIRÃO-DA-COSTA, M.L.; DELGADILLO, I. Inulin potential for encapsulation and controlled delivery of Oregano essential oil. **Food Hydrocolloids**, vol. 33, p. 199-206, 2013.

BETANCUR-ANCONA, D.; PACHECO-AGUIRRE, J.; CASTELLANOS-RUELAS, A.; CHEL-GUERRERO, L. Microencapsulation of papain using carboxymethylated flamboyant (*Delonix regia*) seed gum. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.12, p.67-72, 2011.

BOZDEMIR, O. A.; TUTAS, M. Plasticiser effect on water vapour permeability properties of locust bean gum-based edible films. **Turkish Journal of Chemistry**, 27, 773e782, 2003.

BOZIN, B.; MIMICA-DUKIC, N.; SIMIN, N.; ANACKOV, G. Characterization of the volatile composition of essential oil of some lamiaceae species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v.54, n.5, p.1822-1828, 2006.

BRAGA, R.C.; TEIXEIRA-SÁ, D.M.A.; RIBEIRO, A.F.; MIRANDA, R.L.; ALMEIDA, L.M.; HORTA, A.C.G.; MOREIRA, R.A. Evaluationo of *Caesalpinia pulcherrima* endospermic gum as affinity matrices for galactose-binding lectins interaction. **Brazilian Archives of Biology Technology**, v.54, p.283-292, 2011.

BRESOLIN, T.M.B. et al. Role of galactomannan composition on the binary gel formation with xanthan. **International Journal of Biology Molecules**, v.26, p.255-231, 1999.

BUCKERIDGE, M.S. Seed cell wall storage polysaccharide: models to understand cell wall biosynthesis and degradation. **Plant Physiology**, v.154, p.1017-1023, 2010.

BUCKERIDGE, M.S.; PANEGASSI, V.R.; ROCHA, D.C.; DIETRICH, S.M.C. Seed galactomannan in the classification and evolution of the Leguminosae. **Phytochemistry**, v. 38(4), p. 871-875, 1995.

BUCKERIDGE, M.S.; REID, J.S.G. Major cell wall polysaccharides in legume seeds: Structure, catabolism and biological functions. **Ciência e Cultura**, v. 48, p.153-162, 1996.

BUCKERIDGE, M.S.; SANTOS, H.P.; TINÉ, M.A.S. Mobilization of storage cell wall polysaccharides in seeds. **Plant Physiology Biochemistry**, v.38, p. 141-156, 2000.

BURITI, F.C.A.; SANTOS, K.M.O.; SOMBRA, V.G.; MACIEL, J.S.; SÁ, D.M.A.T.; SALLES, H.O.; OLIVEIRA, G.; PAULA, R.C.M.; FEITOSA, J.P.A.; MOREIRA, A.C.O.M.; MOREIRA, R.A.; EGITO, A.S. Characterisation of partially hydrolysed galactomannan from *Caesalpinia pulcherrima* seeds as a potential dietary fibre. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p.512-521, 2014.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, n.3, 223-253, 2004.

CAGRI, A., USPUNOL, Z.; RYSER, E. Antimicrobial edible films and coating. **Journal of Food Protection**, v.67, n.4, 833-848, 2004.

CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G., CERQUEIRA, M. A., SOUZA, B. W. S., TEIXEIRA, J. A., & VICENTE, A. A. Influence of concentration, ionic strength and pH on zeta potential and mean hydrodynamic diameter of edible polysaccharide solutions envisaged for multilayered films production. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, n. 3, p. 522-528, 2011.

CAVALCANTI, Y.W.; PÉREZ, A.L.A.L.; XAVIER, G.D.R.; ALMEIDA, L.F.D. Efeito inibitório de óleos essenciais sobre microrganismos do canal radicular. **Revista de Odontologia da UNESP**, v.40, n.5, p.208-214, 2011.

CERQUEIRA, M. A., SOUZA, B.W. S., MARTINS, J. T.; VICENTE, A. A. **Improved hydrocolloid-based edible coatings/films systems for food applications**. In A. Tiwari (Ed.), *Polysaccharides: Development, properties and applications*. New York: Nova Science Publishers, 2010.

CERQUEIRA, M. A.; BOURDON, A. I.; PINHEIRO, A. C.; MARTINS, J. T.; SOUZA, B. W. S.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A. Galactomannans use in the development of edible films/ coatings for food applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, n.12, p. 662-671, 2011.

