



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

KELVI WILSON EVARISTO MIRANDA

FILME ANTIMICROBIANO COMPOSTO DE BASE LIPÍDICA COM
APLICABILIDADE EM ALIMENTOS

FORTALEZA

2015

KELVI WILSON EVARISTO MIRANDA

**FILME ANTIMICROBIANO COMPOSTO DE BASE LIPÍDICA COM
APLICABILIDADE EM ALIMENTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Produtos de Origem Animal.

Orientadora: Prof.PhD. Elisabeth Mary Cunha da Silva.

Coorientadora: Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos.

FORTALEZA

2015

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

-
- M643f Miranda, Kelvi Wilson Evaristo.
 Filme antimicrobiano composto de base lipídica com aplicabilidade em alimentos / Kelvi
 Wilson Evaristo Miranda. – 2015
- 134 f. : il., color.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias,
 Departamento de Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia
 de Alimentos, Fortaleza, 2015.
- Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos de Origem Vegetal
 Orientação: Profa. Dra. Elisabeth Mary Cunha da Silva.
 Coorientação: Profa. Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos.
1. Biopolímeros. 2. Tecnologia de Alimentos. 3. Alimentos - Conservação. I. Título.

CDD 664

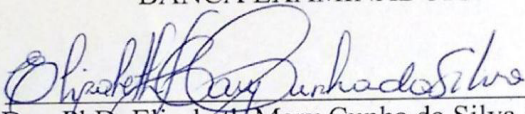
KELVI WILSON EVARISTO MIRANDA

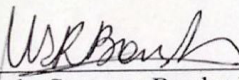
FILME ANTIMICROBIANO COMPOSTO DE BASE LIPIDICA COM
APLICABILIDADE EM ALIMENTOS

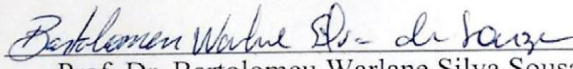
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Produtos de Origem Animal.

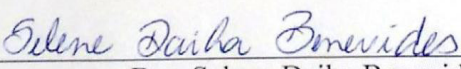
Aprovada em: 31 / 07 / 2015 .

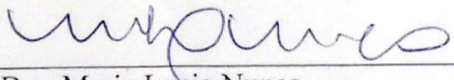
BANCA EXAMINADORA


Prof. Dra. ~~PhD.~~ Elisabeth Mary Cunha da Silva (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)


Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos (Co-orientadora)
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)


Prof. Dr. Bartolomeu Warlane Silva Sousa
Universidade Federal do Ceará (UFC)


Dra. Selene Daiha Benevides
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)


Dra. Maria Lucia Nunes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

À **Deus**, pelas bênçãos proporcionadas durante todo o processo.

À minha **família**: mãe (Margarida), pai (Antonio) e irmãos (Kévin e Káren), tios e avós pelo carinho e amor.

Aos **amigos**, velhos e novos, por toda a ajuda.

AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus por tudo, pela saúde e disposição que me concedera durante todo esse processo, desde a seleção até a elaboração da dissertação; por ouvir minhas preces nos momentos mais angustiantes nas noites que me fiz desacreditar e, Ele sempre mostrava uma luz, uma esperança para continuar e nunca desistir.

À minha família, por acreditarem meu potencial, a minha mãe Margarida Evaristo; meu pai, Antonio Wilson; meus irmãos: Káren Evaristo e Kévin Wilson; e, não menos importante: meus avós e tios.

Ao meu grande amigo e companheiro de todas as horas, Jean Braga, que sempre me apoiou, em todos os momentos e em todos os nossos quase cinco anos que estamos juntos. A você, um agradecimento especial.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de mestrado e pela credibilidade imposta ao projeto.

À parceria entre Universidade Federal do Ceará e EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – que juntas proporcionaram a estrutura necessária para desenvolver tal pesquisa.

À Profa. Dra. Elisabeth Mary Cunha da Silva, pela orientação e por acreditar nesse projeto; pelos incentivos, se não fosse isso, não estaria aqui nesse momento tão especial.

À minha co-orientadora, Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos por acreditar, investir e motivar esse projeto, dedicando atenção e apoios de todas as formas. Agradeço, pela confiança que vem de meados de 2009/2010.

Aos professores participantes das bancas examinadoras da qualificação à defesa, prof. Dr. Bartolomeu Warlane Silsa Sousa, profa. Dra. Maria Lúcia Nunes, Dra. Selene Daiha Benevides, Dra. Roselayne Ferro Furtado, profa. Dra. Déborah dos Santos Garruti, profa. Dra. Juliane Döering Gasparin Carvalho, Dra. Marília de Albuquerque de Oliveira e Dra. Neuma Maria de Souza Pinheiro, pelas valiosas colaborações e sugestões em prol da melhoria desse projeto.

À profa. Dra. Gerla Castello Branco Chinelate, por acreditar em meu potencial, tendo você não só como um exemplo a seguir de determinação e presteza no que faz, pela

oportunidade que você proporcionou para que eu iniciasse na vida acadêmica (2007) e por mostrar o que é a Engenharia de Alimentos.

Ao prof. José Calls Gaspar Júnior, por sempre acreditar em meu potencial e o qual tenho como inspiração pela determinação e garra e, com quem aprendi a aprender.

À profa. Dra. Henriette Azeredo, pela oportunidade dada a mim em 2009, como estagiário do Laboratório de Embalagens na EMBRAPA, com quem aprendi muito referente à pesquisa, recebi bons conselhos. E, foi nesse período, que surgiu a ideia desse projeto.

À Dra. Selene Benevides e Dra. Roselayne Furtado, pela atenção em ouvir minhas teorias, pelos momentos de descontração que tivemos em momentos específicos, pelas palavras de motivação e força, além dos ensinamentos.

Aos professores que compõem todo o corpo docente da Pós-Graduação e Graduação, pelos ensinamentos. Em especial, a Profa. Dra. Evânia Altina Teixeira de Figueiredo, pelos conselhos os quais levarei por a vida e por toda a ajuda investida.

À coordenadora do curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Profa. Dra. Dorasilvia Ferreira Pontes, pela atenção investida.

À Dra. Terezinha Feitosa, pelo apoio dado e, por toda dedicação de tempo e atenção em todos os momentos nas análises microbiológicas.

Ao prof. Dr. Renato Innecco, por acreditar no projeto e investir sem descrever.

Aos amigos cuja amizade cultivei e solidifiquei no Laboratório de Embalagens: Carlos Ruan, Camila Mota, Sarah Frota, Dalila Lima, Gabrielle Albuquerque (em especial às “cobras & lagartos”), Emanuela Iana, Ana Claudia, Delane Rodrigues, Talita Macedo, Rafaela Timóteo, Willliara Queiroz, Nadya Peixoto pelas palavras de força e coragem. Rossueti Diógenes e Rogênio Mendes, nossa, muito obrigado por tudo, atenção, investimento e dedicação nos finais de semana e na semana também.

À Elane Clayce, Fabrínio Patriolino e Renata Silva, por todo o apoio, pois não foi fácil tanta ausência, mas sei que pude confiar e acreditar em vocês e deu certo, concluí.

À Lucas Lourenço pelo enorme apoio e ajuda prestada durante o processo de pesquisa, leitura de resultados, discussão na hora de dizer o que estava “melhor” e “não tão bom” e, por aceitar o desafio do projeto inovar para a sua bolsa PIBIT/CNPq. Assim como a Bruno Patrício, pela disponibilidade para ajudar e cooperar com outros projetos paralelos.

Aos amigos que adquiri na Pós-Graduação: Afra Nascimento, Rafael Zambelli (esse é mais antigo, mas você sabe o quanto sou grato), Luan Ícaro, Edilberto Cordeiro, Aírís Machado (querida amiga e companheira), Natália Duarte, Darmia Lemos, Elaine Cristina,

Elaine Almeida, Lívia Brasil, Áfia Almeida (mulher guerreira, estamos juntos), Sanyelle Lima, Ana Paula, turma boa demais.

Aos amigos inesquecíveis da Graduação, 2005.2 (10 anos): Elizabeth Firmiano, Regivânia Gomes, Valmisa Lima, Gabriela Pinheiro (em especial aos “Chagadinhos da Val”), Joseline Martins, Fábica Costa, Márcia Aragão, Karla Idelça, Liane Lemos, Nayara Ribeiro, Robson Ely, Raquel Gonçalves, Luciana Emanuela, Martina Dandara, Rafael Farias, Olinda Mota, Thayla Martins, dentre muitos outros, vocês são especiais para mim.

Aos amigos da minha vida que sempre me apoiaram, nos momentos mais difíceis e, entenderam todos os momentos que não pude estar presente, representados aqui por Alan Frota e Marcelo Melo, muitíssimo obrigado. Aos amigos que me ajudaram de uma forma ou de outra nesse projeto: Júnior Ramos e Christian Queiroz e a todos aqueles que sempre tentaram e conseguiram me tirar do computador pra “desopilar”, obrigadíssimo.

Aos meus eternos amigos da minha vida, que infelizmente já não se encontram entre nós, apenas um enorme agradecimento especial: Mônica K. Freire e Rafael Ramalho, pois sei que eles estão muito bem onde quer que estejam. Vocês são minhas fontes de inspiração quando quero definir o significado da frase “viver e não ter a vergonha de ser feliz...” (Gonzaguinha).

A todos que direta ou indiretamente tornaram esse momento possível. Obrigado!

*“Viver e não ter a vergonha de ser feliz (...)”
(Gonzaguinha).*

RESUMO

Os filmes à base de hidrocóloides e lipídios apesar de serem consideradas inovações tecnológicas, vêm sendo estudados desde meados dos anos 90 como substitutos em potencial dos polímeros sintéticos. Este trabalho objetivou desenvolver filmes compostos em monocamada (Ms) e bicamadas (Bs), com incorporação de éster de monoglicerídeo de ácido acético (MGA) em diferentes concentrações e, óleo essencial de alecrim-pimenta, *Lippia sidoides*, para aplicabilidade em alimentos com alto teor de umidade. Em experimento prévio, determinou-se o percentual de 40% (m/m) de plastificante (D (-) sorbitol) para formação de filme composto (amido+lipídio). Com base neste filme, elaborou-se um delineamento experimental, utilizando-se plastificante e, diferentes concentrações de MGA (0 a 20%, m/m). Os filmes foram desenvolvidos através de *casting*, com espessura de 0,8 mm e secos à temperatura ambiente ($25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) entre 12-15 horas. Foram realizados teste de difusão em água; propriedades físicas (cor, opacidade, espessura, umidade e solubilidade); morfológica (tamanho médio, polidispersividade – PDI, potencial zeta, microscopia eletrônica de varredura – MEV, e espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier – FT-IR); barreira (permeabilidade ao vapor de água – PVA); ensaios mecânicos (resistência à tração – RT, alongação de ruptura – ER – e módulo de elástico – ME); termoanalítica (calorimetria diferencial de varredura – DSC). Acredita-se que os filmes tenham apresentado ação bacteriostática nos micro-organismos estudados (*S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. Typhimurium*). A cor apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) entre os filmes mono e bicamadas. A opacidade, apresentou variações de 214,74 a 323,12 A.nm (Ms) e, 161,69 a 411,54 A.nm (Bs), exceto para os tratamentos com 10% e 15% de lipídio que não variaram estatisticamente ($p < 0,05$) entre Ms e Bs. A espessura resultou em uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos, variando 12% (Ms) e 48% (Bs). Os filmes apresentaram baixa solubilidade em meio aquoso, sem que houvesse a separação das camadas. Os filmes Bs apresentaram estabilidade das soluções filmogênicas, associado a interações eletrocinéticas de interação entre as camadas, baixa solubilidade (16%), resistência térmica, PDI entre 0,35-0,53; PVA em torno de 2,232 g.mm/kPa.h.m², cujos ensaios mecânicos demonstraram que os filmes Bs são rígidos e com baixa elasticidade em relação aos filmes Ms, evidenciando perspectiva de desenvolvimento de uma embalagem não flexível, com potencial de aplicação em alimentos com alto teor de umidade.

Palavras-chave: biopolímero, tecnologia de alimentos, alimentos-conservação.

ABSTRACT

Hydrocolloid and lipid-based films although they are considered technological innovations, have been studied since the mid-90s as potential replacements for synthetic polymers. This study aimed to develop composite films monolayer (Ms) and bilayers (Bs), with incorporation of acetic acid ester of monoglyceride (MGA) in different concentrations and rosemary essential oil peppermint, *Lippia sidoides*, for applicability in foods with high moisture content. In a previous experiment, it was determined the percentage of 40% (w / w) of plasticizer (D (-) sorbitol) for composite film formation (starch + lipid). Based on this film, it was prepared an experimental design, using plasticizer and various concentrations of AMS (0 to 20% w / w). The films were developed through casting with a thickness of 0.8 mm and dried at room temperature ($25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) 12-15 hours. Diffusion tests were performed on agar; physical properties (color, opacity, thickness, moisture and solubility); morphological (medium size, polydispersity – PdI – zeta potential, scanning electron microscopy - SEM, infrared spectroscopy and Fourier transform - IS-FT); barrier (permeability to water vapor - PWV); mechanical tests (tensile strength - TS, rupture elongation - RE - and elastic modulus - EM); termoanalítica (differential scanning calorimetry - DSC). It's believed that the films have shown a bacteriostatic studied in microorganisms (*S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa* and *S. Typhimurium*). Color analysis showed statistical significance ($p < 0.05$) between mono and bilayer films. The opacity, showed variations from 214.74 to 323.12 A.nm (Ms) and 161.69 to 411.54 A.nm (Bs), except for the treatments with 10% and 15% lipid that doesn't varied statistically ($p < 0.05$) between Ms and Bs. The thicknesses resulted in asignificant difference ($p < 0.05$) between treatments, ranging from 12% (Ms) and 48% (Bs). The films showed low solubility in aqueous media, with no separation of the layers. The Bs films presented stability of filmogenic solutions, combined with electrokinetic interactions of interaction between the layers, low solubility (16%), heat resistance, PdI between 0.35 to 0.53; PVA around 2.232 g.mm/kPa.h.m², whose mechanical tests demonstrated tha the Bs films are hard and low elasticity with respect to Ms films, development perspective of a non-flexible packaging with excellent application in food with high moisture content, animal and / or plant origin.

Keywords: Biopolymer. Food technology. Food-conservation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Estrutura química da molécula de amilose unida pela ligação $\alpha(1-4)$	32
Figura 2 -	Estrutura química da molécula de amilopectina unida pelas ligações $\alpha(1-4)$ e $\alpha(1-6)$	32
Figura 3 -	Estrutura helicoidal da gelatina, após ser aquecida acima de 70 °C	35
Figura 4 -	Estrutura química da cadeia de gelatina	36
Figura 5 -	Curva para determinação da temperatura de transição vítrea	54
Figura 6 -	Apresentação de uma curva DSC com a caracterização da T_g , T_c e T_m	55
Figura 7 -	Curvas típicas tensão <i>versus</i> deformação, obtidas em ensaios de tração para diversos tipos de polímeros classificados de acordo com sua rigidez e tenacidade	57
Figura 8 -	Curva característica da relação resistência à tração <i>versus</i> deformação	58
Figura 9 -	Esquema de diluição fracionada do óleo essencial em álcool etílico absoluto 99,8%	63
Figura 10 -	Disposição das camadas sob a superfície da placa de vidro + a película Mylar, onde (a) representa a camada apenas de gelatina + ácido ascórbico; (b) monocamada de amido sem incorporação de lipídio e (c) a bicamada (sobreposição de camadas), gelatina e amido, sem incorporação de lipídio....	66
Figura 11 -	Células de permeação com filmes de gelatina (MG), amido sem lipídio (MFsL), bicamada sem lipídio (BsL) e bicamada com 5% de lipídio (B5L), respectivamente no sentido da esquerda para a direita	70
Figura	Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim-pimenta nos	

- 12 - filmes biopoliméricos, para os seguintes micro-organismos: (A) *Staphylococcus aureus* (ATCC® 25923); (B) *Salmonella* Typhimurium (ATCC® 51812); (C) *Escherichia coli* (ATCC® 10536); (D) *Pseudomona aeruginosa* (ATCC® 9027); e, (E) *Listeria monocytogenes* (ATCC® 7644)..... 76
- Figura** Amostras de filmes, onde: (A) filme monocamada de gelatina; (B) filme monocamada de amido sem éster de monoglicerídeo de ácido acético; (C) filme bicamada de gelatina e amido, sem a adição de éster de monoglicerídeo de ácido acético; (D) filme bicamada, gelatina e amido, com adição de éster de monoglicerídeo de ácido acético (10% m/m) 81
- 13 -
- Figura** Valores de absorbância dos filmes monocamada e bicamada, com diferentes concentrações de éster de monoglicerídeo de ácido acético e, filme de gelatina em diferentes comprimentos de onda (400 a 800 nm) 82
- 14 -
- Figura** Variação da opacidade dos filmes monocamada e bicamadas de acordo com o aumento gradativo de éster de monoglicerídeo de ácido acético nas formulações 84
- 15 -
- Figura** Variação da espessura dos filmes monocamada e bicamadas de acordo com o aumento gradativo de éster de monoglicerídeo de ácido acético nas formulações 87
- 16 -
- Figura** Micrografia eletrônica de varredura da superfície dos filmes: (A) MG (monocamada de gelatina com ácido ascórbico); (B) MFsL (monocamada de fécula com solução de óleo essencial e plastificante); (C) MF10L (monocamada de fécula com solução de óleo essencial, plastificante e 10% (m/m) de éster de monoglicerídeo de ácido acético) 93
- 17 -
- Figura** Micrografia eletrônica de varredura da superfície dos filmes: (A) superfície da bicamada sem éster de monoglicerídeo de ácido acético; (B) corte transversal da bicamada (A), onde (1) camada proteica e (2) camada composta; (C) superfície da bicamada com 10% (m/m) de éster de monoglicerídeo de ácido acético; (D) corte
- 18 -

transversal da bicamada (C), onde (1) camada proteica e (2) camada composta

.....

94

Figura 19 - Espectro FT-IR dos filmes monocamadas: (a) filme monocamada de gelatina com ácido ascórbico (MG); (b) filme monocamada de fécula com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta, sem éster de monoglicerídeo de ácido acético (MFsL); (c) filme monocamada de fécula com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta e 5% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (MF5L); (d) filme monocamada de fécula com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta e 10% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (MF10L); (e) filme monocamada de fécula com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta e 15% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (MF15L)

.....

96

Figura 20 - Espectro FT-IR dos filmes bicamadas (parte lisa): (a) filme bicamada sem éster de monoglicerídeo de ácido acético (BsL); (b) filme bicamada com 5% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B5L); (c) filme bicamada com 10% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B10L); (d) filme bicamada com 15% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B15L); (e) filme bicamada com 20% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B20L)

.....

98

Figura 21 - Espectro FT-IR dos filmes bicamadas (parte rugosa): (a) filme bicamada sem éster de monoglicerídeo de ácido acético (BsL); (b) filme bicamada com 5% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B5L); (c) filme bicamada com 10% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B10L); (d) filme bicamada com 15% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B15L); (e) filme bicamada com 20% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B20L)

.....

100

Figura 22 - Imagem de um pequeno furo no filme monocamada de amido com 10,0% de lipídio

103

Figura Termograma de DSC dos filmes monocamadas: (a) filme monocamada de gelatina com ácido ascórbico (MG); (b) filme monocamada de fécula com solução

- 23 -** de óleo essencial de alecrim-pimenta, sem éster de monoglicerídeo de ácido acético (MFsL); (c) filme monocamada de fécula com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta e 5% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (MF5L); (d) filme monocamada de fécula com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta e 10% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (MF10L); (e) filme monocamada de fécula com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta e 15% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (MF15L)

110

- Figura** Termogramas de DSC dos filmes bicamadas: (a) filme bicamada sem éster de monoglicerídeo de ácido acético (BsL); (b) filme bicamada com 5% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B5L); (c) filme bicamada com 10% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B10L); (d) filme bicamada com 15% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B15L); (e) filme bicamada com 20% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B20L)

114

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Propriedades mecânicas e de permeabilidade ao vapor de água dos filmes de polissacarídeos	30
Tabela 2 -	Composição típica, em percentagem, de amidos mais encontrados comercialmente	31
Tabela 3 -	Faixas de temperaturas de gelatinização do amido	33
Tabela 4 -	Delineamento fatorial completo 2 ² para elaboração do filme em bicamada, em relação à base seca (m/m).....	62
Tabela 5 -	Delineamento Experimental de elaboração dos filmes monocamadas e bicamadas	65
Tabela 6 -	Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial do alecrim-pimenta contra cinco estirpes bacterianas. Os valores foram expressos em milímetros (mm)	74
Tabela 7 -	Colorimetria dos filmes monocamada de fécula (MF) e bicamada (B) com diferentes concentrações de lipídio (éster de monoglicerídeo de ácido acético) e óleo essencial de alecrim-pimenta e, filme de gelatina ...	79
Tabela 8 -	Opacidade dos filmes monocamada (MF) e bicamadas (B) com óleo essencial de alecrim-pimenta, em diferentes concentrações de éster de monoglicerídeo de ácido acético e, filme monocamada de gelatina, avaliados sob comprimentos de ondas de 400 a 800 nm	83
Tabela 9 -	Espessura (mm) dos filmes monocamada e bicamadas, com diferentes concentrações de lipídio (éster de monoglicerídeo de ácido acético)e solução de óleo essencial de alecrim-pimenta, incluindo o filme monocamada de gelatina	86
Tabela 10 -	Umidade (%) dos filmes monocamadae bicamadas, com diferentes concentrações de lipídio (éster de monoglicerídeo de ácido acético)e solução de óleo essencial de alecrim-pimenta, incluindo o filme monocamada de gelatina	88
Tabela 11 -	Solubilidade dos filmes compostos monocamadas de amido com variações na concentração de lipídio, incluindo o filme de gelatina	89
Tabela 12 -	Tamanho médio, polidispersão (PDI) e potencial zeta (ζ) das soluções filmogênicas de gelatina (MG), fécula de batata sem lipídio (MFsL) e	

	com 10% de lipídio (MF10L)	90
Tabela 13 -	PVA dos filmes, monocamadas e bicamadas, de amido com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta com variações na concentração de éster de monoglicerídeo de ácido acético, incluindo o filme monocamada de gelatina.....	102
Tabela 14 -	Resistência à tração (RT), alongação na ruptura (ER) e módulo de elasticidade (ME) dos filmes, monocamada e bicamadas, de fécula de batata, com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta, sob diferentes concentrações de éster de monoglicerídeo de ácido acético e, o filme monocamada de gelatina	106
Tabela 15 -	T_g , T_c , T_m e T_{dec} dos filmes monocamadas de fécula de batata com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta e diferentes concentrações de éster de monoglicerídeo de ácido acético e, filme monocamada de gelatina.....	111
Tabela 16 -	T_g , T_c , T_m e T_{dec} dos filmes bicamadas de fécula de batata com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta e diferentes concentrações de éster de monoglicerídeo de ácido acético	113

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASTM	American Society for Testing and Materials
ATCC	American type culture collection
BOD	Estufa incubada para demanda bioquímica de oxigênio
CAP	Embalagem com atmosfera controlada
CIM	Concentração inibitória mínima
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DTA	Doença transmitida por alimento
EPS	Poli(etileno expandido)
EVOH	Copolímero de etileno vinil álcool
FT-IR	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier
MAP	Embalagem com atmosfera modificada
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
OTR	Oxygen transmission rate
PA	Poli(amida)
PE	Poli(etileno)
PET	Poli(etileno tereftalato)
PP	Poli(propileno)
PTCFE	Poli(clorotrifluoroetileno)
PTFE	Poli(tetrafluoro etileno)
PVA	Permeabilidade ao vapor de água
PVC	Poli(cloreto de vinila)
PVdC	Poli(cloreto de vinilideno)
RDC	Resolução da diretoria colegiada
TPO	Taxa de transmissão de oxigênio
TPVA	Taxa de transmissão de vapor de água
UR	Umidade relative
WVTR	Water vapor transmission rate

LISTA DE SÍMBOLOS

©	Copyright
®	Marca Registrada
™	Marca do produto
ΔP	Diferença de pressão de vapor
T_g	Temperatura de transição vítrea
T_c	Temperatura de cristalização
T_m	Temperatura de fusão ou “melting”
C_p	Calor específico
ΔC_p	Variação de calor específico
Δl	Variação do comprimento
l	Comprimento final da região útil
l_o	Comprimento inicial da região útil
ε	Estiramento
A	Área do corte transversal
M_i	Massa inicial
M_f	Massa final
M_{si}	Massa seca inicial
M_{sf}	Massa seca final
g	Ganho de peso do filme
t	Tempo total em horas
A	Área de permeação
e	Espessura média
g/t	Regressão linear
ζ	Potencial zeta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	26
2	OBJETIVOS	28
2.1	Geral	28
2.2	Específicos	28
3	REVISÃO DE LITERATURA	29
3.1	Matrizes biopoliméricas para elaboração de filmes	29
3.1.1	<i>Polissacarídeos</i>	29
3.1.1.1	<i>Amido e fécula</i>	30
3.1.1.2	<i>Gelatinização e retrogradação do amido</i>	33
3.1.2	<i>Proteínas</i>	34
3.1.2.1	<i>Gelatina</i>	34
3.1.3	<i>Lipídios</i>	37
3.1.3.1	<i>Monoglicerídeos acetilados</i>	37
3.2	Embalagem ativa	39
3.2.1	<i>Embalagens comestíveis para alimentos</i>	40
3.3	Embalagens e suas interações com os alimentos	43
3.4	Plastificantes	45
3.5	Antimicrobianos e antioxidantes para filmes	46
3.5.1	<i>Óleos essenciais</i>	48
3.6	Propriedades dos filmes	50
3.6.1	<i>Propriedades óticas</i>	50
3.6.2	<i>Espessura</i>	51
3.6.3	<i>Propriedade de barreira: permeabilidade ao vapor de água (PVA).....</i>	51
3.7	Análises termoanalíticas	53
3.7.1	<i>Calorimetria explanatória diferencial (DSC)</i>	54
3.8	Propriedades mecânicas	56
4	MATERIAIS E MÉTODOS	61
4.1	Materiais	61
4.2	Testes preliminares	61
4.3	Avaliação da ação do antimicrobiano natural	62
4.3.1	<i>Teste de difusão em ágar</i>	62

4.3.1.1	<i>Preparo do meio de cultura e diluições do óleo essencial</i>	62
4.3.1.2	<i>Micro-organismos</i>	63
4.3.1.3	<i>Preparo das placas para o teste “in vitro”</i>	64
4.3.2	<i>Teste do antimicrobiano no filme (Teste de difusão em ágar)</i>	64
4.4	Delineamento Experimental	64
4.5	Preparo das soluções filmogênicas	65
4.6	Obtenções das camadas dos filmes	66
4.7	Propriedades físicas	67
4.7.1	<i>Cor</i>	67
4.7.2	<i>Opacidade</i>	67
4.7.3	<i>Espessura</i>	67
4.7.4	<i>Umidade</i>	68
4.7.5	<i>Solubilidade</i>	68
4.8	Morfologia dos filmes	69
4.8.1	<i>Determinação do tamanho médio e polidispersividade das partículas</i> ..	69
4.8.2	<i>Análise por potencial zeta (ζ)</i>	69
4.8.3	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	69
4.8.4	<i>Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)</i>	70
4.9	Propriedade de barreira	70
4.9.1	<i>Permeabilidade ao vapor de água (PVA)</i>	70
4.10	Propriedades mecânicas	71
4.11	Propriedade termoanalítica	72
4.11.1	<i>Calorimetria explanatória diferencial (DSC)</i>	72
4.12	Análise estatística	73
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	74
5.1	Análise da ação do antimicrobiano natural	74
5.1.1	<i>Teste de Difusão em ágar in vitro</i>	74
5.1.2	<i>Teste de Difusão em ágar do antimicrobiano no filme</i>	75
5.2	Propriedades físicas dos filmes	77
5.2.1	<i>Cor</i>	77
5.2.2	<i>Opacidade</i>	80
5.2.3	<i>Espessura</i>	84

5.2.4	<i>Umidade</i>	86
5.2.5	<i>Solubilidade</i>	88
5.3	Morfologias dos filmes	90
5.3.1	<i>Tamanho médio, polidispersividade e potencial zeta (ζ)</i>	90
5.3.2	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	92
5.3.3	<i>Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)</i>	95
5.4	Propriedade de barreira	101
5.4.1	<i>Permeabilidade ao vapor de água (P.V.A.)</i>	101
5.5	Propriedades mecânicas	105
5.6	Propriedade termoanalítica	109
5.6.1	<i>Calorimetria exploratória diferencial (DSC)</i>	109
6	CONCLUSÃO	116
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	118
	APÊNDICE A – RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DO TESTE <i>IN VITRO</i> DE FORMAÇÃO DE HALO DE INIBIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM-PIMENTA, NOS SEGUINTE MICRORGANISMOS: (A) <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> (ATCC 25923); (B) <i>SALMONELLA TYPHIMURIUM</i> (ATCC 51812); (C) <i>ESCHERICHIA COLI</i> (ATCC 10536); (D) <i>PSEUDOMONA AERUGINOSA</i> (ATCC 9027); E, (E) <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> (ATCC 7644)	138

1 INTRODUÇÃO

Os alimentos são sistemas ativos sob os aspectos químico, físico e biológico e sua qualidade é um estado dinâmico, cujos níveis estão continuamente se reduzindo dentro do processo de deterioração. O entendimento dos mecanismos das alterações que ocorrem nos alimentos é essencial para se escolher e aperfeiçoar métodos de conservação a serem utilizados em determinado produto, a fim de controlar, efetivamente, as alterações responsáveis por sua perda de qualidade (AZEREDO, 2012).

Na indústria de alimentos, a qualidade da matéria-prima pode ser mantida por longos períodos em embalagens capazes de retardar a deterioração microbiológica, a perda de umidade e a oxidação (enzimática ou lipídica) que, em associação ou individualmente, causam mudanças sensoriais e de qualidade (CONTRERAS CASTILLO, 2006; CARDOSO et al., 2010).

A embalagem é um importante fator que influencia a qualidade e a durabilidade dos alimentos, pois altera o ambiente ao redor do produto, criando condições que retardam ou inibem as reações de deterioração (SARANTÓPOULOS; ANTÔNIO, 2006; FELLOWS, 2006) de origem química ou biológica.

Materiais plásticos derivados do petróleo ainda são amplamente utilizados por apresentar boas propriedades de barreira e resistência mecânica, baixo custo e fácil processabilidade. Por outro lado, são muito estáveis e não se degradam facilmente, podendo demorar de 200 a 450 anos, no caso do polietileno (GRIPPI, 2015), ocasionando sérios problemas ambientais (AVELLA et al., 2005) reafirmado por Sothornvit et al. (2010) que consideram os problemas ambientais aforça motriz para o desenvolvimento de substitutos para os plásticos sintéticos.

O uso de biomateriais nas embalagens pode ser explicado tanto por aspectos ambientais e exigências dos consumidores, quanto pela necessidade de usar fontes alternativas que forneçam: valor agregado ao produto, proteção ao alimento durante a armazenagem e o transporte, evitando ressecamento na superfície dos produtos, deterioração, perda da aparência, sabor e valor nutricional do alimento (EMBUSCADO; HUBER, 2009), suprimindo a crescente demanda de materiais com caráter renovável e sustentável (GINDL et al., 2006).

Pesquisas ao longo das últimas décadas vêm com o propósito de alcançar e melhorar as embalagens de alimentos, buscando desenvolver vários tipos de filmes e revestimentos biopoliméricos, utilizando as mais diversas matérias-primas: polissacarídeos (alginate de sódio, pectina, carragenana, amido, dextrinas, derivados da celulose, quitina,

quitosana); proteínas de origem vegetal (zeína do milho) e animal (colágeno, gelatina, caseína); e lipídios (éster de monoglicerídeo/monoglicerídeo acetilado, ceras, surfactantes) (MAIA; PORTE; SOUZA, 2000; BOURTOOM, 2008), como alternativas de substituição aos polímeros sintéticos (BATISTA, 2004) através de vários usos de técnicas como blendas de polímeros, filmes compostos e multicamadas (bicamadas ou laminadas).

Para muitas aplicações em alimentos, a característica funcional mais importante do filme ou revestimento é a resistência à umidade (KESTER; FENNEMA, 1989). Filmes de polissacarídeos e proteínas como o amido e gelatina, respectivamente, têm sido estudados para seu uso potencial, mas devido suas naturezas hidrofílicas, espera-se uma baixa propriedade de barreira contra umidade. Já os filmes com incorporação de lipídios, como o éster de monoglicerídeo de ácido acético, apresentam como principal atuação, bloquear o transporte de umidade, apresentando baixos valores de permeabilidade ao vapor de água, quando comparado aos polissacarídeos (LOVEGREN; FEUGE, 1954), tendo em vista que quando entra em contato direto com a superfície do alimento, este é absorvido, neutralizando seu poder vedante e, promovendo modificações no sabor do produto.

Uma das maneiras de contornar as características hidrofílicas do filme e a neutralização da ação hidrofóbica do lipídio seria a elaboração de filmes em bicamadas (KESTER; FENNEMA, 1989). A associação das camadas ocorreria de forma que a primeira camada hidrofílica preencheria todos os espaços da superfície do alimento e, a outra hidrofóbica reduziria a transmissão de umidade (GREENER; FENNEMA, 1989). Tendo em vista que filmes lipídicos não são considerados biopolímeros (CUQ; GONTARD; GUILBERT, 1995; GENNADIOS; HANA; KURTH, 1997; HAN, 2005; ACEVEDO et al., 2010), sem que haja uma combinação com uma matriz biopolimérica (proteína e polissacarídeo), dessa forma, faz-se necessária a elaboração de um filme composto.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Desenvolver filmesbiopoliméricos composto, mono e bicamadas,com aplicabilidade em alimentos com alto teor de umidade, caracterizando-osquanto ao potencial antimicrobiano, resistência mecânica e conformação estrutural.

2.2 Específicos

- ✓ Elaborar filmes compostos, mono e bicamadas,com diferentes concentrações de éster de monoglicerídeo de ácido acético;
- ✓ Caracterizar os filmes desenvolvidos quanto à sua resistência mecânica, morfologia, resistência térmica, potencial de solubilidade, colorimetria e permeabilidade ao vapor de água;
- ✓ Verificar a ação antimicrobiana do filme contendo óleo essencial de alecrim-pimenta, por meio do método de difusão em ágar.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Matrizes biopoliméricas para elaboração de filmes

As matrizes biopoliméricas têm apresentado grande interesse para os pesquisadores, devido as suas diferentes características de aplicações em alimentos, por exemplo, permeabilidade ao vapor de água e gases, teor de solubilidade e etc., as quais podem ser utilizadas para caracterizar os filmes. A aplicação determina o tipo de matriz a ser utilizada: polissacarídeos e proteínas, os lipídios como melhoradores das características hidrofóbicas.

3.1.1 Polissacarídeos

Os polissacarídeos são carboidratos poliidroxialdeídos ou poliidroxicetonas ou substâncias que liberam esses compostos por hidrólise. Compreendem as biomoléculas mais abundantes na face da Terra. Certos carboidratos como açúcar comum e amido, por exemplo, são a base da nutrição humana, sendo a oxidação dos carboidratos a principal via metabólica liberadora de energia (NELSON; COX, 2002).

Existem, segundo o seu tamanho estrutural, três classes principais de carboidratos: monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos. Primeira, os monossacarídeos consistem de uma única unidade de poliidroxialdeído ou poliidroxicetona, cujo maior representante em abundância é a D-glucose. Segunda, os oligossacarídeos consistem de cadeias curtas de unidades monossacarídicas unidas entre si por ligações glicosídicas características. Típica desta classe é a sacarose, a qual consiste de dois açúcares: D-glucose e D-frutose, cada um com seis átomos de carbono unidos, covalentemente, entre si. Por último, os polissacarídeos consistem de longas cadeias contendo centenas ou milhares de unidades monossacarídicas, por exemplo, tem-se o amido e a celulose, que diferem entre si no tipo de ligação glicosídica (NELSON; COX, 2002).

Os filmes a base de polissacarídeos incluem: celulose, derivados de amido, derivados de pectina, gomas e quitosana (KROCHTA; MULDER-JOHNSON, 1997). Estes são, geralmente, muito hidrofílicos, resultando em propriedades pobres de barreira para vapor de água e gases (KESTER; FENNEMA, 1989), mas as propriedades mecânicas são destaque quando comparadas apolímeros sintéticos (Tabela 1).

Tabela 1 – Propriedades mecânicas e de permeabilidade ao vapor de água de filmes de polissacarídeos.

Filmes	Tensão na ruptura (MPa)	Elongação (%)	Permeabilidade ao vapor de água (g.mm/m ² .h.kPa)	Umidade (%)
Metilcelulose	38,61	4,37	0,294	2,94
Glucomanana	58,45	5,56	0,204	6,51
Pectina	51,05	2,61	0,282	10,53
Polietileno de baixa densidade	13-28*	100-965*	0,003	22-84

*Dados extraídos de Park et al. (1993).

FONTE: MAMANI (2009)

Para Donhowe; Fennema (1993), Péroval et al. (2002), Phan et al. (2002) e Guilbert, Biquet (1996), filmes obtidos a partir de polissacarídeos como metilcelulose, arabinoxilanos, celofane e hidropilmetilcelulose (HPMC) sem agentes plastificantes, apresentaram valores elevados quanto a permeabilidade ao vapor de água, quando comparados aos filmes de polietileno de alta e baixa densidade

3.1.1.1 Amido e fécula

Para a legislação brasileira, denomina-se amido a fração amilácea encontrada em órgãos aéreos como sementes, grãos e frutas; e, fécula, a fração amilácea em órgãos subterrâneos como tubérculos, raízes e rizomas (BRASIL, 1978), mas não há diferença na composição química entre amido e fécula, apenas na origem do produto, nas propriedades funcionais e tecnológicas (VEIGA; VILPOUX; CEREDA, 1994).

O amido consiste na reserva energética mais importante em plantas superiores, cujas formas dos grânulos e tamanhos dependem de sua fonte botânica, variando de 0,5µm a 175µm (SINGH et al., 2003; PEREIRA, 2007).

