



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE MATERIAIS

CYBELLE RODRIGUES DUARTE

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES ATIVOS À BASE DE AMIDO DE
ARARUTA (*Maranta arundinaceae* L.) E EXTRATO PECTINOSO
ADITIVADOS COM ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis*)**

Recife

2020

CYBELLE RODRIGUES DUARTE

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES ATIVOS À BASE DE AMIDO DE
ARARUTA (*Maranta arundinaceae* L.) E EXTRATO PECTINOSO
ADITIVADOS COM ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Ciência de Materiais.

Área de concentração: Materiais não metálicos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Yêda Medeiros Bastos de Almeida

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Glória Maria Vinhas

Orientadora externa: Dr^a. Cristiani Viegas Brandão Grisi

Recife

2020

Catálogo na fonte
Bibliotecária Mariana de Souza Alves CRB4-2105

D812d Duarte, Cybelle Rodrigues.
Desenvolvimento de filmes ativos à base de amido de araruta (*Maranta arundinaceae* L.) e extrato pectinoso aditivados com óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) / Cybelle Rodrigues Duarte. – 2020.
82 f.: il., fig., tab.

Orientadora: Yêda Medeiros Bastos de Almeida.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN, Ciência de Materiais. Recife, 2020.
Inclui referências.

1. Materiais não metálicos. 2. Embalagem ativa. 3. Polímeros biodegradáveis.
4. Amido de araruta. I. Almeida, Yêda Medeiros Bastos de. (orientadora) II. Título.

620.19

CDD (22. ed.)

UFPE-CCEN 2020-151

CYBELLE RODRIGUES DUARTE

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES ATIVOS À BASE DE AMIDO DE
ARARUTA (*Maranta arundinaceae* L.) E EXTRATO PECTINOSO
ADITIVADOS COM ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Ciência de Materiais.

Aprovada em: 13/08/2020

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Yêda Medeiros Bastos de Almeida (Orientadora)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof^ª. Dr^ª. Juliana de Castro Macêdo Fonsêca (Examinadora Externa)

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Fernando Hallwass (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho aos meus avós Sebastiana (in memoriam), Geraldo (in memoriam) e Maria por serem meus grandes exemplos de vida.

AGRADECIMENTOS

Durante estes dois anos do mestrado diversas pessoas me ajudaram a progredir pessoal e profissionalmente. Sendo assim, quero registrar aqui o meu reconhecimento a todos que fizeram parte deste percurso e direta ou indiretamente contribuíram com a realização desta pesquisa.

Aos meus familiares por sempre me incentivarem e torcerem por mim. E, em especial, aos meus pais, Joel e Maria José, por nunca medirem esforços para minha educação e formação.

A Álvaro, pelo apoio e incentivo e, também, por ter compreendido todos os meus momentos de impaciência ao longo dessa caminhada.

A minha orientadora Yêda Almeida e a minha co-orientadora Glória Vinhas, pelos ensinamentos e contribuições que foram fundamentais para o desenvolvimento da pesquisa e da escrita deste trabalho. E a minha orientadora externa, Cristiani Grisi, por todos os conhecimentos repassados e por seu apoio, contribuições e paciência. Registro aqui a admiração, carinho e gratidão que tenho por vocês.

Aos colegas do Laboratório de Petroquímica, José, Michelle, Izabelle, Ivo e Luiz Emílio, por todo conhecimento e experiência compartilhados. E, em especial, a Nicheilly, pelo companheirismo e colaboração na realização de diversas análises desta pesquisa.

Aos colegas de mestrado, que iniciaram esta jornada comigo, Mércia, Girlaine, Francisco, Júlia, Fellype e Rhauane, pelos bons momentos compartilhados.

As amigas que surgiram durante esta caminhada, Laura, Julya, Ligia, Angela, Michelle, Tayse e Stephane, pelos momentos de distração que me proporcionaram. E, em especial, a Janilson, por ter me recebido de braços abertos em Recife e ter me ajudado sempre que precisei.

Aos meus amigos, Claudio Beserra e Radamés Teixeira, pelas ideias trocadas e por mesmo distante terem sido presentes nesta jornada.

A Karina pela ajuda na realização do teste antimicrobiano e a Amanda pela ajuda na realização do teste de migração.

A todos que compõem o Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais (PPGMtr), pelo agradável convívio.

Aos professores Fernando Hallwass e Juliana Fonsêca por gentilmente terem aceitado o convite para compor a banca examinadora desta dissertação e pelas sugestões realizadas.

A Universidade Federal de Campina Grande pela realização do teste de permeabilidade ao oxigênio. E, em especial, a Fernanda, pela execução do experimento.

A Universidade Federal da Paraíba pela execução do ensaio mecânico e do teste de colorimetria.

A Universidade Federal do Cariri pela realização da Análise Termogravimétrica.

A Central Analítica do DQF-UFPE pela realização da análise de GC-MS.

Ao Laboratório de Microbiologia Industrial do DEQ-UFPE, por fornecer a estrutura para realização de etapas importantes desta pesquisa.

Ao Laboratório de Biocorrosão e Corrosão do LITPEG-UFPE, pela disponibilidade em utilizar a centrífuga.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

A Deus, por ter me dado forças e me iluminado em todos os momentos.

A todos vocês, o meu sincero obrigada!

RESUMO

O desenvolvimento de embalagens ativas com polímeros biodegradáveis é interessante para aliar o aumento da vida de prateleira dos alimentos com a mitigação dos impactos ambientais causados pela eliminação de resíduos plásticos no ambiente. À vista disso, neste trabalho foram desenvolvidos e caracterizados filmes ativos biodegradáveis à base de amido de araruta, extrato pectinoso da casca do maracujá amarelo e Óleo Essencial de Alecrim (OEA). O OEA e o extrato pectinoso foram caracterizados a fim de verificar o potencial de utilização como agentes ativos em embalagens antimicrobianas e/ou antioxidantes. Os resultados mostraram que o OEA tem maior potencial para atuar como agente antimicrobiano, apresentando inibição significativa contra as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, enquanto que o extrato pectinoso tem maior possibilidade de desempenhar o papel de antioxidante, exibindo um alto teor de compostos fenólicos totais ($230,09 \pm 29,08$ mg de equivalente de ácido gálico (EAG)/g de extrato pectinoso) e também boa atividade antioxidante pelos dois métodos usados ($70,83 \pm 1,82\%$ de inibição do 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH) e um poder de redução de ferro de $53,20 \pm 1,95$ mmol de sulfato ferroso/g de extrato pectinoso). Os filmes foram preparados pela técnica *solution casting*, a partir de soluções filmogênicas com diferentes teores de OEA (0,5 – 1,5%, m/m) como agente ativo e de sacarose (0 - 1,4%, m/m) como plastificante, e avaliados quanto às propriedades físico-químicas, térmicas, mecânicas e de barreira e quanto ao potencial antioxidante e de migração dos compostos ativos para simulantes de alimentos. Foram obtidos filmes visualmente transparentes e com uma coloração amarelo-ocre que demonstraram boa propriedade de barreira ao oxigênio e capacidade para atender os requisitos mecânicos de embalagens de alimentos. A adição de OEA provocou redução nas propriedades de resistência à tração e alongamento percentual e aumento na permeabilidade ao vapor de água. A sacarose não teve efeito nas propriedades de barreira, mas influenciou na solubilidade e no alongamento percentual. Em relação ao teste de migração, verificou-se que ocorreu migração de compostos ativos dos filmes para os dois simulantes testados (aquoso e lipídico); contudo, a maior migração foi observada para o simulante lipídico. O material desenvolvido neste trabalho é muito promissor porque além de ser uma alternativa aos conservantes químicos e polímeros sintéticos é uma forma de agregar valor ao resíduo agroindustrial do processamento do maracujá amarelo - fruto produzido em alta escala no Brasil.