CERQUEIRA, M.A.; PINHEIRO, A.C.; SOUSA, B.W.S.; LIMA, A.M.P.; TEIXEIRA, J.A.; MOREIRA, R.A.; COIMBRA, M.A.; GONÇALVES, M.P.; VICENTE, A.A.

Extraction, purification and characterization of galactomannans from non-traditional sources. **Carbohydrate Polymers**, 75, p.408-414, 2009.

CERQUEIRA, M.A.; SOUZA, B.W.S.; TEIXEIRA, J.A.; VICENTE, A.a. Effect of glycerol and corn oil on physicochemical properties of polysaccharide films e A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v.27, p.175-184, 2012.

COLONI, R. D. Óleos vegetais na alimentação de poedeiras. **PUBVET**, Londrina, v.2, n.42, art. 397, 2008.

CUNHA, P. L. R.; VIEIRA, I. G. P.; ARRIAG, A. M. C.; PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A. Isolation and characterization of galactomannan from *Dimorphandra gardneriana* Tul. seeds as a potential guar gum substitute. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 3, p. 880-885, 2009.

CUNHA, P.L.R. **Desenvolvimento de polissacarídeos com ação terapêutica em osteoartrite**. 2006. Tese (Doutorado em Química Inorgânica) – Departamento de Química Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

CUTTER, N.C. Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods. **Meat Science**, v.74, n.1, p.131–142, 2006.

CUTTER, N.C.; SUMNER, S.S. Application of edible coatings on muscle foods. In A. Gennadios (Ed.), Protein-based films and coatings. **CRC Press**, 2002.

DALTIN, D. **Tensoativos: química, propriedades e aplicações**. Editora Blucher, São Paulo, 2011.

DEA, I.C.M.; CLARK, A.H.; MCCLEARY, B.V. Effect of galactose substitution patterns on the interaction properties of galctomannans. **Carbohydrate Research**, v.147, p.275-294, 1986.

DEA, I.C.M.; MORRISON, A. Chemistry and intractions of seed galactomannans. **Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry**, v. 31, p. 241-312, 1975.

DUARTE, M.C.T.; LEME, E.E.; DELARMELINA, C.; SOARES, A.A.; FIGUEIRA, G.M.; SARTORATTO, A. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 111, n. 2, p.197-201, 2007.

DURANGO, A.M.; SOARES, N.F.F.; ANDRADE, N.J. Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. **Food Control**, v.17, p.336-341, 2006.

ESKIN, N. A. M.; MC DONALD, B. E.; PRZYBYLSKI, R.; MALCOLMSON, L. J.; SCARTH, R.; MAG, T.; WARD, K.; ADOLPH, D. Aceite de canola: Historia y desarrollo. **Aceites & Grasas** , Rosário, v. 4, n. 65, p.594-604, 2006.

ESPITIA, P. J. P., DU, W. X., AVENA-BUSTILLOS, R. D. J., SOARES, N. D. F. F.; MCHUGH, T. Edible films from pectin: physical e mechanical and antimicrobial properties e a review. **Food Hydrocolloids**, v.35, p.287-296, 2013.

FELDMAN, D. Polymer Barrier Films. **Journal of Polymers and the Environment**, v.9, p. 49-55, 2001.

FERREIRA, A.L. **Propriedades Vibracionais de Polissacarídeos Naturais**. Curitiba, 2008. 79 f. Dissertação (Mestrado em Física) – Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná.

FLORES, S.; FAMA, L.; ROJAS, A.M.; GOYANES, S.; GERSCHENSON, L. Physical properties of tapioca-starch edible films: influence of filmmaking and potassium sorbate. **Food Research International**, v.40, p.257-265, 2007.

FREIRE, I.C.M.; PÉREZ, A.L.A.L.; CARDOSO, A.M.R.; MARIZ, B.A.L.A.; ALMEIDA, L.F.D.; CAVALCANTI, Y.W.; PADILHA, W.W.N. Atividade antibacteriana de Óleos Essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.16, n.2, p.372-377, 2014.

GAIO, L.; SAGGIORATO, A.G.; TREICHEL, H.; CICHOSKI, A.J.; ASTOLFI, V.; CARDOSO, R.L.; TONIAZZO, G.; VALDUGA, E.; PAROUL, N.; CANSIAN, R.L. Antibacterial activity of basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) in Italian-type sausage. **Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit**, 2015.