O amido é a matéria-prima que existe em grande quantidade, com baixo custo e de fácil manuseio, apresentando-se como uma alternativa na preparação de revestimentos comestíveis, com a vantagem de ser fonte renovável (SANTOS et al., 2005; PEREIRA, 2007).

A Tabela 2 apresenta uma análise geral dos amidos mais comuns, correlacionando fonte de amido, percentuais de amilose e amilopectina e conteúdo de umidade. A amilose e a amilopectina são os dois componentes macromoleculares dos grãos de amido representados pela fórmula geral $(C_6H_{10}O_5)_x(H_2O)$ (VANDEPUTTE et al., 2003).

Tabela 2 - Composição típica, em percentagem, de amidos mais encontrados comercialmente.

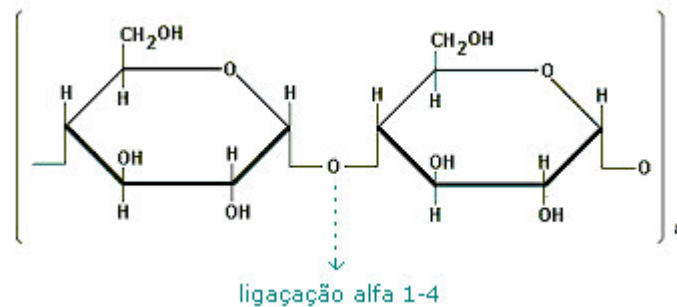
Fonte	Umidade (%)	Amilose (%)	Amilopectina (%)
Milho	13	23,23	62,80
Batata	19	16,96	63,80
Trigo	14	22,88	61,87
Tapioca	13	12,10	74,30

FONTE: DZIEDZIC; KEARSLEY (1995).

O amido é utilizado tecnologicamente na indústria alimentícia, cosmética, farmacêutica e, recentemente, no desenvolvimento de biomateriais, devido às suas propriedades físico-químicas e funcionais exclusivas. Pode ser utilizado na forma natural ou por intermédio de processamentos adicionais, originando produtos como os amidos modificados, xaropes de glicose, maltose ou frutose e maltodextrinas, dentre outros. Na área de biomateriais, é empregado na obtenção de filmes de extrusão de diversas aplicações (MONTERREY-QUINTERO; SOBRAL, 1999; ROCHA; DEMIATE; FRANCO, 2008).

Apresentado em grânulos, o amido possui formas e dimensões que variam de acordo com sua origem (GUILBOT; MERCIER, 1985). Estruturalmente, este é constituído, basicamente, por duas moléculas quimicamente distinguíveis: a amilose (Figura 1) e a amilopectina (Figura 2), que se diferem quanto ao tamanho molecular e grau de ramificação (MIZUKAMI; TAKEDA; HIZUKURI, 1999).

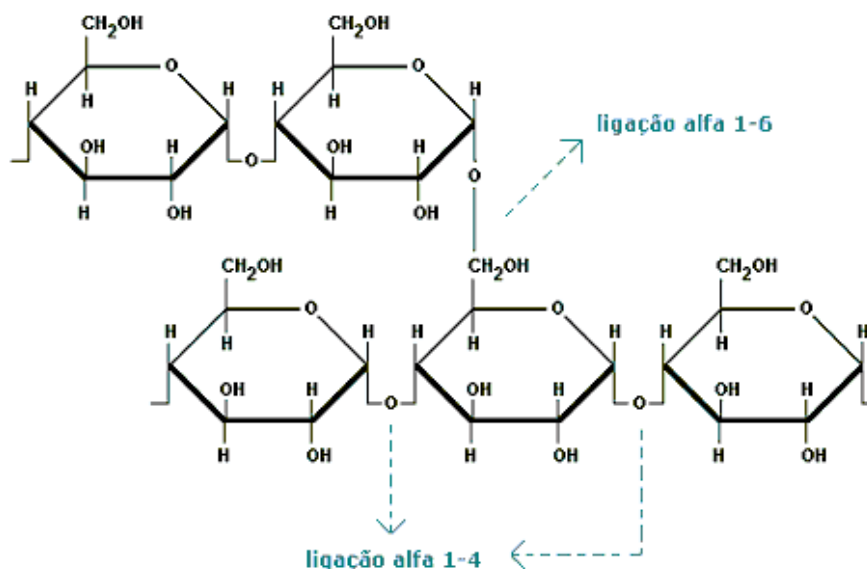
Figura 1 - Estrutura química da molécula de amilose unida pela ligação $\alpha(1-4)$.



FONTE: BOBBIO;BOBBIO (1985).

A amilose é uma macromolécula formada por unidade de glicose na forma cíclica α -D-glicopiranosídica, em conformação do tipo “cadeia”, mais estável, unida por ligações glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$ (Figura 1). As cadeias de amilose apresentam tamanho de 10^3 unidades de glicose, na forma de cadeias lineares, com massa molar entre 10^1 - 10^2 Kg/mol (CORRADINI et al., 2005). É instável em soluções aquosas diluídas, formando um retículo através da propriedade de retrogradação (BILIADERIS, 1991), apresentando propriedades de absorção até 25 vezes o seu peso em água (FRANCO et al., 2001).

Figura 2 - Estrutura química da molécula de amilopectina unida pelas ligações $\alpha(1-4)$ e $\alpha(1-6)$.



FONTE: BOBBIO;BOBBIO, 1985.

A amilopectina é uma macromolécula ramificada, sendo formada por um esqueleto linear de α -D-glicopiranoses unidas por ligações $\alpha(1\rightarrow4)$ e ramificações da ordem

de 5% a 6% do peso molecular (Figura 2). Composta por cadeias curtas unidas ao esqueleto linear por ligações $\alpha(1\rightarrow6)$, ocorrem entre cada 24 e 30 moléculas de glicose (BILLIADERIS, 1991; NELSON; COX, 2002). A cadeia de amilopectina possui estrutura ramificada, com massa molar entre 10^4 - 10^6 Kg/mol (CORRADINI, 2005), sendo mais compacta que a de amilose, acarretando menor facilidade de penetração de água e enzimas, sendo, portanto, mais resistente ao processo de hidrólise (MOTA, 2009).

3.1.1.2 Gelatinização e retrogradação do amido

Segundo Thomas e Atwell (1999), quando o amido é aquecido na presença de água, a estrutura do grânulo se torna menos ordenada internamente sob diferentes formas, dependendo da temperatura empregada, o grânulo intumescce até que sua estrutura finalmente se desintegre e, a amilose e a amilopectina sejam liberadas na suspensão aquosa, podendo o conteúdo desse polissacarídeo afetar a arquitetura do grânulo de amido, as propriedades de pasta e a gelificação, os atributos texturais, além da sua aplicação em alimentos industrializados.

Esse aquecimento dos grânulos de amido rompe as ligações de hidrogênio presentes nas áreas amorfas, permitindo o intumescimento do grânulo. Nessa condição, a expansão dos grânulos, torna-se irreversível e a ordem estrutural desaparece, podendo ser caracterizada por uma endoterma e pelo desaparecimento da cristalinidade (GARCIA et al., 1997). Caso os grânulos continuem a se expandir, a amilose é lixiviada para a fase aquosa entre os grânulos, iniciando a gelatinização (BILIADERIS, 1991). A Tabela 3 mostra as faixas de temperatura as quais se iniciam a gelatinização do amido.

Tabela 3 - Faixas de temperaturas de gelatinização do amido.

AMIDO	TEMPERATURA (°C)
Milho	61-72
Batata	62-68
Batata doce	82-83
Mandioca	59-70
Trigo	53-64
Arroz	65-73

FONTE: FENNEMA, 1985.

Com o resfriamento da pasta, a energia cinética diminui, permitindo que as moléculas se associem novamente, à formação de uma estrutura organizada (MOTA, 2009), onde as moléculas de amilose se orientam paralelamente até formarem pontes de hidrogênio entre hidroxilas de polímeros adjacentes, denominando-se retrogradação. Com isso ocorre a diminuição do volume e da afinidade do polímero pela água, podendo formar filmes estáveis e flexíveis (WURZBURG, 1986; BOBBIO; BOBBIO, 1995).

3.1.2 Proteínas

As proteínas compreendem interessantes biomateriais por possuírem uma estrutura específica composta de vinte diferentes aminoácidos que conferem amplas propriedades funcionais e formadoras de filmes (CUQ; GONTARD; GUILBERT, 1995). Filmes protéicos apresentam-se como excelentes barreiras de trocas gasosas e baixa umidade relativa (GONTARD et al., 1996; WOLF, 2007).

Segundo Hernández-Muñoz, Villalobos e Chiralt (2004), pesquisas com proteínas obtidas de fontes renováveis para a produção de revestimentos de alimentos têm se intensificado nas últimas décadas. Uma das características das proteínas é a habilidade de formar uma matriz contínua. Por esta razão, muitas proteínas de origem animal e vegetal, estão sendo amplamente utilizadas na tecnologia de produção de filmes comestíveis (GENNADIOS et al., 1994; TORRES, 1994; VANIN et al., 2005).

Dentre as principais limitações existentes no uso de proteínas para a produção de filmes, preponderam a baixa resistência mecânica e a baixa permeabilidade à passagem de vapor de água, quando comparados aos filmes de polímeros sintéticos (LIEBERMAN; GILBERT, 1973; WOLF, 2007).

3.1.2.1 Gelatina

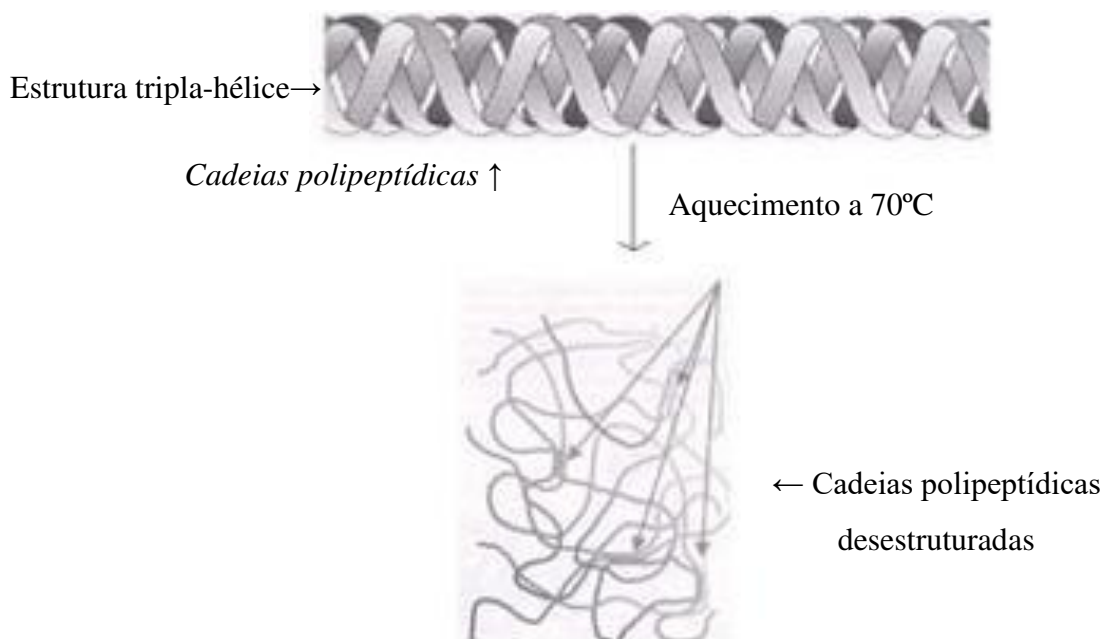
Uma das primeiras matérias-primas empregadas na produção de biomateriais, a gelatina (GENNADIOS et al., 1994), foi submetida a várias patentes, sobretudo, na área farmacêutica (TORRES, 1994). Trata-se de uma abundante matéria-prima, com produção mundial, de baixo custo e com boas propriedades para formação de filmes (ARVANITTOYANNIS, 2002).

A gelatina caracteriza-se por ser um hidrocolóide com natureza hidrofílica, derivada da desnaturação do colágeno, abundante proteína presente nos tecidos conectivos de

animais vertebrados (cerca de 50% do total da proteína humana) e invertebrados. Originada da dissociação térmica ou química das cadeias polipeptídicas do colágeno, o qual é insolúvel em água. A gelatina se torna solúvel em temperaturas acima de 50 °C, como resultado da hidrólise ácida (gelatina tipo A) ou básica (gelatina tipo B) (ARVANITTOYANNIS, 2002).

As cadeias de gelatina são macromoléculas que tendem a interagir intercadeia, ao invés de interagir intracadeia e ligações hidrogênio, formando uma rede tridimensional com zonas de junções micro cristalina intermolecular e, a desidratação deste sistema pode resultar em filmes quebradiços (TORRES, 1994; BANEGAS, 2008) (Figura 3).

Figura 3 – Estrutura helicoidal da gelatina, após ser aquecida acima de 70 °C.

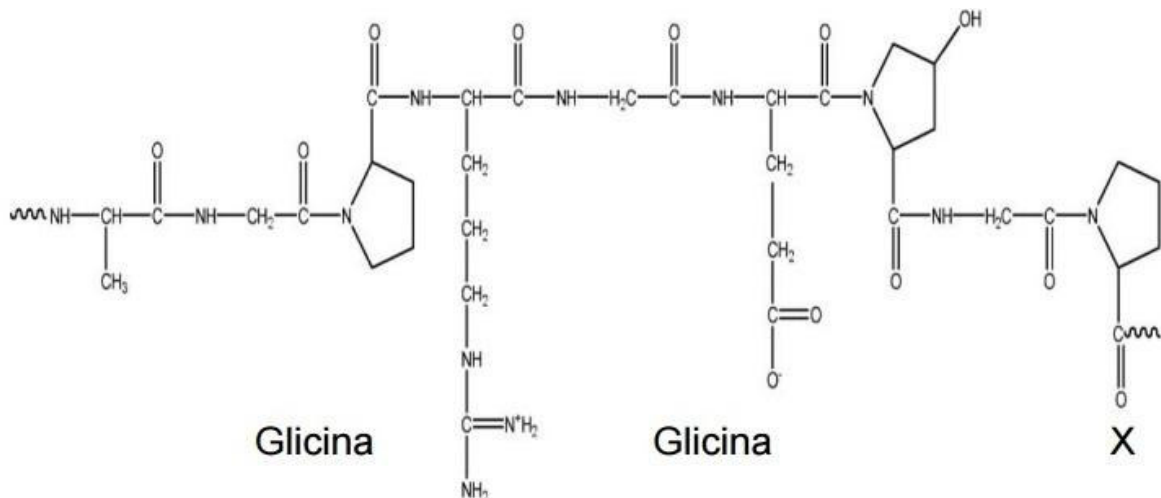


FONTE: SOBIOLOGIA (2015).

Segundo Rousselot (2015), as gelatinas apresentam essa interação no gel chamada de *Bloom* ou força do gel, sendo a força, expressa em gramas, necessária para penetrar 4 mm na superfície do gel, segundo método oficial da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC). Tal força é medida através de um gel com concentração de 6,67% e deve ser mantido durante 17 horas a 10 °C. O *Bloom* está relacionado à elasticidade mecânica do gel e é usado para classificar os tipos de gelatina, com limites determinados por meio da força do gel, quando aumenta proporcionalmente a concentração da solução e o tempo de gelificação: baixo *Bloom* - força do gel abaixo de 120g; médio *Bloom* - força do gel entre 120g e 200g; e, alto *Bloom* - força do gel acima de 200g.

O comportamento físico e químico da gelatina é determinado tanto pela sequência de aminoácidos, como pela conformação da estrutura espacial resultante do aquecimento, além das ligações iônicas entre as moléculas que, para o filme pode evitar problemas do tipo: formação de filmes quebradiços, ajuste da propriedade de fluidez, prevenção de coalescência, separação de fases e prevenção da recristalização (INSUMOS, 2015) (Figura 4).

Figura 4 – Estrutura química da cadeia de gelatina.



FONTE: GUPTA; BOHIDAR (2007).

Segundo Braga (2013) as amplas cadeias poliméricas possibilitam a formação de vários tipos de rearranjos moleculares, conferindo ao filme de gelatina, uma tensão de ruptura média de 66,62 MPa e alongação de 2,72%, resultando em uma estrutura mais complexa e aberta.

A combinação de gelatina com outros biopolímeros para formar blendas e/ou bicamadassão considerados métodos convenientes para melhorar o desempenho desses materiais (PORTO, 2007), gerando um filme com boas propriedades mecânicas, sendo a gelatina um hidrocolóide extremamente versátil (ALVES, 2005).

3.1.3 Lipídios

3.1.3.1 Monoglicérides acetilados

Os monoglicérides são moléculas lipídicas constituídas por um grupo hidroxiglicerol parcial ou completamente esterificados e, uma mistura de ácido acético com

ácidos graxos (LUCE, 1967), possuindo distinção quanto ao comprimento da cadeia carbônica (CHEN; TERENTJEV, 2010).

Segundo Krong, Riisom e Larsson (1985) e Krong, Larsson e Friberg (1990), os monoglicerídeos são um tipo diferente de lipídio polar de relevância biológica, situando-se como tipos de emulsionantes muito utilizados nas indústrias de alimentos. Além disso, para esta e outras aplicações industriais, o monoglicerídeo possui um potencial para pesquisas bioquímicas. A sua capacidade de formar duplas camadas, como membranas naturais, oferecem muitas oportunidades interessantes para os estudos sobre a estrutura e função da membrana (LUTTON, 1965; KRONG; LARSON, 1968; PEZRON et al., 1990).

Segundo Luce (1967), os monoglicerídeos completamente acetilados, contêm dois radicais acetil mais um radical de ácido graxo de cadeia longa. Os monoglicerídeos parcialmente acetilados, são misturas de moléculas, cada uma contendo um radical de ácido graxo de cadeia longa ou, 0 a 2 radicais acetil e 2 a nenhum grupo hidroxila. Por exemplo, em um monoglicerídeo 50% acetilado, metade dos grupos hidroxila foram substituídos por radicais acetila, enquanto que um monoglicerídeo 70% acetilado, 70% dos grupos hidroxila foram substituídos por radicais acetila. O aumento do grau de acetilação promove o aumento das propriedades de barreira e a resistência destes filmes e revestimentos à passagem de umidade, uma vez que esta é altamente dependente do gradiente de pressão de vapor de água (KESTER; FENNEMA, 1989).

No caso dos monoglicerídeos acetilados, o seu uso tem sido aplicado em cortes de aves e carnes vermelhas para minimizar a desidratação durante o armazenamento, por apresentar baixos valores de permeabilidade ao vapor de água, em relação aos filmes de polissacarídeos e, maiores valores que os filmes de etil e metilcelulose, sendo que quanto maior o grau de acetilação, melhor será a propriedade de barreira (MAIA; PORTE; SOUZA, 2000). De acordo com Han (2005), os revestimentos lipídicos tem sido eficazes em reduzir a absorção ou perda de umidade e, minimizar o ranço oxidativo em amendoins, dentre outros alimentos. Tromp, Rennie e Jones (1995) apontam que na elaboração de uma bicamada de polissacarídeo e éster de monoglicerídeo de ácido acético, pode promover uma separação de fases, causada pelo efeito entrópico (diferença de tamanho entre as moléculas dos constituintes) e, a formação de pequenos orifícios durante a secagem, afetada pela temperatura. Segundo Debeaufort, Martin-Polo e Voilley (1993) e Anker et al. (2002) os resultados obtidos em filmes compostos elaborados por bicamadas são melhores para as propriedades de barreira à umidade, tendo em visto que a fase lipídica forma uma camada

contínua e homogênea, sobre a matriz hidrocoloidal (proteína ou polissacarídeo), enquanto no filme feito a partir da emulsão, o lipídio fica disperso dentro da matriz hidrocoloidal e, portanto, as moléculas de água podem permear através da fase hidrofílica.

Filmes lipídicos, devido à característica hidrofóbica são resistentes à passagem de água, o que denota permeabilidade reduzida ao vapor de água, porém, apresentam-se muito quebradiços, o que reflete a baixa resistência mecânica; opacos e, podem promover sabores estranhos, resultantes de processos oxidativos (GALLO et al., 2000; PEREZ-GAGO; KROCHTA, 2000). Dessa forma, para que haja melhoria, são realizadas misturas de hidrocoloides com substâncias hidrofóbicas, originando filmes compostos com interações físicas e químicas, resultando em melhorias em suas propriedades (SHIH, 1996). O tipo de lipídio e a interação que o mesmo venha a promover dentro da solução filmogênica com a matriz coloidal são fatores resultantes quanto às propriedades de barreira. Segundo Avena-Bustillos e Krochta (1993) e Debeaufort et al. (2000), filmes compostos com caseinato/cera de abelha apresentaram menor permeabilidade ao vapor de água devido a estrutura cristalina ortorrômbico que fazem sua estrutura mais densa e compacta, com pouco espaço livre para migração das moléculas de água, em relação aos filmes com triglicerídeos, que apresentam cristais hexagonais, com estrutura menos compacta.

Filmes compostos com éster de monoglicerídeo de ácido acético são de difícil elaboração, não sendo possível evidenciar resultados específicos quanto a testes de barreira a gases e mecânicos, mas para melhor demonstrar o potencial da incorporação de lipídio em solução filmogênica como melhorador de barreira à umidade(LUCE, 1967).

Anker et al. (2002) estudaram o efeito de lipídios em filmes compostos à base de proteína isolada de soro de leite e éster monoglicerídeo de ácido acético, elaborados nas formas de laminados, ou seja, em camadas separadas, e associados, isto é, feitos a partir de emulsão. Observaram que a adição de lipídio nas duas formas de preparação diminuiu a permeabilidade ao vapor de água, com destaque para os filmes elaborados em camadas separadas, o qual apresentou uma redução de 70 vezes, enquanto o elaborado em emulsão foi de apenas 50 vezes, em relação ao filme de proteína isolada de soro.

3.2 Embalagem ativa

Embalagens ativas são sistemas em que as atribuições vão além da relação alimento-embalagem-ambiente quanto às funções de barreira. Tais funções são obtidas pela incorporação de ingredientes ou materiais ativos (plastificantes, compósitos ou nanocompósitos) ou bioativos (antimicrobianos) aos polímeros da embalagem. Assim como, o uso de outras tecnologias como substâncias absorvedoras de oxigênio, dióxido de carbono, etileno, umidade(sachês), por exemplo, aos sistemas (ROONEY, 1995; DEVLIEGHERE; VERMEIREN; DEBEVERE, 2004; NOLLET; TOLDRÁ, 2006; ANYADIKE, 2010; AZEREDO, 2012).

Segundo Scannel et al. (2000) e Anyadike (2010), pode-se conceituar embalagem ativa, como uma combinação de avanços tecnológicos e segurança dos alimentos, em um esforço para melhor atender as demandas de consumidores por alimentos mais frescos e seguros, e não só proporcionar uma barreira a influências externas, mas podendo controlar e até mesmo reagir a eventos internos à embalagem.

A embalagem ativa vem sendo utilizada já há alguns anos através do uso de atmosfera modificada e atmosfera controlada, mas o interesse por essa tecnologia cresceu, recentemente, graças a uma carga de publicidades sobre o desenvolvimento de absorvedores de oxigênio (alta barreira ao O_2 , $20 \text{ cm}^3/\text{m}^2 \cdot \text{atm} \cdot \text{dia}$) (CRUZ; SOARES; ANDRADE, 2007), antimicrobianos e absorvedores de etileno recém-melhorados (ANYADIKE, 2010), como demonstrado por Oliveira (2011) que utilizou sachês com 1g de $KMnO_4$ como controlador de etileno e armazenagem em embalagens PET, poli(etileno tereftalato), durante um período de 12 dias sob refrigeração à $4 \text{ }^\circ\text{C}$, que se apresentou como a melhor forma de conservação de morangos.

Pesquisas como a realizada por Vieites et al. (2006), os quais trabalharam com várias combinações de atmosfera modificada, com percentuais distintos dos gases: 100% N_2 ; 5% O_2 + 1% CO_2 ; 5% O_2 + 3% CO_2 , para manutenção da qualidade de melão “orange flesh” minimamente processado, obtendo como resultados a manutenção da firmeza do fruto, sem apresentação de oxidação enzimática. Em 2011, Arruda et al. (2011) demonstraram que a influência da embalagem com atmosfera modificada (5% de O_2 , 10% CO_2 e 85% N_2) de poli(estireno expandido) (EPS) na manutenção na qualidade da laranja “pêra” minimamente processada armazenada sob refrigeração, apresentou bons resultados, quanto a extensão da vida útil de 9 dias sob $12 \text{ }^\circ\text{C}$ e 12 dias, a $6 \text{ }^\circ\text{C}$.

A legislação brasileira não possui uma resolução ou normativa específica com relação às embalagens ativas, devendo ser considerados em conjunto, a legislação de materiais de embalagens de migração de substâncias (RDC nº 91, 11 de maio de 2001) e legislações específicas de aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia.

3.2.1 Embalagens comestíveis para alimentos

Nos anos 90, os biopolímeros, materiais biodegradáveis produzidos a partir de fontes agrícolas, foram cogitados como uma possível substituição aos polímeros de hidrocarbonetos. Eles têm propriedades semelhantes às dos plásticos tradicionais e podem ser processados com técnicas convencionais de produção de filmes, revestimentos, moldagens, recipientes, laminados e folhas. Sua atração é a biodegradabilidade em vários ambientes, como em sistemas de esgoto e aterros, além do fato de poderem ser destinados para compostagem (ANYADIKE, 2010).

O uso de biomateriais nas embalagens pode ser explicado tanto por aspectos ambientais e exigências dos consumidores, quanto pela necessidade de criar fontes alternativas que forneçam valor agregado ao produto, uma proteção ao alimento durante a armazenagem e o transporte, evitando o ressecamento da superfície dos produtos, a deterioração, perda da aparência, sabor e valor nutricional do alimento (EMBUSCADO; HUBER, 2009), suprimindo a crescente demanda de materiais com caráter renovável e sustentável (GINDL et al., 2006).

Segundo Pinheiro et al. (2010) e Azeredo (2012), embalagem comestível é definida como sendo elaborada por compostos seguros ao consumo humano, assim como deve ser feita a partir de um biopolímero com cadeia longa para conferir insolubilidade e estabilidade à matriz da embalagem em meio aquoso. Tais embalagens são apresentadas de duas formas: filme ou revestimento (cobertura):

1. **Filme:** fina película, formada separadamente do alimento e depois aplicado sobre ele, possuindo espessuras variadas, constituídas por diferentes substâncias que se polimerizam e isolam o alimento do meio envolvente (MAIA; PORTE; SOUZA, 2000; ACEVEDO et al., 2010);

2. **Revestimento:** suspensão ou emulsão aplicada diretamente sobre a superfície do alimento (por imersão ou aspersão), ocorrendo à formação da película sobre o produto.

Segundo Vargas et al. (2008), o Código Americano de Regulamentos Federais (USA Code of Federal Regulations, CFR, 2006), estabelece que os revestimento comestíveis são formulados com aditivos de natureza alimentar na quantidade necessária para realizar um efeito intencional, do tipo GRAS (Geralmente Reconhecidas como Seguras), listados no Código Federal Americano, cujos principais componentes são polissacarídeos, proteínas e lipídios.

Cuq, Gontard e Guilbert (1995) afirmaram que os filmes e revestimentos comestíveis são, tradicionalmente, usados para melhorar a aparência dos alimentos e a conservação, tendo que possuir um mínimo de componentes em sua formulação capaz de prover uma matriz coesa e homogênea, assim como melhorar as propriedades mecânicas (PASCALL; LIN, 2013).

As embalagens comestíveis têm múltiplos objetivos, os quais vêm proporcionando um aumento em seu potencial, embasado no poder de evitar a deterioração dos alimentos por degradação oxidativa e reações respiratórias, dos quais os mais importantes são reduzir a perda de umidade; controlar a permeabilidade a gases; controlar a atividade microbiana; preservar a integridade estrutural dos produtos; permitir a liberação controlada de compostos de sabor e de antioxidantes (ARVANITTOYANNIS; PSOMIADOU; NAKAYAMA, 1996; FRANSSEN; KROCHTA, 2003; MARTIN-BELLOSO; SOLIVA-FORTUNY; BALDWIN, 2005; AZEREDO, 2012).

Contudo, os filmes e revestimentos comestíveis, apresentam algumas desvantagens. Dentre elas, as reações alérgicas e a intolerância aos seus componentes, apresentadas por alguns consumidores, como as proteínas do glúten de trigo ou do leite (GENNADIOS; HANNA; KURTH, 1997; KROCHITA; MULDER-JOHNSTON, 1997); modificações nas propriedades mecânicas e óticas quando expostas a altas umidades relativas (GONTARD et al., 1996) e alta permeabilidade ao vapor de água. No caso dos filmes e revestimentos hidrocoloidais (CHEN, 1995), há a susceptibilidade à oxidação lipídica dos filmes produzidos à base de lipídios (GUILBERT; GONTARD; GORRIS, 1996).

No entanto, essa tecnologia de aplicação de revestimentos tem se destacado por elevar o tempo de conservação, permitindo uma maior flexibilidade de manuseio e comercialização (ASSIS; FORATO; BRITTO, 2008; VARGAS et al., 2008; FONSECA; RODRIGUES, 2009).

Os filmes e revestimentos aplicados em alimentos são formados, geralmente, pela solução ou dispersão de biopolímeros, como polissacarídeos e proteínas, com ou sem lipídios,

derivados de várias fontes naturais; seguido de meio de separação deste agente, do fluido transportador (plastificante) ou pela solidificação do material formado no filme fundido, por exemplo, os lipídios (KESTER; FENNEMA, 1986; MONTERREY-QUINTERO; SOBRAL, 2000).

O uso de biopolímeros na elaboração de filmes ou revestimentos comestíveis é condicionado as suas características físicas e propriedades mecânicas, resultantes da relação entre as características físico-químicas da macromolécula, formulação utilizada (MONTERREY-QUINTERO; SOBRAL, 2000), processo de formação e método de aplicação no produto (PINHEIRO et al., 2010).

Segundo Olabarrieta(2005), existem várias estratégias para melhorar as propriedades dos filmes biodegradáveis, principalmente mecânicas e de barreira (permeabilidade ao vapor de água, oxigênio e gás carbônico) e de acordo com sua composição e natureza, podem ser classificados em três categorias:

1. **Hidrocoloidais** – filmes à base de polissacarídeos ou proteínas que apresentam baixa permeabilidade a oxigênio, dióxido de carbono e ácidos graxos. No entanto, devido à natureza hidrofílica, têm baixa barreira ao vapor de água (KROCHTA; BALDWIN; NISPEROS-CARRIEDO, 1994);

2. **Lipídicos** – por sua natureza hidrofóbica, apresentam baixa permeabilidade ao vapor de água (GUILBERT; GONTARD; GORRIS, 1996);

3. **Compostos** – são à base de proteínas + lipídios ou polissacarídeos + lipídios. Podem existir como camadas separadas ou associadas, em que ambos os componentes são adicionados ao filme. Na atualidade, as pesquisas têm sido focalizadas sobre as embalagens compostas, por combinarem as vantagens de cada um dos componentes, reduzindo, assim, suas desvantagens (KROCHTA; BALDWIN; NISPEROS-CARRIEDO, 1994).

Existe uma ampla gama de componentes que promovem características hidrofóbicas aos filmes e revestimentos comestíveis, como os lipídios, mesmo que não sejam biopolímeros, podem ser usados como matrizes de revestimentos, especialmente, em frutas e hortaliças *in natura*. Em filmes pré-formados, eles encontram-se presentes apenas quando em combinação com matrizes biopoliméricas. Entre os lipídios usados estão: as ceras (abelha, carnaúba), óleos minerais e vegetais, monoglicerídeos acetilados, dentre outros com características hidrofóbicas (CUQ; GONTARD; GUILBERT, 1995; GENNADIOS; HANA; KURTH, 1997; HAN, 2005; ACEVEDO et al., 2010).

Os revestimentos/filmes biodegradáveis têm sido utilizados com sucesso em várias aplicações comerciais alimentícias e não alimentícias: (a) gelatina para cápsulas, suplementos, fármacos e encapsulação de aromas; (b) zeína de milho para revestimentos, suplementos e comprimidos; (c) colágeno para envolver produtos de carne; (d) revestimentos de amido para comprimidos e frutas secas; (e) revestimentos de celulose para suplementos e comprimidos; (f) ésteres de sacarose de ácidos graxos como revestimento de produtos frescos; (g) revestimentos de cera e óleo para produtos frescos, suplementos e comprimidos (KROCHTA, 2002).

3.3 Embalagens e suas interações com os alimentos

Segundo a RDC nº 91, de 11 de maio de 2001 da ANVISA, embalagens para alimentos é o artigo que está em contato direto com alimentos, destinado a contê-los, desde a sua fabricação até a sua entrega ao consumidor, com a finalidade de protegê-los de agentes externos, de alterações e de contaminações, assim como de adulterações. Estas devem ser fabricadas conforme as boas práticas de fabricação e não devem permitir a migração de componentes indesejáveis, tóxicos ou contaminantes ao alimento em quantidade que ultrapasse o máximo permitido pela legislação em vigor (BRASIL, 2001).

A embalagem é uma parte importante de todas as operações de processamento de alimentos (FELLOWS, 2006) e, de acordo com Mercosul (1992), não deve representar risco à saúde humana e/ou ocasionar modificações inaceitáveis na composição e nas características sensoriais dos alimentos.

Os sistemas de embalagens tradicionais têm como função principal atuar como uma barreira a impactos físicos e/ou mecânicos, reações químicas e contaminação por micro-organismos, além de prevenir a migração de seus próprios compostos para o alimento, contendo-o de forma segura, promovendo sua proteção e realizando uma comunicação entre produto-consumidor e proteção na exposição ao ambiente (QUINTAVALLA; VICINI, 2002; AVELLA et al., 2005; FELLOWS, 2006; AZEREDO, 2012).

A embalagem influencia na qualidade e na durabilidade de alimentos frescos, pois altera o ambiente ao redor do produto, criando condições que retardam as reações de deterioração, prevenindo a evaporação da umidade do produto, evitando perdas de peso e alterações de aparência, textura e aroma (SARANTÓPOULOS; ANTÔNIO, 2006). É sabido que o metabolismo do alimento fresco continua a consumir oxigênio no espaço central da

embalagem, aumentando a concentração de dióxido de carbono, o conteúdo de água e a umidade no interior da embalagem, favorecendo o crescimento de micro-organismos de deterioração, comprometendo a integridade dos tecidos nos alimentos (ANYADIKE, 2010).

No Brasil, a embalagem mais utilizada para carnes frescas, por exemplo, é de filmes plásticos de alta permeabilidade ao oxigênio e baixa permeabilidade ao vapor de água, que podem manter a coloração vermelha, ao mesmo tempo em que protege o produto da desidratação superficial e, que não venham a exercer controle sobre a deterioração microbiana (SARANTÓPOULOS; OLIVEIRA; CANAVESI, 2001).

Os plásticos constituem a classe de embalagens que mais interage com os alimentos, comparado com papel, vidro, metal, devido sua composição química e estrutura, sua densidade baixa, promovendo características inerentes de permeabilidade, apesar de suas propriedades de barreiras variarem entre os diferentes tipos de materiais e poder de difusão (CASTRO; POUZADA, 2003; AZEREDO, 2012).

Os processos de transferência de massa são descritos como um sistema de interações alimento-embalagem, relação esta explicada pela distribuição ideal de soluto em solventes, no qual as atividades do soluto, em ambas as fases, são muito similares entre as concentrações das substâncias (CASTRO; POUZADA, 2003; AZEREDO, 2012). De acordo com Azeredo (2012), tal sistema é classificado em **migração**: transferência de moléculas originalmente presentes no material de embalagem para o alimento ou ambiente; **sorção**: consiste na absorção de componentes pelo material de embalagem; e, **permeação**: transferência de compostos do produto para o ambiente ou vice-versa, através do material de embalagem, em resposta a uma diferença de pressão parcial do permeante.

As características mais importantes a serem consideradas para escolher o polímero para embalagem de alimentos são: propriedades de barreira a gases e vapor de água, resistência mecânica, rigidez, flexibilidade, resistência química e termossoldabilidade (AZEREDO, 2012).

Segundo Castro e Pouzada (2003) e Azeredo (2012), os polímeros podem ser formulados de forma a se obter ampla gama de propriedades que dependem da estrutura química, do grau de cristalinidade, do grau de ramificações, da massa molecular e sua distribuição, da orientação, etc., tendo em vista que são formados por unidades estruturais idênticas, chamados monômeros, ligados covalentemente.

Segundo Batista (2004), como alternativas aos filmes de origem sintética, os biopolímeros ou filmes biodegradáveis, constituídos de materiais biológicos, como

hidrocoloides e lipídios, vêm sendo empregados há alguns anos em produtos alimentícios. O desenvolvimento e a caracterização desses filmes vêm sendo fortemente estudados, pois podem atuar como barreira a elementos externos como água e gases e ainda promover melhorias na resistência de alguns produtos em relação ao manuseio ou ao transporte. Além disso, podem ser incorporados aditivos alimentícios, agentes antimicrobianos e fármacos.

Os biopolímeros não têm conseguido alcançar maturidade comercial, devido o seu elevado custo, pouca aplicação em embalagens de volume; necessitam ser produzidos em escala comercial para competir com os polímeros convencionais (sintéticos), os quais apresentam, geralmente, melhores propriedades (PARRA et al., 2004; ANYADIKE, 2010).

Uma tendência na tecnologia de embalagem de alimentos é o estudo e o desenvolvimento de novos materiais de alta barreira, que possam reduzir a quantidade total de material requerido para cada aplicação, conseqüentemente reduzindo o impacto ambiental e os custos associados ao transporte e à distribuição (AZEREDO, 2012). Sendo o impacto ambiental alavancado pela elevada produção de resíduo sintético a força motriz para a pesquisa e o desenvolvimento de substitutos à base de materiais biodegradáveis, como os biopolímeros que, na área de alimentos, vem crescendo consideravelmente nas últimas décadas (SOARES, 2008).