Palavras-chave: Embalagem ativa. Polímeros biodegradáveis. Amido de araruta. Pectina. Óleo essencial de alecrim.

ABSTRACT

The development of active packaging with biodegradable polymers is interesting to combine the increased shelf life of food with the mitigation of environmental impacts caused by the disposal of plastic waste in the environment. In view of that, in this work, active biodegradable films based on arrowroot starch, pectinous extract of yellow passion fruit peel and Rosemary Essential Oil (REO) were developed and characterized. The REO and the pectinous extract were characterized in order to verify the potential for use as active agents in antimicrobial and/or antioxidant packaging. The results showed that the REO has a greater potential to act as an antimicrobial agent, presenting significant inhibition against the *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria, while the pectinous extract is more likely to play the role of antioxidant, exhibiting a high content of total phenolic compounds (230.09 ± 29.08 mg gallic acid equivalent (GAE)/g of pectinous extract) and also good antioxidant activity by the two methods used ($70.83 \pm 1.82\%$ inhibition of 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH) and an iron reduction power of 53.20 ± 1.95 mmol of ferrous sulphate/g of pectinous extract). The films were prepared by solution casting, from filmogenic solutions with different contents of REO (0.5 - 1.5%, w/w) as active agent and sucrose (0 - 1.4%, w/w) as plasticizer, and evaluated for physical-chemical, thermal, mechanical and barrier properties and as for the antioxidant and migration potential of active compounds for food simulants. Visually transparent films with an ocher yellow color were obtained, which demonstrated good oxygen barrier properties and suitable mechanical capacity for application in food packaging. The addition of REO decreased the tensile strength and elongation properties and increased the water vapour permeability. Sucrose had no effect on barrier properties, but influenced solubility and elongation. Regarding the migration test, it was observed the migration of active compounds from the films to the two simulants tested (aqueous and lipid); however, the greatest migration was observed for the lipid simulant. The material developed in this work is very promising because in addition to being an alternative to chemical preservatives and synthetic polymers, it is a way of adding value to the agroindustrial waste from the processing of yellow passion fruit, produced on a large scale in Brazil.

Keywords: Active packaging. Biodegradable polymers. Arrowroot starch. Pectin. Rosemary essential oil.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Estruturas químicas dos principais constituintes do OEA.....	24
Figura 2	– Estrutura química da amilose (a) e amilopectina (b).....	27
Figura 3	– Imagens da planta (a), rizomas (b) e amido da araruta (c).....	28
Figura 4	– Esquema representativo da produção de filmes de amido pela técnica <i>solution casting</i>	29
Figura 5	– Estrutura da sacarose consistindo de glicose (porção à esquerda) e frutose (porção à direita).....	30
Figura 6	– Estrutura química da pectina.....	33
Figura 7	– Maracujá amarelo (<i>Passiflora Edulis Flavicarpa</i>).....	33
Figura 8	– Espectro FTIR do OEA.....	46
Figura 9	– Halo de inibição apresentado pelo OEA para (a) <i>S. aureus</i> , (b) <i>E. aerogenes</i> e (c) <i>E. coli</i>	48
Figura 10	– Espectro FTIR do extrato pectinoso.....	49
Figura 11	– Fotografias dos filmes produzidos.....	51
Figura 12	– Espectro FTIR dos filmes e do OEA.....	53
Figura 13	– Gráficos de <i>scores</i> da PC1 x PC2 para os filmes com sacarose (a) e sem sacarose (b) comparados ao filme de controle (F7).....	54
Figura 14	– Gráfico de <i>loadings</i> dos filmes com sacarose para a PC1 (a) e para a PC2 (b).....	55
Figura 15	– Gráfico de <i>loadings</i> dos filmes sem sacarose para a PC1 (a) e para a PC2 (b).....	56
Figura 16	– Curvas de TGA e DTG para os filmes produzidos.....	57
Figura 17	– Resultados da atividade antioxidante <i>in vitro</i> pelo método de sequestro do radical livre DPPH.....	63
Figura 18	– Resultados da atividade antioxidante <i>in vitro</i> pelo método de redução do ferro (FRAP).....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Delineamento experimental.....	36
Tabela 2 –	Composição química do OEA.....	44
Tabela 3 –	Teor de compostos fenólicos totais e atividades antioxidante e antimicrobiana para o OEA.....	47
Tabela 4 –	Teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante para o extrato pectinoso.....	50
Tabela 5 –	Parâmetros colorimétricos e transparência dos filmes estudados.....	52
Tabela 6 –	Parâmetros termogravimétricos para os filmes estudados.....	57
Tabela 7 –	Resultados da espessura, teor de sólidos totais e propriedades mecânicas dos filmes estudados.....	58
Tabela 8 –	Solubilidade em água e propriedades de barreira dos filmes estudados.....	60
Tabela 9 –	Teor de compostos fenólicos totais no meio simulante (mg de EAG/g de filme).....	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATR	Reflectância Total Atenuada
BL	Polpa de amora preta
DPPH	2,2-difenil-1-picrilidrazila
DTG	Derivada da termogravimetria
EAG	Equivalente de ácido gálico
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier
GC/MS	Cromatografia Gasosa acoplada a um Detector de Massas
GO	Óxido de grafeno
HATR	Reflectância Total Atenuada Horizontal
ML	Polpa de amora microencapsulada
MTT	Argila montmorilonita
NCCLS	<i>National Committee for Clinical Laboratory Standards</i>
OE_s	Óleos Essenciais
OEA	Óleo Essencial de Alecrim
PCA	Análise por Componentes Principais
PEBD	Polietileno de Baixa Densidade
PO₂	Permeabilidade ao Oxigênio
PVA	Permeabilidade ao Vapor de Água
RT	Resistência à Tração
TFT	Teor de Compostos Fenólicos Totais