GALLO, J.A.Q.; DEBEAUFORT, F.; CALLEGARIN, F.; VOILLEY, A. Lipid hydrophobicity, physical state and distribution effects on the properties of emulsion-based edible films. **Journal of Membrane Science**, v.180, n.1, p.37-46, 2000.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. L. Edible films and coatings from wheat and corn proteins. **Food Technology**, v.44, n.10, p.63–69, 1990.

GENNADIOS, A.; WELLER, C.L.; HANNA, M.A.; FRONING, G.W. Mechanical and barrier properties of egg albumen films. **Journal of Food Science**, v.61, p.585-589, 1996.

GÓMEZ-ESTACA, J.; LÓPEZ DE LACEY, A.; LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; GÓMEZ-GUILLÉN, M.C.; MONTERO, P. Biodegradable gelatinechitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. **Food Microbiology**, v.27, p.889-896, 2010.

GONTARD, N. **Films et enrobages comestibles: etude et amélioration des propriétés filmogène du gluten**. Teses de Doutorado apresentada à Université des Sciences et Techniques du Languedoc, p.174, 1991

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapor permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 29, n. 1, p. 39-50, 1994.

GROSSMAN, M. V. E.; MALI, S.; SHIMAZU, A. A. Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. **Seminário: Ciências Agrárias**, Londrina, v.28, n.1, p. 79-88, 2007.

GUNSTONE, Frank D. Vegetable Oils. In: SHAHIDI, Fereidoon. **Bailey's Industrial Oil & Fat Products: Edible Oil & Fat Products Chemistry, Properties & Health Effects**. 6. ed. New Jersey: Wiley Interscience, v.1, p.213-268, 2005.

HAN, J. H. Antimicrobial food packaging. **Food Technology**, v.54, n.3, p.56–65, 2000.

HAN, J.H.; GENNADIOS, A. **Edible films and coatings: a review**. In J. Han (Ed.), *Innovations in food packaging*. Elsevier Science & Technology Books, p. 239-259, 2005.

HICKEY, M.; KING, C. **Common Families of Flowering Plants**. Cambridge: Cambridge University Press, 1997.

HOSSAIN, M.A.; KABIR, M.J.; SALEHUDDIN, S.M.; RAHMAN, S.M.; DAS, A.K.; SINGHA, S.K.; ALAM, M.K.; RAHMAN, A. Antibacterial properties of essential oils and methanol extracts of sweet basil *Ocimum basilicum* occurring in Bangladesh. **Pharma Biology**, v.48, n.5, p.504-511, 2010.

HUNTER ASSOCIATES LABORATORY (Reston, Estados Unidos). **Universal software versions 3.2 and above: User's manual: manual version 1.5**. Reston, 1997.

KAISER, C. R. RMN 2D: Detecção inversa e gradientes de campo na composição estrutura de compostos orgânicos. **Química Nova**, v.23, p.231-236, 2000.

KALE, R.H.; JOSHI, U.M.; AMBHORE, D.P.; SITAPHALE, G.R. Evaluation of *Delonix regia* endospermic mucilage as table binder. **International Journal of Chem, Tech Research**, v.1, p.11-15, 2009.

KAPOOR, V. P. Galactomannan from the seeds of *Delonix regia*. **Phytochemistry**, v. 11, p.1129-1132, 1972.

KWAAMNWA, H.M.; GOODWIN, J.W.; HUGHES, R.W.; REYNOLS, P.A.; Viscosity, molecular weight and concentration relationship at 298 K of low molecular weight *cis*-polyisoprene in a good solvent. **Colloids e Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects**, v.294, p.14-19, 2007.

LABRA, M.; MIELE, M.; LEDDA, B.; GRASSI, F.; MAZZEI, M.; SALA, F. Morphological characterization, essential oil composition and DNA genotyping of *Ocimum basilicum* L. cultivars. **Plant Science**, v.167, p.725-731, 2004.

LAFARGUE, D., LOURDIN, D., DOUBLIER, J. Film-forming properties of a modified starch/j-carrageenan mixture in relation to its rheological behaviour. **Carbohydrate Polymers**, v.70, p. 101–111, 2007.

LEWIS, G.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B.; LOCK, M. (Eds.) Legumes of the World. **Kew: Royal Botanic Gardens**, p.577, 2005.