3.4Plastificantes

Segundo Rabello (2003), os plastificantes são aditivos empregados em alguns tipos de materiais poliméricos para melhorar a processabilidade e aumentar a flexibilidade, alterando a viscosidade do sistema e, aumentando a mobilidade das macromoléculas. Isto ocorre em função da redução das forças intermoleculares das cadeias poliméricas, atuando como agente de lubrificação, permitindo que as cadeias do polímero deslizem umas sobre as outras, livremente, reduzindo, também, a temperatura de transição vítrea (ALMASI; GHANBARZADEH; ENTEZAMI, 2010).

Por definição os plastificantes são substâncias com alto ponto de fusão e baixa volatilidade (BANKER, 1966; HOGAN, 1995). Quando adicionados a outro material provocam mudanças nas propriedades físicas, químicas e mecânicas dos mesmos (KROCHTA; BALDWIN; NISPEROS-CARRIEDO, 1994; MALI et al., 2005).Apresentam, em sua maioria, caráter hidrofílico e, por apresentarem estrutura molecular pequena, são facilmente acoplados entre as cadeias poliméricas devido a sua habilidade em reduzir a

formação de pontes de hidrogênio entre as cadeias, causando um aumento do volume livre ou da mobilidade molecular do polímero (BODMEIER; PAERATAKUL, 1997; SOTHORNVITE; KROCHTA, 2001).

Além de miscível no polímero, o plastificante deve ser compatível e permanecer no sistema para que não haja a separação durante a secagem do filme, sem sofrer vaporização, durante o processamento e nenhuma difusão acentuada (BAKER, 1966; GUILBERT, 1986; SMITS et al., 2003).

Para a elaboração de filmes e revestimentos, vários plastificantes estão sendo utilizados, entre eles, mono, di e oligossacarídeos (glicose, sacarose), polióis (glicerina, sorbitol, derivados da glicerina e gliceróis) e lipídios (ácidos graxos saturados, monoglicerídeos e derivados de éster, fosfolipídios e surfactantes), sendo o glicerol o mais utilizado (GUILBERT; CONTARD; GORRIS, 1996; SÁNCHEZ et al., 1998). O tipo e a concentração do plastificante influenciam nas propriedades mecânicas e térmicas como tensão na ruptura e transição vítrea, respectivamente (MCHUGH; KROCHTA, 1994; BODMEIER; PAERATAKUL, 1997; SOBRAL et al., 2004; VANIN et al., 2005). Podem provocar mudanças nas propriedades de adesão e barreira ao vapor de água e a gases dos filmes (LIN; CHEN; RUN-CHUN, 2000).

3.5 Antimicrobianos e antioxidantes para filmes

Visando atender aos consumidores com interesse cada vez maiores por produtos frescos, nutritivos, com alta qualidade sensorial e tempo de vida útil aceitável, novos tratamentos ganham destaque como as tecnologias não térmicas, diferentes sistemas de embalagens, biopreservação e produtos antimicrobianos naturais como sistema lactoperoxidase, bacteriocinas, lisozima, quitosana e derivados vegetais como os óleos essenciais (DEVLIEGHIERE; VERMEIREN; DEBEVERE, 2004).

Combinar antimicrobianos com filmes de embalagem para controlar o crescimento de micro-organismos em alimentos poderia ter um impacto significativo na extensão da vida de prateleira do produto e na segurança do alimento (ANYADIKE, 2010), objetivando reduzir, inibir ou retardar o crescimento de micro-organismos (patogênicos e deteriorantes) na superfície dos alimentos, principalmente, na maioria dos alimentos frescos ou processados (ROJAS-GRAU; TAPIA; MARTIN-BELLOSO, 2008; AZEREDO, 2012).

A objetividade desse tipo de embalagem possibilita o carregamento de aditivos alimentares, como antimicrobianos, antioxidantes e outros ingredientes funcionais, interagindo com o alimento para se obter um resultado desejável (LABUZA; BREENE, 1989), tornando a vida útil do alimento mais extensa e segura com relação ao controle ou inibição microbiana, fatores favoráveis para a aceitabilidade do produto pelo consumidor.

A contaminação microbiana ocorre predominantemente na superfície, sendo mais eficiente o emprego de filmes antimicrobianos do que o uso direto do próprio agente antimicrobiano no alimento, pois há um processo migratório gradativo, mantendo a concentração mínima necessária com ação inibitória (PADGETT; HAN; DAWSON, 1998; AZEREDO, 2012).

Segundo Anyadike (2010) enfatizado por Azeredo (2012), o agente antimicrobiano, antes de ser incorporado aos filmes e revestimentos, deve atender a alguns requisitos importantes, como:

- Ser efetivo contra um largo espectro de micro-organismos, promovendo a redução da taxa de crescimento dos micro-organismos e/ou prologar à fase *lag*;
- Deve ter migrações controladas e eficiência em baixas concentrações;
- Não deve provocar quaisquer alterações sensoriais no alimento;
- Ter custo compatível;
- Não deve ser inibido pelos ingredientes do alimento;
- Aprovado pelas autoridades, atendendo à legislação vigente, quer como substância ou aditivo alimentar;
- No caso de extrusão, deve ser termoestável se incorporado ao plástico.

Sabe-se que com a incorporação de ingredientes ao material de embalagem, como agentes antimicrobianos, plastificantes, etc., as propriedades físicas e mecânicas dos filmes podem vir a sofrer alterações desejáveis ou não, variando para cada combinação ingrediente-polímero em diferentes concentrações, além da influência da técnica a ser aplicada e dos fatores ambientais.

Muitas classes de compostos antimicrobianos foram avaliadas em estruturas de filme, incluindo ácidos e ésteres orgânicos, enzimas, bacteriocinas, compostos derivados de plantas e óleos essenciais de especiarias e ervas, lipídios e compostos mesclados, como extratos líquidos de fumo, etanol, triclosan, zeolitas de prata e dióxido de cloro. Os resultados desses esforços mostram que embalagem antimicrobiana é uma tecnologia extremamente

desafiante em termos de eficiência, ao adicionar tais compostos de forma direta ou indireta ao alimento (ANYADIKE, 2010).

Para Zhou, Xu e Liu (2010), os componentes naturais como os óleos essenciais, quitosana, nisina e lisozima, estão sendo utilizados como substituintes de conservantes químicos sintéticos, na obtenção de produtos como a “embalagem verde”. Esses, por sua vez, promovem um pequeno prolongamento na vida útil do produto durante o armazenamento, maior segurança do alimento com controle no crescimento da microbiota natural. Outro agente antimicrobiano natural, as bactérias lácticas que produzem bacteriocinas (produtos heterogêneos com ação antimicrobiana).

A incorporação de agentes antioxidantes, também, é vantajosa para a produção de filmes, uma vez que podem diminuir grande parte da ocorrência de rancificação (CARDOSO et al., 2011). Com o seu baixo custo, facilidade de emprego, eficiência, termorresistência, “neutralidade” sensorial e ausência reconhecida de toxicidade (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999), o uso de antioxidante confere proteção à cor, reduzindo os danos causados por intermédio da oxidação (RAMOS; GOMIDE, 2007). O uso de antioxidantes naturais em produtos cárneos, por exemplo, tem sido estudado devido a demanda do consumidor por alimentos “orgânicos” ou “naturais” e, também, ao uso de antioxidantes sintéticos, que podem vir a apresentar efeitos carcinogênicos (HERNÁNDEZ-HERNANDÉZ et al., 2009).

3.5.1 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são metabólitos secundários, uma mistura muito complexa de hidrocarbonetos, álcoois e aromáticos (BARATTA et al., 1998) de plantas e apresentam uma multiplicidade de aplicações, podendo-se destacar, principalmente, sua aplicação como antimicrobianos, antifúngicos, antioxidantes e inseticidas naturais. Podem ser estocados em certos órgãos das plantas, como nas flores, folhas, cascas, madeira, raízes, rizomas, frutos ou sementes. São geralmente incolores ou ligeiramente amarelados, sendo poucos os óleos que apresentam coloração. Em geral, são muito instáveis, principalmente na presença de ar, luz, calor, umidade e metais, são opticamente ativos, propriedades estas utilizadas para identificação e controle de qualidade (SIMÕES et al., 2007; BAKKALI et al., 2008).

Para Cardoso et al. (2010), tem-se evidenciado o uso em potencial de extratos e óleos essenciais extraídos de plantas e especiarias, consideradas fontes ricas de compostos biologicamente ativos, com grande potencial antioxidante e antimicrobiano.

Os óleos essenciais são, normalmente, obtidos por meio de vapor ou hidrodestilação. Conhecido pela sua atividade antisséptica, ou seja, bactericida, fungicida e virucida e propriedades medicamentosas e flavorizantes, eles são usados em embalsamentos, conservação dos alimentos como antibióticos, analgésicos, sedativos, antiinflamatório, antiespasmódico e anestésico local. Até os dias atuais, essas características não se alteraram muito, exceto que agora são mais conhecidos alguns de seus mecanismos de ação, particularmente para o efeito antimicrobiano (ASSOLINI; TEDESCO; CARPES, 2006; BAKKALI et al., 2008). Muitos óleos essenciais e compostos isolados têm sido reconhecidos como poderosos antioxidantes naturais, os quais poderiam ser utilizados como substitutos potenciais aos antioxidantes sintéticos (RUBERTO; BARATTA, 2000; BOZIN, 2006).

Segundo Paparella et al. (2008), os óleos essenciais, como antimicrobianos, interagem com vários componentes celulares e afetam diferentes processos metabólicos e fisiológicos, modificando a permeabilidade da membrana e inibindo a produção de ATP (adenosina trifosfato). Em geral bactérias Gram-positivas são mais sensíveis que as Gram-negativas, enquanto as bactérias lácticas são as mais resistentes entre as Gram-positivas, os fungos parecem ser mais sensíveis que as bactérias Gram-negativas à ação dos óleos essenciais (LAMBERT; SKANDAMIS; COOTE, 2001; JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

A adição de antimicrobianos naturais como óleos essenciais na formulação dos biopolímeros visa garantir um alimento seguro e manter inalterada a qualidade do produto, devido sua origem natural e redução da resistência microbiana causado pelos componentes químicos antimicrobianos que fazem parte da composição dos óleos essenciais (LAMBERT; SKANDAMIS; COOTE, 2001).

Geralmente, os componentes majoritários determinam as propriedades biológicas dos óleos essenciais. Os componentes abrangem dois grupos de origem biossintética distintos: o principal grupo corresponde aos compostos de terpenos e terpenóides e, outro de constituintes aromáticos e alifáticos, todos caracterizados por baixo peso molecular (PICHERSKY; NOEL; DUDAREVA, 2006).

Para Nollet e Toldrá (2006), os terpenos vêm apresentando atividades de efeito biológico nas propriedades antioxidantes e antimicrobianas, principalmente na superfície do

alimento *in natura*. Segundo Moreira et al. (2005), estes compostos fenólicos se ligam à bicamada fosfolipídica da membrana celular, aumentando sua permeabilidade e, extravasando os constituintes intracelulares ou danificando o sistema enzimático da célula.

O óleo essencial de alecrim-pimenta, *Lippia sidoides*, é conhecido devido seu potencial antioxidante e antimicrobiano (DUTRA et al., 2011), apresentando como constituintes majoritários timol e carvacrol além disso, dentre os componentes fixos, estão flavanóides e quinonas (LORENZI; MATOS, 2002). Em 1992, o timol, extraído da planta, foi avaliado pelo Comitê de Especialistas em Substâncias Aromatizantes do Conselho Europeu e, desde então, sua adição em alimentos foi permitida em uma concentração máxima de até 50mg/kg e, para bebidas, de 10mg/kg. No Brasil, ainda não há referência na legislação quanto ao uso dessa substância como antimicrobiano em alimentos (JAKIEMI, 2008).

3.6 Propriedades dos filmes

3.6.1 Propriedades óticas

Segundo Vicentini (2003), destacam-se dentre as propriedades óticas de filmes com aplicação em embalagens, a cor e a opacidade. A cor pode ser considerada um importante parâmetro na caracterização dos filmes, pois está relacionada com a matéria-prima utilizada na elaboração dos mesmos.

Para uma boa apresentação visual do produto, é desejável que as embalagens apresentem elevado brilho e alta transparência. Por outro lado, muitas vezes a proteção contra a incidência de luz se faz necessária (transparência baixa ou nula), como no acondicionamento de produtos sensíveis a reações de deterioração catalisadas pela luz (OLIVEIRA et al., 1996).

A transparência ou opacidade de um filme, refere-se à quantidade de luz que o atravessa (PINHEIRO et al., 2010), consequência da estrutura química relacionada à massa molecular do material (DAVACO, 2006). 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 alimentícios (PINHEIRO et al., 2010), ou seja, o grau de transparência do filme dependerá da estrutura do polímero utilizado (se mais amorfo, será mais transparente e, se mais cristalino, mais opaco) e de sua espessura (CRIPPA; SYDENSTRICKER; AMICO, 2006).

A cor de um filme pode ser avaliada tanto por transmitância como por absorvância, dependendo do tipo de material (VEIGA-SANTOS et al., 2005; SANTOS, 2007). No sistema de cor, L^* representa a luminosidade (variação de 0 a 100 – preto a branco, respectivamente) e, a^* e b^* , as coordenadas de cor, intensidade (-)verde / (+)vermelho, (-)azul / (+)amarelo, respectivamente (RÉGULA, 2004; PINHEIRO et al., 2010), assim como, a determinação do ângulo Hue (tonalidade ou matiz) que corresponde ao arco tangente (b^*/a^*) e, o Chroma (saturação da cor) ao arco tangente ($a^{*2}+b^{*2}$).

Segundo Veiga-Santos et al. (2005) a opacidade dos filmes pode ser determinada através da luz refletida, utilizando-se um espectrofotômetro. Todas as amostras a serem avaliadas devem ter a mesma data de fabricação para que possíveis degradações do material não interfiram nos resultados.

3.6.2 Espessura

A definição de espessura, segundo Cetea (1996), corresponde à distância entre duas superfícies principais do material, sendo um parâmetro importante para filmes plásticos mono ou multicamadas. Segundo Sobral (1999), nos processos de produção do tipo *casting*, onde ocorre a secagem por evaporação de solvente, o controle da espessura dos filmes se torna mais difícil quando se trabalha com solução filmogênica viscosa, devido à dificuldade de espalhar o material de forma homogênea.

Sabe-se que com a obtenção dos dados de espessura, é possível obter informações sobre a resistência mecânica e as propriedades de barreira a gases e ao vapor de água do material; estimar sobre a possível extensão da vida útil dos alimentos acondicionados nesse material; determinar a homogeneidade do filme, pois variações na espessura do material acarretam variações no desempenho mecânico e flutuações nas propriedades de barreiras (CETEA, 1996).

3.6.3 Propriedade de barreira: permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Os plásticos atualmente usados em embalagem com propósito de barreira são bons, mas existe uma série de problemas que restringem o seu uso ou limitam o leque de aplicações. Assumem uma grande importância a cada ano, quando produtores como clientes

visam à vida mais longa dos produtos na prateleira, melhor integridade do produto, sabor, qualidade, etc. (ANYADIKE, 2010).

A permeabilidade de um soluto através de um filme indica a facilidade com que ele migra de uma face do filme até a outra face. Fisicamente, portanto, a permeabilidade é o produto da difusividade pela solubilidade de soluto no filme.

A ASTM (American Society for Testing and Materials), E96-00, define a permeabilidade ao vapor de água como a taxa de transmissão de vapor de água por unidade de área através do filme, de espessura conhecida, induzida pelo gradiente de pressão entre duas superfícies, de temperatura e umidade relativa especificada (ASTM, 2000).

O grau de barreira ou o nível de permeabilidade para os polímeros sintéticos segue as seguintes características para as taxas de transmissão/permeabilidade de oxigênio (*oxygen transmission rate*, OTR/ taxa de permeabilidade ao oxigênio, TPO) e, vapor d'água (*water vapor transmission rate*, WVTR/ taxa de permeabilidade ao vapor de água, TPVA), segundo Anyadike (2010):

- Oxigênio: um filme com permeabilidade ao oxigênio menor que $654 \text{ cm}^2/24\text{horas}/\text{dia}$ ($2\text{mL}/\text{mil}/100\text{in}^2$, unidade inglesa), à pressão de uma atmosfera. Qualquer material com OTR/TPO abaixo de $0,1 \text{ mL}/\text{mil}/100\text{in}^2$ é, normalmente, considerado de alta barreira, estes incluem PVdC, poli(cloreto de vinilideno), e EVOH, copolímero de etileno vinil álcool. Os filmes PET padrão metalizados têm uma OTR/TPO, cerca de $0,3 \text{ mL}/\text{mil}/100\text{in}^2$ ou mais baixa. Outros, são chamados de barreiras moderadas;
- Vapor de água: um filme com taxa de permeabilidade ao vapor de água (WVTR/TPVA) de baixa barreira são de $0,06 \text{ mg}/\text{dia}$ a $0,1 \text{ mg}/\text{dia}$; de barreira intermediária, de $0,03 \text{ mg}/\text{dia}$ a $0,06 \text{ mg}/\text{dia}$; de alta barreira têm valores de WVTR/TPVA de $0,03 \text{ mg}/\text{dia}$ ou menor. Atualmente, o melhor filme de barreira à umidade é o poli(cloro-trifluoro-etileno, PTCFE), que tem valores de WVTR/TPVA mais baixos que $0,03$ para a maioria das estruturas.

A PVA em filmes hidrofílicos é influenciada pelas características intrínsecas do material, pelo teor do plastificante e pelas condições ambientais de umidade relativa e temperatura, às quais se encontram expostos (MULLER, 2007). Por outro lado, a característica hidrofílica é responsável pela alta permeabilidade a gases, quando estes filmes são acondicionados a baixa umidade relativa (VICENTINI, 2003).

O conhecimento da PVA é imprescindível para se definir as possíveis aplicações dos filmes em embalagens. Um material muito permeável ao vapor de água poderá ser

indicado para embalagens de vegetais frescos, enquanto um filme pouco permeável poderá ser indicado para produtos desidratados (SOBRAL; OCUNO, 2000).

Segundo Carulo (2005), o coeficiente de PVA é definido como a transferência do vapor permeante através de um material. A transferência de água em materiais poliméricos ocorre por difusão molecular. Este processo envolve três etapas (CARULO, 2005): primeiro, há o movimento do permeante para a superfície da estrutura do filme e sua adsorção dentro da matriz polimérica; segundo, a difusão através dos poros formados pelo movimento da cadeia polimérica do filme ou, na própria fabricação; e, terceiro, a evaporação a partir da superfície do filme e sua consequente dispersão do ar (KESTER; FENNEMA, 1986).

Para os biopolímeros, alguns fatores podem influenciar nas OTR/TPO e WVTR/TPVA, entre eles, o tipo de matriz biopolimérica a ser utilizada (polissacarídeo, proteína, lipídio), a concentração das substâncias ativas (plastificantes, antimicrobianos, emulsificantes, surfactantes, dentre outros), além das condições ambientais.

Segundo Kester e Fennema (1986) fatores como as características das moléculas permeantes, as interações entre as cadeias poliméricas e o grau de reticulação também influenciam nas características da permeabilidade do filme.

O aumento da concentração de plastificante leva a uma elevação da PVA em virtude do aumento da difusão da água através do filme, ocasionando uma maior hidrofiliabilidade, tendo em vista a mobilidade das cadeias poliméricas proporcionadas pelo plastificante. A permeabilidade ao vapor de água pode variar com a espessura dos filmes em virtude de mudanças estruturais causadas pelo inchamento da matriz, o que afeta a estrutura dos filmes e provoca tensões internas que podem influenciar na permeação (PARK; CHINNAN, 1995).

3.7 Análise termoanalítica

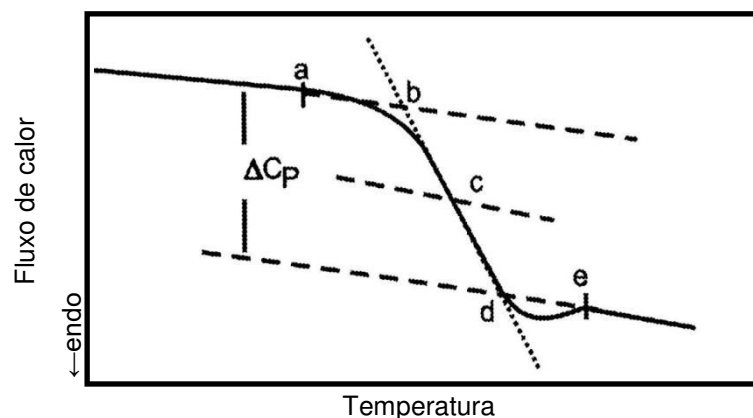
A análise térmica é definida como um grupo de técnicas por meio das quais uma propriedade física de uma substância e/ou de seus produtos de reação é medida em função da temperatura, enquanto essa substância é submetida a uma programação controlada de temperatura e sob uma atmosfera especificada (IONASHIRO, 1980; WENDLANDT, 1986; HAINES, 1995), cuja principal técnica termoanalítica a ser estudada foi a calorimetria exploratória diferencial (DSC).

3.7.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica de análise térmica na qual a temperatura de uma amostra, comparada com a temperatura de um material termicamente inerte, é gravada como uma função do material inerte ou fornecimento de temperatura à medida que a amostra é aquecida ou resfriada a uma razão constante (WENDLANT, 1986; VIVANCO, 2003; CANEVAROLO JR, 2007). A análise consiste em colocar a amostra e referência em cápsulas de alumínio idênticas, posicionadas sobre um disco termoelétrico e aquecidas por uma única fonte de calor. O calor é transferido para as cápsulas sendo controlado por meio de termopares conectados ao disco, com o fluxo de calor diferencial entre ambas as cápsulas, uma vez que a variação da temperatura, em um dado momento, é proporcional à variação de entalpia, à capacidade calorífica e à resistência térmica total ao fluxo calórico (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002; CANEVAROLO JR, 2007).

Para estudar essa técnica, faz-se necessária determinar a temperatura de transição vítrea (T_g) de um material, isto é, o valor médio da faixa de temperatura que durante o aquecimento de um material polimérico, de uma temperatura muito baixa para valores mais altos, permite que as cadeias poliméricas da fase amorfa adquiram mobilidade, isto é, possibilite a mudança de conformação (GAUDIN et al., 1999; CANEVAROLOJR, 2007). Quando submetidos a temperaturas acima de T_g , os materiais estão no estado elastomérico e, abaixo da T_g , os mesmos se encontram no estado vítreo. No estado elastomérico as cadeias têm mobilidade aumentada e, neste ponto, as propriedades físicas e mecânicas sofrem forte mudança de comportamento (LOURDIN; RING; COLONNA, 1998; CANEVAROLO JR, 2007) (Figura 5).

Figura 5 - Curva para determinação da temperatura de transição vítrea.



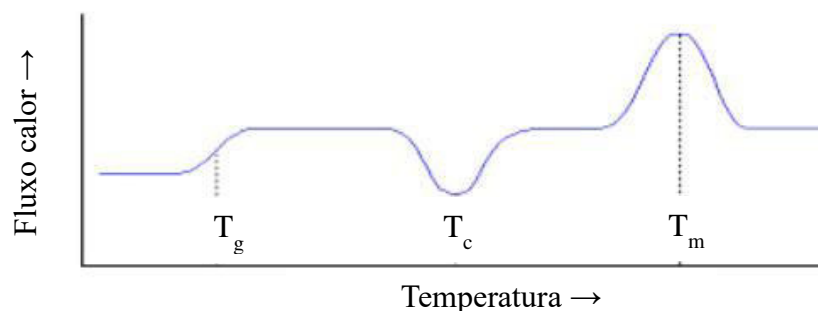
FONTE: CANEVAROLO JR (2007).

A Figura 5 apresenta a forma de interpretação da curva. Os pontos “a” e “e” correspondem ao início e fim do evento de calor específico da amostra. Entretanto, a faixa de temperatura que caracteriza a transição vítrea de um polímero está contida entre os pontos “b” (“onset”, início extrapolado) e “d” (“endset”, final extrapolado). Quando apenas uma temperatura é citada como T_g , em geral se refere ao ponto “c” ($1/2\Delta C_p$) (CANEVAROLO JR, 2007).

Os eventos térmicos que geram modificações em curvas DSC podem ser basicamente, de primeira ordem (fusão) e de segunda ordem (transição vítrea). A área contida sob o pico é representativa da variação de entalpia (ΔH) sofrida pela amostra. As transições de primeira ordem apresentam variação de entalpia - endotérmica ou exotérmica - dando origem a formação de picos (ROSS, 1995; CANEVAROLO JR, 2007). Como exemplo de eventos endotérmicos que podem ocorrer em amostras de polímeros: fusão, perda de massa da amostra (vaporização da água, aditivos ou produtos voláteis de reação ou decomposição), dessorção e reações de redução. Eventos exotérmicos observados em polímeros podem ser: cristalização, reações de polimerização, cura, oxidação, degradação oxidativa, adsorção e outros. As transições de segunda ordem caracterizam-se pela variação de capacidade calorífica, juntamente com variações dimensionais e viscoelásticas, porém sem variações de entalpia. Assim, essas transições não geram picos nas curvas DSC, apresentando-se como deslocamento da linha base em forma de S, transição vítrea (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002; CANEVAROLO JR, 2007).

A Figura 6 mostra um gráfico típico de polímeros semicristalinos, onde a T_g pode ser observada por uma mudança muito sutil na linha de base, e é quando ocorre uma variação no calor específico (C_p) sem mudança significativa de temperatura.

Figura 6 - Apresentação de uma curva DSC com a caracterização da T_g , T_c e T_m .



FONTE: MAIMONI-RODELLA; CAVALCANTI (2006).

Observando a Figura 6, nos pontos acima da T_g , as moléculas adquirem maior mobilidade (valores de PVA elevados, maior flexibilidade do filme) e, quando atingem uma determinada temperatura denominada de cristalização (T_c), elas conseguem se organizar na forma de cristais. Por esse arranjo ser mais estável, as moléculas liberam calor e essa reação é caracterizada por ser exotérmica. Já o aquecimento acima da T_c , resulta no surgimento de um pico endotérmico na curva de fluxo de calor, correspondendo à temperatura de fusão ou *melting* (T_m), que está relacionada a um movimento pelo aumento da temperatura (FERRY, 1980).

Segundo Ross (1995) e Bertan (2003), os conhecimentos que se adquirem com o estudo da temperatura de transição vítrea (T_g) dos filmes, auxilia na escolha das melhores condições de armazenamento dos mesmos, uma vez que as propriedades mecânicas e de barreira sofrem grandes influências.

Filmes de gelatina puros apresentaram uma T_g de 214,1 °C, enquanto que os filmes plastificados com sorbitol, tiveram uma T_g de 132,1 °C (PORTO, 2007). A confiabilidade e reprodutibilidade dos dados medidos por DSC dependem da eliminação de variáveis podendo ser fatores instrumentais (material que compõe o disco, geometria do forno, tamanho do ponto de solda da junção dos termopares, etc.) e, as características da amostra (cristalinidade, massa molar, fonte, método de extração, etc.). Ratto, Hatakeyama e Blumstein (1995) obtiveram uma T_g para a amostra de quitosana de 30 °C, mas Sakurai, Maegawa e Takahashi (2000) obtiveram o valor da T_g de 203 °C, enquanto que para Kittur et al. (2002) e Netto et al. (2005) não foram encontradas evidências de T_g , sugerindo, assim, que a T_g da quitosana poderia estar próxima da faixa de temperatura de degradação térmica.

3.8 Propriedades mecânicas

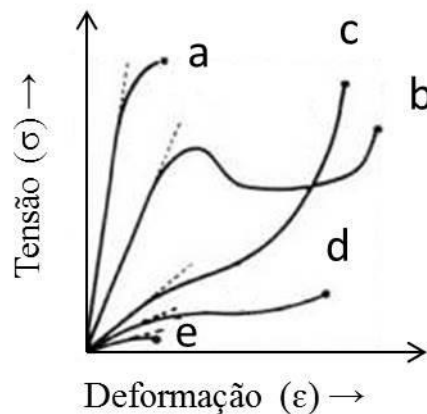
As propriedades mecânicas dos polímeros são caracterizadas pela forma com que esses materiais respondem às forças instrumentais mecânicas aplicadas, podendo estas últimas ser do tipo tensões ou deformações. A natureza dessa resposta depende da estrutura química, temperatura, tempo e condições de processamento do polímero (CANEVAROLO JR, 2006).

Nos filmes, as propriedades mecânicas são características importantes para sua utilização como embalagem e/ou recobrimento, devido ao manuseio a que estão sujeitos os produtos durante a distribuição e comercialização. Filmes devem ser resistentes à ruptura e abrasão, para que possam reforçar a estrutura do produto e facilitar o seu manejo, e devem ser

flexíveis, para que possam se adaptar às possíveis deformações sem se romper (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

A natureza do material filmogênico, sua coesão estrutural e sua estrutura molecular, são responsáveis pelo comportamento mecânico dos filmes (GONTARD, 1991; LAWTON, 1996; CANEVAROLO JR, 2007), classificando-os em termos de rigidez, fragilidade e tenacidade, de acordo com o diagrama de tensão *versus* deformação (Figura7) (CANEVAROLO JR, 2007).

Figura 7 - Curvas típicas de tensão *versus* deformação, obtidas em ensaios de tração para diversos tipos de polímeros classificados de acordo com sua rigidez e tenacidade.

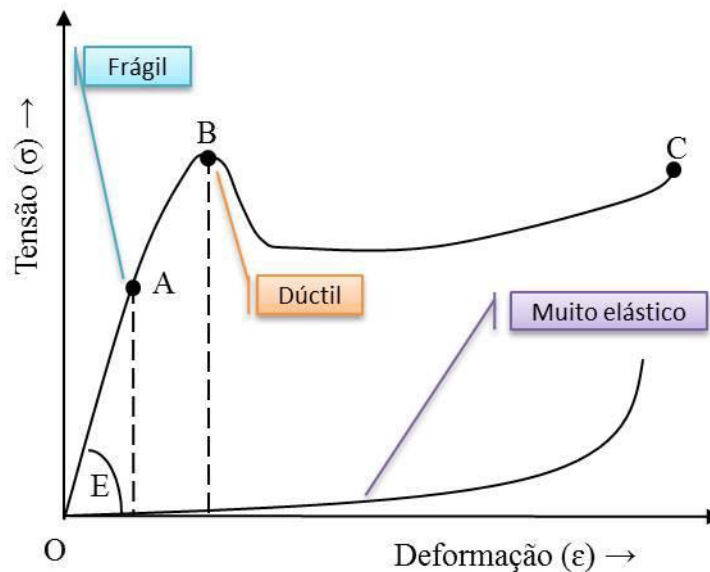


FONTE: CANEVAROLO JR (2007) modificada.

Na Figura 7 são ilustradas as curvas de tensão *versus* deformação sob tração, comportamentos típicos de alguns materiais poliméricos, de acordo com a classificação a seguir (CANEVAROLO JR, 2007): (a) polímeros com elevado módulo de elasticidade e baixa elongação na ruptura. Este material pode ou não escoar antes de sua ruptura. Ex.: resina fenólica; (b) polímeros com elevado módulo de elasticidade, tensão de escoamento e tensão na ruptura, e moderada elongação na ruptura. Ex.: poli(acetais); (c) polímero com elevados módulo elástico, tensão no escoamento, elongação na ruptura e resistência máxima a tração. Ex.: poli(carbonato) (duro e tenaz); (d) polímeros com baixo módulo de elasticidade, baixa tensão de escoamento, porém elevada elongação e tensão no ponto de ruptura. Ex.: poli(etileno); (e) polímeros com baixo módulo de elasticidade e tensão no escoamento, e uma elongação no ponto de ruptura de moderada a elevada. Ex.: poli(tetrafluoretileno) (PTFE), conhecido comercialmente como Teflon[®] (CANEVAROLO JR, 2007).

Os materiais oferecem resistência à força até um ponto máximo (limite elástico). Durante o ensaio de tração os resultados obtidos correspondem à relação entre a força aplicada e as deformações ocorridas durante o desenvolvimento do ensaio, o qual gera no final um gráfico relacionando a tensão e a deformação do material polimérico (Figura 8).

Figura 8 - Curva característica da relação tensão *versus* deformação.



FONTE: MILTZ (1992)modificado.

Observa-se na Figura 8 que, inicialmente, o material oferece resistência crescente à solitação de tração, a qual provoca seu alongamento. O intervalo inicial (O-A) da curva é uma linha reta (tensão diretamente proporcional à deformação) cuja inclinação (E) representa a rigidez do material, o módulo de elasticidade ou módulo de Young. Neste intervalo o polímero se comporta como um material elástico ideal, isto é, se a tensão for removida, o material voltará imediatamente ao seu comprimento inicial. O ponto A, representa o limite de proporcionalidade do material. De A-B, a tensão e a deformação não são mais proporcionais e se a tensão for removida o processo de recuperação é gradual. Na região O-B, diz-se que o material é elástico, ou que apresenta um comportamento elástico, e o ponto B é chamado limite de elasticidade ou ponto de escoamento. Normalmente, a força requerida para deformar a amostra diminui depois do ponto de escoamento (B). Neste ponto o material passa a ser plástico, pois uma vez cessada a tensão estará permanentemente deformado. No decorrer deste processo a força novamente aumenta até, finalmente, a amostra romper no ponto C. A tensão neste ponto de rompimento é normalmente chamada de tensão na ruptura (*tensile*

strength) e a correspondente deformação (expressa em porcentagem), deformação na ruptura (*elongation at break*) (MILTZ, 1992).

Se uma grande deformação plástica ocorrer entre o ponto de escoamento (B) e o ponto de ruptura (C), o material é denominado dúctil. Entretanto, se a ruptura ocorrer logo depois do ponto de escoamento, o material é denominado frágil (SEARS; ZEMANSKY; YOUNG, 1984). Alguns materiais não parecem ter ponto de escoamento a tensão, sem o aparecimento de uma etapa plástica (Figura 8).

As tensões são calculadas através da razão entre a carga ou força e a área de seção transversal do corpo de prova. A tensão de ruptura (MPa) se refere à tensão máxima suportada pelo filme até o momento da ruptura sob as condições de ensaio, a qual depende da velocidade de deformação aplicada, ou seja (CANEVAROLO JR., 2006):

$$TS = \frac{F_{m\acute{a}x}}{A} \quad (1)$$

onde: $F_{m\acute{a}x}$ é a carga máxima necessária (N) e A é a área do corte transversal (m^2) das amostras (CANEVAROLO JR., 2006).

O módulo de Young está diretamente relacionado com a rigidez do polímero e é obtido através da inclinação da curva a baixas deformações (CANEVAROLO JR., 2006):

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} \text{ até } 2\% \text{ de deformação.} \quad (2)$$

O alongamento na ruptura informa sobre a capacidade de alongamento do filme, ou maleabilidade. O autor citado acima explica que as deformações no escoamento e na ruptura definem o poder de escoamento das moléculas poliméricas durante o estiramento e são calculadas através da equação (CANEVAROLO JR., 2006):

$$\varepsilon = \frac{\Delta l}{l_0} \quad (3)$$

onde: $\Delta l = l - l_0$, l é o comprimento da região útil do corpo de prova no instante em que a deformação é medida, e l_0 é o comprimento inicial da região útil (CANEVAROLO JR., 2006).

As propriedades mecânicas para os materiais biopoliméricos são de grande importância e interesse científico e tecnológico, tendo em vista sua fonte de obtenção e sua finalidade de uso. Estes devem seguir a requisitos e/ou exigências que os diversos polímeros existentes impõem para que possam atender a maior parte de suas aplicações. Tais requisitos para avaliação do desempenho mecânico do biopolímero leva em consideração tensão de ruptura (MPa), alongamento na ruptura (%) e módulo elástico (MPa) dentre outros parâmetros que podem servir como base de comparação do desempenho mecânico.

Rodrigues (2012) obteve resultados para filme à base de polissacarídeo (amido, goma de cajueiro) os quais apresentam maiores valores para resistência à tração e menores alongação na ruptura, em relação aos filmes de cera de carnaúba (lipídio) que apresentou um efeito negativo sobre a resistência à tração, devido sua característica quebradiça. Efeito justificado por Palmu (2003) e Petersson e Standing (2005) que demonstraram a influência negativa que materiais hidrofóbicos proporcionam ao filme, no que diz respeito à redução à resistência. De acordo com Andreuccetti, Carvalho e Grosso (2009, 2010), os resultados da alongação de filmes com plastificantes hidrofóbicos é bem menor quando comparados aos plastificantes hidrofílicos, devido à complexidade da cadeia e as fortes ligações.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Foram utilizados para a elaboração da camada hidrofílica do filme, gelatina comercial sem sabor e incolor (Royal) com *Bloom* 240 e, ácido ascórbico L(+) PA ACS (VETECTM) com ação antioxidante. Para a camada hidrofóbica, utilizou-se fécula de batata comercial (Yoki) como matriz biopolimérica, óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) fornecido pela PRONAT (Produtos Naturais Ltda., Horizonte/CE) como antimicrobiano natural; e, éster de monoglicerídeo de ácido acético (lipídio) (éster de monoglicerídeo de ácido acético 90-50 GRINDSTED®KOSHER, Danisco) como melhorador das características de hidrofobicidade e retentor de umidade. Para melhorar as propriedades mecânicas e estruturais do filme, incorporou-se D(-) sorbitol (VETECTM).

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Embalagens de Alimentos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA – Agroindústria Tropical – localizada na cidade de Fortaleza-CE

4.2 Testes preliminares

Foram realizados testes preliminares de acordo com o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), cujos parâmetros avaliados foram concentração de plastificante (28 a 42%, m/m) e éster de monoglicerídeo de ácido acético (lipídio, 18 a 32%, m/m). O DCCR foi composto por 4 pontos fatoriais, 4 pontos axiais e 3 pontos centrais, totalizando 11 ensaios. Os dois fatores independentes foram investigados em cinco diferentes níveis (-1,41, -1, 0, +1, +1,41) (Tabela 4).

Tabela4 - Delineamento fatorial completo 2² para elaboração do filme em bicamada, em relação à base seca (m/m).