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	17
2.1	GERAL.....	17
2.2	ESPECÍFICOS.....	17
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
3.1	EMBALAGENS ATIVAS	18
3.1.1	Mecanismos de ação dos aditivos antioxidantes	20
3.1.2	Mecanismos de ação dos aditivos antimicrobianos	21
3.2	ADITIVOS ANTIMICROBIANOS E ANTIOXIDANTES	21
3.2.1	Óleos essenciais	22
3.2.1.1	Óleo Essencial de Alecrim (OEA).....	23
3.3	POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS	25
3.3.1	Amido.....	26
3.3.1.1	Amido de araruta	27
3.3.1.2	Produção de filmes de amido.....	29
3.3.1.3	Plastificação de filmes de amido	30
3.3.1.4	Plastificação de filmes de amido com sacarose.....	30
3.3.1.5	Blendas poliméricas de amido e pectina.....	31
3.3.2	Pectina.....	32
4	MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1	MATERIAIS	35
4.2	OBTENÇÃO DO EXTRATO PECTINOSO DO ALBEDO DA CASCA DO MARACUJÁ AMARELO	35
4.3	PREPARAÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS	35
4.4	CARACTERIZAÇÃO DO OEA E DO EXTRATO PECTINOSO.....	36
4.4.1	Cromatografia gasosa acoplada a um detector de massas (GC/MS).....	36
4.4.2	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) ...	37
4.4.3	Teor de compostos fenólicos totais (TFT).....	37
4.4.4	Atividade antioxidante	37
4.4.4.1	Método de sequestro do radical livre DPPH	38
4.4.4.2	Método de redução do ferro – FRAP.....	38
4.4.5	Atividade antimicrobiana	38

4.5	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES.....	39
4.5.1	Aspecto visual.....	39
4.5.2	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) ...	40
4.5.3	Análise termogravimétrica (TGA)	40
4.5.4	Espessura	40
4.5.5	Teor de sólidos totais	40
4.5.6	Ensaio mecânico em tração.....	41
4.5.7	Solubilidade em água.....	41
4.5.8	Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	42
4.5.9	Permeabilidade ao oxigênio	42
4.5.10	Atividade antioxidante <i>in vitro</i>	43
4.5.11	Teste de migração	43
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	43
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
5.1	CARACTERIZAÇÃO DO OEA.....	44
5.1.1	Análise por GC/MS	44
5.1.2	Análise por FTIR	46
5.1.3	TFT e atividades antioxidante e antimicrobiana	47
5.2	CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO PECTINOSO	49
5.2.1	Análise por FTIR	49
5.2.2	TFT e atividades antioxidante e antimicrobiana	50
5.3	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES.....	50
5.3.1	Aspecto visual.....	51
5.3.2	Análise por FTIR	53
5.3.2.1	PCA	54
5.3.3	Análise termogravimétrica (TGA)	56
5.3.4	Espessura, teor de sólidos totais e propriedades mecânicas	57
5.3.5	Solubilidade em água e propriedades de barreira.....	59
5.3.6	Atividade antioxidante <i>in vitro</i>	62
5.3.7	Teste de migração	64
6	CONCLUSÕES.....	66
7	PERSPECTIVAS.....	67
	REFERÊNCIAS.....	68

1 INTRODUÇÃO

Tradicionalmente, as embalagens para alimentos eram pensadas para atuar meramente como uma barreira inerte entre o produto e o ambiente externo (AZEREDO et al., 2000). Entretanto, à medida que outras necessidades foram surgindo, novas tecnologias foram desenvolvidas e, nas últimas décadas, um tipo promissor de embalagem, denominadas embalagens ativas, eclodiu com a proposta de aumentar a vida de prateleira do produto por meio da interação desejável entre o alimento e a embalagem (AZEREDO et al., 2000; MACHADO, 2011).

Entre os diversos tipos de embalagens ativas, encontram-se as antioxidantes e as antimicrobianas produzidas por meio da incorporação de substâncias ativas que serão liberadas para os alimentos a fim de protegê-los da oxidação lipídica e da proliferação de microrganismos deteriorantes, respectivamente (GÓMEZ-ESTACA et al., 2014; MALHOTRA; KESHWANI; KHARKWAL, 2015). As substâncias mais comumente utilizadas para esta finalidade têm sido os aditivos químicos sintéticos, contudo, alguns estudos tem questionado a utilização destes aditivos alegando que eles podem promover efeitos tóxicos e carcinogênicos no organismo (MOREIRA et al, 2005; KECHICHIAN et al., 2010; TIVERON, 2010; ALVES-SILVA et al., 2013).

Em razão disso, tem crescido a busca por aditivos naturais que possam servir como agente antioxidante e/ou antimicrobiano, dentre os quais os óleos essenciais têm se destacado por inibirem um amplo espectro de microrganismos e apresentarem resultados animadores na manutenção da estabilidade oxidativa de alimentos, além de também não apresentarem perigos à saúde do consumidor e ao meio ambiente (PESAVENTO et al., 2015; CARVALHO et al., 2016; MOHSENABADI et al., 2018). Um exemplo de óleo essencial com propriedades antimicrobianas e antioxidantes amplamente conhecidas é o óleo essencial de alecrim (OEA) (NIETO; ROS; CASTILLO, 2018; EBRAHIMI et al., 2020).

Em geral, as propriedades biológicas do OEA têm sido atribuídas aos seus constituintes químicos, essencialmente monoterpenos e monoterpenóides, reconhecidos por ter ação inibitória sobre o crescimento de diversas bactérias (Gram-negativas, e principalmente, Gram-positivas) e potencial atividade antioxidante e antifúngica (PROBST, 2012; RAŠKOVIĆ et al., 2014).

Algumas aplicações do OEA em sistemas de embalagem ativa já foram relatadas na literatura (ABDOLLAHI; REZAEI; FARZI, 2012; MOHSENABADI et al., 2018; YEDDES et al., 2019).

O desenvolvimento de embalagens ativas por meio da incorporação de óleos essenciais tem sido o foco de várias pesquisas, tanto com polímeros sintéticos como com polímeros naturais. Os principais materiais para produção de embalagens são os polímeros sintéticos derivados do petróleo como o policloreto de vinila, o poliestireno e o polietileno (MÜLLER, 2016), porém, o uso desta classe de polímeros tem gerado uma grande preocupação ambiental em virtude dos graves problemas ocasionados pela sua lenta degradação no meio ambiente (GALDEANO et al., 2013). À vista disso, a partir dos últimos anos houve grande interesse no desenvolvimento de embalagens obtidas a partir de materiais biodegradáveis (MACHADO et al., 2012; JHA, 2020; DE ANDRADE et al., 2020; MANIKANDAN; PAKSHIRAJAN; PUGAZHENTHI, 2020).

Entre os materiais biodegradáveis para a produção de embalagens, destaca-se o amido por sua alta disponibilidade e baixo custo (CARR, 2007). Há diversos tipos de amido, dentre os quais, o de araruta, proveniente de um rizoma muito comum no Brasil e ainda pouco explorado economicamente (ROCHA, 2019). A utilização do amido de araruta para a produção de embalagens biodegradáveis tem despertado crescente interesse devido ao seu alto teor de amilose, superior a 20%, que favorece a formação de filmes (ROCHA, 2019; FU et al., 2018).