LIMA, A. M., CERQUEIRA, M. A., SOUZA, B. W. S., SANTOS, E. C. M., TEIXEIRA, J. A., MOREIRA, R. A.; VICENTE, A.A. New edible coatings composed of galactomannans and collagen blends to improve the postharvest quality of fruits e influence on fruits gas transfer rate. **Journal of Food Engineering**, v.97, p.101-109, 2010.

LIMA, A.M.P.; CERQUEIRA, M.A.; SOUSA, B.W.; TEIXEIRA, J.A.; VICENTE, A.A.; MOREIRA, R.A. Influence of galactomannans/collagen edible coatings in gas transfer rates in fruit. In: **VALNATURA: A Europeo-Latin American post-graduate research network in the Valorization of Natural Resources**. Media Addict. Porto, Portugal, p.82-88, 2008.

LIMA, D.U. Polissacarídeos de Reserva de Parede Celular em sementes. Estrutura, Metabolismo, Funções e Aspectos Ecológicos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, p.137-162, 2000.

LIMA, H. C. **Leguminosas arbóreas da Mata Atlântica – uma análise da riqueza, padrões de distribuição geográfica e similaridades florísticas em remanescentes florestais do estado do Rio de Janeiro**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, p.122, 200.

LIN, D.; ZHAO, Y. Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.6, n.3, p.60-75, 2007.

LIPORACCI, J. S. N.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeito do método de extração na composição e propriedades de amido de inhame (*Dioscorea alata*). **Semina. Ciências Agrárias**, v. 26, n. 3, p. 345-352, 2005.

LÓPEZ, P.; SÁNCHEZ, C.; BATLLE, R.; NERÍN, C. Vapor-phase activities of cinnamon, thyme, and oregano essential oils and key constituents against foodborne micro-organisms. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, n.11, p.4348–4356, 2007.

MAIA, E.L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Avaliação de um método simples e econômico para a metilação de ácidos graxos com lipídios de diversas espécies de peixes. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 53, p. 5, 1993.

MAIA, L.H.; PORTE, A.; SOUZA, V.F. Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira à umidade e oxigênio. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v.18, n.1, p.105-128, 2000.

MAIER, H.; ANDERSON, M.; KARL, C.; MAQNUSON, K.; WHISTLER, R. L. Guar, locust bean, tara and fenugreek gums. In: WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N. **Industrial Gums: Polysaccharides And Their Derivatives**. 3. ed. New York: Academic Press, 1993. p. 215-218.

- MARTINS, A.G.L.A.; NASCIMENTO, A.R.; MOUCHREK-FILHO, J.E.; MENDES-FILHO, N.E.; SOUZA, A.G.; ARAGÃO, N.E.; SILVA, D.S.V. Atividade antibacteriana do óleo essencial do manjeriço frente a sorogrupos de *Escherichia coli* enteropatogênica isolados de alfaves. **Ciência Rural**, v.40, n.8, p.1791-1796, 2010.
- MARTINS, J. T., CERQUEIRA, M. A., SOUZA, B. W. S., AVIDES, M. C.; VICENTE, A. A. Shelf life extension of ricotta cheese using coatings of galactomannans from nonconventional sources incorporating nisin against *Listeria monocytogenes*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, n.3, p.1884-1891, 2010.
- MATOS, F.C. **Caracterização físico-química de galactomananas de *Adenanthera pavonina* (Carolina) e *Delonix regia* (Flambuoyant) reticuladas com trimetafosfato de sódio.** (2008). Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de São Paulo, 2008.
- MATOS, V.C. **Gomas endospérmicas de *Delonix regia* e *Schizolobium parahybae*.** Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Ceará, 2000.
- MEHDIZADEH, T.; TAJIK, H.; ROHANI, S.M.R.; OROMIEHIE, A.R. Antibacterial, antioxidant and optical properties of edible starch-chitosan composite film containing *Thymus kotschyanus* essential oil. **Veterinary Research Forum**, v.3, n.3, p.167-173, 2012.
- MIKKONEN, K. S., RITA, H., HELLEN, H., TALJA, R. A., HYVÖNEN, L., & TENKANEN, M. Effect of polysaccharide structure on mechanical and thermal properties of galactomannan-based films. **Biomacromolecules**, v.8, p.3198-3205, 2007.
- MONTEIRO, A.A.S. (2009). **Síntese e caracterização de géis de galactomanana de fava danta (*Dimorphandra gardneriana*) para aplicação biológica.** Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Ceará, 2009.
- MONTES, S.S.; SANTANA-NETA, L.G.; 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.
- NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically:** NCCLS document M7-A3,. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa., v.13, n.25, 1993.
- NKAFAMIYA I. I.; BARMINAS, J. T.; ALIYU, B. A.; OSEMEAHON, S. A.; Swelling behaviour of konkoli (*Maesopsis eminii*) galactomannan hydrogels. **International OIKAWA, A.; LUND, C.H.; SAKURAGI, Y.; SCHELLER, H.V. Golgi-localizes enzyme complexes for plant cell wall biosynthesis. Trends in Plant Science**, v.18, n.1, p.49-58, 2013.