ENSAIO	Variáveis codificadas		Variáveis reais ^a	
	X ₁	X ₂	%PLST	%LP
01	+1,00	+1,00	40,0	30,0
02	-1,00	+1,00	30,0	30,0
03	+1,00	-1,00	40,0	20,0
04	-1,00	-1,00	30,0	20,0
05	+1,41	0,00	42,0	25,0
06	0,00	-1,41	35,0	18,0
07	-1,41	0,00	28,0	25,0
08	0,00	+1,41	35,0	32,0
09(C*)	0,00	0,00	35,0	25,0
10(C)	0,00	0,00	35,0	25,0
11(C)	0,00	0,00	35,0	25,0

^aValor percentual de %LP= %lipídio (éster de monoglicerídeo de ácido acético); %PLST= %plastificante (D(-)sorbitol) em relação a base seca (m/m). *Representa o composto central determinado no DCCR.

Os ensaios foram avaliados segundo os parâmetros para a composição do Delineamento Experimental: (1) a não formação do sobrenadante lipídico na solução filmogênica; (2) formação de filme em mono e bicamada com estrutura homogênea, não quebradiça, sem exsudação de lipídio em sua superfície ou em sua base; (3) a não dissociação das camadas quando submersos em água destilada.

4.3 Avaliação da ação do antimicrobiano natural

4.3.1 Teste de Difusão em ágar para a Concentração Inibitória Mínima (CIM)

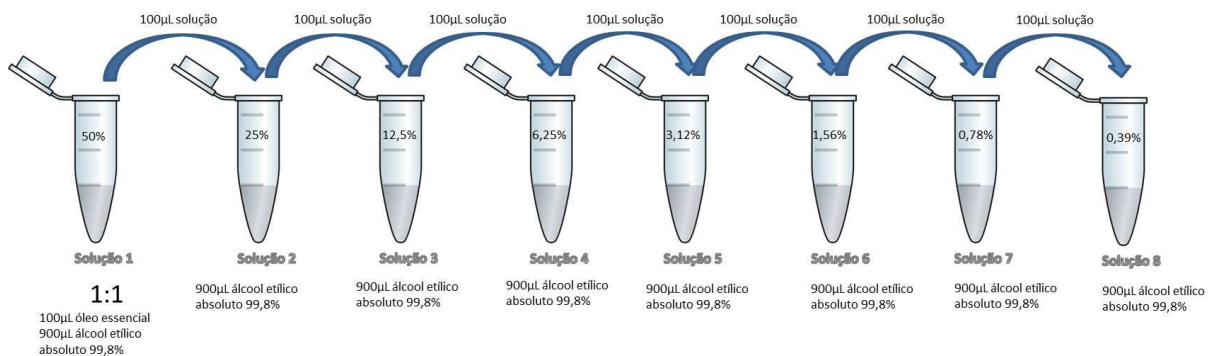
4.3.1.1 Preparo do meio de cultura e diluições do óleo essencial

Utilizou-se 50 mL do ágar Müller-Hinton (Becton Dickinson, EUA) e 50 mL de ágar BHI (*brainheartinfusion*, MERK, Marcy l'Etoile, France) estéril a 121°C/15min, vertido

em placas de Petri estéreis e descartáveis (150mm x 15mm), deixando-o solidificar a temperatura ambiente dentro de fluxo laminar horizontal (NCCL, 2003).

O óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippiasidoides*) foi diluído em álcool etílico absoluto 99,8% P.A. ACS (VETEC) nas proporções 1:1 (v/v) (solução 1). Em seguida, foi retirada uma alíquota de 100µL da solução 1 e, colocada em 900µL de álcool etílico, formando a solução 2 com 25% de óleo essencial na solução. As demais proporções de: 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78% e 0,39%, seguiram o mesmo princípio (Figura 9).

Figura 9 - Esquema de diluição fracionada do óleo essencial em álcool etílico absoluto 99,8%.



FONTE: AUTOR.

4.3.1.2 Micro-organismos

Foram utilizados $1,5 \times 10^8$ UFC/mL aproximadamente de suspensão bacteriana em caldo BHI, o inóculo correspondente ao padrão 0,5 da escala de MacFarland (BIOMERIEUX Inc. Darmstadt, Germany) de micro-organismos patógenos relacionados com as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) de maior incidência, *Salmonella* entérica subsp. *enterica* serovar Typhimurium (ATCC[®] 51812) e *Listeria monocytogenes* (ATCC[®] 7644); indicadores de contaminação quanto à falha no processo de manipulação segura e higiênico-sanitária, *Staphylococcus aureus* (ATCC[®] 25923) e *Escherichia coli* (ATCC[®] 10436); e, micro-organismo deteriorante de alimentos resfriados, *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC[®] 9027) adquiridas da Microbiologics[®] (Saint Cloud, MN, USA).

Todos os micro-organismos foram estriados nas placas de Petri, individualmente, deixando-as secar em fluxo-laminar por 15 minutos para que ocorresse a absorção pelo meio de cultura.

4.3.1.3 Preparo das placas para o teste “in vitro”

Foram perfurados, assepticamente, poços de 5 mm de diâmetro perfurados assepticamente, sobre a superfície das placas de Petri já inoculadas e estriadas com os micro-organismos acima descritos. Em cada poço, foram adicionados 25 µL das soluções de álcool etílico/óleo essencial (Figura 9). As soluções estéreis de álcool etílico e amicacina (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, EUA - 1,2 mg/mL) foram utilizadas como controles negativo e positivo, respectivamente.

As placas com o meio de cultura estéril e as soluções distintas de óleo essencial, ficaram em repouso no fluxo laminar por, aproximadamente 20 a 30 minutos para que ocorresse a difusão do antimicrobiano. Em seguida, foi levado para B.O.D. e incubado durante 24 horas a 35°C. Decorrido o tempo, as placas foram submetidas à avaliação visual na formação das zonas de inibição circundantes dos poços (NCCL, 2003).

4.3.2 Teste do antimicrobiano no filme (Teste de difusão em ágar)

A avaliação da atividade antimicrobiana na solução filmogênica foi realizada por meio da elaboração de filmes pela metodologia de *casting*. Utilizaram-se discos dos filmes com 22 mm de diâmetro, os quais tinham adicionados as suas composições, as diluições de 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78% e 0,39% da solução de óleo essencial/álcool etílico. Os discos foram fixados na superfície do ágar inoculado com os micro-organismos anteriormente citados e, incubou-se a 35°C por 24 horas. Após a incubação, as zonas de inibição em torno de cada disco foram medidas, assim como a inibição no ponto de contato do disco com o meio (NCCL, 2003).

4.4 Delineamento Experimental

Após a avaliação dos filmes elaborados na etapa de teste preliminar, foram definidos os percentuais de D(-)-sorbitol com ação plastificante, de 40% m/m, e éster de monoglicerídeo de ácido acético com variação de 5%, 10%, 15% e 20% m/m, como mostra a Tabela 5, com controle, sem a presença do lipídio tanto na estrutura monocamada como bicamada.

Tabela 5 -Delineamento Experimental de elaboração dos filmes monocamadas e bicamadas.

TRATAMENTOS	SIGLA	Lipídio (% m/m)
Monocamada de gelatina ¹	MG	-
Monocamada de amido sem lipídio ²	MFsL	-
Bicamada de gelatina e amido, sem o lipídio ³	BsL	Controle
Monocamada de amido com 5,0% de lipídio	MF5L	5,0
Bicamada com 5,0% de lipídio	B5L	5,0
Monocamada de amido com 10,0% de lipídio	MF10L	10,0
Bicamada com 10,0% de lipídio	B10L	10,0
Monocamada de amido com 15,0% de lipídio	MF15L	15,0
Bicamada com 15,0% de lipídio	B15L	15,0
Monocamada de amido com 20,0% de lipídio	MF20L	20,0
Bicamada com 20,0% de lipídio	B20L	20,0

¹Monocamada de gelatina com 300ppm de ácido ascórbico;²Amostra controle da monocamada;

³Amostra controle da bicamada.

4.5 Preparo das soluções filmogênicas

Foram realizadas duas soluções para elaboração do filme em bicamada proposto por Kester e Fennema (1989). Para a primeira camada, chamada hidrofílica ou camada proteica, utilizou-se gelatina sem sabor e incolor comercial, hidratada em água destilada por 5 minutos, com posterior solubilização à $80^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, por 15 minutos em chapa aquecedora (IKA®C-MAG, HS7), sob constante agitação de 200 rpm. Em seguida, a solução foi resfriada à temperatura de $39^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, para a incorporação do ácido ascórbico, agitando por 3 minutos a 100 rpm (filme com depósito em patente nº BR1020150297700).

Para a segunda camada, chamada hidrofóbica ou camada lipídica, usou-se um polissacarídeo vegetal, fécula de batata comercial, diluído em água destilada, na proporção de 1:10, em chapa aquecedora (IKA®C-MAG, HS7) à $63^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ sob agitação de 3000 rpm. Ao iniciar a formação do gel, foi levado ao banho-maria à 60°C por 15 minutos para degradação do amido. Em seguida, incorporou-se manualmente o éster de monoglicerídeo de ácido acético e a solução de óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) na solução de amido. Os valores percentuais do lipídio e da solução de óleo essencial foram calculados em relação ao volume da solução filmogênica da segunda camada. E, por último, foi incorporado

o plastificante, 40% m/m de D(-) sorbitol. Logo após, a mistura foi levada ao Turrax (UltraTurrax®) para máxima homogeneização à 12.000 rpm por 3 minutos (filme com depósito em patente nº BR1020150297700).

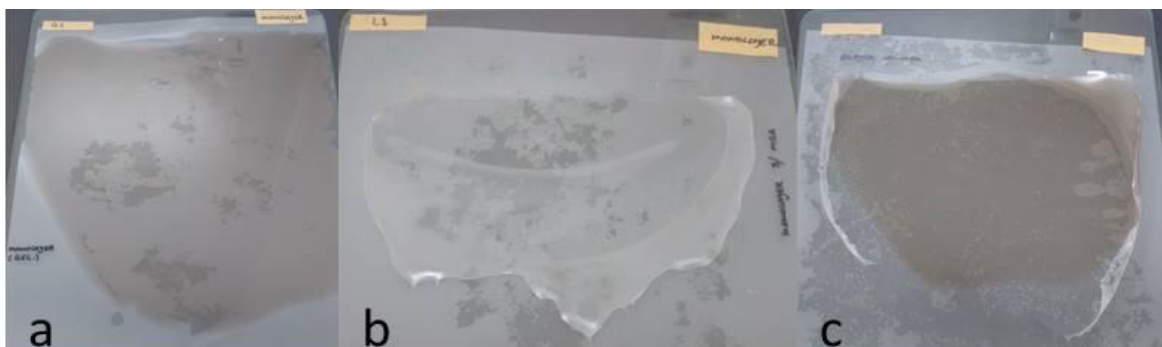
Após a homogeneização, a solução foi encaminhada ao kitassato para a realização da etapa de degaseificação em bomba a vácuo (Vacuum Pump V-700 – BÜCHI-Switzerland) à pressão de 30 a 45 mbar, com o auxílio do banho ultrassônico (Ultra Cleaner 750 – Unique) de 25 kHz por 15 minutos (filme com depósito em patente nº BR1020150297700).

4.6 Obtenções das camadas dos filmes

Os filmes biodegradáveis mono e bicamadas, com e sem éster de monoglicerídeo de ácido acético e gelatina foram elaborados pelo método de *casting* (espalhamento) sob uma superfície de vidro de aproximadamente 30 cm², na qual havia uma película de Mylar (filme poliéster) com as mesmas dimensões da placa de vidro aderida em sua superfície. Para modelagem e padronização, foi utilizada uma barra regulável *casting* Knife (BYK-Gardner) de acordo com a ASTM D823-53(2012).

As camadas foram obtidas com espessura de 0,8 mm cada, reguladas na barra Knife sendo, a primeira camada hidrofílica e, após 20 min à temperatura de 25°C ± 1°C sob 60-70% umidade, sobre bancada de granito, foi obtida a segunda camada hidrofóbica, sobreposta à primeira, nas mesmas condições de espessura (Figura 10).

Figura 10 - Disposição das camadas sob a superfície da placa de vidro + a película Mylar, onde (a) representa a camada apenas de gelatina + ácido ascórbico; (b) monocamada de amido sem incorporação de lipídio e (c) a bicamada (sobreposição de camadas), gelatina e amido, sem incorporação de lipídio.



FONTE: AUTOR.

4.7 Propriedades físicas

4.7.1 Cor

A cor das amostras do filme foi determinada, utilizando um colorímetro (Konica MINOLTA, modelo CR-400), realizando-se nove leituras para cada tratamento. A cor foi expressa como L* (luminosidade/brilho), a* (do vermelho ao verde) e b* (do amarelo ao azul), C* (saturação) e ângulo h (tonalidade e matiz) utilizando o sistema CIE Lab (JHA, 2010). Foram feitas medições em todos os tratamentos (gelatina e variações de mono e bicamadas com e sem éster de monoglicerídeo de ácido acético). As análises de cor foram realizadas sob luz ambiente e superfície branca, a mesma utilizada para calibrar o equipamento de acordo com o fabricante.

4.7.2 Opacidade

A opacidade dos filmes foi determinada de acordo com o método proposto por Gontard, Gontard e Cuq (1992), utilizando espectrofotômetro (VARIAN, modelo Cary50). Os filmes foram cortados em formato retangular (4 x 1 cm), colocados dentro de uma cubeta transparente de vidro aderidos à parede interna. Foi varrida a faixa do comprimento de onda da luz visível, entre 400 e 800nm.

O espectro foi calibrado com a cubeta sem amostra, como 100% de transmitância. As medidas foram realizadas em triplicata. A opacidade aparente foi definida como a área sob a curva da absorbância *vs.* comprimento de onda, determinada por integração, expressa como unidades de absorbância x nanômetros (A.nm).

4.7.3 Espessura

A espessura dos filmes foi determinada de acordo com Oliveira et al. (1996), utilizando-se um micrômetro digital (resolução 0,001mm) MITUTOYO, modelo Digimatic Micrometer. A espessura foi fixada como sendo a média aritmética de, no mínimo, dez medidas aleatórias sobre a área total do filme.

4.7.4 Umidade

Foi determinado o conteúdo de umidade em 50 mg de filme seco à 105°C durante 24 horas (até atingir constância na medida da perda de massa). A perda de massa da amostra foi determinada, para que fosse avaliado o conteúdo de umidade, calculado por meio da seguinte equação (CERQUEIRA et al., 2012):

$$\text{Conteúdo de Umidade (\%)} = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100 \quad (4)$$

Onde M_i e M_f representam a massa inicial e massa final (amostra seca), respectivamente.

4.7.5 Solubilidade

A solubilidade em água foi determinada segundo metodologia proposta por Gontard et al. (1994) com modificações. A massa seca inicial de uma amostra de filme de 2,2 cm de diâmetro foi determinada em função de sua umidade em uma estufa com circulação de ar (Quimis, modelo Q-31 4M222), mantida a 105 °C por 24 h. As amostras foram imersas em 50 mL de água destilada e o sistema foi mantido sob agitação lenta e periódica a 76 rpm, a 25 °C, durante 24 h, em mesa agitadora orbital (TECNAL, modelo TE 420). Após este período, as amostras foram retiradas da água por filtração simples e a massa seca final foi determinada nas mesmas condições descritas para obtenção da massa seca inicial. A solubilidade em água foi expressa em porcentagem de material solubilizado, calculada a partir dos resultados em triplicata, por meio da Equação 5.

$$\text{Solubilidade (\%)} = \left[\frac{(M_{sf} - M_{si})}{M_{sf}} \right] \times 100 \quad (5)$$

Onde: M_{si} é a massa seca inicial do filme e M_{sf} é a massa seca final do filme não solubilizado.

4.8 Morfologia dos filmes

4.8.1 Determinação do tamanho médio e polidispersividade das partículas

A distribuição do tamanho das partículas foi determinada nas soluções filmogênicas de MG, MFsL e MF10L, utilizando um Zetasizer Nano Series (Malvern Instruments, Reino Unido), o qual utiliza o princípio da difração do raio laser. As amostras foram diluídas na proporção de 1:10.000 (AOUADA, 2009) e as medidas realizadas em triplicata a 25°C,

4.8.2 Análise do potencial zeta (ζ)

A carga superficial das partículas ou potencial zeta(ζ) foi analisada por Zetasizer Nano Series (Malvern Instruments, Reino Unido), o qual utiliza o princípio da difração do raio laser. As amostras foram diluídas na proporção de 1:10.000 (AOUADA, 2009) e as medidas realizadas em triplicata a 25°C,

4.8.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A análise morfológica dos filmes foi realizada em microscópio eletrônico MEV Zeiss DSM, modelo 940A. Os tratamentos de filmes utilizados para leitura foram MG (filme monocamada de gelatina), MFsL (filme composto monocamada sem éster de monoglicerídeo de ácido acético), BsL (filme bicamada sem éster de monoglicerídeo de ácido acético), MF10L (filme composto monocamada com 10% de éster de monoglicerídeo de ácido acético) e B10L (filme bicamada com 10% de éster de monoglicerídeo de ácido acético), os quais foram depositados em *stubs* contendo fita dupla face de carbono, condutora, para incidir o feixe de elétrons e metalizadas com platina (60nm de espessura, Emitech) em evaporadora EMS e observada a uma voltagem de aceleração de 15kV (CANUTO et al., 2015). Os filmes bicamadas foram colocados em posição vertical, também, para observação da dupla camada.

4.8.4 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

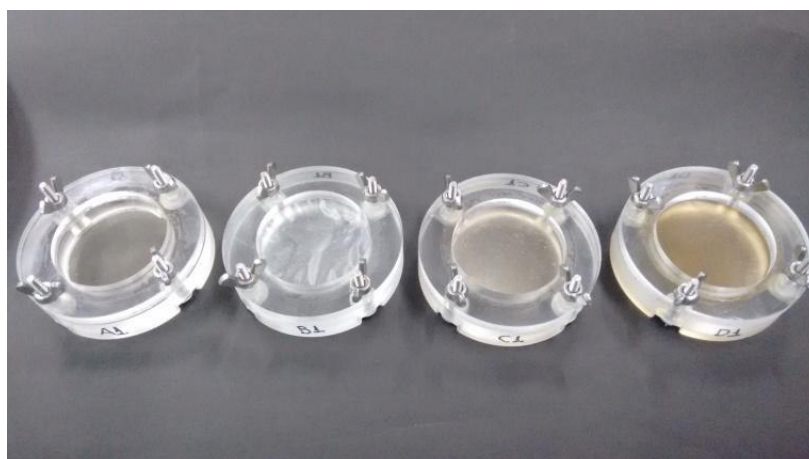
Os espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) foram obtidos em um espectrofotômetro Agilent, modelo Cary 660. Os filmes foram medidos quanto à transmitância, em módulo de ATR, na faixa de 650 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} . Para os filmes bicamadas, foram realizadas leituras na camada superior e inferior do filme, enquanto nos filmes monocamadas, apenas na parte superior (CRUZ, 2014).

4.9 Propriedade de barreira

4.9.1 Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi determinada por meio do método gravimétrico segundo método ASTM E96-00 (ASTM, 2000). Foram utilizadas células de permeação com 49 mm de diâmetro e 13,2 mm de altura (Figura 11) contendo 6 mL de água destilada, mantendo um espaço livre na célula de aproximadamente 10 mm de altura.

Figura 11- Células de permeação com filmes de gelatina (MG), amido sem lipídio (MFsL), bicamada sem lipídio (BsL) e bicamada com 5% de lipídio (B5L), respectivamente no sentido da esquerda para a direita.



FONTE: AUTOR.

Os filmes em formato de disco foram selados no topo das células, as quais foram colocadas em dessecador vertical ARSEC DCV-040 com circulação de ar, contendo sílica gel

(0% UR) previamente seca a 105°C por 24 horas. Foram feitas 5 repetições para cada tratamento. As células foram mantidas a 25°C e 30% UR durante aproximadamente 24 horas e pesadas 8 vezes ao longo do tempo, com intervalos de no mínimo, 1 hora. O ganho de peso foi plotado em função do tempo. Para os filmes bicamadas, a parte que ficou na área com maior umidade, correspondeu à camada hidrofóbica, ou seja, o filme de gelatina.

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi definida como sendo:

$$PVA \text{ (g. mm/m}^2 \cdot \text{h. kPa)} = \frac{g \times e}{A \times t \times \Delta P} \quad (6)$$

Em que PVA é a permeabilidade ao vapor de água (g. mm/m².h.kPa); g é o ganho de peso dos filmes; t é o tempo total em horas; A é a área de permeação (m²); e espessura média dos filmes (mm); ΔP é a diferença de pressão de vapor do ambiente contendo sílica gel (kPa, 25 °C); g/t foi calculada por regressão linear entre os pontos de ganho de peso e tempo (regime permanente). Foram realizadas cinco repetições para cada tratamento.

4.10 Propriedades Mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes foram determinadas pelos testes de tração. Antes da realização dos testes, os filmes foram acondicionados em um dessecador contendo nitrato de magnésio hexahidratado, para mantê-los em um ambiente com umidade relativa e temperatura em torno, respectivamente, de 50% \pm 5% e, 24 °C \pm 2°C, no mínimo 40 horas.

Os testes foram conduzidos de acordo com o método ASTM D882-00 (ASTM, 2000). Os filmes foram cortados em uma prensa estampadora Ceast (modelo pneumática). Os testes foram realizados com 5 corpos de prova para cada amostra.

O equipamento utilizado para análise foi o EMIC (Máquina Universal de Ensaio, modelo DL-3000), com uma célula de carga de 100 N. A velocidade de tracionamento utilizada foi de 10 mm/min, sendo a distância inicial entre as garras de 50 mm.

De acordo com a normatização citada, os filmes foram avaliados em relação à resistência à tração (σ), alongação na ruptura (ϵ) e módulo de elasticidade em tração ou módulo de Young. A resistência à tração (σ), dada em MPa, foi determinada medindo-se a força necessária para romper o filme dividida pela área da seção submetida à tração. Os valores de σ foram calculados utilizando a Equação 7.

$$\sigma = \frac{F}{A} \quad (7)$$

onde F é o valor da força (N) de ruptura exercida e A (m²) é a área seccional do filme.

A deformação (ε) das amostras (alongação na ruptura) foi determinada pela Equação 8.

$$\varepsilon = \frac{L-L_0}{L_0} \quad (8)$$

onde L L₀ são os comprimentos de alongação do filme durante o experimento e o comprimento inicial, respectivamente.

A alongação na ruptura é o incremento da distância entre marcas a um determinado estágio de extensão (L) relativo ao comprimento original (L₀). É geralmente expressa em percentual (%), foi determinada pela Equação 9.

$$\Delta L = \frac{L}{L_0} \times 100 \quad (9)$$

O módulo de Young ou módulo de elasticidade foi calculado a partir da inclinação inicial (região de deformação elástica) da curva obtida tensão-deformação entre 0 e 1% de alongamento. Em termos práticos, o módulo de Young ou módulo de elasticidade é um indicador da rigidez do material, sendo que, quanto maior o módulo, mais rígido é o material.

4.11 Propriedade termoanalítica

4.11.1 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A análise térmica dos filmes foi realizada no calorímetro diferencial de varredura DSC Q20 Universal v4.7a (TA Instruments). O peso das amostras foi de, aproximadamente, 2,0 ± 0,2mg, utilizando-se cápsulas de alumínio que foram seladas. As temperaturas de transição vítrea (T_g) e temperatura de fusão (T_m) dos materiais foram analisadas de acordo com Wang, Yang e Wang (2003). As análises foram realizadas em atmosfera de nitrogênio a uma vazão de 50 mL/minuto; razão de aquecimento e resfriamento de 10 °C/minuto. Foi realizado um ciclo das amostras submetidas à faixa de temperatura de 25 °C a 400°C.

4.12 Análise estatística

Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação das médias, adotando-se o nível de significância de 5% ($p < 0,05$), além de análise de correlação e de regressão. Todas as análises foram realizadas pelo programa estatístico Statistic® versão 10 (StatSoft.Inc., 2011) para ambiente Windows.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação da ação do antimicrobiano natural

5.1.1 Teste de difusão em ágar para a Concentração Inibitória Mínima (CIM)

O óleo essencial (OE) de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) mostrou-se eficiente nas inibições do crescimento dos micro-organismos *in vitro*, cuja menor concentração utilizada para o teste CIM foi de 0,39% em relação ao volume da solução (Tabela 6) através dos halos de inibição formados.

Tabela 6- Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial do alecrim-pimenta contra cinco estirpes bacterianas. Os valores foram expressos em milímetros (mm).

Concentração óleo (%)	Micro-organismos				
	Gram positivas		Gram negativas		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella Typhimurium</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i>
Tamanho do halo (mm)					
0,39	9,2 ± 1,0 ^{dA}	10,5 ± 1,0 ^{bA}	9,2 ± 1,0 ^{bA}	10,2 ± 1,7 ^{fA}	11,0 ± 1,1 ^{eA}
0,78	9,7 ± 1,5 ^{dB}	11,0 ± 0,8 ^{bAB}	11,2 ± 0,5 ^{bAB}	12,5 ± 1,3 ^{efAB}	13,0 ± 2,2 ^{deA}
1,56	10,7 ± 1,0 ^{dA}	13,7 ± 2,1 ^{bA}	15,0 ± 3,4 ^{abA}	14,7 ± 1,0 ^{defA}	14,2 ± 1,7 ^{deA}
3,12	12,7 ± 1,7 ^{bdA}	18,7 ± 6,0 ^{abA}	15,2 ± 2,2 ^{abA}	17,5 ± 0,6 ^{deA}	18,0 ± 3,6 ^{bdeA}
6,25	22,7 ± 4,5 ^{bA}	34,7 ± 12,2 ^{acA}	27,0 ± 12,6 ^{acA}	19,0 ± 0,8 ^{dA}	20,7 ± 6,4 ^{bcdA}
12,50	34,2 ± 8,5 ^{cA}	37,2 ± 13,3 ^{acA}	35,2 ± 9,9 ^{cA}	25,0 ± 2,6 ^{cA}	23,7 ± 5,0 ^{bcA}
25,0	36,5 ± 7,8 ^{cAB}	43,5 ± 7,0 ^{cA}	38,0 ± 5,5 ^{cAB}	29,0 ± 3,2 ^{bcB}	27,2 ± 4,1 ^{cB}
50,0	37,2 ± 4,3 ^{cAB}	50,7 ± 11,8 ^{cA}	40,2 ± 7,8 ^{cAB}	32,2 ± 5,4 ^{bB}	26,2 ± 0,5 ^{cB}
Controle*	48,2 ± 1,0 ^{aA}	43,7 ± 2,9 ^{cB}	39,7 ± 2,2 ^{cC}	39,5 ± 1,3 ^{aC}	43,7 ± 1,0 ^{aB}

Zona de inibição expressa como diâmetro em milímetro (mm). Os valores representam média ± desvio padrão de zonas de inibição de dois experimentos. Letras minúsculas iguais sobrescritas na mesma coluna indicam não haver diferença significativa ($p < 0,05$) entre as concentrações. Letras maiúsculas iguais sobrescritas na mesma linha indicam não haver diferença significativa entre os micro-organismos. *Controle: amicacina.

A Tabela 6 mostra que todos os micro-organismos avaliados são sensíveis a solução de óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*), sendo que as Gram negativas são menos sensíveis em relação às Gram positivas. Observa-se que houve formação de halo de inibição maior para *Staphylococcus aureus* (ATCC[®] 25923) e, menor para *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC[®] 9027) com 50,7 mm e 26,2 mm, respectivamente, quando comparamos com o controle (amicacina de amplo espectro) nos mesmos micro-organismos, 43,7 mm em ambos. O Apêndice A ilustra a formação dos halos de inibição das diferentes concentrações de óleo essencial de alecrim-pimenta e do antibiótico utilizado como controle, amicacina.

O controle realizado com antibiótico amicacina permite verificar que a capacidade de inibição de crescimento dos micro-organismos em estudo, pelas soluções de óleo essencial é alta, quando comparado ao antibiótico. É importante mencionar que os resultados obtidos neste estudo não sofreram influência da diluição do óleo essencial em álcool etílico 99,8% (1:1), pois o controle com álcool 99,8% (controle negativo) não apresentou inibição no crescimento dos micro-organismos em estudo (Apêndice A).

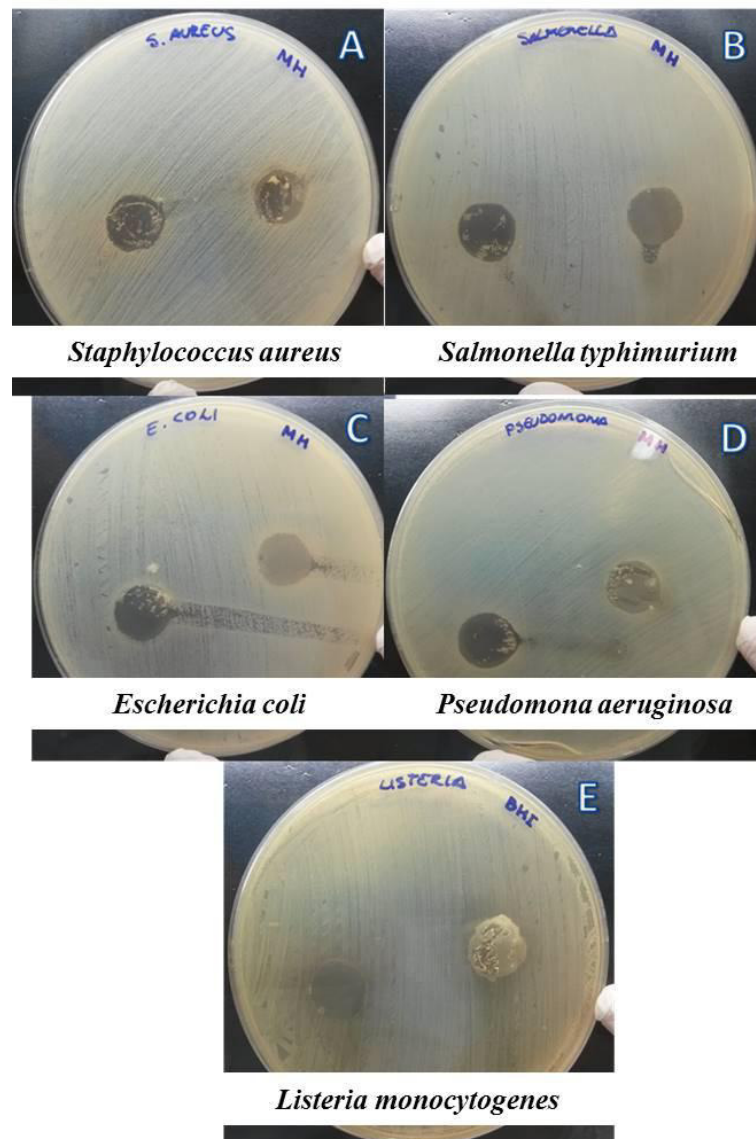
Para Ribeiro (2008), não existe um consenso sobre o nível aceitável para extratos/óleos essenciais de plantas quando comparados com antibióticos padrões. Para Porte e Godoy (2001) é necessário determinar a composição química do óleo essencial para aproveitar suas potencialidades e aplica-lo corretamente.

No caso específico do óleo essencial de alecrim-pimenta, a forte atividade antimicrobiana é associada ao seu principal constituinte, o timol, composto fenólico com atividade antimicrobiana e antisséptica, a qual está entre as substâncias naturais mais requisitadas por diferentes setores industriais, dentre eles os de química e de cosméticos (CRAVEIRO et al., 1981; MATOS; OLIVEIRA, 1998), pois este desintegra a membrana externa presente na parede de bactérias Gram negativas, liberando os lipopolissacarídeos (LPS) e aumentando a permeabilidade da membrana citoplasmática ao ATP (HELANDER et al., 1998).

5.1.2 Teste de difusão em ágar do antimicrobiano no filme

Os resultados obtidos para o teste de difusão em ágar do óleo essencial de alecrim-pimenta são mostrados na Figura 12, onde é possível observar que não houve formação de halo, somente inibição de crescimento na área de contato do filme com o meio de cultura.

Figura 12–Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim-pimenta nos filmes biopoliméricos, para os seguintes micro-organismos: (A) *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923); (B) *Salmonella typhimurium* (ATCC 51812); (C) *Escherichia coli* (ATCC 10536); (D) *Pseudomona aeruginosa* (ATCC 9027); e, (E) *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644).



FONTE: AUTOR.

Apesar da ação comprovada de 0,39% (v/v) de CIM do óleo essencial de alecrim-pimenta na inibição antimicrobiana *in vitro*, foi necessário aumentar a concentração da solução de óleo essencial para a realização do teste antimicrobiano no filme bicamada, devido aos constituintes do mesmo que vieram a promover interações e possíveis barreiras, as

quais não permitiram que o óleo migrasse do filme para o meio de cultura, a fim de inibir os micro-organismos que circundavam o filme. Também foi considerado fator de seleção da concentração inibitória mínima, a concentração do óleo essencial que não viesse a precipitar o lipídio (éster de monoglicerídeo de ácido acético) na solução filmogênica, critério de seleção mencionado no item 4.2. A concentração do óleo essencial de alecrim-pimenta passou a ser de 3,12% (v/v) calculado sobre o volume da solução filmogênica.

A grande complexidade das cadeias poliméricas, a elaboração do filme em bicamada, o uso de constituintes distintos como proteínas, lipídios e polissacarídeos que formam a matriz polimérica do filme bicamada, em contrapartida aos coadjuvantes (plastificante e antioxidante), podem ter proporcionado a não formação do halo de inibição, com possíveis efeitos sinérgicos junto ao óleo essencial. Segundo COMA (2008), acredita-se em uma possível ação bacteriostática ou bactericida sobre a superfície da placa de Petri, de modo que a atividade antimicrobiana ocorra com maior intensidade da superfície de contato.

Podemos considerar que o efeito bactericida não foi devido à influência do óleo essencial, mas, possivelmente, devido a alta barreira ao gás oxigênio, sendo que os micro-organismos analisados possuem as seguintes características quanto à presença de oxigênio para o seu desenvolvimento, segundo Jay, Loessner e Golden (2005): a) *Staphylococcus aureus*: aeróbico, anaeróbico facultativo; b) *Salmonella Typhimurium*: anaeróbico facultativo; c) *Escherichia coli*: aeróbica, anaeróbica facultativa; d) *Pseudomonas aeruginosa*: aeróbica estrita; e) *Listeria monocytogenes*: aeróbica, anaeróbica facultativa. Assim como, não descartando a possibilidade da insolubilidade do óleo essencial de alecrim-pimenta em água, impedindo com que o óleo migrasse para a superfície da placa.

Em experimento realizado por Feitosa (2005), o OE da *Lippia sidoides* teve efeito bactericida na concentração de 20 mg/mL sobre *S. aureus* e *E. coli*, confirmando a atividade bactericida desse extrato vegetal.

5.2 Propriedades físicas dos filmes

5.2.1 Cor

A cor dos filmes, apresentou resultados distintos entre os tipos de filmes, monocamada (MF) e bicamadas (B), com diferença estatística ($p < 0,05$) (Tabela 7).

Tabela 7- Colorimetria dos filmes monocamada de fécula (MF) e bicamada (B) com diferentes concentrações de lipídio (éster de monoglicerídeo de ácido acético) e óleo essencial de alecrim-pimenta e, filme de gelatina.

[MGA] (%)**	COLORIMETRIA									
	L*		a*		b*		C*		Hue	
	MF	B	MF	B	MF	B	MF	B	MF	B
0	95,55±0,10 ^{bA}	84,16±0,50 ^{aB}	-0,35±0,02 ^{aB}	3,56±0,33 ^{bA}	3,09±0,07 ^{aB}	17,21±1,11 ^{cA}	3,11±0,07 ^{aB}	17,58±1,10 ^{cA}	96,41±0,28 ^{aA}	78,29±1,22 ^{cB}
5	95,45±0,24 ^{abA}	78,86±0,69 ^{bB}	-0,29±0,03 ^{bB}	4,00±0,76 ^{bA}	2,98±0,09 ^{aB}	34,08±1,93 ^{bA}	2,99±0,10 ^{bB}	34,32±1,89 ^{bA}	95,59±0,44 ^{bA}	83,27±1,46 ^{aB}
10	95,72±0,26 ^{bA}	74,85±1,86 ^{cB}	-0,29±0,03 ^{bB}	5,53±1,02 ^{bA}	3,12±0,32 ^{aB}	42,35±2,26 ^{aA}	3,02±0,09 ^{abB}	42,71±2,37 ^{aA}	95,62±0,56 ^{bA}	82,61±1,02 ^{abB}
15	95,19±0,24 ^{aA}	71,71±4,18 ^{dB}	-0,25±0,06 ^{bB}	8,13±3,31 ^{aA}	3,01±0,09 ^{aB}	46,74±3,31 ^{dA}	3,02±0,09 ^{abB}	47,51±3,80 ^{dA}	95,19±0,64 ^{bA}	80,35±3,29 ^{bcB}
20	na/nf ^{***}	70,19±1,67 ^d	na/nf	9,30±1,53 ^a	na/nf	49,26±2,13 ^d	na/nf	50,14±2,31 ^d	na/nf	79,29±1,34 ^c
MG	86,31±1,41		4,8±0,75		11,88±1,62		12,81±1,78		68,04±0,48	

Percentual de concentração de éster de monoglicerídeo de ácido acético; *A amostra não foi analisada por não formar filme; MG (filme monocamada de gelatina com 300ppm de ácido ascórbico); MF (filme monocamada de amido); B (filme bicamada); Os valores representam as médias ± desvio padrão, pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% (p < 0,05); letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa entre as médias; letras maiúsculas iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa entre as médias para o parâmetro analisado.