No entanto, filmes elaborados exclusivamente por amido são quebradiços e pouco resistentes de modo que alternativas para melhorar as suas propriedades mecânicas têm sido bastante estudadas (ARENAS, 2012).

Uma das formas para diminuir a fragilidade dos filmes de amido é a incorporação de plastificantes a fim de reduzir as forças intermoleculares entre as cadeias do amido e aumentar a sua mobilidade (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010). Como rota viável para melhorar as propriedades, o amido pode ainda ser associado com outros polímeros, na produção de blendas poliméricas, como a pectina que além de biodegradável pode ser extraída de diversos resíduos agroindustriais (OLIVEIRA, 2013).

No Brasil, um resíduo agroindustrial promissor para a extração de pectina é a casca do maracujá amarelo (*Passiflora Edulis Flavicarpa*) uma vez que o país é o maior produtor e consumidor desta espécie no mundo (GOULART JUNIOR; REITER; MONDARDO, 2018). Sendo assim, a utilização desse resíduo possibilita a conversão de um material vegetal de baixo custo e abundante em produtos de alto valor, trazendo benefícios para os consumidores e para a indústria de alimentos (SHI et al., 2013).

Neste trabalho foram desenvolvidos materiais de embalagem inovadores à base de amido de araruta e extrato pectinoso do albedo da casca do maracujá amarelo aditivados com

óleo essencial de alecrim. Este estudo é interessante, uma vez que o extrato pectinoso além de melhorar as propriedades mecânicas do amido pode atuar como antioxidante, por ser rico em pectina e compostos fenólicos (CAZARIN et al., 2014).

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Este trabalho tem por objetivo produzir e caracterizar filmes biodegradáveis ativos, desenvolvidos a partir de amido de araruta, extrato pectinoso do albedo da casca do maracujá amarelo e Óleo Essencial de Alecrim (OEA).

2.2 ESPECÍFICOS

- a) Obter e caracterizar o extrato pectinoso do albedo da casca do maracujá amarelo;
- b) Caracterizar o OEA pelas técnicas de Cromatografia Gasosa acoplada a um detector de massas e Espectroscopia na Região do Infravermelho, bem como avaliar o seu potencial antioxidante e antimicrobiano;
- c) Avaliar o efeito da incorporação do OEA e da sacarose nos filmes, por meio de testes físico-químicos, térmicos, mecânicos e de barreira;
- d) Avaliar o potencial antioxidante *in vitro* dos filmes produzidos;
- e) Avaliar a migração de agentes antioxidantes incorporados aos filmes para dois meios simulantes de alimentos (água destilada e óleo de soja).

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 EMBALAGENS ATIVAS

No passado, as embalagens alimentícias eram limitadas a proteger os alimentos das condições externas (SOARES et al; 2015). Entretanto, com o passar do tempo a embalagem foi incorporando novas funções e, assim, surgiu pela primeira vez na década de 80, e cresceu significativamente a partir de 2000, o conceito de embalagens ativas, que são embalagens desenvolvidas para interagir de maneira intencional com o alimento (REBELLO, 2009; FERREIRA et al, 2009; KECHICHIAN et al., 2010).

Além das propriedades que são normalmente exigidas para um material de embalagem, como por exemplo, baixa permeabilidade ao vapor de água, bom desempenho mecânico e transparência; as embalagens ativas devem apresentar alguma propriedade adicional que permita prolongar a vida de prateleira dos alimentos (CONTE et al., 2007).

De acordo com a sua forma de atuação, as embalagens ativas podem ser classificadas em dois grupos: embalagens absorvedoras e embalagens emissoras (ANDRADE, 2016). As embalagens absorvedoras removem compostos que aceleram a degradação do produto alimentício, como: oxigênio, excesso de água, etileno e dióxido de carbono (BRAGA; PERES, 2010). Já as embalagens emissoras liberam compostos ativos, de forma controlada, ao produto embalado ou ao espaço livre da embalagem (ANDRADE, 2016).

Existem diversos tipos de embalagens ativas, entre as quais podemos citar: as absorvedoras de oxigênio, as absorvedoras de etileno, as absorvedoras de umidade, as liberadoras e/ou absorvedoras de aromas, as liberadoras de antimicrobianos e as liberadoras de antioxidantes (BRAGA; PERES, 2010).

Entre os tipos de embalagens ativas, destacam-se as emissoras de compostos conservantes antioxidantes e/ou antimicrobianos, já que a oxidação lipídica e o crescimento microbiano são as principais causas de deterioração de uma grande variedade de alimentos (GÓMEZ-ESTACA et al., 2014).

As embalagens antioxidantes agem retardando ou inibindo as reações de oxidação de produtos ricos em lipídios e as antimicrobianas atuam inibindo ou retardando o crescimento de microrganismos deteriorantes (GÓMEZ-ESTACA et al., 2014; MALHOTRA; KESHWANI; KHARKWAL, 2015). Nesses conceitos, as substâncias ativas são gradualmente liberadas do material de embalagem para a superfície do alimento durante toda a vida útil do produto (VALDÉS et al., 2014).

O emprego de aditivos antimicrobianos e antioxidantes em embalagens permite diminuir o teor de conservantes dos alimentos, pois como esses agentes ativos, ao invés de adicionados diretamente, são liberados controladamente, estarão presentes em menores quantidades e apenas onde sua presença é requerida, a saber na superfície do produto (AZEREDO et al., 2000).

Na literatura podemos encontrar alguns trabalhos relacionados ao desenvolvimento de embalagens antioxidantes e/ou antimicrobianas.

Piñeros-Hernandez et al. (2017) incorporaram extratos de alecrim em amido de mandioca a fim de produzir filmes com propriedade antioxidante para embalagens ativas. Nos filmes produzidos, quanto maior a quantidade de extrato de alecrim maior o teor de polifenóis (variando de 4,4 a 13,6 mg de equivalente de ácido gálico (EAG)/g) e à medida que o teor de polifenóis aumentava, os filmes apresentavam um aumento em sua atividade antioxidante (passando de 28,6% para 81,9% de inibição dos radicais de 2,2-difenil-1-picrilidrazila - DPPH). Os autores também realizaram testes de migração em dois meios simulantes de alimentos (etanol a 95% e água) e constataram que após 7 dias o conteúdo total de polifenóis migrou para o simulante aquoso; enquanto que apenas uma quantidade desprezível de polifenóis foi detectada no simulante gorduroso. Além disso, os filmes contendo maior concentração de extrato apresentaram melhores propriedades de barreira contra a luz ultravioleta e maior hidrofobicidade de superfície (o ângulo de contato aumentou em até 40%).