OLIVAS, G. I., & BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Alginate-calcium films: water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer and relative humidity. **LWT - Food Science and Technology**, v.41, p.359-366, 2008.

OLIVEIRA, L. M.; OLIVEIRA, P. V. L. Revisão: Principais Agentes Antimicrobianos Utilizados em Embalagens Plásticas. **Brazilian Journal of Food Science and Technology**, Campinas, v. 7, n. 2, p. 161-165. 2004.

PANEGASSI, V. R.; SERRA, G. E.; BUCKRIDGE, M. S. Potencial tecnológico do galactomanano de sementes de faveiro (*Dimorphandra mollis*) para uso na indústria de alimentos. **Food Science and Technology**, v. 20, n. 3, p. 406-415, 2000.

PARK, H. J. Development of advanced edible coatings for fruits. **Trends in Food Science & Technology**, v.10, p.254-260, 1999.

PEREIRA, D.B.C.; SILVA, P.H.F.; COSTA-JUNIOR, L.C.G.; OLIVEIRA, L.L.. **Físico-química do leite e derivados - Métodos Analíticos**. 2ª edição, Juiz de Fora- MG, 2001.

PÉREZ-GAGO, M. B.; KROCHTA, J. M. Lipid particle size effect on water vapor permeability and mechanical properties of whey protein/beeswax emulsion films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.996-1002, 2001.

PÉROVAL, C.; DEBEAUFORT, F.; DESPRÉ, D.; VOILLEY, A. Edible arabinoxylan-based films. 1. Effects of lipid type on water vapor permeability, film structure and other physical characteristics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.14, p.3977-3983, 2002.

PINHEIRO, A. C. et al. Utilização de revestimentos/filmes edíveis para aplicações alimentares. **Boletim de biotecnologia**, 2010.

PIRES, A.C.S. **Desenvolvimento e avaliação de filmes e sachê antimicrobianos na conservação de queijo mussarela fatiado**. Viçosa: Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV. 2006. 73 p. (Dissertação, Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).

PIRES, L.; GORIN, P. A. J.; REICHER, F.; SIERAKOWSKI, M. R. An active heparinoid obtained by sulphation of a galactomannan extracted from the endosperm of *Senna macranthera* seeds. **Carbohydrate Polymers**, v.46, p.165–169, 2001.

PRAJAPATI, V.D.; JANI, G.K.; MORADIYA, N.G.; REERIA, N.P.; NAGAR, B.J.; NAIKWADI, N.N.; VARIYA, B.C. Galactomannan: A versatile biodegradable seed polysaccharide. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.60, p.83-92, 2013.

PRANOTO, Y.; RAKSHIT, S. K.; SALOKHE, V. M. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. **LWT – Food Science and Technology**, vol. 38, p. 859-865, 2005.

PRZYBYLSKI, R.; MAG, T.; ESKIN, N.A.M.; MCDONALD, B.E. Canola Oil. In: SHAHIDI, Fereidoon et al. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. 6. ed. Wiley: Hoboken, 2005. V. 2. Cap. 2, p. 61-122.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biology of plants**. New York: Worth Publication, p.791, 2001.

**Research Journal of Plant Science**, v. 2, n. 3, p. 78-86, 2011.

RIGO, L.N. **Desenvolvimento e caracterização de filmes comestíveis**. (2006). Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Rio Grande do Sul, 2006.

RINAUDO, M. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. **Polymer International**, v.57, p.397-430, 2008.