Observa-se na Tabela 7, que os filmes monocamadas de amido com diferentes concentrações de lipídio apresentaram valores de L^* acima de 95, com diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos MFsL ($95,55 \pm 0,10$) e MF15L ($95,19 \pm 0,24$), possivelmente, devido a concentração de lipídio, possibilitando a redução da sua luminosidade; ou devido o processo de gelificação do amido não ter sido suficiente, associado ao uso de éster de monoglicerídeo de ácido acético, formando uma pasta opaca. Dessa forma, pode-se evidenciar que os filmes monocamadas de amido apresentam maior luminosidade. Foi observado também, que nos filmes bicamadas houve uma redução significativa ($p < 0,05$) nos valores de luminosidade (L^*) das amostras com o aumento da concentração do lipídio nas formulações, de $84,16 \pm 0,50$ (BsL) para $70,19 \pm 1,67$ (B20L).

Com relação aos valores de a^* e b^* , a diferença na concentração do lipídio não apresentou influência nesses parâmetros ao nível de significância de 5% para os filmes monocamadas, mas os tratamentos em bicamadas apresentaram tendência à coloração vermelha e amarela, respectivamente, com o aumento da concentração de lipídio na formulação, com valores a^* variando de $3,56 \pm 0,33$ (BsL) para $9,30 \pm 1,53$ (B20L), e, os valores de b^* , variando de $17,21 \pm 1,11$ (BsL) a $49,26 \pm 2,13$ (B20L), indicando tendência à tonalidade vermelha (Tabela 7).

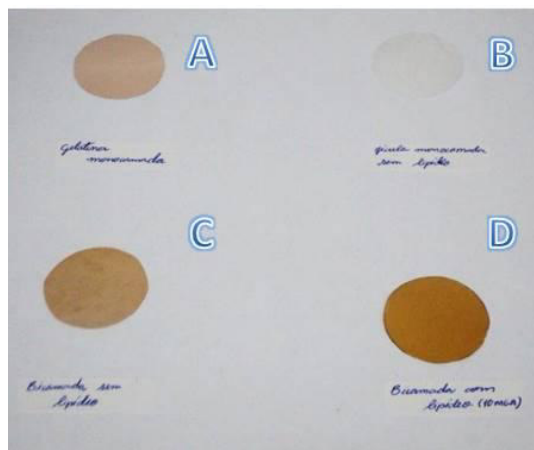
Para os filmes monocamadas, o Chroma (C^*) decresceu com o aumento da concentração de éster de monoglicerídeo de ácido acético, promovendo a redução da cor cinza, deixando os filmes mais claros, com menor saturação. Já os filmes bicamadas, o C^* (Chroma) aumentou de $17,58 \pm 1,10$ (BsL) para $50,14 \pm 2,31$ (B20L) com o aumento da concentração de lipídio nas formulações, promovendo escurecimento no filme, justificando assim, a redução da luminosidade das amostras. Quanto maior for o valor da relação da saturação ou Chroma, maior é a pigmentação cinza. Já a luminosidade ou intensidade luminosa, pode ser avaliada apenas como clara (valores tendendo a 100) ou escura (valores tendendo ao zero).

A Tabela 7 apresenta o ângulo Hue (matiz/tonalidade) para os filmes monocamadas com valores elevados, em relação às bicamadas, para as formulações com éster de monoglicerídeo de ácido acético, cujo tratamento MFsL apresentou uma diferença significativa ($p < 0,05$) em relação aos demais tratamentos. Para os filmes bicamadas, a redução nos valores de acordo com o aumento da concentração do lipídio, com forte tendência a coloração amarela (b^*). Em relação ao filme de gelatina (MG), obteve-se o menor valor observado, $68,04$, indicando baixa nitidez.

5.2.2 Opacidade

A Figura 13 apresenta a coloração e transparência dos filmes, tendo em vista a presença ou ausência de lipídio em suas composições. Os filmes da Figura 13B, 13C e 13D, apresentam em sua composição 3,12% de óleo essencial de alecrim-pimenta em solução com álcool etílico absoluto 99,8%.

Figura 13 - Amostras de filmes, onde: (A) filme monocamada de gelatina; (B) filme monocamada de amido sem éster de monoglicerídeo de ácido acético; (C) filme bicamada de gelatina e amido, sem a adição de éster de monoglicerídeo de ácido acético; (D) filme bicamada, gelatina e amido, com adição de éster de monoglicerídeo de ácido acético (10% m/m).



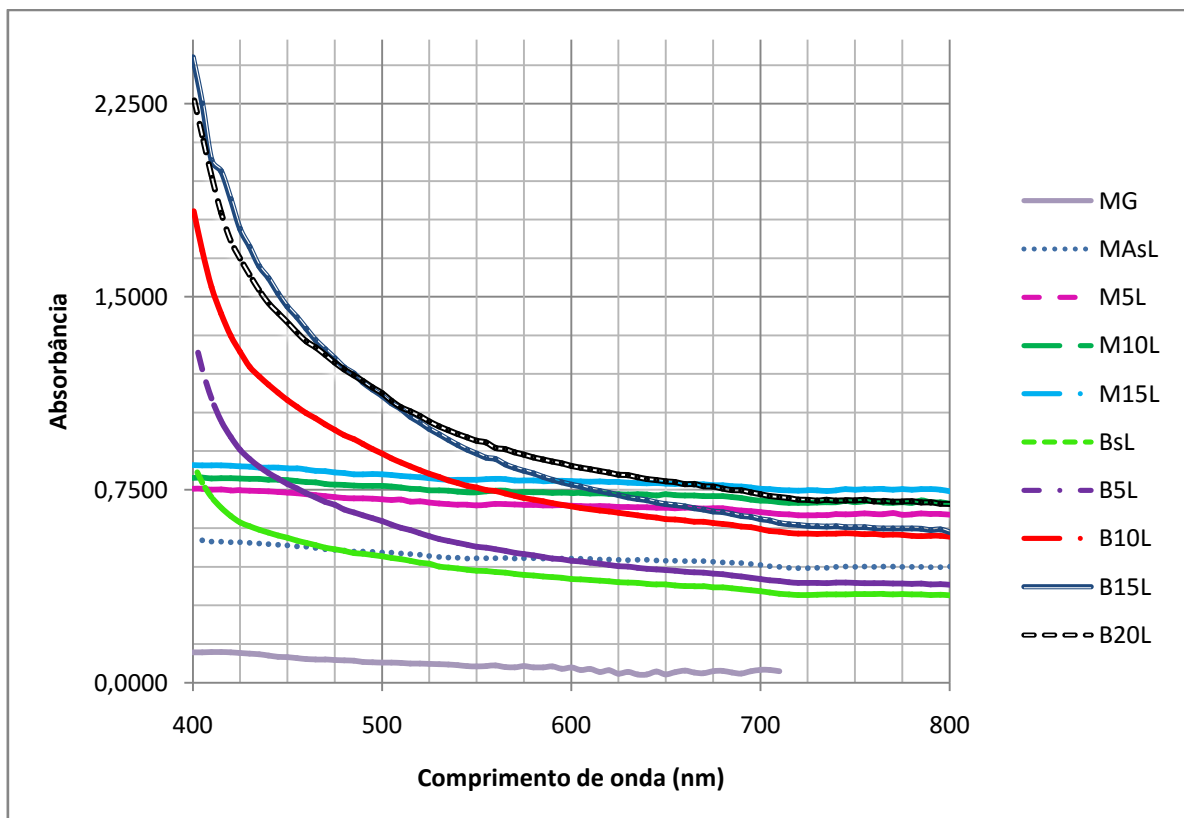
FONTE: AUTOR.

Sabe-se que a opacidade em um filme se refere ao grau de transparência do mesmo, ou seja, é o indicador da quantidade de transmissão de luz visível que o atravessa. Quanto maior o valor da opacidade, menor o grau de transparência, logo, menor a transmissão da luz visível.

Para os filmes, a transparência (ou baixa opacidade) é um atributo sensorial desejável para embalagens e aceitação pelo consumidor (KURT; KAHYAOGU, 2014), mas a finalidade do seu uso determinará o grau de exigência para a transparência ou opacidade da embalagem, ou seja, o tipo de alimento determinará a necessidade de ter maior ou menor opacidade.

Todos os filmes avaliados apresentaram perfil de opacidade quanto à absorbância, em relação à faixa de comprimento de onda da luz visível aplicado (400 a 800nm) (Figura 14), cujos valores para filme monocamada estão na Tabela 8.

Figura 14—Valores de absorbância dos filmes monocamada e bicamada, com diferentes concentrações de éster de monoglicerídeo de ácido acético e, filme de gelatina em diferentes comprimentos de onda (400 a 800nm).



FONTE: AUTOR.

Tabela 8–Opacidade dos filmes monocamada (MF) e bicamadas (B) com óleo essencial de alecrim-pimenta, em diferentes concentrações de éster de monoglicerídeo de ácido acético e, filme monocamada de gelatina, avaliados sob comprimentos de ondas de 400 a 800 nm.

[MGA] (%)*	OPACIDADE (A.nm)	
	MF	B
0	214,74 ± 17,70 ^{bA}	161,69 ± 12,62 ^{cB}
5	265,16 ± 14,52 ^{aA}	211,95 ± 6,52 ^{dB}
10	305,74 ± 8,62 ^{cA}	305,39 ± 12,32 ^{cA}
15	323,12 ± 15,18 ^{cA}	355,90 ± 20,88 ^{bA}
20	na/nf ^{f**}	411,54 ± 15,70 ^a
MG	35,68 ± 3,75	

*Percentual de concentração de éster de monoglicerídeo de ácido acético; **A amostra não foi analisada por não formar filme; MG (filme monocamada de gelatina com 300ppm de ácido ascórbico); MF (filme monocamada de amido); B (filme bicamada); Os valores representam as médias ± desvio padrão, pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$); letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa entre as médias; letras maiúsculas iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa entre as médias.

Observa-se na Tabela 8 e Figura 14, que os tratamentos realizados com as diferentes concentrações de lipídio nos filmes em monocamada de amido e bicamada, apresentaram variações quanto à opacidade, com excessão dos tratamentos MF10L/B10L e M15L/B15L que não apresentaram diferença significativa ao nível de 5%.

Conforme observado na Tabela 8e Figura 14, o aumento da opacidade é diretamente proporcional ao aumento da concentração delipídio (éster de monoglicerídeo de ácido acético) (Figura14), independente do tipo de filme, monocamada ou bicamdas.

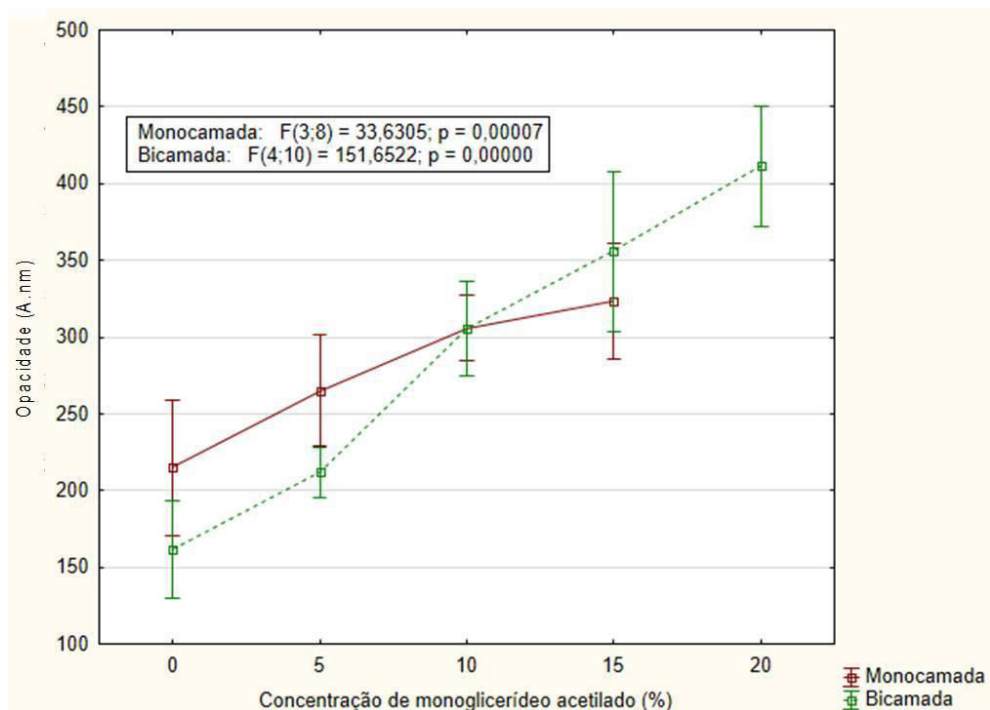
Em contrapartida o tratamento MG, correspondente ao filme monocamada de gelatina, apresentou o menor valor de opacidade, ou seja, maior transparência, 35,68±3,75A.nm, por sua constituição ser de uma proteína hidrolisada, sem nenhuma outra matriz polimérica que viesse a comprometer a translucidez do material.

Com relação aos filmes monocamadas de amido com óleo essencial e diferentes concentrações de lipídio, estes demonstraram uma correlação direta entre o aumento da concentração do lipídio, com o aumento dos valores de opacidade com diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos MF5Le MF15L. De acordo com Yang; Paulson (2000), geralmente, a adição de lipídios na elaboração de filmes, pode torná-los opacos.

A opacidade pode variar também em função do teor de amilose do amido, pois suas moléculas em solução tendem a orientar-se paralelamente ao reduzir a temperatura, devido à linearidade após o seu aquecimento, aproximando-se o suficiente para se formar pontes de hidrogênio entre hidroxilas de cadeias adjacentes. Como resultado, a afinidade do polímero por água é reduzida, favorecendo a formação de pastas opacas e filmes resistentes (WURZBURG, 1986) em associação com a incorporação do lipídio.

Os tratamentos controles dos filmes mono e bicamadas, MFsL e BsL (Tabela 8), apresentaram valores de opacidade de 214,74 A.nm e 161,69A.nm, respectivamente. Nota-se que o filme monocamada apresentou o maior valor de opacidade, tendo em vista as observações de Wurzburg (1986), quando se associa uma segunda camada com valor de opacidade muito menor, como é o caso da monocamada de gelatina, 35,68 A.nm, pode-se observar uma possível interação entre as fases, onde a camada de gelatina, ao sofrer uma sobreposição da camada de lipídio com temperatura em torno de $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ promoveu possíveis interações estruturais as quais impedem que as cadeias de amilose atinjam a conformação estrutural da mesma. Ao incorporar o lipídio, houve aumento da opacidade (Figura 15).

Figura 15 - Variação da opacidade dos filmes monocamada e bicamadas de acordo com o aumento gradativo de éster de monoglicerídeo de ácido acético nas formulações.



FONTE: AUTOR.

Ao isolar um comprimento de onda específico (600 nm), pode-se observar e comparar as distinções na opacidade específica que, segundo a metodologia de Gómez-Estaca et al. (2009), sugerem a divisão do valor da absorvância no comprimento de onda de 600 nm pela média da espessura do filme (mm). Considerando o mesmo comprimento de onda de 600nm e extraíndo os valores de absorvância respectivos, obteve-se para a MFsL, MF5L e MF10L (60°C/15min), os valores de $4,82 \text{ mm}^{-1}$, $6,95 \text{ mm}^{-1}$ e $8,19 \text{ mm}^{-1}$, respectivamente, quando convertidos para a unidade proposta por Gómez-Estaca et al. (2009). Desta forma, Santacruz, Rivadeneira e Castro (2015) analisaram a opacidade dos filmes de amido (fécula de batata) e, obtiveram-se valores até $5,48 \text{ mm}^{-1}$ de opacidade. Mas, quando adicionaram glicerol, passou para $6,09 \text{ mm}^{-1}$ e, quando expôs a solução filmogênica à temperatura de 90°C, por 0,5min e 4min, obtiveram valores de opacidade de $6,44 \text{ mm}^{-1}$ e $5,64 \text{ mm}^{-1}$, respectivamente. Isto comprova que, a incorporação de lipídio promove um aumento na opacidade do filme, como também a incorporação de outros ingredientes. A relação tempo/temperatura promove alterações significativas no que diz respeito à gelificação do amido, caso não seja completa, pode formar um filme mais opaco.

5.2.3 Espessura

A análise de espessura auxilia na avaliação do grau de homogeneidade do filme e, da miscibilidade dos constituintes em relação ao solvente utilizado. A Tabela 9 indica a variação de espessura entre os filmes mono e bicamadas, respectivamente. Ambos com diferentes variações de éster de monoglicerídeo de ácido acético, incluindo o filme monocamada de gelatina.

Tabela 9 – Espessura (mm) dos filmes monocamada e bicamadas, com diferentes concentrações de lipídio (éster de monoglicerídeo de ácido acético) e solução de óleo essencial de alecrim-pimenta, incluindo o filme monocamada de gelatina.

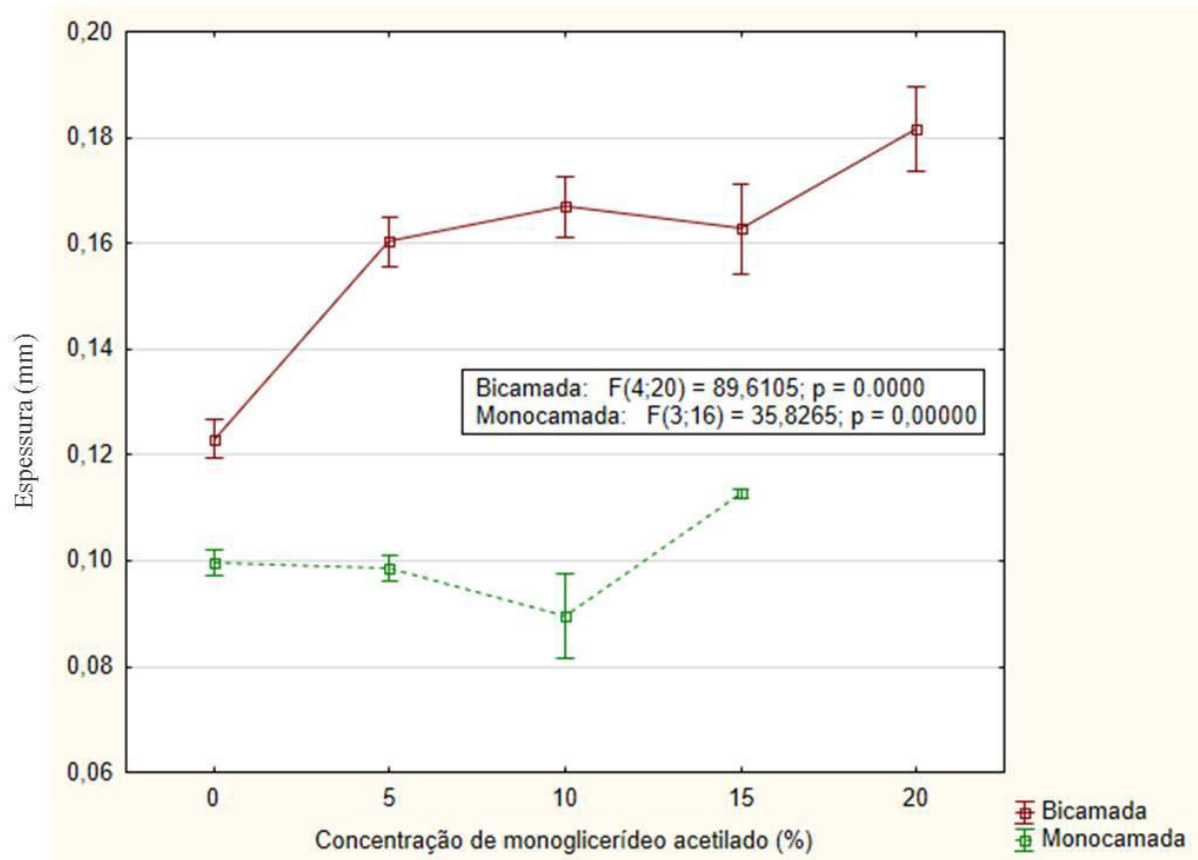
[MGA] (%)*	ESPESSURA (mm)	
	MF	B
0	0,100±0,002 ^{bB}	0,123±0,003 ^{bA}
5	0,101±0,002 ^{bB}	0,160±0,004 ^{cA}
10	0,101±0,002 ^{bB}	0,167±0,005 ^{cA}
15	0,107±0,002 ^{aB}	0,163±0,007 ^{cA}
20	na/nf**	0,182±0,006 ^a
MG	0,068±0,021	

*Percentual de concentração de éster de monoglicerídeo de ácido acético; **A amostra não foi analisada por não formar filme; MG (filme monocamada de gelatina com 300ppm de ácido ascórbico); MF (filme monocamada de amido); B (filme bicamada); Os valores representam as médias ± desvio padrão, pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$); letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa entre as médias; letras maiúsculas iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa entre as médias.

A Tabela 9 apresenta uma diferença significativa ao nível de 5%, na espessura dos filmes monocamada e bicamadas que tiveram percentuais variados de lipídio, em relação ao tratamento controle (MFsL e BsL), os quais apresentaram 0,100 mm e 0,123 mm de espessura, respectivamente, aumentando para 0,107 mm e 0,182 mm ao ser acrescido com 15% (MF15L) e 20% (B20L) de lipídio. Pode-se observar que houve um aumento de 48% da espessura entre os tratamentos BsL e B20L.

Acredita-se que a diferença nos valores de espessura tenha sido influenciada por alguns fatores com a presença de bolhas, a não gelificação completa do amido, deixando vestígios de grãos de amido não dissolvidos (intumescidos) na solução filmogênica, a influência do binômio tempo-temperatura na etapa de secagem do filme, associados aos volumes de lipídio utilizados. A secagem dos filmes dura, aproximadamente, 12 a 15 horas na temperatura de aproximadamente $25\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$. Neste intervalo de tempo, as moléculas de água podem ter formado uma intensa força intermolecular chamada de ligação de hidrogênio e, como as moléculas do lipídio não possuem afinidade com a água, as mesmas se reagruparam, possivelmente formando filmes mais espessos (Figura 16).

Figura 16 -Variação da espessura dos filmes monocamada e bicamadas de acordo com o aumento gradativo de éster de monoglicerídeo de ácido acético nas formulações.



5.2.4 Umidade

A Tabela 10 apresenta os resultados obtidos das médias do conteúdo de umidade dos filmes mono e bicamadas em diferentes concentrações de lipídio (éster de monoglicerídeo de ácido acético) com óleo essencial de alecrim-pimenta e, do filme monocamada de gelatina.

Tabela 10 - Umidade (%) dos filmes monocamadae bicamadas, com diferentes concentrações de lipídio (éster de monoglicerídeo de ácido acético)e solução de óleo essencial de alecrim-pimenta, incluindo o filme monocamada de gelatina.

[MGA] (%)*	UMIDADE (%)	
	MF	B
0	8,93±4,54 ^{aA}	8,15±0,63 ^{aA}
5	7,75±1,11 ^{aB}	9,90±0,23 ^{aA}
10	8,86±0,86 ^{aB}	12,13±1,13 ^{bA}
15	10,66±2,49 ^{aB}	13,64±1,27 ^{bA}
20	nf/na ^{**}	13,46±1,07 ^b
MG	9,15±0,85	

*Percentual de concentração de éster de monoglicerídeo de ácido acético; **A amostra não foi analisada por não formar filme; MG (filme monocamada de gelatina com 300ppm de ácido ascórbico); MF (filme monocamada de amido); B (filme bicamada); Os valores representam as médias ± desvio padrão, pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$); letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa entre as médias; letras maiúsculas iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa entre as médias.

De acordo com a Tabela 10, não houve variação ($p < 0,05$) no conteúdo de umidade para os filmes monocamada, mas os filmes bicamadas apresentaram uma diferença estatística ($p < 0,05$) na umidade de BsL e B5L para os demais tratamentos, quando submetidos ao aumento da concentração de lipídio.

O tratamento MF15L apresentou 10,66% ±2,49%, valor semelhante ao obtido por Petersson e Stading (2005) ao elaborarem filmes monocamada de amido com lipídio (5,0% água/massa) e secos a 23 °C, obtendo valores de umidade de aproximadamente 12,9%.

O tratamento B20L, em comparação com o BsL (controle), apresentou 13,46% de conteúdo de umidade em relação aos 8,15% do BsL, demonstrando um aumento de 60,5% no conteúdo de umidade nos filmes bicamadas ao adicionar 20% de éster de monoglicerídeo de ácido acético.

Para Gutiérrez et al. (2015), os filmes monocamadas elaborados com amido de inhame do tipo “cush-cush” e mandioca, obtiveram valores no conteúdo de umidade na faixa de 52% e 34%, respectivamente. Essa variação percentual é justificada pelos autores Flores et al. (2007) e Hu, Chen e Gao (2009), como sendo uma possível interação do glicerol (plastificante) com a amilopectina, facilitando a absorção de água. Este tipo de fenômeno

ocorre durante a incorporação do plastificante da solução úmida, onde, possivelmente, tenha ocorrido a interação do glicerol com o amido da solução e, a água atuou como plastificante (GUTIÉRREZ et al., 2015).

5.2.5 Solubilidade

A solubilidade encontrada para os filmes monocamadas de gelatina, assim como os filmes compostos mono e bicamadas com solução de óleo essencial e diferentes concentrações de éster de monoglicerídeo de ácido acético, estão representadas na Tabela 11.

Tabela 11 - Solubilidade dos filmes compostos monocamadas de amido com variações na concentração de lipídio, incluindo o filme de gelatina.

[MGA] (%)*	SOLUBILIDADE (%)	
	MF	B
0	77,71±5,48 ^{aA}	71,57±9,18 ^{aA}
5	32,59±8,23 ^{bA}	26,99±2,39 ^{bA}
10	27,03±5,65 ^{bA}	26,96±9,84 ^{bA}
15	33,15±3,67 ^{bA}	29,90±1,73 ^{bA}
20	nf/na ^{**}	16,05±1,83 ^b
MG	69,06±5,58	

*Percentual de concentração de éster de monoglicerídeo de ácido acético; **A amostra não foi analisada por não formar filme; MG (filme monocamada de gelatina com 300ppm de ácido ascórbico); MF (filme monocamada de amido); B (filme bicamada); Os valores representam as médias ± desvio padrão, pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$); letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa entre as médias; letras maiúsculas iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa entre as médias.

A Tabela 11 mostra que os filmes monocamadas com diferentes concentrações de éster de monoglicerídeo de ácido acético variaram a sua solubilidade de 27,03% a 77,71%, onde houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre MFsL e os demais tratamentos. Estes, por sua vez, não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre si assim, como para os filmes bicamadas que apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores de solubilidade, variando de 16,05% (B20L) a 71,57% (BsL).

A variável lipídica apresentou efeito significativo positivo, ou seja, a utilização de um lipídio proporciona a melhoria da característica hidrofóbica do filme. Os tratamentos MF15L e B15L apresentaram valores inconsistentes, podendo considerar possíveis falhas no processo de realização da análise. No entanto, os tratamentos MF e B não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre si, com exceção da MF20L o qual não apresentou a formação estrutural de filme.

Cerqueira et al. (2012) em filmes de polissacarídeo (galactomanana) e glicerol, obtiveram solubilidade de 51,86% e ao adicionar óleo de milho os valores de solubilidade foram de 42,25%. Wang et al. (2007) obtiveram valores de solubilidade de 31,7% para filmes de amido de batata adicionados de glicerol (1:2 (p/p), glicerol/amido) semelhantes aos resultados dos tratamentos dos filmes compostos monocamadas com lipídio. Isto talvez se deva a não solubilização completa do amido na solução filmogênica, gerando valores ainda altos, mesmo que o filme não tenha se desintegrado após 24 horas, submerso em água.

Ao se comparar os resultados da Tabela 11, pode-se observar que os filmes monocamadas apresentaram maior solubilidade em relação aos filmes bicamadas. Acredita-se que a bicamada possua uma integridade entre os dois sistemas matrizes do filme, proteína e composto (amido e lipídio), tornando-a mais resistente e íntegra em ambiente com elevado teor de umidade. Assim com não houve homogeneidade na solução filmogênica de amido quando esta foi adicionada de lipídio o que possibilitou essa diferenciação, quando comparados aos filmes bicamadas que por interações moleculares junto ao filme de proteína e, possíveis interações de cargas elétricas, tenha proporcionado melhor distribuição do lipídio na sua superfície. McHugh e Krochta (1994), Debeaufort e Volley (1995), Pérez-Gago e Krochta (2001) e Falguera et al. (2011), ao avaliaram os filmes elaborados a partir de emulsões observaram que promoveram maior transferência de água em relação a filmes bicamadas. Mas em termos de processabilidade são melhores em relação aos filmes multicamadas que necessitam de um conjunto complexo de processos que dependem da quantidade de camadas.

A solubilidade em água associada às propriedades de barreira, como vapor de água, direciona a aplicação do filme como embalagem para produtos alimentícios. Em alguns casos, a sua total solubilização em água pode ser benéfica, como nos produtos semiprontos no preparo com cozimento. Entretanto, quando o alimento tem um elevado teor de umidade, faz-se necessário que o filme possua baixa solubilidade (FAKHOURI et al., 2007).

5.3 Morfologias dos filmes

5.3.1 Tamanho médio, polidispersividade e potencial zeta (ζ)

Foram escolhidas e preparadas três formulações em triplicata, de acordo com o delineamento experimental (MG – filme monocamada de gelatina com ácido ascórbico, MFsL– filme monocamada de fécula de batata, plastificante e solução de óleo essencial, e MF10L – filme monocamada de fécula, plastificante, solução de óleo essencial e 10% de éster de monoglicerídeo de ácido acético, escolhido por representa o valor médio entre os formulações de soluções filmogênicas). Foram avaliadas três respostas: tamanho médio (diâmetro de partículas), polidispersividade (PDI) e potencial zeta(ζ) das soluções filmogênicas de elaboração dos filmes, a fim de avaliar uma possível influência da incorporação do lipídio sobre a solução filmogênica e, buscar por justificara formação das bicamadas nos filmes e o grau de estabilidade das mesmas (Tabela 12).

Tabela 12 – Tamanho médio, polidispersão (PDI) e potencial zeta (ζ) das soluções filmogênicas de gelatina (MG), fécula de batata sem lipídio (MFsL) e com 10% de lipídio (MF10L).

Tratamentos	Tamanho médio (diâmetro, nm)	PDI	ζ (mV)
MFsL	248,5 ± 74,8 ^b	0,35 ± 0,02 ^a	-19,17±3,21 ^b
MF10L	407,2 ± 53,8 ^a	0,43 ± 0,05 ^a	-6,87±0,19 ^a
MG	533,6 ± 98,5	0,53 ± 0,08	14,87±1,81

MG (monocamada de gelatina com 300ppm de ácido ascórbico); MFsL (monocamada de amido sem éster de monoglicerídeo de ácido acético); MF10L (monocamada de amido com 10% de éster de monoglicerídeo de ácido acético); As formulações MFsL e MF10L possuem solução de óleo essencial de alecrim-pimenta; Os valores representam as médias ± desvio padrão.

Observa-se na Tabela 12, que a adição do éster de monoglicerídeo de ácido acético pode ter promovido o aumento no diâmetro da partícula em, aproximadamente 64% do seu tamanho. O aumento do diâmetro das partículas em função da concentração de lipídio, de 248,5 nm (MFsL) para 407,2 nm (MF10L) talvez se deva a interação eletrocinética superficial das partículas da suspensão coloidal, visto o potencial zeta dos tratamentos, quando o éster de monoglicerídeo de ácido acético é adicionado (MF10L) aos constituintes do tratamento

controle (MFsL). Dessa maneira, a incorporação do lipídio promoveu uma modificação do ambiente em torno dos colóides, devido à espécie iônica incorporada possuir carga positiva. Além disso, a presença do D (-) sorbitol, 40% (m/m), promoveu aos tratamentos MFsL e MF10L cargas negativas. Sabe-se que o amido é um constituinte neutro e a solução de óleo essencial é carregada positivamente.

Com relação à polidispersividade, quando avaliados os dados obtidos, observa-se que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) quando o lipídio foi incorporado nas soluções filmogênicas, sendo estas consideradas soluções polidispersas definidas por Prado (2001) como sendo sistemas nos quais existem partículas de formas, tamanhos e/ou composições diferentes.

A análise de efeito para o parâmetro potencial zeta permitiu observar que houve influência estatística ($p < 0,05$), como pode ser observado na Tabela 12. A concentração de 10% de lipídio incorporado no tratamento MFsL, formando o MF10L, apresentou influência positiva sobre o potencial zeta, com valores maiores (menos negativo), quando comparado ao tratamento MFsL, tendo em vista que a determinação do potencial zeta é indicada para otimização de formulações de suspensões ou emulsões e previsão da estabilidade das formulações.

A formação da dupla camada pelo método *casting* se deu pela possível interação de carga elétrica entre as camadas do filme MG com o MF10L, o que pode ter auxiliado na melhor distribuição da solução do filme composto que possui o lipídio em sua constituição, uma vez que são carregados de forma positiva e negativa, respectivamente, indicando menor estabilidade para a formação das bicamadas, uma vez que haverá menor repulsão, e maior probabilidade de agregação. Com relação à carga elétrica na superfície das moléculas que compõem os filmes, Ploux et al. (2007) avaliaram que parâmetros como propriedades das superfícies, carga elétrica e topografia são importantes para adesão das células e formação do filmes.

A solução filmogênica contendo éster de monoglicerídeo de ácido acético é sobreposta a camada semissólida de gelatina e, segundo Kaufmann, Winnefeld e Zurbriggen (2012) o potencial zeta é um potencial eletrocinético em sistemas coloidais, o que corrobora na formação da dupla camada.

Poucas são as informações disponíveis na literatura sobre o comportamento do potencial zeta e suas tendências em diferentes formulações. Segundo Aouada (2009), a estabilidade de uma suspensão depende das propriedades físicas das partículas coloidais que

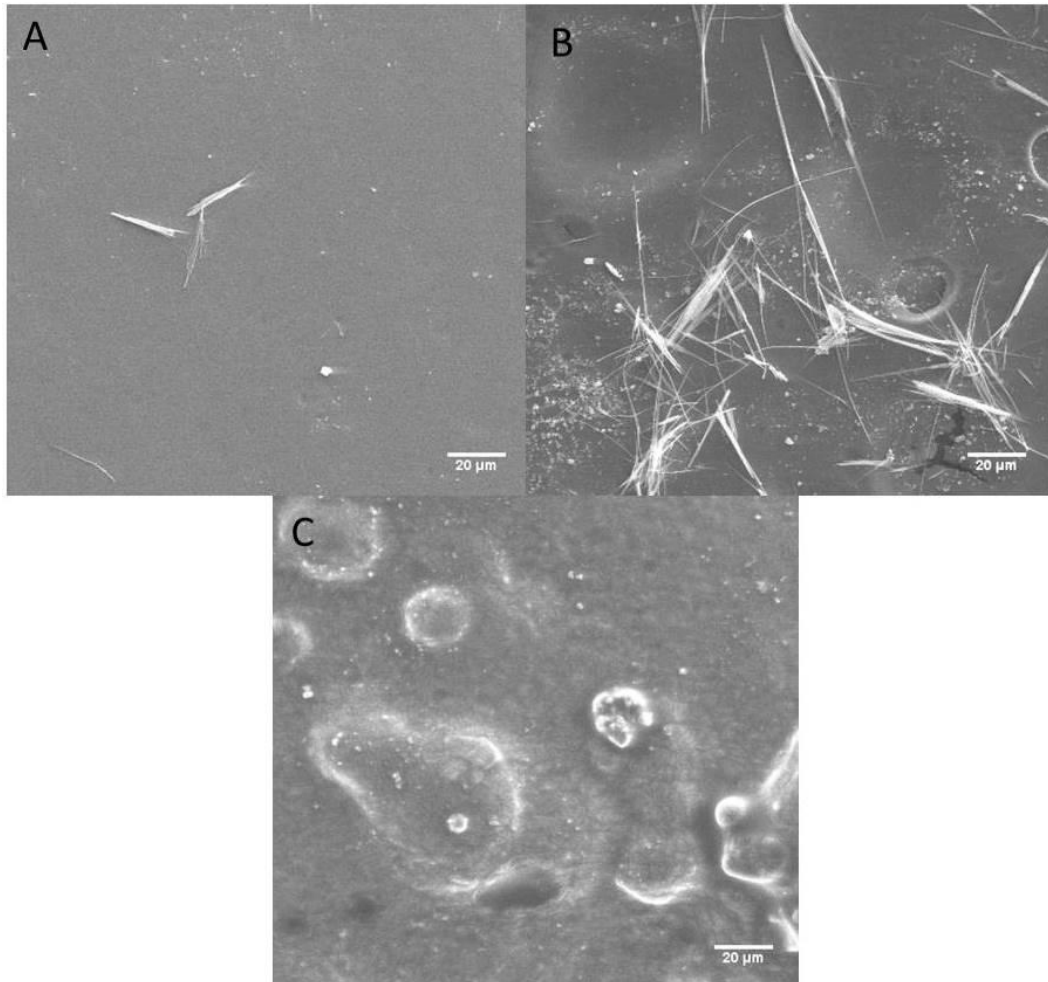
constituem, sendo necessário determina-las para a compreensão das interações individuais de cada partícula.

5.3.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Morfologias dos filmes monocamada e bicamadas com solução de óleo essencial e diferentes concentrações de éster de monoglicerídeo de ácido acético, investigadas através de microscopia eletrônica de varredura se encontra nas Figuras 17 e 18.

Observa-se que a monocamada de gelatina com ácido ascórbico é uma camada mais homogênea (Figura 17A), em relação ao filme monocamada de fécula (Figura 17B), o qual apresentou rachaduras e possíveis cristais do plastificante (D (-) sorbitol) que não foram completamente dissolvidos. Pode-se considerar a existência de possíveis cristais de gelatina que não foram completamente gelatinizados, possivelmente devido ao tempo que ficaram expostos a temperatura de 62°C ou, devido às imperfeições e irregularidades estruturais do mesmo. Mas quando acrescentado 10% (m/m) de éster de monoglicerídeo de ácido acético, pode-se observar que ocorreu uma homogeneização da superfície com redução das ranhuras, mas, evidenciou-se a existência de grãos de amido que não foram gelatinizados (Figura 17C) e com a adição de lipídio, promoveu aglomerações.