Pires, De Souza e Fernando (2018) desenvolveram bionanocompósitos de quitosana e argila montmorilonita incorporados com óleo essencial de alecrim e gengibre e os testaram para embalar carne de aves. Os filmes produzidos apresentaram propriedades antimicrobianas e antioxidantes melhoradas pela introdução de montmorilonita (a oxidação lipídica foi reduzida pela metade e a contaminação microbiológica diminuiu entre 6 e 16%). A incorporação dos óleos essenciais, no entanto, apenas melhorou a barreira à oxidação. Os filmes mostraram-se eficazes para estender o prazo de validade da carne fresca de aves de capoeira, pois as amostras protegidas com os filmes preservaram a cor da carne e mostraram uma diminuição nos valores de umidade e cinzas, além disso, também apresentaram menor contaminação microbiológica e menor oxidação lipídica.

Ju e Song (2019) desenvolveram filmes de amido teff contendo extrato de camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh) para empregar como material de embalagem antioxidante. Os filmes produzidos apresentaram excelentes atividades de eliminação de radicais e os experimentos de migração mostraram que 80% dos polifenóis contido nos filmes podiam

migrar rapidamente em um sistema aquoso. Além disso, com o aumento do conteúdo de extrato nos filmes, a resistência à tração diminuiu (de 31 MPa para 8 Mpa) e o alongamento na ruptura aumentou (de 26% para 73%). A adição do extrato de camu-camu também aumentou a hidrofobicidade da superfície dos filmes, com o ângulo de contato passando de 36° para 69°.

Silva-Leyton et al. (2019) desenvolveram nanocompósitos de polietileno de baixa densidade (PEBD) e óxido de grafeno (GO) com diferentes graus de oxidação visando a aplicação como embalagem antimicrobiana. O material desenvolvido pelos autores apresentou comportamento antimicrobiano contra *Salmonella Typhi* e *Listeria monocytogenes*. Os autores também constataram que enquanto o GO com baixa oxidação aumentou dramaticamente a permeabilidade do polímero, o GO altamente oxidado diminuiu esse valor. Além disso, a presença do GO aumentou o módulo elástico do PEBD e usando GO altamente oxidado, esse aumento foi observado sem que tenha havido redução no alongamento na ruptura.

Choulitoudi et al. (2020) estudaram o efeito de embalagens ativas com extratos de Salgados de Creta (*Satureja thymbra*) na estabilidade oxidativa de batatas fritas, e constataram, por meio do índice de peróxido, dos produtos voláteis e do consumo de oxigênio dentro da embalagem, que o aumento da incorporação do extrato resultou em maior proteção. Assim, eles concluíram que a utilização desses antioxidantes naturais revestidos em um filme laminado resulta em embalagens ativas que podem ser efetivamente utilizadas para retardar a oxidação da batata frita.

3.1.1 Mecanismos de ação dos aditivos antioxidantes

Os aditivos antioxidantes exercem seus efeitos por meio de vários mecanismos, entre os quais podemos destacar: remoção do oxigênio do meio, sequestro dos radicais livres e quelatação de metais (RAMALHO; JORGE, 2005).

A remoção do oxigênio ocorre quando o antioxidante captura o oxigênio presente no meio através de reações químicas estáveis, tornando-o indisponível para atuar como propagador da autoxidação (CORDEIRO, 2013).

O sequestro dos radicais livres ocorre quando o antioxidante remove ou inativa os radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação de oxidação, interrompendo a reação em cadeia. Esta remoção ou inativação se dá através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas (RAMALHO; JORGE, 2005).

A quelação de metais, por sua vez, ocorre quando o antioxidante complexa íons metálicos que catalisam a oxidação lipídica (por exemplo, Cobre e Ferro) e acontece de forma preventiva uma vez que não ocorre a interação com radicais. Neste mecanismo, um par de elétrons não compartilhado na estrutura molecular do antioxidante promove a ação de complexação (CORDEIRO, 2013).

Como os antioxidantes empregam vários mecanismos, para avaliar a atividade antioxidante do material de forma absoluta é necessário o uso de mais de uma técnica, pois um único teste não pode explicar todos os diferentes modos de ação (ZEGARAC, 2020).

Entre os métodos mais utilizados para avaliação da atividade antioxidante, encontra-se o método de capacidade de sequestro do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila) e o método de redução do ferro - FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). A determinação da atividade antioxidante por DPPH baseia-se na capacidade do DPPH em reagir com doadores de hidrogênio, o que faz com que na presença de substâncias antioxidantes o mesmo receba H^+ sendo então reduzido; já o método FRAP se baseia na capacidade do antioxidante de reduzir Fe^{3+} a Fe^{2+} (TOMEI; SALVADOR, 2007).

3.1.2 Mecanismos de ação dos aditivos antimicrobianos

Os agentes antimicrobianos têm diferentes atividades nos diversos microrganismos, em razão das variadas fisiologias que estes podem apresentar (MALHOTRA; KESHWANI; KHARKWAL, 2015).

Um dos mecanismos de ação antimicrobiana mais reportado na literatura é a modificação da membrana celular, tornando-a mais permeável, acarretando em perda de conteúdos celulares e, conseqüentemente, em morte celular (SOUZA, 2011; OLIVEIRA, 2016). Contudo, segundo Katzung (1995), os antimicrobianos também podem agir sobre os microrganismos de outras três maneiras: inibição da síntese da parede celular, inibição da síntese de proteínas e inibição da síntese de ácido nucleico.

3.2 ADITIVOS ANTIMICROBIANOS E ANTIOXIDANTES

A escolha do agente ativo (antimicrobiano e/ou antioxidante) que será incorporado no material de embalagem depende das características do aditivo em si e da sua compatibilidade com o material.

Algumas características desejáveis para esses aditivos são: eficácia em baixas concentrações; ausência de efeitos indesejáveis na cor, no odor, no sabor e em outras características do alimento; estabilidade durante o armazenamento e processamento; e atoxicidade (TIVERON, 2010).

Na indústria alimentícia, dentre as substâncias que têm sido empregadas como antioxidantes e antimicrobianos, os aditivos químicos sintéticos têm grande destaque, como por exemplo, butil-hidroxianisol, butil-hidroxitolueno, triclosan e ácido benzóico. Contudo, apesar de serem muito efetivos e estáveis, o uso desses aditivos é muito questionado em razão dos possíveis riscos à saúde humana que eles podem apresentar, como toxicidade, efeitos cancerígenos e teratogênicos, (MOREIRA et al, 2005; KECHICHIAN et al., 2010; TIVERON, 2010; ALVES-SILVA et al., 2013). Por esse motivo, nas últimas décadas aumentou o interesse por aditivos naturais, como os óleos essenciais (CAROCHO; MORALES; FERREIRA, 2015).

3.2.1 Óleos essenciais

Os óleos essenciais (OEs) são substâncias voláteis, naturais e de origem vegetal e, são atrativos ao consumidor por não apresentarem efeito tóxico, mesmo quando empregados em concentrações relativamente elevadas (UGALDE, 2014).