ROCHA, G.O. **Obtenção e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de misturas de amido de mandioca e extrato protéico de soja**. (2009). Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

ROLAND, J.C.; REIS, D. & VIAN, B. Liquid crystal order and turbulence in the planar twist of the growing plant cell walls. **Tissue and Cell**, v.24, p.335-345, 1992.

ROSE, J.K.C.; BENNETT, A.B. Cooperative disassembling of the cellulose-xyloglucan network of plant cell walls: parallels between cell expansion and fruit ripening. **Trends in Plant Science**, v.4, p.176-183, 1999.

RUBENSTEIN, E.T.; MCLAUGHLIN, R.C.; WINANT, A.; SANCHEZ, M.; ECKART, K.M.; KRASINKA, A., CHIEN, A. Azetidine-2-carboxylic Acid in the Food Chain. **Phytochemistry**, v.70 p.100–104, 2009.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; CHÁFER, M.; HERNÁNDEZ, M.; CHIRALT, A.; González-Martínez, C. Antimicrobial activity of polysaccharide films containing essential oils. **Food Control**, v.22, p.1302-1310, 2011.

SHELLER, H.V.; ULVISKOV, P. Hemicellulose. **Annual review of plant biology**, v.61, p.263-269, 2010.

SELVI, R.S.; GOPALAKRISHNAN, S.; RAMAJAYAM, M. SOMAN, R. Evaluation of mucilage of *Caesalpinia pulcherrima* as bine for tables. **International Journal of ChemTech Research**, v.2, p.436-442, 2010.

SEYDIM, A. C.; SARIKUS, G. Antimicrobial activity of whey protein based films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. **Food Research Internacional**, Campinas, v. 39, p. 639-644, 2006.

SEYDIM, A.C.; SARIKUS, G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. **Food Research International**, v.39, p.639–644, 2006.

SHAW; D.J. **Introduction to colloid and surface chemistry**, 4 Ed. Oxford: Butterworth Heinemann, 1992.

SIERAKOWSKI, m.; Milas, M., Desbrières, J., Rinaudo, M. Specific modifications of galactomannans. **Carbohydrate Polymers**, v.42, p.51- 57, 2000.

SILVA, G.B. **Análise comparada das hemiceluloses de parede celular de frondes de samambaias e licófitas**. Tese apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, São Paulo, 2009.

SILVA, R.R.; FORTUNA-PEREZ, A.P.; TOZZI, A.M.G.A. Novas Ocorrências de Leguminosae para o Mato Grosso do Sul, Brasil. **Rodriguésia** 58 (2): 249-254. 2007.

SILVEIRA, M.F.A.; SOARES, N.F.F.; GERALDINE, R.M; ANDRADE, N.J.; BOTREL, D.A.; GONÇALVES, M.P.J.. Active film incorporated with sorbic acid on pastry dough conservation. **Food Control**, v.18, p.1063-1067, 2007.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre: UFRS/UFSC, cap. 8, p.467-475, 2004.

SITTIKIYOTHIN, W.; TORRES, D.; GONÇALVES, M.P. Modelling the rheological behaviour of galactomannan aqueous solutions. **Carbohydrate Polymers**, v.59, n.3, p.339-350, 2005.

SOARES, C.E.A. **Caracterização estrutural e potencial da Galactomanana de *Adenantha pavonina L.* como matéria-prima para produção de filmes comestíveis bioativos**. Tese de Doutorado apresentada ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Ceará, 2009.

SOCRATES, G. **Infrared and Raman characteristics group frequencies**. 3. ed. West Sussex: John Wiley and Sons, 2004.

SOUSA, F.D. **Propriedades físico-químicas de hemiceluloses vegetais**. Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Ceará, 2014.

SOUZA, C. F.; LUCYSZYN, N.; FERRAZ, F. A.; SIERAKOWSKI, M. R. *Caesalpinia ferrea* var. *ferrea* seeds as a new source of partially substituted galactomannan. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 3, p. 641-647, 2010.

SOUZA, C.F. **Galactomanana de *Caesalpinia férrea* var. *férrea*: estrutura, modificação química e caracterização de propriedades**. Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Orgânica, Universidade Federal do Paraná, 2009.

SOUZA, M.P., CERQUEIRA, M.A., SOUZA, B.W.S., TEIXEIRA, J.A., PORTO, A.L.F., VICENTE, A.A., CARNEIRO-DA-CUNHA, M.G. Polysaccharide from *Anacardium Occidentale* L. tree gum (Policaju) as a coating for Tommy Atkins mangoes. **Chemical Papers** , v.64, n.4, p.475-481, 2010.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, p.640, 2005.