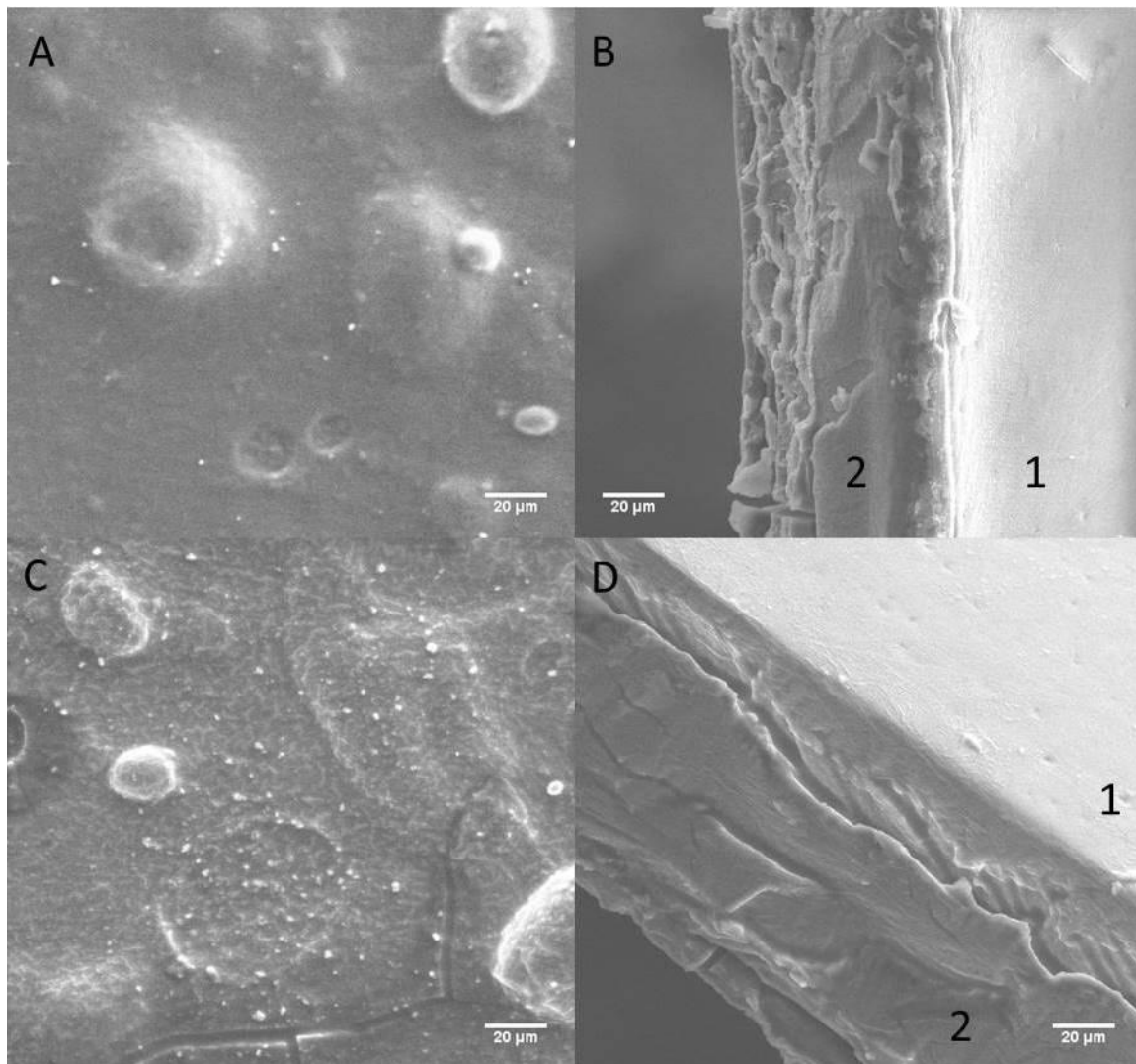
Figura 17 - Micrografia eletrônica de varredura da superfície dos filmes: (A) MG (monocamada de gelatina com ácido ascórbico); (B) MFsL (monocamada de fécula com solução de óleo essencial e plastificante); (C) MF10L (monocamada de fécula com solução de óleo essencial, plastificante e 10% (m/m) de éster de monoglicerídeo de ácido acético).



FONTE: AUTOR.

Já a Figura 18, está correlacionando a bicamada dos filmes em micrografias de superfície e transversais. A Figura 18A, representa o filme bicamada sem adição de éster de monoglicerídeo de ácido acético e a existência de pontos em sua superfície, semelhantes aos observados na Figura 17C. Na Figura 18C, observou-se uma rachadura na superfície, mas devido a localização supõe-se ter sido causada no momento do corte da amostra para montagem do teste.

Figura 18 - Micrografia eletrônica de varredura da superfície dos filmes: (A) superfície da bicamada sem éster de monoglicerídeo de ácido acético; (B) corte transversal da bicamada (A), onde (1) camada proteica e (2) camada composta; (C) superfície da bicamada com 10% (m/m) de éster de monoglicerídeo de ácido acético; (D) corte transversal da bicamada (C), onde (1) camada proteica e (2) camada composta.



FONTE: AUTOR.

Houve uma melhoria na superfície quando foi adicionado o éster de monoglicerídeo de ácido acético na solução filmogênica para criação do filme composto. As Figuras 18B e 18D, mostra cortes transversais, onde o número um representa a camada de filme composto e dois, a camada de filme proteico. Pode-se observar na Figura 18D uma redução da rugosidade na imagem, sem divisão ou quebras em sua estrutura, ao contrário do que se pode observar nas imagens das Figuras 18B-1. Mesmo apresentando fissuras internas,

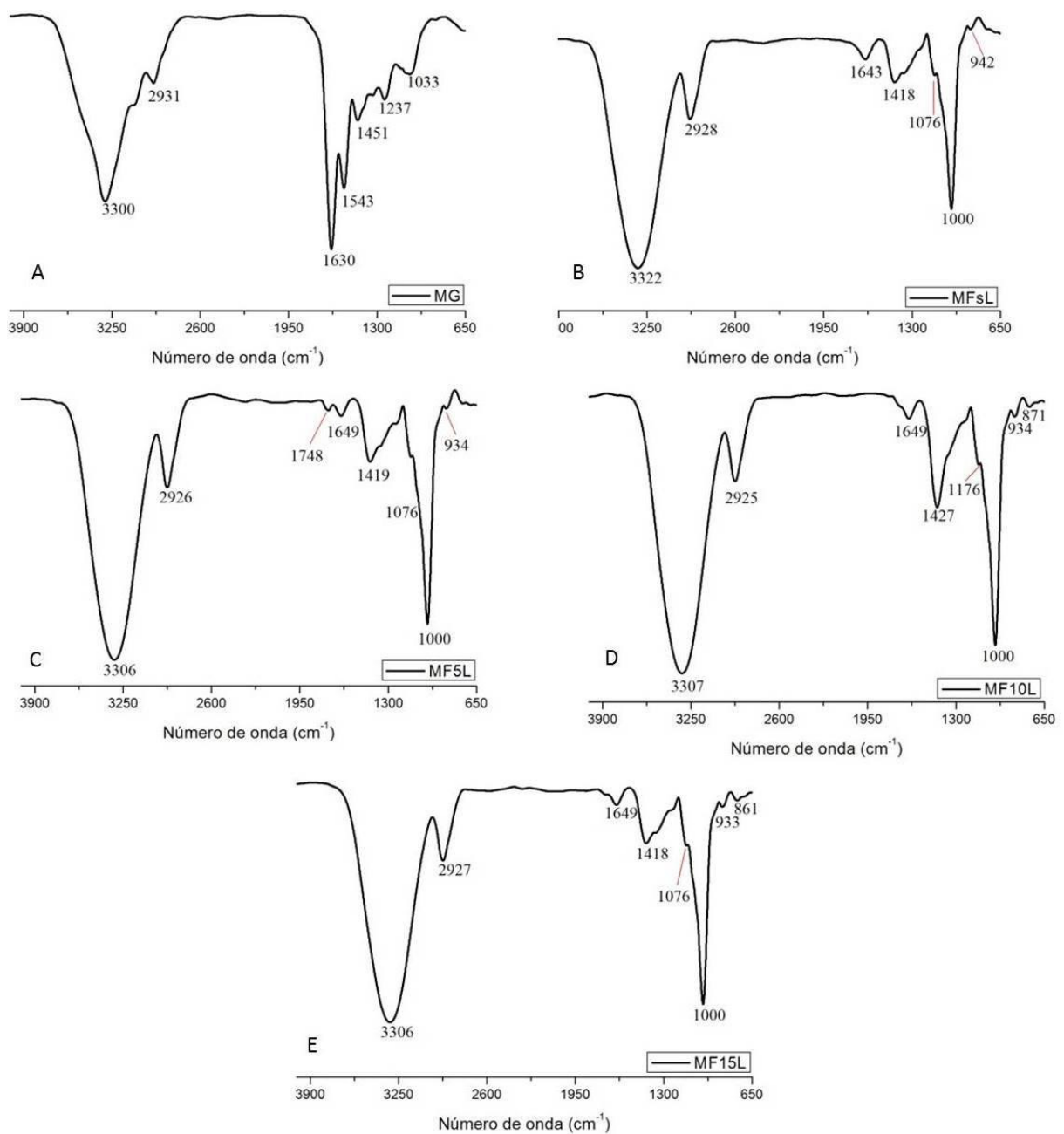
o grau de irregularidades superficiais é semelhante, quando comparamos as Figuras 18D-1 em relação a 18B-1.

As imperfeições como as rachaduras, observadas nas micrografias podem estar relacionadas às condições de conservação da amostra, devido ao controle inadequado da umidade e da temperatura no armazenamento.

5.3.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

A análise de FT-IR permite a determinação dos grupos funcionais presentes nos filmes mono e bicamada, pois cada grupo absorve em uma frequência característica de radiação na região infravermelha. Com essa técnica, verificam-se possíveis interações existentes entre as matrizes biopoliméricas, bem como mudanças moleculares causadas pela adição de compostos, como os plastificantes, antioxidantes, lipídios, etc. As Figuras 20, 21 e 22, mostram as principais bandas existentes nos filmes analisados.

Figura 19 - Espectro FT-IR dos filmes monocamadas: (a) filme monocamada de gelatina com ácido ascórbico (MG); (b) filme monocamada de fécula com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta, sem éster de monoglicerídeo de ácido acético (MFsL); (c) filme monocamada de fécula com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta e 5% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (MF5L); (d) filme monocamada de fécula com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta e 10% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (MF10L); (e) filme monocamada de fécula com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta e 15% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (MF15L).



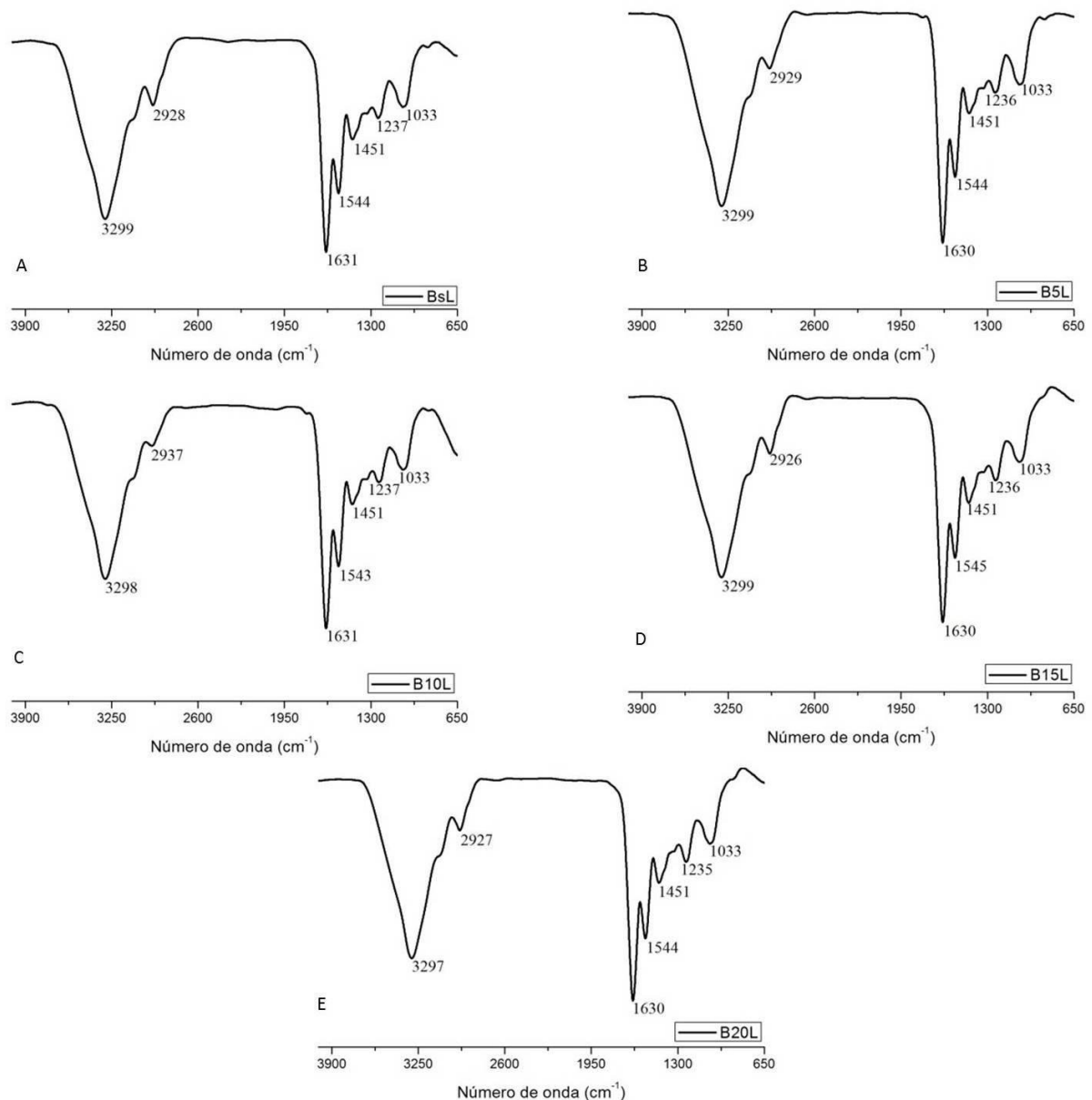
As bandas no infravermelho (IR) médio as quais caracterizam as proteínas, no caso a gelatina, são atribuídas à ligação peptídica, compreendidas pelas bandas de vibração das ligações amida. As vibrações amida I corresponde ao estiramento da ligação C=O (carbonila), enquanto a amida II corresponde à deformação ou flexão da ligação NH (D'AVILA, 2010).

A interpretação dos espectros no IR obtidos é feita num primeiro momento pelo perfil do espectro e presença de bandas características principais de grupos funcionais como C=O (1800 a 1650 cm^{-1}), OH (3500 a 3200 cm^{-1}), banda larga para OH de ácidos (3400 a 2700 cm^{-1}), C=O (1300-1000 cm^{-1}), N-H (3400-3200 cm^{-1}), C-H alifáticos saturados (3000 a 2800 cm^{-1}), =CH insaturados (3100 a 3000 cm^{-1}), C=C aromáticos (1650 a 1450 cm^{-1}) entre outras (HAACK, 2010).

Na Figura 19A, observa-se que em torno de 3300 cm^{-1} corresponde ao estiramento -NH acoplado com ligações de hidrogênio; 2900 cm^{-1} , refere-se ao estiramento assimétrico de -CH₂; 1630 cm^{-1} , estiramento C=O com ligação de hidrogênio acoplado com COO⁻ da amida I; aproximadamente 1548 cm^{-1} é a deformação de -NH acoplada com estiramento -CN da amida II; 1451 cm^{-1} é a deformação -CH de -CH₂; em 1237 cm^{-1} , deformação de -NH acoplada com estiramento de -CN; e, 1033 cm^{-1} , estiramento de C-O.

As bandas de amida I e amida II estão situadas entre 1630 cm^{-1} e 1543 cm^{-1} , respectivamente, para o filme monocamada de gelatina. Pode-se observar nas Figuras 20A-E referentes aos filmes bicamadas, na parte lisa onde houve deslocamento da banda de amida II para valores maiores de número de ondas, possivelmente provocada por alguma interação da camada rugosa na parte superior do filme. Valores semelhantes foram obtidos por D'Avila (2010), caracterizando os grupos amida I e amida II em 1631 cm^{-1} e 1547 cm^{-1} , respectivamente. Segundo Dogan, Siyakus e Severcan (2007), picos formados entre 1600 e 1720 cm^{-1} , referem-se ao grupo amida I das proteínas, particularmente do alongamento da ligação C=O. Já para Hoque, Benjakul e Prodpran (2011), o pico em torno de 1500 cm^{-1} é atribuído a banda amida II, decorrente do alongamento de grupos N-H e vibrações de grupo N-C.

Figura 20 - Espectro FT-IR dos filmes bicamadas (parte lisa): (a) filme bicamada sem éster de monoglicerídeo de ácido acético (BsL); (b) filme bicamada com 5% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B5L); (c) filme bicamada com 10% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B10L); (d) filme bicamada com 15% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B15L); (e) filme bicamada com 20% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B20L).

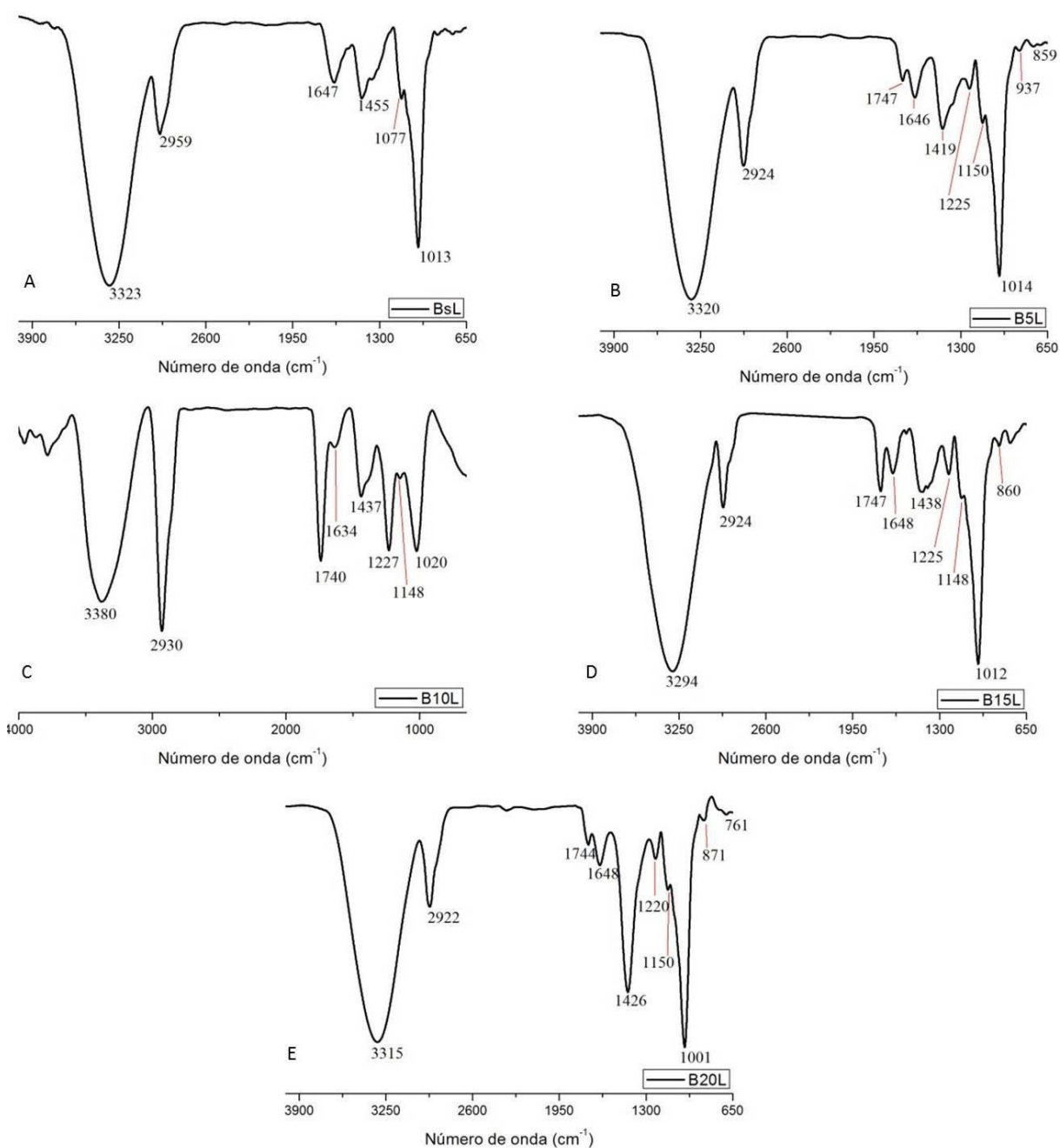


Quando comparados os espectros das Figuras 20D com 19A, observa-se que os picos correspondentes ao estiramento -OH de moléculas de água e, estiramento -NH em faixas de número de onda entre $3200\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$, observa-se um deslocamento devido

asobreposição de camadas no filme monocamada de amido sem e com lipídio para valores de menor número de onda.

Observou-se nas regiões formadas do IR das Figuras 19B-E, referente aos filmes monocamadas de fécula de batata sem e com éster de monoglicerídeo de ácido acético, picos intensos característicos dos modos de alongamento simétrico e assimétrico da ligação $-OH$, que indicam a contribuição majoritária da molécula de água que, segundo Dias (2008) aparece teoricamente em 3500 cm^{-1} . Pode-se notar que com o aumento na incorporação da concentração de éster de monoglicerídeo de ácido acético nos filmes, ocorreram deslocamentos para valores menores. Segundo Araujo-Farro (2008), picos que aparecem na faixa de $1800-1700\text{ cm}^{-1}$ estão relacionados à composição de lipídios, podendo ser observado nas Figuras 19C e 21, referentes aos filmes bicamadas, correspondendo ao alongamento simétrico da ligação $C=O$ pertencente às moléculas insaturadas (ARAÚJO-FARRO, 2008). Podem também estar relacionados à presença de grupos terpenos (ANGIONI et al., 2004), atribuídos à alguns constituintes do óleo essencial de alecrim-pimenta, comprovando a existência do mesmo, evidenciados nos filmes bicamadas (Figura 21). Mazzucato (2013) avaliou a incorporação de óleo essencial de alecrim aos filmes de PVC, obtendo bandas em torno de 1750 cm^{-1} . Assim como, pode corresponder a vibração $C=O$ de grupos aldeídos gerados pela oxidação do amido com ácido periódico com a abertura do anel das unidades de glicose (HORN, 2012).

Figura 21 -Espectro FT-IR dos filmes bicamadas (parte rugosa): (a) filme bicamada sem éster de monoglicerídeo de ácido acético (BsL); (b) filme bicamada com 5% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B5L); (c) filme bicamada com 10% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B10L); (d) filme bicamada com 15% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B15L); (e) filme bicamada com 20% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B20L).



Nas Figuras 19D e 20B, aparecem bandas em torno de 934 cm^{-1} , as quais têm sido atribuídas às regiões amorfas e cristalinas (GUPTA; PANDEY, 1988; URBANSKI, 1977). Segundo Silva et al. (2002) tal banda provavelmente seja relativa à deformação NH.

As bandas na região $1200\text{ a }1000\text{ cm}^{-1}$ (Figuras 20e 21) são consideradas bandas características de sacarídeos e atribuídas ao alongamento das ligações C-C, C-O com alguma contribuição das ligações -COH (VAN-SOEST et al., 1997). As bandas remanescentes exibem diferenças características, especialmente na região de $800\text{ a }200\text{ cm}^{-1}$, permitindo a diferenciação de tipos de poliamidas (SILVA et al., 2002).

5.4 Propriedade de barreira

5.4.1 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Filmes de amido são hidrofílicos e, conseqüentemente, não eficazes como barreira de umidade (PETERSSON; STADING, 2005). A Tabela 13 apresenta os valores obtidos de permeabilidade ao vapor de água dos filmes mono e bicamada com óleo essencial de alecrim-pimenta e com variação na concentração de lipídio (éster de monoglicerídeo de ácido acético), incluindo os resultados para o filme monocamada de gelatina.

Tabela 13– PVA dos filmes, monocamadas e bicamadas, de amido com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta com variações na concentração de éster de monoglicerídeo de ácido acético, incluindo o filme monocamada de gelatina.

[MGA] (%)*	PVA (g.mm/kPa.h.m ²)	
	MF	B
0	2,297±0,108 ^{bA}	2,025±0,110 ^{aB}
5	2,017±0,088 ^{cB}	2,422±0,090 ^{bA}
10	1,858±0,157 ^{cB}	2,243±0,058 ^{cA}
15	2,548±1,416 ^{aA}	2,232±0,050 ^{cB}
20	nf/na**	2,344±0,097 ^{bc}
MG	1,008±0,208	

*Percentual de concentração de éster de monoglicerídeo de ácido acético; **A amostra não foi analisada por não formar filme; MG (filme monocamada de gelatina com 300ppm de ácido ascórbico); MF (filme monocamada de amido); B (filme bicamada); Os valores representam as médias ± desvio padrão, pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$); letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa entre as médias; letras maiúsculas iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa entre as médias.

Observa-se na Tabela 13 que os filmes monocamadas e bicamadas apresentaram características hidrofóbicas. Supõe-se que a incorporação dos percentuais de 5%, 10%, 15% e 20% de lipídio tenham auxiliado, assim como a temperatura de gelificação do amido tenham sido primordiais na obtenção de tal característica hidrofóbica.

Os tratamentos MF5L e MF15L (Tabela 13), apresentaram 2,297 g.mm/kPa.h.m² e 2,578 g.mm/kPa.h.m², tendo em vista que o tipo de lipídio utilizado possivelmente tenha influenciado nos resultados de PVA, assim como o grau hidrofílico do plastificante, estrutura química dos componentes, interações superficiais (presença de pequenos furos), presença de bolhas de ar e diferenças de espessuras. Os pesquisadores Fadini et al. (2013) elaboraram filmes de colágeno hidrolisado com manteiga de cacau mais sacarose e observaram que, mantendo constantes a concentração de sacarose (plastificante) e de colágeno hidrolisado (proteína) e variando entre 8% e 12% a concentração de manteiga de cacau (lipídio), obteve-se PVA baixa, de 0,52 g.mm/kPa.h.m² e 0,42 g.mm/kPa.h.m², respectivamente. Sendo assim, acredita-se que o tipo de lipídio e plastificante contribuíram para possíveis alterações nos resultados das análises de permeabilidade ao vapor de água.

Em contrapartida, os filmes bicamadas (Tabela 13) apresentaram valores médios com diferença significativa ($p < 0,05$) para a permeabilidade ao vapor de água, em relação aos

filmes monocamadas. Parte-se do princípio que, a associação entre uma camada hidrofílica (gelatina - proteína) e outra hidrofóbica (filme composto de amido e éster de monoglicerídeo de ácido acético - polissacarídeo e lipídio, respectivamente), pode-se gerar uma melhoria nas características estruturais do filme, desde a permeabilidade ao vapor de água, propriedades mecânicas, solubilidade, etc.

A Tabela 13 mostra os valores dessa interação favorável entre as camadas as quais todas apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$). Observe que a amostra MFsL (controle, monocamada) apresentou uma PVA de $2,297 \text{ g.mm/kPa.h.m}^2$, valor considerado alto quando comparado a amostra BsL (controle, bicamada), com $2,025 \text{ g.mm/kPa.h.m}^2$.

Observa-se que M15L apresentou uma redução significativa ($p < 0,05$) da PVA, quando submetido à formação da bicamada (B15L), de $2,548 \text{ g.mm/kPa.h.m}^2$ para $2,232 \text{ g.mm/kPa.h.m}^2$, respectivamente. Para Greener e Fennema (1989), uma das maneiras de contornar o elevado valor da PVA é a elaboração de filmes em bicamadas.

Os filmes monocamadas com adição de lipídio (Tabela 13) apresentaram uma permeabilidade mais elevada, quando comparados aos filmes bicamadas. Pode-se supor que o aumento da PVA possa ter sido ocasionado devido à formação de pequenos furos (Figura 19), considerados dutos de evaporação que podem ter concentrado os constituintes lipídicos em áreas do filme, tornando-o mais espesso.

Figura 22 - Imagem de um pequeno furo no filme monocamada de amido com 10,0% de lipídio.



FONTE: AUTOR.

Ao avaliar filmes de amido de batata plastificados com diversos polióis, Talja et al. (2007) relataram que tanto a presença quanto a quantidade de plastificante, influenciam à permeabilidade, sendo o glicerol o plastificante que proporcionou os maiores aumentos nos valores de permeação, independente da umidade relativa usada nos testes.

Durante a gelatinização dos grânulos de amido, as moléculas de amilose e amilopectina são liberadas na solução, interagindo mediante pontes de hidrogênio, adquirindo estrutura linear que tende a se orientar paralelamente, aproximando-se o suficiente para se formarem pontes de hidrogênio entre as hidroxilas de cadeias adjacentes. Como resultado, a afinidade do polímero por água é reduzida (WURZBURG, 1986; LIU; HAN, 2005; COLLARES-QUEIROZ et al., 2007).

Petersson e Standing (2005) realizaram estudos de PVA em filmes monocamadas de amido com lipídio (0,1%, 5% e 10%) e, obtiveram valores variando entre 5,3 a 7,8 g.mm/kPa.h.m² quando aplicados temperaturas de gelificação para o amido de batata. Já Anker et al. (2002) elaboraram filme tipo composto de proteína (isolado proteico de leite) com lipídio (éster de monoglicerídeo de ácido acético 50) e obtiveram resultados para PVA em torno de 6,5 a 7,7 g.mm/kPa.h.m².

Yang e Paulson (2000) conseguiram reduzir em 53% a PVA dos filmes de gelatina com adição de cera de abelha, gerando uma discussão quanto aos aspectos microestruturais observados na matriz filmogênica, como possíveis influenciadores para reduzir ou aumentar a PVA. Quando há incorporação do material lipídico à matriz, o espaço livre para passagem de água acaba sendo reduzido, assim como a PVA (GROSSO; BATISTA; TANADA-PALMU, 2002).

O aumento da PVA observado com o aumento do teor de lipídio (Tabela 13), possivelmente pode ter ocorrido devido à desestabilização da matriz filmogênica, permitindo que houvesse a migração de vapor de água. Embora os 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).

Os resultados obtidos deste trabalho estão semelhantes aos de Petersson e Standig (2005), que encontraram pequenos aumentos na PVA devido à incorporação de diferentes concentrações de lipídio, pois o éster de monoglicerídeo de ácido acético promove desordem na estrutura do amido, quebrando as pontes de hidrogênio ou dificultando as interações entre as cadeias.

Outro possível fator promovedor do aumento dos valores de PVA pode ter sido o uso de D(-)sorbitol, por sua característica hidrofílica e elevada capacidade de interação com o filme, possivelmente, promoveu o aumento da permeação do filme, resultados semelhantes aos obtidos por Cuq, Gontard e Guilbert (1997), Sobral et al. (2001) e Andreuccetti et al. (2009).

Fatores estruturais de filmes bicamadas podem afetar a permeabilidade do mesmo, como a sua composição (hidrocolóide, lipídios), espessura, tipo de filme (composto, blenda), conteúdo de água, tipo de lipídio, dentre outros constituintes.

5.5 Propriedades mecânicas

A Tabela 14 apresenta os resultados dos ensaios mecânicos realizados nos filmes mono e bicamadas, respectivamente, podendo-se observar que em ambos os filmes, a elongação de ruptura apresentou valores baixos, podendo ter sido proporcionado pela existência de bolhas de ar no filme, induzindo à ruptura para o local da bolha.

Tabela 14 -Resistência à tração (RT), alongação na ruptura (ER) e módulo de elasticidade (ME) dos filmes monocamada e bicamadas (contendo fécula de batata, consolução de óleo essencial de alecrim-pimenta,sob diferentes concentrações de éster de monoglicerídeo de ácido acético) e, do filme monocamada de gelatina.

[MGA] (%)*	RT (MPa)		ER (%)		ME (MPa)	
	MF	B	MF	B	MF	B
0	5,02 ± 0,82 ^{cb}	19,66 ± 2,31 ^{cdA}	11,33 ± 1,07 ^{ba}	1,34 ± 0,05 ^{cb}	266,88 ± 4,32 ^{cb}	1990,58 ± 145,98 ^{ca}
5	5,33 ± 0,04 ^{bcB}	21,40 ± 1,47 ^{bcA}	16,56 ± 1,93 ^{aA}	1,40 ± 0,19 ^{cb}	288,61 ± 29,00 ^{abB}	2051,24 ± 227,81 ^{ca}
10	7,69 ± 0,21 ^{aB}	17,12 ± 1,27 ^{da}	8,59 ± 0,69 ^{bcA}	1,50 ± 0,18 ^{abB}	378,32 ± 52,99 ^{ab}	1564,46 ± 28,35 ^{ba}
15	6,49 ± 0,62 ^{abB}	27,24 ± 0,95 ^{aA}	7,86 ± 0,41 ^{ca}	1,79 ± 0,10 ^{aB}	323,89 ± 35,24 ^{abB}	2065,51 ± 147,07 ^{ca}
20	na/nf**	24,13 ± 0,96 ^{ab}	na/nf	1,62 ± 0,08 ^{ab}	na/nf	4002,00 ± 159,65 ^a
MG	95,41 ± 7,18		2,45 ± 0,19		5195,96 ± 539,90	

*Percentual de concentração de éster de monoglicerídeo de ácido acético; **A amostra não foi analisada por não formar filme; MG (filme monocamada de gelatina com 300ppm de ácido ascórbico); MF (filme monocamada de amido); B (filme bicamada); Os valores representam as médias ± desvio padrão, pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% (p < 0,05); letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa entre as médias; letras maiúsculas iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa entre as médias.

A Tabela 14 apresenta os resultados dos ensaios mecânicos para os filmes monocamadas, os quais apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) para os parâmetros de resistência a tração (RT), alongação na ruptura (ER) e módulo de elasticidade (ME). O ME e a RT aumentaram proporcionalmente em relação ao aumento da concentração de lipídio, o que demonstrou maior rigidez. Segundo Petersson e Standig (2005) a incorporação de éster de monoglicerídeo de ácido acético em filmes de fécula de batata promoveu alterações nas propriedades mecânicas dos mesmos. Cerqueira et al. (2012) observaram mudanças nas propriedades mecânicas quanto a resistência a tração e alongação de ruptura, em filmes de polissacarídeo (galactomanana), quando acrescidos de lipídios.

O tratamento MFsL apresentou valores de baixa resistência à tração e módulo elástico, o que demonstra que o filme possui características de baixa rigidez, 5,02 MPa e 266,88 MPa respectivamente, quando comparados a 6,49 MPa e 323,89 MPa, respectivamente, do tratamento MF15L. De acordo com a Tabela 9, houve um aumento da espessura de forma proporcional ao aumento da concentração do lipídio que pode ter proporcionado uma possível interferência quanto à rigidez dos filmes. Essa característica pode ter sido obtida devido às condições de armazenamento sem o controle da umidade e temperatura, podendo ter promovido essa conformação estrutural.

Petersson e Standing (2005) ao avaliarem filme de fécula de batata com 10% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (50%) obtiveram os seguintes valores: 1,9 GPA (ME), 29,9 MPa (TR) e 2,3% (ER), o que resultou em um filme muito rígido, podendo ocasionar variações na deformação, quando comparado ao tratamento do presente estudo, MF10L, o qual obteve-se um filme menos rígido e que, sofreu uma maior deformação: 378,32 MPa (ME), 6,49 MPa (RT) e 7,86% (ER). Segundo Mali, Grossman e Yamashita (2010) o teor de amido incorporado pode vir a resultar em filmes com maior resistência à tração, uma vez que este polímero é capaz de aumentar o grau de interação da matriz. Debeaufort e Voilley (1995) justificam essa redução no RT e ER, utilizando o tamanho do diâmetro do glóbulo do lipídio, quanto maior for esse diâmetro dentro da matriz biopolimérica, menor serão os valores de resistência à tração e a alongação de ruptura.

No filme monocamada de gelatina (MG) (Tabela 14), pode-se observar que este apresenta características de filme rígido, 95,41 MPa (RT), 2,45% (ER) e 5.195,96 MPa (ME), quando comparados aos filmes de gelatina de pescado desenvolvidos por Santos (2012), os quais apresentaram características de filmes mais flexíveis: 16,28 MPa (RT), 13,95% (ER) e 475,68 MPa (ME). Essa diferença talvez se deva à utilização de plastificante e,

possivelmente, a origem do material (colágeno bovino) tendo em vista que o tratamento MG é composto apenas de gelatina e ácido ascórbico.

A Tabela 14 apresenta os resultados para os filmes bicamadas que, devido à incorporação da camada de gelatina (proteína), proporcionou alterações consideráveis nos valores de resistência à tração, alongação na ruptura e módulo de elasticidade, com diferença estatística ($p < 0,05$). Os filmes também são considerados rígidos e não flexíveis. A incorporação de lipídio aumentou tanto a RT, a ER e o ME dos filmes bicamadas, supondo-se que houve integração do lipídio a rede biopolimérica do amido e demais constituintes. O oposto foi observado por Standing et al. (2002) ao analisarem filmes de proteína isolada do leite com éster de monoglicerídeo de ácido acético (70%), onde o aumento da concentração de lipídio promoveu redução nos valores de RT (1,2 MPa para 0,3 MPa), ER (50% para 29%) e ME (52 MPa para 7 MPa), justificadas pela redução proveniente da não integralização do lipídio com a proteína (SHELLHAMMER; KROCHTA, 1997; WELLER; GENNADIOS, SARAIVA, 1998), promovendo efeito de enfraquecimento da rede proteica, assim como também observado por Debeaufort et al. (2000b).