Um grande número de estudos descreveu a ação de OEs contra um amplo espectro de microrganismos patogênicos e deteriorantes. Por exemplo, Özkan, Sağdıç e Özcan, (2003) estudaram o efeito antimicrobiano de 11 óleos essenciais contra dezessete bactérias patogênicas, incluindo *Escherichia coli*, *Enterobacter Aerogenes* e *Staphylococcus Aureus* e relataram que todos os OEs estudados mostraram atividade contra pelo menos uma bactéria. Da mesma forma, Oussalah e colaboradores (2006) estudaram os efeitos inibitórios de 60 diferentes OEs contra *Pseudomonas putida* e mostraram que muitos OEs possuem atividade antimicrobiana *in vitro* contra esta bactéria.

Em razão de suas propriedades aromáticas e biológicas (atividade antioxidante, antimicrobiana e antifúngica, ação anti-inflamatória, adstringente e circulatória), os OEs são visados para diversas aplicações, como por exemplo, fabricação de cosméticos e perfumes, tempero de alimentos, preparação de infusões e xaropes (MONTANARI, 2010).

Cada óleo essencial tem uma composição química específica e pode ser composto por mais de 300 componentes químicos diferentes (MAIA; DONATO; FRAGA, 2015). Muitas vezes, não é possível afirmar que o componente majoritário é o responsável por realizar a

atividade biológica, pois esta propriedade pode estar relacionada a um constituinte em menor proporção ou a um efeito sinérgico entre os compostos existentes (TARIQ et al., 2019). Por exemplo, Isman, Wilson e Bradbury (2008) relataram que a ação inibitória do óleo essencial de alecrim frente larvas de *Pseudaletia unipuncta* e *Trichoplusia ni* é devido ao efeito combinado de vários constituintes químicos presentes no óleo, pois nenhum componente individual mostrou atividade biológica frente as larvas.

3.2.1.1 Óleo Essencial de Alecrim (OEA)

Dentre os diversos óleos essenciais, encontra-se o óleo essencial de alecrim (OEA), muito utilizado nas indústrias de cosméticos, medicamentos e de alimentos (TIUZZI; FURLAN, 2016).

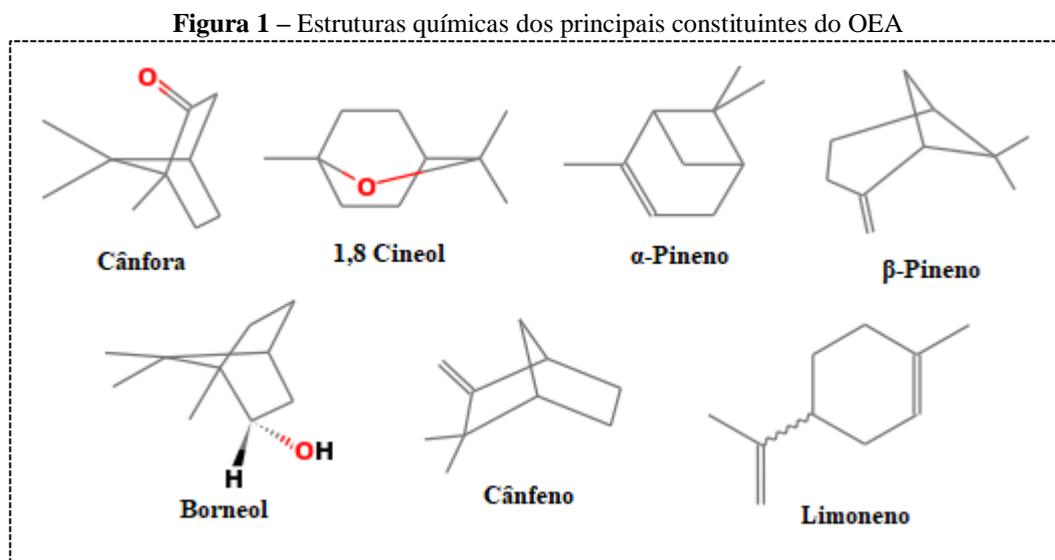
O alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) é uma planta aromática da família *Lamiaceae*, conhecida mundialmente por suas propriedades antioxidantes, antifúngicas e antimicrobianas (NIETO; ROS; CASTILLO, 2018; EBRAHIMI et al., 2020). Dos galhos e folhas frescas do alecrim é possível extrair o óleo essencial. O OEA é um líquido incolor ou amarelo pálido, com odor característico (RAŠKOVIĆ, et al., 2014).

A atividade antioxidante do alecrim é justificada, principalmente, pela existência dos compostos fenólicos: carnosol, ácido carnósico e ácido rosmarínico (EBRAHIMI et al., 2020). Já as propriedades antimicrobianas são normalmente associadas com a presença de α -pineno, acetato de bornila, cânfora e 1,8-cineol (EBRAHIMI et al., 2020).

A propriedade antioxidante do OEA foi avaliada por Bozin et al. (2007), que verificou que ele é um forte inibidor da lipoperoxidação, apresentando, portanto, intensa atividade antioxidante. O potencial antimicrobiano do OEA também já foi demonstrado em vários estudos. Burt (2004) mostrou que o OEA possui atividade antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus Aureus*. Sirocchi et al. (2013) mostraram que o OEA inibiu o crescimento de *Brochothrix thermosphacta* e *Enterobacteriaceae*. Moussii et al. (2020) revelaram que o OEA apresenta boa atividade antimicrobiana frente *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus Aureus*.

Contudo, a atividade biológica do OEA é fortemente dependente da sua composição química, e esta, por sua vez, pode apresentar diferenças dependendo do método de extração, das condições ambientais e agronômicas da região que a planta foi colhida, do estágio de desenvolvimento da planta e do tempo da colheita (ZAOUALI; BOUZAINÉ; BOUSSAID, 2010).

Os principais constituintes do OEA são cânfora (5-21%), 1,8-cineol (15-55%), α -pineno (9-26%), borneol (1.5-5.0%), cânfeno (2.5-12.0%), β -pineno (2.0-9.0%) e limoneno (1.5- 5.0%) (LADEIRAS, 2014), cujas estruturas químicas estão apresentadas na Figura 1.



Fonte: NIST Chemistry WebBook (2020).

Os monoterpénóides, cânfora e 1,8 Cineol, além de serem tidos como principais responsáveis pela atividade antimicrobiana do OEA, possuem diversas aplicações terapêuticas (GENENA et al.; 2008). A cânfora é largamente empregada contra gripes, resfriados e complicações inflamatórias, enquanto que o 1,8 Cineol é aplicado no tratamento de reumatismo, tosse e asma brônquica (DOS SANTOS et al., 2005, YONEDA et al., 2007).

Na literatura já foram relatados trabalhos que demonstram a eficiência do OEA no desenvolvimento de filmes poliméricos ativos antioxidantes e antimicrobianos.