SOUZA-FILHO, M.S.M.; NASCIMENTO, R.F.; CAVALCANTE, F.L.; ROSA, M.F.; MORAIS, J.P.S.; FEIOSA, J.P.A.; MELO, E.F.; CRUZ, M.R.; ALEXANDRE, L.C. Extração e Caracterização de Galactomanana de Vagens de Algaroba (*Prosopis juliflora*). **Comunicado Técnico 209**, Embrapa Agroindústria Tropical, 2013.

SRIVASTAVA, M; KAPOOR, V.P. Seed galactomannans: An overview. **Chemistry and Biodiversity**, v.2, p.295-317, 2005.

STEPHEN, A.M.; PHILLIPS, G.O.; WILLIAMS, P.A. **Food polysaccharides and their applications**. 2<sup>nd</sup> edition. Marcel Dekker. Inc, New York, p.644, U.S.A., 2006.

SUPPAKUL, P.; MILTZ, J.; SONNEVELD, K.; BIGGER, S. W. Active Packaging Technologies with an Emphasis on Antimicrobial Packaging and its Applications. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, n. 2. 2003.

TAMAKI, Y.; TERUYA, T.; TAKO, M. The Chemical structure of galactomannan isolate from seeds of *Delonix regia*. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 74, n.5, p.1110-1112, 2010.

TELICI, I. *et al.* Variability in essential oil composition of Turkish basils (*Ocimum basilicum* L.). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.34, n.6, p.489-497, 2006.

TELLES, M.R.; SARAN, L.M.; UNEDA, S.H. Produção, propriedades e aplicações de bioplástico obtido a partir da cana-de-açúcar. **Ciência e Tecnologia** ,v.2, n.1, p.52-63, 2011.

THYGESEN, L.G.; LOKKE, M.M.; MICKLANDER, E.; ENGELSEN, S. B. Vibrational microspectroscopy of food. Raman vs. FT-IR. **Trends in Food Science & Technology**, v.14, p.50-57, 2003.

UGALDE, M.L. **Biofilmes ativos com incorporação de óleo essencial**. (2014). Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de engenharia de alimentos, Universidade Regional Integrada, Erechim, 2014.

VENANCIO, A.M. **Toxicidade aguda e atividade antinociceptiva do óleo essencial do *Ocimum basilicum* L. (Manjeriço), em *Mus musculus* (Camundongos)**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, 2006.

VENDRUSCOLO, C. W.; FERRERO, C.; PINEDA, E. A. G.; SILVEIRA, J. L. M.; FREITAS, R. A.; JIMÉNES-CASTELLANOS, M. R.; BRESOLIN, T. M. B. Physicochemical and mechanical characterization of galactomannan from *Mimosa scabrella*: effect of drying method. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n.1, p. 86-93, 2009.

VENDRUSCOLO, C.W.; ADREAZZA, I.F.; GANTER, J.L.M.S.; FERRERO, C.; BRESOLIN, T.M.B.. Xanthan and galactomannan (from *M. scabrella*) matrix tables for oral controlled delivery of theophylline. **International Journal of Pharmaceutics**, v.296, p.1-11, 2005.

VOET, D.; VOET, J. **Biochemistry**. John Wiley & Sons, inc. 4ed, 2011.

WHISTLER, R.L; MILLER, J.N. Carbohydrate Chemistry for Food Scientists. By the **American Association of Cereal Chemists**, 1997.

WORK, W.J.; HORIE, K.; HESS, M.; STEPTO, R.F.T. Definitions of terms related to polymer blends, composites and multiphase polymeric materials. **Pure of Applied Chemistry**, v.76, p.1985-2007, 2004.

XU, R.B.; YANG, X.; WANG, J.; ZHAO, H.T.; LU, W.H.; CUI, J.; CHENG, C.L.; ZOU, P.; HUANG, W.W.; WANG, P.; LI, W.J., HU, X.L. Chemical Composition and antioxidant activities of three polysaccharide fractions from Pine Cones. **International Journal of Molecular Science**, v.13, p.14222-14227, 2012.

YANG, L.; PAULSON, A.T. Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film. **Food Research International**, v. 33, n. 7, p. 571-578, 2000.