Ao avaliarmos o módulo de elasticidade dos filmes bicamadas de 1990,58 MPa (BsL) para 4002 MPa (B20L) em relação aos filmes monocamadas (Tabela 14) de 266,88 MPa (MFsL) para 323,89 MPa (MFsL), observamos que a incorporação da camada proteica de gelatina (5195,96 MPa), considerada uma camada rígida, promoveu características de rigidez aos filmes bicamadas, aumentando o módulo de elasticidade, possivelmente, como dito anteriormente auxiliado pelo aumento da espessura. Segundo Arvanitoyannis e Billiaderis (1999), o tipo de plastificante pode influenciar na alongação e no módulo elástico, pois os mesmos elaboraram filmes distintos com o mesmo percentual (30%) de glicerol e sorbitol, e obtiveram valores de 30% e 5%, respectivamente, para o alongamento e redução do módulo elástico.

Como descrito anteriormente, o tipo de filme (mono e bicamada), o armazenamento (tempo, temperatura e umidade) e as substâncias que constituem os filmes (plastificantes, lipídios – óleo essencial e éster de monoglicerídeo de ácido acético – e a matriz biopolimérica), são fatores que podem promover alterações significativas nas propriedades mecânicas dos dois tipos de filmes. Deve-se ressaltar que a umidade presente nos constituintes, como a gelatina, em torno de 9% e, dos filmes (Tabela 14) favoreceu o aumento da alongação, já que a água pode atuar como plastificante (RIVERO; GARCÍA; PINOTTI, 2010).

As propriedades mecânicas nos filmes são indicadores importantes quanto às condições físicas da embalagem, no que se refere à resistência à quebra, abrasão e flexibilidade, a fim de proteger o alimento. Segundo Chen (1995), as interações entre os biopolímeros e pequenas moléculas como água, plastificantes, lipídios e outros aditivos dispersos na matriz, também contribuem para o comportamento mecânico das embalagens.

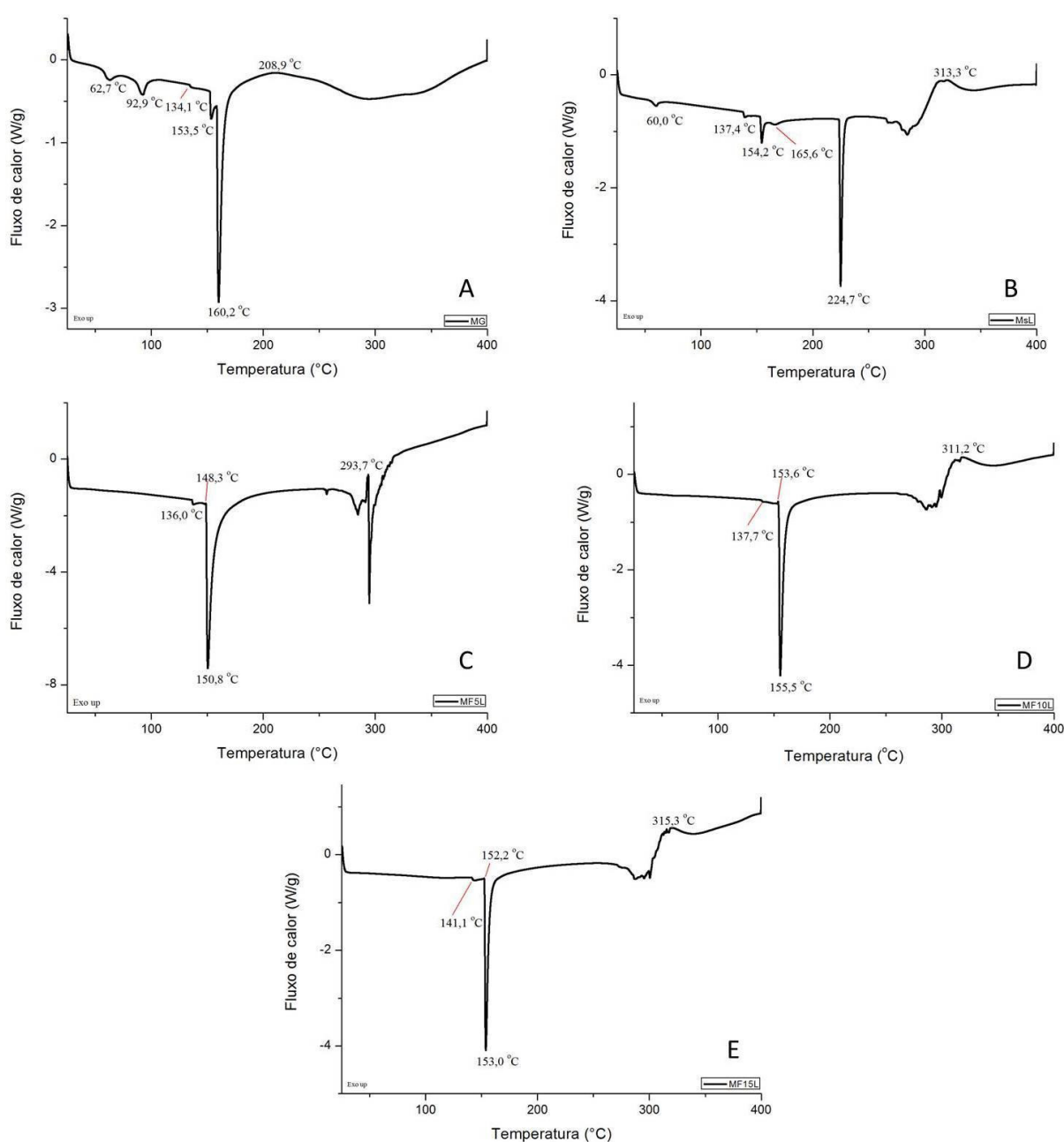
5.6 Propriedades termoanalíticas

5.6.1 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A temperatura de transição vítrea é aquela na qual se inicia o movimento de segmentos da cadeia polimérica, fazendo com que o material passe de um estado vítreo para um estado mais maleável, tendo-se uma transição de segunda ordem, portanto, um processo acompanhado de variação de capacidade calorífica da amostra, manifesta como variação da linha base da curva do termograma de DSC (CANEVALORO, 2006).

Pode-se considerar que os eventos endotérmicos formados em torno de 100 °C corresponde à vaporização da água livre absorvida pelos filmes. Na Figura 23A, filme monocamada de gelatina, o primeiro evento endotérmico na temperatura de 62,7 °C está relacionado à transição da estrutura de tripla-hélice para a estrutura espiral, estrutura de origem na solução água/gelatina antes da secagem. Resultado semelhante foi obtido por CHIOU et al. (2008), caracterizada como sendo a temperatura de fusão da gelatina.

Figura 23 - Termograma de DSC dos filmes monocamadas: (a) filme monocamada de gelatina com ácido ascórbico (MG); (b) filme monocamada de fécula com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta, sem éster de monoglicerídeo de ácido acético (MFsL); (c) filme monocamada de fécula com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta e 5% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (MF5L); (d) filme monocamada de fécula com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta e 10% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (MF10L); (e) filme monocamada de fécula com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta e 15% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (MF15L).



FONTE: AUTOR.

O segundo evento visualizado por volta de 92,9 °C se refere à remoção da água ligada às estruturas dos aminoácidos. Segundo Langmaier et al. (2008) e Santos (2012), pode estar associado à contínua fusão e recristalização dos pequenos cristalitos de gelatina. Visualiza-se na análise de MEV (Figura 23A) do presente trabalho a existência desses cristalitos de gelatina não dissolvidos e/ou recristalizados.

A Tabela 15 apresenta os valores obtidos de temperatura vítrea (T_g), temperatura de cristalização (T_c), fusão (T_m) e decomposição (T_{dec}) da matéria dos filmes monocamadas.

Tabela 15 – T_g , T_c , T_m e T_{dec} dos filmes monocamadas de fécula de batata com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta e diferentes concentrações de éster de monoglicerídeo de ácido acético e, filme monocamada de gelatina.

EVENTO/PICO	TRATAMENTOS					
	MG	MFsL	MF5L	MF10L	MF15L	MF20L
T_g (°C)	134,1	137,4	136,0	137,7	141,1	
T_c (°C)	-	-	148,3	153,6	152,2	na/nf**
T_m (°C)	153,5 / 160,2	154,2 / 165,6 / 224,7	150,8	155,5	153,0	na/nf
T_{dec} (°C)	208,9	313,3	293,7	311,2	315,3	na/nf

**A amostra não foi analisada por não formar filme; MG (monocamada de gelatina com 300ppm de ácido ascórbico); MFsL (monocamada de amido sem éster de monoglicerídeo de ácido acético); MF5L (monocamada de amido com 5,0% de éster de monoglicerídeo de ácido acético); MF10L (monocamada de amido com 10,0% de éster de monoglicerídeo de ácido acético); MF15L (monocamada de amido com 15,0% de éster de monoglicerídeo de ácido acético); MF20L (monocamada de amido com 20,0% de éster de monoglicerídeo de ácido acético); T_g (temperatura de transição vítrea); T_c (temperatura de cristalinidade); T_m (temperatura de fusão ou *melting*); T_{dec} (temperatura de decomposição).

Observa-se na Tabela 15 e Figura 23A a existência de dois eventos no MG referentes à temperatura de fusão e, acredita-se que devido a irregularidades dos cristalitos de gelatina, promoveu a gelatinização incompleta, gerando o segundo evento. O mesmo apresentou uma temperatura de decomposição da matéria orgânica a partir de 208,9 °C. Já nos demais tratamentos, observou-se que as temperaturas de decomposição (evento exotérmico) ficaram em torno de 293,7 °C a 315,3 °C.

Ao analisar os valores de T_g dos tratamentos MFsL, MF5L, MF10L e MF15L, pode-se observar que de acordo com o aumento da concentração de éster de monoglicerídeo de ácido acético, ocorre deslocamento da T_g para valores maiores.

Perdomo et al. (2009) observaram que o alto valor de umidade resulta na diminuição da T_g , deste modo, a água atua como plastificante promovendo maior mobilidade dos solutos e dificultando a transição destes ao estado vítreo. Neste trabalho, o éster de monoglicerídeo de ácido acético, impediu que ocorresse essa redução da T_g mesmo que não tenha havido diferença significativa ($p < 0,05$) nos filmes monocamadas (Tabela 15).

Nos tratamentos com 5%, 10% e 15% de éster de monoglicerídeo de ácido acético foram evidenciados eventos de cristalinidade, entre 148,3 °C a 152,2 °C, possivelmente devido a gelatinização incompleta do amido da fécula de batata em associação com o plastificante, incorporados com éster de monoglicerídeo de ácido acético. Para Miller e Krochta (1997) a cristalinidade é definida como a medida de grau da ordem das moléculas no polímero, podendo ser afetada pela regularidade estrutural e mobilidade das cadeias de polímero, pela presença de cadeias laterais repetidas que permitem ligações intermoleculares e, pela ausência de cadeias laterais carregadas, que interferem na formação de cristal. Portanto, o desenvolvimento da cristalinidade em um polímero é dependente de sua regularidade estrutural e os fatores que afetam esta cristalinidade incluem polaridade, presença de ligações de hidrogênio, assim como capacidade de “empacotamento” das cadeias poliméricas.

Segundo Sasaki, Yasui e Matsuki (2000), a amilopectina desempenha o papel principal na cristalinidade do grânulo de amido e, a amilose por interferir na parte amorfa do grânulo, interfere na energia necessária para fusão dos cristais. Em amidos de alto teor de amilose há mais regiões amorfas e menos regiões cristalinas e, portanto, menor entalpia de gelatinização é obtida.

Os filmes bicamadas apresentaram apenas um evento de cristalinidade no tratamento B10L e valores reduzidos da T_g , quando comparados aos filmes monocamadas, como mostra a Tabela 16.

Tabela 16 – T_g , T_c , T_m e T_{dec} dos filmes bicamadas de fécula de batata com solução de óleo essencial de alecrim-pimenta e diferentes concentrações de éster de monoglicerídeo de ácido acético.

EVENTO/PICO

TRATAMENTOS

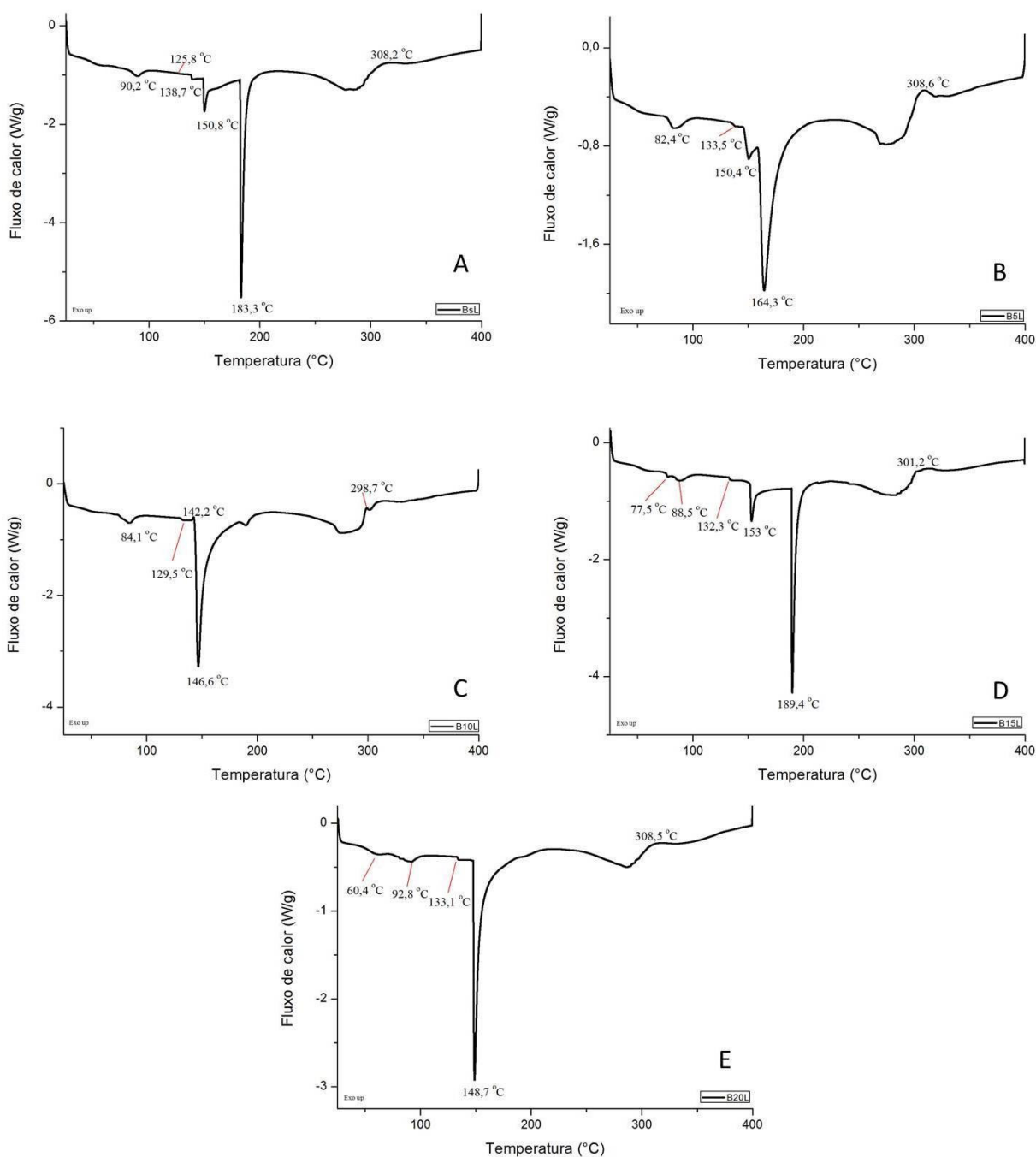
	BsL	B5L	B10L	B15L	B20L
T_g (°C)	125,8 / 138,7	133,5	129,5	132,3	133,1
T_c (°C)	-	-	142,2	-	-
T_m (°C)	150,8 / 183,3	150,4 / 164,3	146,6	153 / 189,4	148,7
T_{dec.} (°C)	308,2	308,6	298,7	301,2	308,5

BsL (bicamada de gelatina e amido, sem o éster de monoglicerídeo de ácido acético, controle); B5L (bicamada com 5,0% de éster de monoglicerídeo de ácido acético); B10L (bicamada com 10,0% de éster de monoglicerídeo de ácido acético); B15L (bicamada com 15,0% de éster de monoglicerídeo de ácido acético); B20L (bicamada com 20,0% de éster de monoglicerídeo de ácido acético); T_g (temperatura de transição vítrea); T_c (temperatura de cristalinidade); T_m (temperatura de fusão ou *melting*); T_{dec} (temperatura de decomposição).

Observa-se que houve formação de T_c apenas no tratamento B10L. Supõe-se que ocorreu a desestruturação dos cristais pelo aumento da temperatura nos demais tratamentos e, essa formação de um evento de cristalização possa ter sido promovido pela camada de gelatina, já questionado anteriormente.

A Tabela 16 mostra que com a incorporação da camada proteica (camada hidrofílica), ocorreu uma diminuição nos valores da T_g, como ilustra a Figura 24.

Figura 24 -Termogramas de DSC dos filmes bicamadas: (a) filme bicamada sem éster de monoglicerídeo de ácido acético (BsL); (b) filme bicamada com 5% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B5L); (c) filme bicamada com 10% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B10L); (d) filme bicamada com 15% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B15L); (e) filme bicamada com 20% de éster de monoglicerídeo de ácido acético (B20L).



FONTE: AUTOR.

Pode-se observar que esse efeito possa ter sido minimizado com incorporação de éster de monoglicerídeo de ácido acético, tendo em vista ser a única variável existente entre as formulações dos filmes bicamada, indicando, assim, uma interação do lipídio com a matriz polimérica. O mesmo ocorre nos filmes monocamadas. As temperaturas de decomposição ficaram em torno de 298,7 °C a 308,6 °C, evidenciado pela presença de um evento exotérmico e, quando comparamos com os dados da Tabela 16, observou-se uma redução na faixa da temperatura.

Segundo Borges et al. (2005) reportaram, picos/eventos na região de 180 °C a 190 °C são atribuídos à quebra da interação entre grupos NH_3^+ e COO^- do ácido. Portanto, a área total dessa região nos fornece o calor necessário para o rompimento dessa interação.

Como não existem muitas evidências quanto a fatores que venham a influenciar a T_g dos filmes, principalmente no que se refere aos filmes bicamadas, acredita-se que o grau de acetilação do éster de monoglicerídeo de ácido acético venha a influenciar nos valores vítreos. Tal questionamento foi levantado por Ratto et al (1995), Sakurai et al. (2000), Kittur et al. (2002) e Netto et al. (2005) que obtiveram diferentes valores de T_g para filmes elaborados com quitosana em diferentes graus de desacetilação. Assim como, o envelhecimento físico de filmes pode vir a se manifestar de forma negativa nas propriedades térmicas e mecânicas, principalmente, se analisarmos os mesmos através do grau de entalpia, ocorrendo um relaxamento.

6 CONCLUSÃO

Os resultados indicaram que os filmes produzidos neste estudo, monocamada e bicamadas, com os diferentes percentuais de éster de monoglicerídeo de ácido acético, possuem potencial aplicabilidade como biomateriais para alimentos com elevado teor de umidade, estando eles minimamente processados ou não. Destacam-se os filmes bicamadas com matriz biopolimérica de proteína e polissacarídeo que apresentaram grandes vantagens com relação à redução na permeabilidade ao vapor de água, propriedades mecânicas e baixo conteúdo de água, sendo potenciais alternativas aos filmes sintéticos usados atualmente.

O teste do antimicrobiano *in vitro* apresentou resultados excelentes quanto à formação de halo de inibição em todas as concentrações estudadas, principalmente o *Staphylococcus aureus*, com halo de 10,5 mm e, *Pseudomona aeruginosa*, com 11,0 mm, na menor concentração, 0,39% de solução de óleo essencial de alecrim-pimenta, *Lippia sidoides*. Quando avaliado a ação antimicrobiana no filme, acredita-se que não ocorra ação inibitória, mas sim bacteriostática, tendo em vista que não há formação de halo.

Nos termogramas de DSC foi possível observar picos de cristalização, principalmente nos filmes monocamadas com variação de 5% a 15% de éster de monoglicerídeo de ácido acético e, apenas no tratamento B10L apresentou esse pico. Esses resultados indicam falha no processo quanto à aplicação do binômio tempo-temperatura no processo de gelatinização da fécula de batata.

Os espectros obtidos por FT-IR mostraram que as bandas de amida I e amida II nos filmes bicamadas (parte lisa) em relação à monocamada de gelatina, apresentaram pequenos deslocamentos.

A integridade na formação dos filmes bicamadas, assim como a estabilidade do éster de monoglicerídeo de ácido acético com a matriz biopolimérica da fécula de batata, está associada a vários parâmetros como o diâmetro das partículas e o baixo grau de polidispersão, tornando a solução coloidal homogênea, associada a carga eletrocinética superficial do potencial zeta. São essas interações moleculares que corroboram na explicação da insolubilidade dos filmes estudados em água.

O teste de solubilidade apresentou excelentes resultados para os filmes obtidos, principalmente, as bicamadas com baixa solubilidade, 16,0% solúvel em ambiente aquoso, enfatizando a aplicabilidade do uso deste biopolímero para alimentos com elevado teor de umidade.

As propriedades mecânicas dos filmes apresentaram resultados promissores com características flexíveis (monocamadas) e rígidas (bicamadas), mas não apresentaram uma tendência plástica a fim de substituir o material sintético tradicional.

Os filmes analisados, monocamada e bicamadas, apresentam boa barreira a permeabilidade ao vapor de água (PVA), sendo insolúvel em ambiente úmido, o que favorece a aplicação em alimentos de origem animal e vegetal com elevado teor de umidade.

Os filmes bicamadas mantiveram as características de coloração da camada de gelatina, com altos valores de opacidade e saturação. Tais resultados se tornam interessantes para o controle da foto-oxidação nos alimentos com elevado teor de lipídios, como as carnes bovinas, auxiliado pela opacidade promovida pela incorporação do lipídio.

REFERÊNCIA

ACEVEDO, C.; SKURTYS, O.; PEDRESCHI, F.; ENRIONE, J.; OSORIO, F.; AGUILERA, J.M. Food hydrocolloid edible films and coatings. **New Science Publishers**, 34p., 2010.

ALMASI, H.; GHANBARZADEH, B.; ENTEZAMI, A.A. Physicochemical properties of starch-CMC-nanoclay biodegradable films. **International Journal of Biological Biological Macromolecules**, v. 46, n. 1, p. 1-5, 2010.

ALVES, M. S. Obtenção e caracterização de biofilmes de gelatina. In: Congresso de Iniciação Científica, 14, 2005. Piracicaba, **Anais...**Piracicaba: Universidade Metodista de Piracicaba. 2005.

ANDREUCCETTI, C.; CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. Effect of hydrophobic plasticizers on functional properties of gelatin-based films. **Food Research International**, v. 42, p. 1113–1121, 2009

_____. Gelatin-based films containing hydrophobic plasticizers and saponin from *Yucca schidigera* as the surfactant. **Food Research International**, v. 43, p. 1710–1718, 2010.

ANGIONI A.; BARRA A.; CERETI E.; BARILE D.; COISSON J.D.; ARLORIO M.; DESSI S.; CORONEO V.; CABRAS P. Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. **J Agr Food Chem** 52: 3530-3535, 2004.

ANKER, M.; BERNTSEN, J.; HERMANSSON, A.M.; STADING, M. Improved water barrier of whey protein films by addition of an acetylated monoglyceride. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. n.3, p.81-92, 2002.

ANYADIKE, N. **Embalagens flexíveis**. 1ª edição, Ed. Quattor, Blucher, 154p., 2010.

AOUADA, M.R.M. **Aplicação de nanopartículas em filmes utilizados em embalagens para alimentos**. 2009. 119f. Tese (Doutorado em Ciências), Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-São Paulo, 2009.

ARAUJO-FARRO, P. C. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis a partir de derivados do grão de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willdenow) da variedade “Real”**. 303p., 2008. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

ARRUDA, M.C.; JACOMINO, A.P.; TREVISAN, M.J.; JERONIMO, E.M.; MORETTI, C.L. Atmosfera modificada em laranja “pêra” minimamente processada. **Tecnologia de Pós-Colheita**, Bragantia, Campinas, v. 70, n. 3, p.664-671, 2011.

ARVANITOYANNIS, I.S. Formation and properties of collagen and gelatina films and coatings. In: GENNADIOS, A. **Protein-based films and coatings**, Boca Raton: CRC Press, p. 275-304, 2002.

ARVANITTOYANNIS, I.; BILIADERIS, C.G. Physical properties of polyol-plasticized edible blens made of methyl cellulose and soluble starch. **Carbohydrate Polymers**, 38, 47-58. 1999.

ARVANITTOYANNIS, I.; PSOMIADOU, E.; NAKAYAMA, A. Edible films made from sodium caseinate, starches, sugars or glycerol. Parte I. **Carbohydrate Polymers**, v.11, 179-192, 1996.

ASSIS, O. B. G.; FORATO, L. A.; BRITTO, D. Revestimentos Comestíveis Protetores em Frutos Minimamente Processados. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 22, n. 160, p. 99-106, 2008.

ASSOLINI, F. C.; TEDESCO, A. M.; CARPES, S. T. Atividade antioxidante e antibacteriana dos compostos fenólicos dos extratos de plantas usadas como chás. **Brasilian Journal of Food Technology**, v. 9, n. 3, p. 209-215, 2006.

ASTM. Standard Practices for Producing Films of Uniform Thickness of Paint, Varnish, and Related Products on Test Panels, D823-95(2012), **ASTM International**, West Conshohocken, PA, 2012.

ASTM. Standard Test Method for Water Vapor Transmission of Materials, E96-00 (2000), **ASTM International**, West Conshohocken, PA, 2000.

AVELLA, M.; DE VLIEGER, J.J.; ERRICO, M.E.; FISCHER, S.; VACCA, P.; VOLPE, M.G. Biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications. **Food Chemistry**, n.93, p.467-474, 2005.

AVENA-BUSTILLOS, R.J.; KROCHTA, J.M. Water vapor permeability of caseinate-based edible films as affected by pH, calcium cross linking and lipid content. **Journal of Food Science**, v.4, n.58, p.904-907, 1993.

AZEREDO, H. M. C. **Fundamentos de estabilidade de alimentos**. Editora: Técnica, 2ª ed. rev. e ampl. – Brasília, DF; 326 p., Embrapa, 2012.

BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils: a review. *Food Chem Toxicol*, 46, 446 – 475, 2008.

BANEGAS, R. S. **Filmes formados por goma guar**: efeito do plastificante e agente reticulante nas propriedades térmicas, mecânicas e absorção de água. 2008. 25f. Estágio supervisionado (graduação em Química) – Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.

BANKER, G.S. Films coating theory and practice. **Journal of Pharmaceutical Science**. V.55 n.1.p.81-89, 1966.

BARATTA, M.T.; DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G.; BIONDI, D.M.; RUBERTO, G. Chemical composition antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, Rosemary, orégano and coriander essential oils. **Journal Essential Oil Reserach**, v.10, n.6, p.618-627, 1998.

BATISTA, J.A. **Desenvolvimento, caracterização e aplicações de biofilmes à base de pectina, gelatina e ácidos graxos em bananas e sementes de brócolos.** 2004, 140p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

BERTAN, L.C.; **Desenvolvimento e caracterização de filmes simples e compostos a base de gelatina, ácidos graxos e breu branco.** 2003. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

BRAGA, A.H.F. **Elaboração e caracterização de filmes coacervados à base de gelatina/quitosana, gelatina/pectina e gelatina/goma arábica.** 2013. 278f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2013.

BRASIL. Resolução nº 12, 24 de julho de 1978 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Aprova as normas técnicas especiais do Estado de São Paulo, revistas pela CNNPA, relativas a alimentos (e bebidas). **Diário Oficial da República Federativa do Brasil.** Brasília, jul. 1978.

_____. Resolução RDC nº 91, de 11 de maio de 2001. Aprova o regulamento técnico critérios gerais para embalagens e equipamentos em contato com alimentos constante do anexo desta resolução, **Republicada no D.O.U.** de 13/06/2001.

BILIADERIS, C. G. The structure and interactions of starch with food. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** v.69, p.60-78, 1991.

BOOBIO, F. O; BOBBIO, P. A.; Capítulo I: Carboidratos, In: **Introdução à Química de Alimentos**, Fundação Cargil, Ed. XV, 306 p., 1985

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos.** 2 ed., 1. Reimpr. São Paulo: Varela, p. 151, 1995.

BODMEIER, R.; PAERATAKUL, O. Plasticizer uptake by aqueous colloidal polymer dispersions used for the coating of solid dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam; v.152, p.17-26, 1997.

BORGES, O.; BPRCHARD, G.; VERHOEF, J.C.; DE SOUSO, A.; JUNGINGER, H.E. Preparation of coated nanoparticles for a new mucosal vaccine delivery system. **Int. J. Pharm.**, 299:15, 2005.

BOURTOOM, T. Edible films and coatings: characteristics and properties. **International Food Research Journal**, v.15, n.3, 2008.

BOZIN, B. et al. Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 5, p. 1822-1828, 2006.

CANEVAROLO JR., S.V. **Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros.** 2 ed. São Paulo, Artliber Editora, 2006.

_____. **Técnicas de caracterização de polímeros**. São Paulo: Artliber, 448p., 2007.

CANUTO, K.M.; PINTO, N.O.F.; MUNIZ, C.R.; AZEREDO, H.M.C. **Preparação de nanocápsulas poliméricas para visualização em microscopia eletrônica de varredura**. EMBRAPA, Comunicado Técnico, n. 212, 2015.

CARDOSO, G. P.; RAMOS, E. M.; RAMOS, A. L. S.; DUTRA, M. P.; TEIXEIRA, J. T.; RODRIGUES, E. C. Utilização de DCCR e superfície de resposta para a otimização de biopolímero a base de gelatina para manutenção da cor objetiva de carne bovina in natura. In: **XIX Congresso de Pós-Graduação da UFLA**, 2010, Lavras. XIX Congresso de Pós-Graduação da UFLA, 2010.

CARDOSO, G.P.; RETTORE, D.M. ; OLIVEIRA, C.A. ; RAMOS, E. M. ; RAMOS, A.L.S. ; PICOLLI, R.H. ; CARDOSO, M.G. . Atividade antimicrobiana de óleo essencial de folhas frescas de pimenta da jamaica (*Pimenta dióica*)1. In: **III Semana Acadêmica Integrada da UFV**, 2011, Florestal. III Semana Acadêmica Integrada da UFV, 2011

CARULO, M.F. **Desenvolvimento e caracterização de biofilmes ativos contendo sorbato de potássio, feitos de alginato de cálcio e ácidos graxos**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Faculdade de Engenharia Química, Campinas: 2005.

CASTRO, A. G.;POUZADA, A. S. **Embalagens para a Indústria Alimentar**. São Paulo. Instituto Piaget. 2003.

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: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, v.27, p.175-184, 2012.

CETEA – Centro de Tecnologia de Embalagens. **Ensaio para Avaliação de embalagens plásticas flexíveis**. Campinas, 219p., 1996.

CHEN, H. Functional properties and applications of edible films made of milk proteins. **Journal of Dairy Science**, v.78, p.2563-2583, 1995.

CHEN, C.H.; TARENTJEV, E.M. Effect of water on aggregation and stability of monoglycerides in hydrophobic solutions. **Langmuir**, n.26, p.3095–3105, 2010.

CHIOU, B.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; BECHTEL, P. J.; JAFRI, H.; NARAYAN, R.; IMAMA, S. H.; GLENN, G. M.; ORTS, W. J. Cold water fish gelatin films: Effects of cross-linking on thermal, mechanical, barrier, and biodegradation properties. **European Polymer Journal**, v. 44, p. 3748–3753, 2008.

COLLARES-QUEIROZ, F.P.; FAKHOURI, F.M.; FONTES, L.C.B.; GONÇALVES, P.V.M.; MILANEZ, C.R.; STEEL, C.J. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. **Ciênt.Tecnol.Aliment.**, Campinas, v.27, n.2, p.369-375, 2007.

COMA, V. Bioactive packaging Technologies for extended shelf life of meat-based products. **Meat Science**. 78(1-2), 90-103, 2008.

CONTRERAS CASTILLO, Carmen J. Qualidade da carne. São Paulo: **Varela**, 2006.

CORRADINI, R.; LOTTI, C.; MEDEIROS, C. E. S.; CARVALHO, A. J. F.; CURVELO, A. A. S.; MATTOSO, L. H. C. Estudo comparativo de amidos termoplásticos derivados do milho com diferentes teores de amilose. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. 15(4): p.268-273, 2005.

COSTA, J.P.R.; ALMEIDA, A.C.; MARTINS, E.R.; RODRIGUES, M.N.; SANTOS, C.A.; MENEZES, I.R. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim-pimenta e do extrato bruto seco do barbatimão diante de bactérias isoladas do leite. **Biotemas**, v.4, n.24, p.1-4, 2011.

CRAVEIRO, A.A.; FERNANDES, A.G.; ANDRADE, C.H.S.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W.; MACHADO, M.I.L. **Óleos essenciais de Plantas do Nordeste**. Fortaleza: Editora UFC, 1981.

CRIPPA, A.; SYDENSTRICKER, T. H. D.; AMICO, S. C. The influence of the thermoforming process on co-extruded plastic films for sausage packaging. In: **WORLD POLYMER CONGRESS– 41st International Symposium on Macromolecules**, Rio de Janeiro, 2006.

CRUZ, M.R. **Filmes de gelatin e galactomanana incorporados com nanocelulose de fibra de algarroba (*Prosopis juliflora*)**. 2014. 71f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Pós-Graduação em Engenharia Química, Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2014.

CRUZ, R.S.; SOARES, N.F.F.; ANDRADE, N.J. Eficiência de absorvedores de oxigênio sob diferentes umidades relativas e temperaturas. **Ciênc.Agrotec.** [online], v.31, n.6, p.1800-1804, 2007.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. **Edible films and coating as active layers**. In: ROONEY, M. L. Active food packaging. New York: Blackie Academic & Professional, Cap. 5. p. 111-142., 1995

_____. Thermoplastic properties of fish myofibrillar proteins: application to biopackaging fabrication. **Polymer**, v. 38, n. 16, p. 4071-4078, 1997.

D'AVILA, V.D.L. **Biofilmes à base de gelatina, aplicados na conservação de frutos de mirtilo (*Vaccinium achei* Reade)**. 2011. 117f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 2011.

DAVACO, D. **Desenvolvimento e Caracterização de Biofilmes a base de gelatina, triacetina, ácido esteárico ou ácido capróico e surfactantes**. Tese (Mestrado em Alimentos e Nutrição), 2006. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, SP, p. 130, 2006.

DEBEAUFORT, F.; MARTIN-POLO, M.; VOILLEY, A. Polarity homogeneity and structure affect water vapor permeability of model edible films. **J. Food. Sci.**, n.58, p.426-434, 1993.

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

DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLO, J.A.; DELPORTE, EB.; VOILLEY, A. Lipid hydrophobicity and physical state effects on the properties of bilary edible films. **Journal of Membrane Science**, n.180, p.47-55, 2000b.

DEBEAUFORT, F.; VOLLEY, A. Effect of surfactants and drying rate on barrier properties of emulsified edible films. **International Journal of Food and Science Technology**, v. 30, p. 183–190, 1995.

DEVLIEGHIERE, F.; VERMEIREN, L. DEBEVERE, J. **New preservation technologies: possibilities and limitations**. *International Dairy Journal*, v.14, 2004.

DIAS, A. M. V. **Análise estrutural de farinhas e alguns dos seus componentes**. 2008. 148p. Dissertação (Mestrado em Química e Qualidade dos Alimentos) - Universidade do Aveiro, Portugal, 2008.

DOGAN, A.; SIYAKUS, G.; SEVERCAN, F. FTIR spectroscopic characterization of irradiated hazelnut (*Corylus avellana* L.). **Food Chemistry**, v. 100, n. 3, p. 1106–1114. 2007

DONHOWE, I.G.; FENNEMA, O.R. Water vapor and oxygen permeability of wax films. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v.70, n.9, p.867-871, 1993.

DUTRA, M.P. *et. al.* Atividade antioxidante dos óleos essenciais das folhas frescas de pimenta da Jamaica (*Pimento dióica*) e de alecrim (*Rosamarinus officinalis*). In: Congresso Mineiro de Alimentação e Nutrição, 4º Congresso Nacional de Alimentos e Nutrição, 2011, Ouro Preto, **Anais...**Ouro Preto: UFOP, 2011.

DZIEDZIC, S.Z.; KEARSLEY, M.W. **Handbook of starch hydrolysing products and their derivatives**, Glasgow, Blackie Academic & Professional, 1995.

EMBUSCADO, M. E. & HUBER, K. C. **Edible Films and Coatings for Food Applications**. NY: **Springer**. 403 pp, Eds. 2009.

FADINI, A.L.; ROCHA, F.S.; ALVIM, I.D.; SADAHIRA, M.S.; QUEIROZ, M.B.; ALVES, R.M.V.; SILVA, L.B. Mechanical properties and water vapour permeability of hydrolysed collagen-cocoa butter edible films plasticised with sucrose. **Food Hydrocolloids**, n.30, p.625-631, 2013.

FAKHOURI, F.; FONTES, L.; GONÇALVES, P.; MILANEZ, R.; STELL, C.; e COLLARES-QUEIROZ, F., Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson, **Ciência e Tecnologia Alimentos**, Vol. 27, pp. 369-375, 2007.

FALGUERA, V.; PAGÁN, J.; GARZA, S.; GARVÍN, A.; IBARZ, A. Ultraviolet processing of liquid food: a review. Part 2: Effects on microorganisms and on food components and properties. **Food Research International**, 44, 1580–1588, 2011.

FEITOSA, J. G. Avaliação antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia sidoides* realizada pelo método de difusão em placa. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 28, 2005, Poços de Caldas. **Anais...** Poços de Caldas: SBQ, 2005.

FELLOWS, P. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 2.ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2006.

FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. Marcell Dekker, New York, 1985.

FERRY, J. D. **Viscoelastic Properties of Polymers**, 3° ed., New York, John Wiley and Sons, p.641, 1980.