Yeddes et al. (2019) avaliaram a atividade antioxidante e antimicrobiana do OEA e o testaram como componente em filmes comestíveis de gelatina. Os autores extraíram OEA de duas diferentes variedades de folhas de alecrim (uma da parte norte da Tunísia e outra da parte sul) e observaram que o OEA extraído da variedade da parte norte apresentou maior atividade antioxidante, β -caroteno e atividade antimicrobiana. Além disso, eles constataram que com o aumento na concentração do OEA no filme de gelatina, uma maior atividade antimicrobiana foi obtida para todos os microrganismos testados (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis*).

Mohsenabadi et al. (2018) desenvolveram filmes de amido de milho e carboximetilcelulose contendo OEA (livre e encapsulado em nanogel de quitosana). Os resultados do teste de inibição microbiana contra *Staphylococcus aureus* pelo método de

disco-difusão mostraram que apenas o filme que incorporava OEA livre na concentração mais alta (0,75% p/v) apresentaram halo de inibição e, além disso, mostraram que apesar do nanogel de quitosana ter apresentado atividade antimicrobiana, os filmes que incorporam o OEA encapsulado não apresentaram zona inibitória. Os autores atribuíram este resultado a uma migração ineficiente do nanogel através do meio ágar e, com isso, constataram que o método de disco-difusão não era adequado para o estudo da atividade antimicrobiana dos filmes com OEA encapsulado. Diante disso, resolveram avaliar a atividade antimicrobiana dos filmes com OEA encapsulado por meio de um teste em meio líquido (com suspensões dos filmes). Em meio líquido, os filmes com OEA encapsulado inibiram o crescimento bacteriano.

Abdollahi, Rezaei e Farzi (2012) desenvolveram filmes de quitosana aditivados com argila montmorilonita (MTT) e OEA. Os autores observaram que as propriedades antimicrobianas dos filmes melhoraram com a incorporação de OEA em 1,5% v/v e que o teor total de fenólicos do filme de quitosana aumentou significativamente com a incorporação do óleo, sendo que o valor mais alto (2,23 mg de EAG/g de amostra) foi para o filme formulado com 3% de MTT e 1,5% de OEA.

Como descrito anteriormente, o OEA tem potencial para atuar como aditivo antioxidante e antimicrobiano em filmes poliméricos biodegradáveis, com capacidade para produção de embalagens para alimentos perecíveis.

3.3 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS

A grande maioria dos polímeros convencionais é produzida a partir de derivados do petróleo não biodegradáveis e podem levar até centenas de anos para se decompor, fazendo com que a quantidade de resíduo plástico descartado na natureza aumente a cada dia e, conseqüentemente, gere sérios problemas ambientais (CAPELEZZO, 2017).

Nas últimas décadas, a busca por uma solução para os problemas ambientais gerados pelo acúmulo de resíduos plásticos no ambiente, desencadeou uma onda de preocupações por parte da sociedade e estimulou a busca pelo desenvolvimento e aplicação de polímeros biodegradáveis.

Muitos estudos recentes têm se dedicado a produção de polímeros biodegradáveis para embalagens alimentícias. Manikandan, Pakshirajan e Pugazhenth (2020) prepararam filmes nanocompósitos à base de polihidroxibutirato com incorporação de nanoplaquetas de grafeno e concluiu que os filmes tem alta possibilidade para aplicação em embalagens de alimentos, pois além do efeito citotóxico insignificante, o nanocompósito produzido melhorou a vida útil

de certos produtos alimentares e mostrou alta biodegradabilidade pelos microrganismos do solo. Jha (2020) produziu filmes biodegradáveis à base de amido de milho e quitosana com agentes antimicrobianos (sorbato de potássio e extrato de semente de toranja) e também concluiu que os filmes produzidos são muito promissores para prolongar a vida útil e manter a qualidade e segurança dos produtos alimentícios. De Andrade et al. (2020) estudou filmes biodegradáveis de poli (butileno adipato co-tereftalato) e óleo essencial de laranja e relatou que o sistema estudado é uma alternativa promissora para aplicação como embalagem ativa.

Segundo a norma ASTM D833 (1946), os polímeros biodegradáveis são materiais em que a degradação resulta primariamente da ação de microrganismos, tais como fungos, bactérias e algas, gerando CO_2 , CH_4 , componentes celulares e outros produtos. Tais polímeros podem ser divididos em quatro categorias de acordo com sua fonte de obtenção, são elas: (1) polímeros oriundos de biomassa (2) polímeros oriundos do metabolismo microbiano (3) polímeros sintetizados convencionalmente, a partir de monômeros oriundos de recursos agrícolas e (4) polímeros biodegradáveis obtidos, a partir de fontes não renováveis (AVEROUS; BOQUILLON, 2004). Na primeira classe, encontra-se o amido, um biopolímero natural e renovável derivado de inúmeros recursos vegetais, tais como: milho, trigo, sorgo, arroz, batata, mandioca, araruta e ervilha (QIN et al., 2020; KANATT, 2020).

3.3.1 Amido

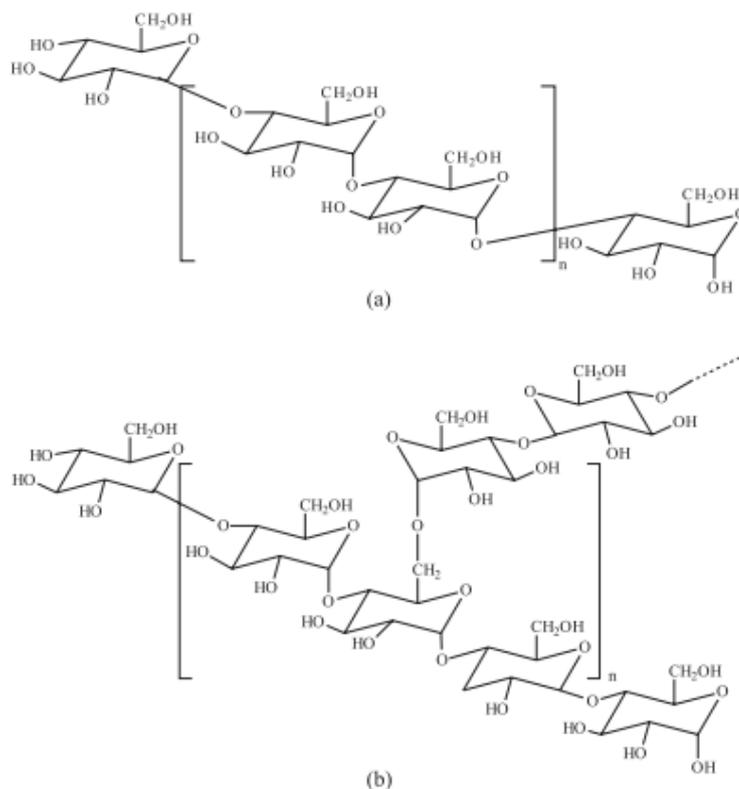
O amido é o segundo polímero natural mais abundante na terra, ficando atrás apenas da celulose, e tem grande potencial na produção de filmes porque é barato, biodegradável e comestível (QIN et al., 2020). Esse polissacarídeo se apresenta na forma de grânulos que apresentam certo grau de organização molecular e possui uma estrutura constituída pela combinação de dois polissacarídeos com funcionalidades diferentes, a amilose e a amilopectina (TRIGO, 2010; MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

As estruturas químicas da amilose e amilopectina estão ilustradas na Figura 2. A amilose, composta por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas α -1,4, origina uma cadeia linear, enquanto que a amilopectina, com unidades de glicose unidas em α -1,4 e α -1,6, forma uma estrutura ramificada (DENARDIN; SILVA, 2009).