FLORES, S.K.; FAMÁ, L.; ROJAS, A.M.; GOYANES, S.; GERSHENSON, L. Physical properties of tapioca-starch edible films: Influence of filmmaking and potassium sorbate. **Food Research International**, n.40, p.257-265, 2007.

FONSECA, S.F.; RODRIGUES, R.S. Utilização de embalagens comestíveis na indústria de alimentos. Pelotas, RS. **Trabalho Acadêmico**. Universidade Federal de Pelotas, 34 p., 2009.

FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVAKHO, L. J. C. B.; LEONEL, M.; CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S. **Propriedades gerais do amido**. São Paulo: Fundação Cargil, v.1, 224p. , 2001.

FRANSSEN, L. R.; KROCHTA, J. M. **Edible coatings containing natural antimicrobials for processed foods**. CRC Press, Boca Raton, Cambridge, UK, p. 250–262, 2003.

GALLO, J. A. Q.; DEBEAUFORT, F.; CALLEGARIN, F.; VOILLEY, A. Lipidic hydrophobic, physical state and distribution effects on the properties of emulsion-based films. **J. Membr. Sci.**, v. 180, n. 1, p. 37- 46, 2000.

GARCIA, V.; COLONNA, P.; BOUCHET, B.; GALLANT, D.J. Structural changes of cassava starch granule after heating at intermediate water contents. **Starch/Stärke**, Weinheim, v. 49, n. 5, p. 171-179, 1997.

GAUDIN, S.; LOURDIN, D.; LE BOTLAN, D.; ILARI, J.L.; COLLONA, P. Plasticisation and mobility in starch-sorbitol films. **Journal of Cereal Science**, v.29, p.273-284, 1999.

GENNADIOS, A.; HANA, M. A.; KURTH, L. B. **Application of edible coatings on meats, poultry and sea foods: a review**. *Lebensmittel-Wissenschaft-Und-Technologie*. v.30, p. 337-350., 1997.

GENNADIOS, A.;MCHUGH, T.H.; WELLER, C.L.; KROCHTA, J.M. Edible coatings and films based on proteins. In. KROCHTA, J.M.; BALDWIN, E.A.; NISPEROS-CARRIEDO, M.O. **Edible coatings and films to improve food quality**. Lancaster, Pennsylvania: Technomic Publishing Co., Inc., 1994.

GINDL, W.; MARTINSCHITZ, K.; BOESECKE, P. KECKERS, J. Changes in the Molecular Orientation and Tensile Properties of Uniaxially Drawn Cellulose Films. **Biomacromolecules**, v. 7, p. 3146-3150, 2006.

GÓMEZ-ESTACA, J.; GIMÉNEZ, B.; MONTERO, P.; GÓMEZ-GUILLÉN, M.C. Incorporation of antioxidante borage extract into edible films based on sole skin gelatin or a comercial fich gelatin. **Journal of Food Engineering**, n.92, p.78-85, 2009.

GONTARD, N. **Films et enrobages comestibles: étude et amélioration des proprietes filmogènes du gluten**. 1991, 174p. Tese (Doutorado em Bioquímica, biologia celular e molecular em ciência de Alimentos), Montpellier , 1991.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J.L.; GUIBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapor permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.29, n.1, p.39-50, 1996.

_____. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 29, p. 39-50, 1994.

GONTARD, N.; GONTARD, S.; CUQ, J.-L. Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 57, n. 1, p. 190-199, jan./fev. 1992.

GONTARD, N.; THIBAUT, R.; CUQ, B.; GUILBERT, S. Influence of the relative humidity and film composition on oxygen and carbon dioxide permeabilities of edible films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p.1064-1069, 1996.

GREENER, I.K.; FENNEMA, O.R. Barrier properties and surfasse characteristics of edible bilayer films. **Journal of Food Science**, v.54, n.6, p.1393-1406, 1989.

GRIPPI, A. Tempo de degradação dos materiais. Disponível em: http://www.fec.unicamp.br/~crsfec/tempo_degrada.html. Acesso em: 05 mar. 2015.

GROSSO, C.R.F.; BATISTA, J.A.; TANADA-PALMU, P.S. Efeito da adição de ácidos graxos em filmes à base de pectina. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.25, n.4, p.781-788, 2002.

GUIBERT, S. Technology and application of edibles films. In: M. Mathlouthi, **Food Packaging and Preservation**, Elsevier Applied Science Publishers, NY, p.371-394, 1986.

GUILBERT, S.; BIQUET, B. Edible films and coatings. In G. BUREAU; J.L. MULTON (Eds.) **Food Packaging Technology**. New York: VCH Publishers, 1996. Vol. 1, p. 528.

GUILBERT, S.; GONTARD, N.; GORRIS, L.G.M. Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. **LWT-Food Science and Technology**, v.29, p.10-17, 1996.

GUILBOT, A.; MERCIER, C. **Starch**. In: ASPINALL, GO. The polysaccharides. Orlando: Academic. Press INC., v. 3, cap 3. p. 209-282, 1985.

GUPTA, A. N.; BOHIDAR, H. B. Surface patch binding induced intermolecular complexation and phase separation in aqueous solutions of similarly charged gelatin-chitosan molecules. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 111, p. 10137- 10145, 2007.

GUPTA, M.C.; PANDEY, R.R. g-Irradiation of Nylon 6. **Journal of Polymer Science**, v 26, p. 491-502, 1988.

GUTIÉRREZ, T.J.; MORALES, N.J.; PÉREZ, E. TAPIA, M.S.; FAMÁ, L. Physico-chemical properties of edible films derived from native and phosphated cush-cush yam and cassava starches. **Food Packaging and Shelf Life**, n.3, p.1-8, 2015.

HAACK, M.S. **Análise de materiais por espectroscopia no infravermelho dentro do Sistema d gestão de qualidade conforme ABNT NBR ISO/IEC 17025**. 2010. 50f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Química Bacharelado), Intituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto alegre, 2010.

HAINES, P.J. Thermal methods of analysis: principles, applications and problems. London: **Blackie Academic & Professional**, 1995. 286p.

HAN, Jung H. et al (Ed.). **Innovations in Food Packaging**. United Kingdom: Elsevier Ltd, 516 p., 2005.

HELANDER, IM, Alakomi, H.-L, Latva-Kala, K, Mattila-Sandholm, T, Pol, I, Smid, EJ, Gorris, LGM., and Von Wright, A. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. **J. Agric. Food Chem.** 46:3590–3595, 1998.

HERNANDÉZ-HERNANDÉZ, E., PONCE-ALQUICIRA, JARAMILLO-FLORES, M.E., LEGARRETA, I.G. Antioxidant effect rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and colour of model raw pork batters. **Meat Science**, v.81, p.410-417, 2009.

HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; VILLALOBOS, R.; CHIRALT, A. Effect of ternal treatments on functional properties of edible films made from wheat gluten fractions. **Food Hydrocolloids**, v.18, p.647-654, 2004.

HOGAN, J. E. Modified release coating. In: COLE, G.; HOGAN, J. E.; AULTON, M. (Eds.). **Pharmaceutical coating technology**. London: Taylor & Francis Books, 1995. p.409-438.

HOQUE, MD. S.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Effects of partial hydrolysis and plasticizer content on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 1, p. 82–90, 2011.

HORN, M.M. **Blendas e filmes de quitosana/amido de milho: estudo da influência da adição de polióis, oxidação do amido e razão amilose/amilopectina nas suas propriedades**. 2012. 147f. Tede (Doutorado em Química Analítica e Inorgânica), Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

HU, G.; CHEN, J.; GAO, J. Preparation and characteristics of oxidized potato starch films. **Carbohydrate Polymers**, n. 76, p.291-298, 2009.

IONASHIRO, M.A.; GIOLITO, I. Nomenclatura, padrões e apresentação dos resultados em análise térmica. **Cerâmica**, São Paulo, v.26, n.121, p.17-24, 1980.

INSUMOS. **Gelatina um ingrediente alimentício com muitos benefícios para a saúde.** Disponível em: http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/623.pdf. Acesso em: 12 jun. 2015.

JAKIEMIU, E.A.R. **Uma contribuição ao estudo do óleo essencial e do extrato de tomilho (*Thymus vulgaris* L.).** 2008. 90p. Dissertação (Mestrado Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

JAY, J.M.; LOESSNER, M.J.; GOLDEN, D.A. **Modern food microbiology.** New York: Springer Science, 790p., 2005.

JHA, S.N. **Colour measurements and modelling – Nondestructive Evaluation of Food Quality.** Springer, Berlin, 2010.

KAUFMANN J.; WINNEFELD F.; ZURBRIGGEN R. Polymer dispersions and their interaction with tile minerals studied by zeta-potential measurements and atomic force microscopy, **Cement and Concrete Composites** 34 (2012), 604-611.

KESTER, J. J., FENNEMA, O. R. An edible film of lipids and cellulose ethers: barrier properties to moisture vapor transmission and structural evaluation. **Journal of Food Science**, v. 54, n. 6, p. 1383-1389, Nov./Dec.1989

_____. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**, v. 40, n. 12, p. 47-59, 1986

KITTUR, F. S.; PRASHANTH, K. V. H.; UDAYA, S. K.; THARANATHAN, R. N.; Characterization of chitin and their carboxymethyl derivatives by differential scanning calorimetry. **Carbohydrate Polymers**, v.49, pp. 185-193, 2002.

KROCHTA, J.M. **Proteins as raw materials for films and coatings:** definitions, current status, and opportunities. In: Protein-based films and coatings. Gennadios, A. Edt; Boca Raton, FL: CRC, p. 267, press, 2002.

KROCHA, J.; BALDWIN, E.A.; E NISPEROS-CARRIEDO, M. **Edible coatings and films improve food quality.** Florida, United States of America. CRC Press, 1994.

KROCHA, J.M.; MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**, v.51, n.2, p.61-74, 1997.

KROG, N.J.; LARSSON, K.. Phase behavior and rheological properties of aqueous systems of industrial distilled monoglycerides. **Chem. Phys. Lipids**, n.2, p.129-143, 1968.

KROG, N.J.; LARSSON, K.; FRIBERG, S.E. Food Emulsions, **Marcel Dekker**, New York, pp. 127–202, 1990.

KROG, N.J.; RIISOM, T.H.; LARSSON, K. **Encyclopedia of Emulsion Technology.** Ed. **Becher**, vol. 2, Dekker, New York, 1985.

KURT, A.; KAHYAOGU, T. Characterization of a new biodegradable edible film made from salep glucomannan. **Carbohydrate polymers**, n.104, p.50-58, 2014.

LABUZA, T.; BREENE, W. Application of active packing for improvement of shelf life and nutritional availability of fresh and extended shelf life in foods. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.13, p.1-69, 1989.

LAMBERT, R. J. W.; SKANDAMIS, P. N.; COOTE, P. J. A Study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Applied Microbiol.*, v.91, p.453-462, 2001.

LANGMAIER, F.; MOKREJS, P.; KOLOMAZNIK, K.; MLADEK, M. Plasticizing collagen hydrolysate with glycerol and low-molecular weight poly (ethylene glycols). **Termochimical Acta**, v. 469, p. 52–58, 2008.

LAWTON, J.W. Effect of starch type on the properties of starch containing films. **Carbohydrate Polymers**, v.29, p.203-208, 1996.

LIEBERMAN, E.R.; GILBERT, S.G. Gas permeation of collagen films as affected by cross-linkage, moisture, and plasticizer content. **Journal of Polymer Science**, Symposium, n.41, p.33-43, 1973.

LIN, S.Y., K.S. CHEN AND L. RUN-CHU. Organic esters of plasticizers affecting the water absorption adhesive property glass transition temperature and plasticizer permanence of Eudragit acrylic films. **Journal Controlled Release**, v.68, p.343-350, 2000.

LIU, Z.; HAN, J.H. Film forming characteristics of starch. **Journal of Food Science**, Chicago, v.70, n.1, p.31-36, 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002. 512p.

LOURDIN, D.; RING, G.S.; COLONNA, P. Study of plasticizer-oligomer and plasticizer-polymer interactions by dielectric analysis: maltose-glycerol and amylose-glycerol-water systems. **Carbohydrate Research**, v.306, p.551-558, 1998.

LOVERGREN, N. V., FEUGE, R. O. Permeability of acetostearin products to water vapor. **Journal Agricultural of Food Chemistry**, v. 2, p. 558, 1954.

LUCE, G.T. Acetylated monoglycerides as coatings for select foods. **Food Technol.** v.21, p.48-54. 1967.

LUTTON, E.S. Phase behavior of aqueous systems of monoglycerides. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, n.42, p.1068–1070, 1965.

MAIA, L. H., PORTE, A., SOUZA, V. F. de, Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira a umidade e oxigênio. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 18, n. 1, p.105-128, jan./jun.2000.

MAIMONI-RODELLA, R.; CAVALCANTI, L. H. Myxomycetes sobre inflorescência e folhas vivas de lírio-do-brejo (*Hedychium coronarium* Koenig, Zingiberaceae): registro de um novo substrato. **Revista Brasil. Bot.**, v.29, n.2, p.331-333, abr-jun. 2006.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.

MALI, S.; SAKANAKA, L. S.; YAMASHITA, F.; GROSSMANN, M. V. E. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. **Carbohydrate Polymers**, v. 60(3), p. 283 - 289, 2005.

MAMANI, H.N.C. **Produção e caracterização de filmes compostos de metilcelulose, glucomanana, pectina, gelatina e lipídios**. 2009. 174f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Alimentos e Nutrição, Campinas-São Paulo, 2009.

MARTÍN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R. C.; BALDWIN, E. A. Conservación mediante recubrimientos comestibles. In: GONZÁLEZ-AGUILAR, et al. (Ed.). **Nuevas tecnologías de conservación: productos vegetales frescos cortados**. Guadajarara: Ciad, 2005. cap.15. p. 340-356.

MATOS, F. J. A; OLIVEIRA, F. *Lippia sidoides* Cham. – farmacognosia, química e farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.79, n.3/4, p84-87, 1998.

MAZZUCATO, C. **Caracterização do potencial de filmes de PVC dopado com óleo essencial de alecrim para o controle microambiental em embalagens de alimentos**. 2013. 77f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia), Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, 2013.

McHUGH, H.T.; KROCHTA, J.M. Sorbitol vs glycerol – plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.42, n.4, p.841-845, 1994.

MERCOSUL. Resolução nº 03, de 1 de janeiro de 1992. Critérios gerais de embalagens e equipamentos alimentares em contato com alimentos. **Mercosul/GMC/res. N° 03**, de 01 de Abril de 1992. Buenos Aires, AR, 1 jan. 1992. Disponível em: <http://www.mercosur.int/innovaportal/v/3101/1/secretaria/resoluciones_1992>. Acesso em: 20 ago. 2013.

MILLER, K. S.; KROCHTA, J. M. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: a review. **Trends in Food Science & Technology** v. 8, n.7, p. 228–237, 1997.

MILTZ, J. Food packaging. In: HELDMAN, D.R., LUND, D.B. (Ed); **Handbook of Food Engineering**; Marcel Dekker, Inc. New York. p.667-718. 1992.

MIZUKAMI, H.; TAKEDA, Y.; HIZUKIRI, S. The structure of the hotwater soluble components in the starch granules of new Japanese rice cultivars. **Carbohydrate Polymers**, v. 38, n. 4, p. 329-335, 1999.

MONTERREY-QUINTERO, E.S.; SOBRAL, P.J.A. Caracterização de propriedades mecânicas e óticas de biofilmes à base de proteínas miofibrilares de tilápia do Nilo usando uma metodologia de superfície de resposta. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.2, p.294-301, 1999.

_____. Preparo e caracterização de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nilo para elaboração de biofilmes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.1, p.179-189, 2000.

MOREIRA, M.R.; PONCE, A.G.; DEL VALLE, C.E.; ROURA, S.I. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. **LWT Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, London, v.38, n.5, p.565-570, May 2005.

MOTA, R. D. P. **Elaboração e caracterização de filmes biodegradáveis através de blenda polimérica de amido de lírio-do-brejo (*Hedychium coronarium*) e de amido de fruto-do- logo (*Solanum lycocarpum* St. Hill)**, 2009, 116f. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares), Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Moleculares, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis-Goiás, 2009.

MULLER, C.; **Estudo dos processos de transferência de massa e propriedades mecânicas de biofilmes de amido de mandioca reforçados com fibras de celulose**. 2007. 168p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Paraná, 2007.

NCCL-National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: approved standards**. Document M7-A6, 8ed. Wayne, 2003.

NELSON D.L.; COX, M.M. **Lenhinger Princípios de Bioquímica**. 4° ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

NETTO, C. G. T.; GIACOMETTI, J. A.; JOB, A. E.; FERREIRA, F. C.; FONSECA, J. L. C.; PEREIRA, M. R.; Thermal analysis of chitosan based networks. **Carbohydrate Polymers**, v. 62, pp. 97-103, 2005.

NOLLET, L. M. L.; TOLDRÁ, F. **Advanced technologies for meat processing**. Boca Raton, Florida: CRC/Taylor & Francis, 483p., 2006.

OLABARRIETA, I. **Strategies to improve the aging barrier and mechanical properties of chitosan, whey and wheat gluten protein films**. Tesis de Doutorado. Department of Fibre and Polymer Technology, Royal Institute of Technology Stockholm, Sweden, 2005.

OLIVEIRA, P.S. **Ação de absorvedores de etileno e de oxigênio na conservação pós-colheita de morango**. 2011. 63f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal), Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2011.

OLIVEIRA, T.M.; ALVES, R.M.V.; SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; PADULA, M.; GARCIA, E.E.C.; CAOLTRO, L. Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem/ **ITAL**, p.216, 1996.

PADGETT, T.; HAN, L.Y.; E DAWSON, P.L. Impactos edible coatings on nutritional and physicological changes in lightly-processed carrots. **Postharvest Biology and Technology**, v.14, p.51-60, 1998.

PALMU, P. S. T. **Preparação, propriedades e aplicação de biofilmes comestíveis à base de glúten de trigo**. 2003. 244 f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

PAPARELLA, A.; TECCOGNA, L.; AGUZZI, I.; CHAVES-LÓPEZ, C.; ARSILIO, F.; SUZZI, G. Flow cytometric assessmet of the antimicrobial activity of essential oils against *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, Guildford, v.19, n.12, p.1174-1182, 2008.

PARK, H.J.; CHINNAN, M. Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. **Journal of Food Engeneering**. Oxford, v.25, n.4, p.497-507, 1995.

PARK, H.J.; WELLER, C.L.; VERGANO, P.J. & TESTIN, R.F. Permeability and mechanical properties of cellulose-based edible film. **Journal of Food Science**, v. 58, p. 1361–1364, 1370, 1993.

PASCALL, M. A.; LIN, S. J. The application of edible polymeric films and coatings in the food industry. **J. Food Process Technol**, v.4:e116, 2013.

PARRA, D.F; TADINI, C.C.; PONDE, P.; LUGAO, A.B Mechanical properties and water vapor transmission in some blends of cassava starch edible films. **Carbohydr.Polym.**v.58, p.475-481, 2004.

PERDOMO, J.; COVA, A.; SANDOVAL, A.J.; GARCÍA, L.; LAREDO, E.; MÜLLER, A.J. Glass transition temperatures and water sorption isotherms of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v.76, p 305–313, 2009.

PEREIRA, K.D. Amido resistente, a última geração no controle de energia e digestão saudável. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, p.88-92, Ago 2007.

PEREZ-GAGO, M.B.; KROCHTA, J.M. Desnaturation time and temperature effects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 5, p. 705-710, 2001.

_____. Drying temperature effect on water vapour permeability and mechanical properties of whey proteinlipid emulsion films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n.48, v.7, p.2687–2692, 2000.

PEROVAL, C.; DEBEAUFORT, F.; DESPRE, D.; VOILLEY, A. Edible arabinoxylan-based films. 1. Effects of lipid type on water vapor permeability, film structure, and other physical characteristics. **J. Agric. Food Chem.**, 50 (2002), pp. 3977–3983

PETERSSON, M.; STADING, M. Wter vapour permeability and mechanical properties of mixed starch-monoglyceride films and effect of filme forming conditions. **Food Hydrocolloids**, v.19, p.123-132, 2005.

PEZRON, I.; PEZRON, E.; BERGENSTAHL, B.A.; CLAEISSON, P.M. Repulsive pressure between monoglyceride bilayers in the lamellar and gel states. **Journal of Physical Chemistry**, v.94, p.8255-8261, 1990.

PHAN, T.D.; PÉROVAL, C.; DEBEAUFORT, F.; DESPRÉ, D.; COURTHAUDON, J. L.; VOILLEY, A. Arabinoxylan-Lipids-Based edible films and coatings. 2. Influence of sucroester nature on the emulsion structure and film properties. **Journal of Agricultural and food chemistry**, v. 50, p. 266-272, 2002.

PICHERSKY, E.; NOEL, J. P.; DUDAREVA, N. Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. **Science** 311, 808-811, 2006.

PINHEIRO, A.C.; CERQUEIRA, M.A.; SOUZA, B.W.S.; MARTINS, J.T.; TEIXEIRA, J.A.; VICENTE, A.A. Utilização de revestimentos/filmes edíveis para aplicações alimentares. **Boletim de Biotecnologia**, p.18-28, Out./2010.

PLOUX, L.; BECKENDORFF, S.; NARDIN, M.; NEUNLIST, S. Quantitative and morphological analysis of biofilm formation on self-assembled monolayers. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.57, issue 2, p.174-181, 2007.

PORTE, A.; GODOY, R. L. O. Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): Propriedades antimicrobianas e químicas do óleo essencial. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 193-210, jul./dez. 2001.

PORTO, L. C. **Filmes formados por gelatina e poli(acrilamida-co-ácido acrílico)**: efeito da composição, do plastificante e agente reticulante nas propriedades térmicas, mecânicas e absorção de água. 2007. 81f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.

PRADO, R. J. **Análise das propriedades químicas, morfológicas e estruturais de filmes finos de $a\text{-Si}_{1-x}\text{C}_x\text{:H}$ depositados por PECVD**. 2001, 159f. Tese (Doutorado em Física) – Instituto de Física, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

QUINTAVALLA, S.; VICINI, L. Antimicrobial food packaging in meat industry. **Meat Science**, v.62, p.373-380, 2002.

RABELLO, M. Aditivação de Polímeros. São Paulo: Editora Artliber, , p. 141, 2000. Smits, A. L. M.; Kruiskamp, P. H.; Van Soest, J. J. G.; Vliegthart, J. F. G; **Carbohydrate Polymers**, v.409, p. 53, 2003.

RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. **Avaliação da qualidade de carnes**: fundamentos e metodologias. Viçosa, MG: UFV, 599p., 2007.

RATTO, J.; HATAKEYAMA, T.; BLUMSTEIN, R. B., Differential scanning calorimetry investigation of phase transition in water/chitosan systems. **Polymers**, v.36, p. 2915- 2919, 1995.

RÉGULA, L. M. **Padrões Virtuais e Tolerâncias Colorimétricas no Controle Instrumental das Cores**. Rio de Janeiro: PUC-Rio. 2004. 223p. Dissertação (Mestrado em

Metrologia) – Pós-Graduação em Metrologia, Pontífica Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

RIBEIRO, C. M. **Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas utilizadas na medicina popular da Amazônia**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)– Universidade Federal do Pará, Belém, 2008.

RIVERO, S.; GARCÍA, M. A.; PINOTTI, A. Correlations between structural, barrier, thermal and mechanical properties of plasticized gelatin films. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 369–375, 2010.

ROCHA, T.S.; DEMIATE, I.M.; FRANCO, C.M.L. Características estruturais e físico-químicas de amidos de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.3, p.620-628, 2008.

RODRIGUES, D.C. **Influência de amido de mandioca e cera de carnaúba sobre as propriedades físicas de filme à base de goma de cajueiro**. 2012. 90f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

ROJAS-GRAÜ, M.A.; TAPIA, M.S.; MARTIN-BELLOSO, O. Using polysaccharide-based edible coatings to maintain quality of fresh-cut Fuji apples. **LWT-Food Science and Technology**, v.41, n.1, p.139-147, 2008.

ROONEY, M. L. **Active food packaging**. 5. ed. London: Blackie Academic & Professional, 275 p., 1995.

ROSS, Y.H. **Phase transitions in foods**. San Diego: Academic Press, 1995.

ROUSSELOT. **Bloom ou Força do Gel**. Disponível em: <<http://www.rousselet.com/pt/gelatina-rousselet/caracteristicas/definicao-e-descricao/bloom-ou-forca-do-gel/>>. Acesso em: 05 fev. 2015.

RUBERTO, G.; BARATTA, M.T. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. **Food Chemistry**, London, v.69, n.1, p.167-174, Jan. 2000.

SÁNCHEZ, A.C.; POPINEAU, Y.; MANGAVEL, C.; LARRÉ, C.; GUÉGUEN, J. Effect of different plasticizers on the mechanical and surface properties of wheat gliadin films. **J. Agric. Food Chem.**, n.46, p.4539-4544, 1998.

SAKURAI, K.; MAEGAWA, T. T.; TAKAHASHI, T., Glass transition temperature of chitosan and miscibility of chitosan/poly(n-vinyl pyrrolidone) blends. **Polymer**, v. 40, p. 19-56, 2000.

SANTACRUZ, S.; RIVADENEIRA, C.; CASTRO, M. Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant's hydrophobic tail and mechanical treatment. **Food Hydrocolloids**, v.49, p.89-94, 2015.

SANTOS; K. S.; **Avaliação das propriedades finais dos nanocompósitos de polipropileno com diferentes argilas organofílicas**; Porto Alegre; 2007; 94 p. Dissertação (Mestrado em

Química) – Departamento de química; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), 2007.

SANTOS, T.M. **Influência da nanocristais de celulose sobre as propriedades de filmes de gelatina de resíduos de tilápia**. 2012. 96f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

SANTOS, V.P.; SUZUKI, M.P.; CEREDA, M.P.; SCAMPARINI, A.R.P. Microstructure and color of starch-gum films: Effect of gum deacetylation and additives. **Food Hydrocolloids**, Wrexham, v.19, p.1064-1073, 2005.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; ANTONIO, J.T. Vegetais minimamente processados. In: OLIVEIRA, L.M. (Ed.) **Requisitos de proteção de produtos em embalagens plásticas rígidas**. Campinas, SP: TAL/CETEA, 2006.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; OLIVEIRA, L.M.; CANAVESI, E. Requisitos de Conservação de Alimentos em Embalagens Flexíveis. Campinas-SP: **CETEA/ITA**, 2001.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; OLIVEIRA, L.M.; PADULA, M.; COLTRO, L.; ALVES, R.M.V.; GARCIA, E.E.C. Embalagens plásticas flexíveis, principais polímeros e avaliação de propriedades. Campinas: **CETEA/ITAL**, 2002.

SASAKI, T.; YASUI, T.; MATSUKI, J. Effect of amylose content on gelatinization, retrogradation, and pasting properties of starches from waxy and nonwaxy wheat and their F1 seeds. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.77, n.1, p.58-63, 2000.

SCANNELL, A.G.M.; HILL, C.; ROSS, R.P.; MARX, S.; HARTMEIER, W.; ARENDT, E.K. Development of bioactive food packaging materials using immobilized bacteriocins Lacticin 3147 and Nisaplin. **Int. J. Food Microbiol.**, v.60, n.2-3, p.241-249, 2000.

SEARS, F.; ZEMANSKY, M. W.; YOUNG, H. D. **Física mecânica dos fluidos, calor, movimento ondulatório**. 2. Ed. Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos, Editora S.A., v.2, 5Iop., 1984.

SHELLHAMMER, T.H.; KROCHTA, J.M. Water vapor barrier and rheological properties of simulated and industrial milkfat fractions. **Transactions of the ASAE**, v.40, n.4, p.1119-1127, 1997.

SHIH, F.F. Edible Films from rice protein concentrate and pullulan. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v.73, n.3, p.406-409, 1996.

SILVA, F.A.M.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, São Paulo, v.22, n.1, p.94-103, jan./fev. 1999.

SILVA, L.G.A.; GONÇALEZ, O.L.; EVORA, M.C.; DUTRA, R.C.L.; DINIZ, M.F.; WLEBECK, H. Comparação de técnicas FTIR de transmissão reflexão e fotoacústica na análise de poliamida-6, reciclada e irradiada. **Polímeros: ciência e tecnologia**, v.12, n.1, p.60-68, 2002.

SIMÕES, M. R.; RIBEIRO, C. F. A.; RIBEIRO, S. C. A.; PARK, K. J. MURR, F. E. X. Composição físico-química, microbiológica e rendimento do filé de tilápia tailandesa (*Oreochromis niloticus*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 608-613, 2007.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N.S.; GILL, B.S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v.81, n.219-231, 2003.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T.A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5º ed. São Paulo: Bookman, 2002.

SMITS, A. L. M.; KRUISKAMP, P. H.; VAN SOEST, J. J. G.; Vliegenthart, J. F. G. The influence of various small plasticisers and malto-oligosaccharides on the retrogradation of (partly) gelatinised starch. **Carbohydrate Polymers**, v.409, p. 53, 2003.

SOARES, R. M. D. Caracterização físico-química, morfológica e influência da reticulação em suspensões precursoras e biofilmes de Gliadina. (Tese de Doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. **Programa de Pós-Graduação em Química**, 2008.

SOBIOLOGIA. **Notícia**. Disponível em:

<<http://www.sobiologia.com.br/conteudos/jornal/noticia3.1.php>>. Acesso em 25 fev. 2015.

SOBRAL, P. J. A. Propriedades de biofilmes de gelatina em função da espessura. **Ciência & Engenharia**, v.8, n.1, p.60-67, 1999.

SOBRAL, P.J.A.; GARCÍA, F.T.; HABITANTE, A.M.Q.B.; MONTERREY-QUINTERO, E.S. Propriedades de filmes comestíveis produzidos com diferentes concentrações de plastificantes e de proteínas do músculo de Tilápia-do-Nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.3, 2004.

SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C.; HUBINGER, M. D.; ROQUES, M. A. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. *Food Hydrocolloids*, v. 15, p. 423–432, 2001.

SOBRAL, P. J. A.; OCUNO, D.; Permeabilidade ao Vapor de Água de Biofilmes à Base de Proteínas Miofibrilares de Carne. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.3 p.11- 16, 2000.

SOTHORNVIT, R.; HONG, S. I.; AN, D. J.; RHIM, J. W. Effect of clay content on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/organo-clay composite films. **LWT e Food Science and Technology**, 43, 279-284, 2010.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. Plasticizer effect on mechanical properties of blactoglobulin films. **Journal of Food Engineering**, v. 50, p. 149–155, 2001.

STANDING, M.; ANKER, M.; BERNTSEN, J.; HERMANSSON, A-M. Improved water vapor barrier of whey protein films by addition of na acetylated monoglyceride, **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.3, p.81-92, 2002.

STATSOFT, Inc. (2011). **STATISTICA** (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.

TALJA, R.A.; HÉLEN, H.; ROSS, Y.H.; JOUPPIA, K. Effect of various polyols and polyol contentes on physical and mechanical properties of potato starch-based films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v.67, p.288-295, 2007.

THOMAS, D. J.; ATWELL, W. A. **Starches**: practical guides for the food industry. Minnesota: Eagan Press, 94 p., 1999.

TORRES, J.A. Edible films and coatings from proteins. In: HETTIARACHCHY, N.S.; ZIEGLER, G.R. (Eds), **Protein Functionality in Food Systems**, p.467-507, New York: Marcel Dekker, 1994.

TROMP, R. H.; RENNIE, A. R.; JONES, R. A. L. Kinetics of the Simultaneous Phase Separation and Gelation in Solutions of Dextran and Gelatin. **Macromolecules**, v.28, p.4129–4138, 1995.

URBANSKI, J. **Handbook of Analysis of Synthetic Polymers and Plastics**. John Wiley & Sons, New York, 1977.

VAN-SOEST, J.J.G.; Vliegenthart, J.F.G. Crystallinity in starch plastics: consequences for material properties. **Trends in Biotechnology**, v.15, n.6, p.208-213, 1997.

VANDEPUTTE, G. E.; VERMEYLEN, R.; GEEROMS, J. A.; DELCOUR, J. A. Rice starches. I. Structural aspects provide insight into crystallinity characteristics and gelatinisation behaviour of granular starch. **Journal of Cereal Science**. v.38, p.43-52, 2003.

VANIN, F. M.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C.; CARVALHO, R. A.; HABITANTE, A. M. Q. B. Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin-based films. **Food Hydrocolloids**, v.19, p. 899–907, 2005.

VARGAS, M.; PASTOR, C.; CHIRALT, A.; MCCLEMENTS, D. J.; GONZ´ALEZMART´INEZ, C. Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits. *Crit Rev Food Sci Nutr*, v.48, p.496–511, 2008.

VEIGA, P.; VILPOUX, O.; CEREDA, M. P. **Possíveis usos da fécula de mandioca**: critérios de qualidade. Botucatu: Centro de raízes e amidos tropicais – Universidade Estadual Paulista, 1994.

VEIGA-SANTOS, P.; SUZUKI, C.K.; CERESA, M.P.; SCAMPARINI, A.R.P. Microstructure and color of starch-fum films: effects of gum deacetylation and additives. Part 2. **Food Hydrocolloids**. v.19, p.1064-1073, 2005.

VICENTINI, N. I.; **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós colheita**; Botucatu; 2003; 198p.; Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Estadual Paulista – Júlio de Mesquita Filho, 2003.

VIEITES, R.L.; EVANGELISTA, R.M.; SILVA, C.S.; MARTINS, M.L. Conservação do morango armazenado em atmosfera modificada. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 243-252, abr./jun. 2006.

VIVANCO, M.L.M. **Desidratação osmótica em soluções ternárias, secagem e transições térmicas de filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. 2003. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

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

WANG, J.; ZHENGYU, J.; XIAOPING, Y. Preparatin of ressitant starch from starch-guar gum extrudantes and their properties. **Food Chemistry**, Chicago, v.101, p. 20-25, 2007.

WANG, X. L.; YANG, K. K.; WANG, Y. Z. Properties of starch blends with biodegradable polymers. **Journal of Macromolecular Science-Polymer Reviews**, v.43, p.385-409, 2003.

WELLER, C.L.; GENNADIOS, A.; SARAIVA, R.A. Edible bilayer films from zein and grain sorghum wax or carnaúba wax. **Lebensm-Wiss.u.-Technol.**, n.31, p.279-285, 1998.

WENDLANDT, W.W. **Thermal analysis**. New York: John Wiley & Sons, Chemical analysis, 3 ed., v.19, 1986.

WOLF, K. L. **Propriedades físico-químicas e mecânicas de biofilmes elaborados a partir de fibra de pós de colágeno**. 2007. 101f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual Paulista. 2007.

WURZBURG, O. B. Cross-linked starches. In: WURZBURG, O. B. (ed.) **Modified starches: properties and uses**. Boca Raton: CRC Press. Cap. 3, p. 41-53, 1986.

ZHOU, G. H.; XU, X. L.; LIU, Y. Preservation technologies for fresh meat – a review. **Meat Science** n. 86, p.119–128, 2010.

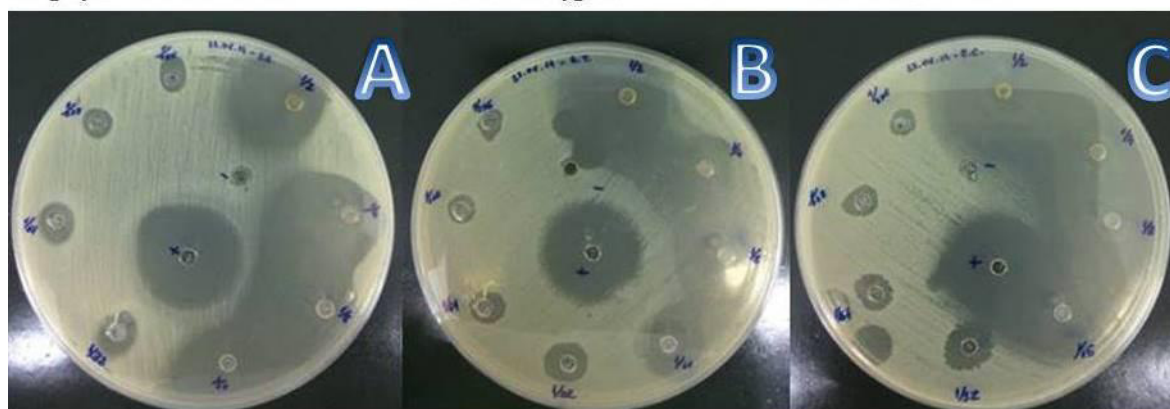
APÊNDICE

APÊNDICE A – RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DO TESTE *IN VITRO* DE FORMAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM-PIMENTA, NOS SEGUINTE MICRO-ORGANISMOS: (A) *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (ATCC 25923); (B) *SALMONELLA TYPHIMURIUM* (ATCC 51812); (C) *ESCHERICHIA COLI* (ATCC 10536); (D) *PSEUDOMONA AERUGINOSA* (ATCC 9027); E, (E) *LISTERIA MONOCYTOGENES* (ATCC 7644).

Staphylococcus aureus

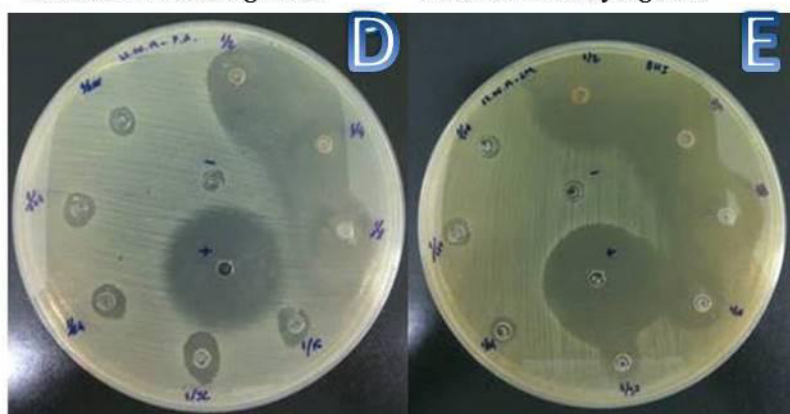
Salmonella typhimurium

Escherichia coli



Pseudomonas aeruginosa

Listeria monocytogenes



FONTE: AUTOR.