A razão e a conformação entre amilose e amilopectina variam de acordo com a origem botânica do amido, fazendo com que os amidos de cada fonte, embora quimicamente iguais, difiram em suas propriedades físico-químicas (teor de amilose, distribuição de comprimento das cadeias de amilopectina, grau de cristalinidade do grânulo, entre outros) e funcionais

(poder de inchamento, solubilidade, gelificação, entre outros) (TESTER; KARKALAS; QI, 2004; ALVES et al, 2012; MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

Figura 2 – Estrutura química da amilose (a) e amilopectina (b)



Fonte: Corradini et al. (2005).

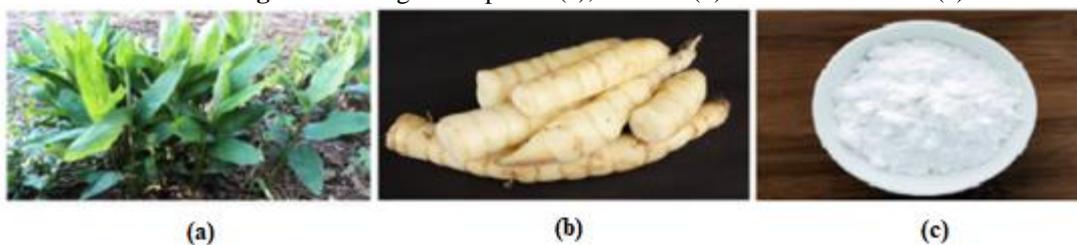
3.3.1.1 Amido de araruta

Dentre os diversos tipos de amido, o de araruta tem recebido crescente atenção da indústria e também de pesquisadores devido as suas qualidades funcionais e tecnológicas (ROCHA, 2019). Este tipo de amido é extraído dos rizomas da araruta, uma planta herbácea perene rizomatosa, cujo nome científico é *Maranta arundinaceae L.*, pertencente à família *Marantaceae* e originária da América do Sul (CUNHA, 2016). A Figura 3 apresenta uma fotografia da planta, dos rizomas e do amido da araruta.

O amido de araruta possui características consideradas inigualáveis, tais como: alta digestibilidade, ausência de glúten e capacidade de gelificação (NEVES; COELHO; ALMEIDA, 2005). As características culinárias peculiares fazem com que o amido de araruta seja muito empregado na preparação de produtos de panificação, tais como biscoitos, bolos,

cremes e doces sendo recomendado, sobretudo, para convalescentes e crianças de 6 a 8 meses devido a sua ótima digestibilidade (NOGUEIRA, 2018).

Figura 3 – Imagens da planta (a), rizomas (b) e amido da araruta (c)



Fonte: adaptado de Hornung *et al.* (2017).

Além da sua importância na indústria alimentícia, o amido de araruta tem grande potencial para ser usado como matéria-prima para elaboração de filmes comestíveis e biodegradáveis (NOGUEIRA, 2018; LEONEL; CEREDA; SARMENTO, 2002; ZÁRATE; VIEIRA, 2005). A principal razão para isso é que a aplicação de amido na produção de filmes é baseada nas propriedades químicas, físicas e funcionais da amilose para formar filmes e, neste sentido, a utilização do amido de araruta é favorecida em razão do seu alto teor de amilose (superior a 20%) que promove a formação de estruturas mais compactas e, conseqüentemente, beneficia as propriedades de barreira (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010; ROCHA, 2019; FU *et al.*, 2018).

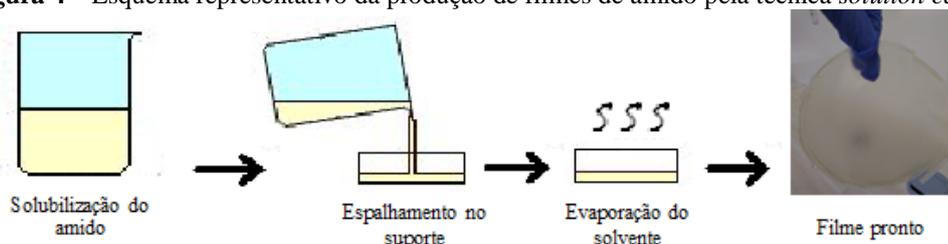
Nogueira, Fakhouri e Oliveira (2018) estudaram a aplicação do amido de araruta em filmes. Os filmes produzidos pelos autores eram homogêneos, transparentes e inodoros. Além disso, eram mais espessos e mais solúveis em altas concentrações de amido. Dentre os filmes produzidos, o que apresentou a menor taxa de permeabilidade ao vapor de água e a maior resistência à tração foi o com 4% de amido (m/m) e 17% de glicerol (m/m). Por fim, os autores concluíram que a araruta é uma fonte de amido muito promissora para esta aplicação.

Nogueira *et al.* (2019) estudaram filmes de amido de araruta com incorporação de micropartículas de polpa de amora preta (BL) e microencapsulada (ML). A incorporação de BL e ML resultou em filmes com maior espessura e solubilidade em água e com menor resistência à tração. Os filmes produzidos com 20% das partículas apresentaram menor permeabilidade ao vapor de água (PVA) que os filmes puros, contudo em concentrações acima de 20% de partículas foi observado aumento na PVA. Os autores observaram ainda que a incorporação das partículas de polpa de amora torna a superfície dos filmes de amido de araruta rugosa e irregular. Além disso, a incorporação de BL e ML transferiu cor, antocianinas e capacidade antioxidante para os filmes obtidos.

3.3.1.2 Produção de filmes de amido

Em escala laboratorial, a técnica mais empregada para produção de filmes biodegradáveis a base de amido é o método *solution casting*. Nesta técnica, como ilustrado na Figura 4, o amido é solubilizado em um solvente, com formação de uma solução filmogênica que, em seguida, é aplicada sobre um suporte e submetida à secagem para evaporação do solvente (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010). Após a evaporação total do solvente utilizado, o filme é formado sobre a superfície do suporte (VIÉGAS, 2016).

Figura 4 – Esquema representativo da produção de filmes de amido pela técnica *solution casting*



Fonte: adaptado de Larotonda (2002).

Na técnica do tipo *solution casting*, para a obtenção da solução filmogênica de amido, a organização dos grânulos de amido é destruída por um processo denominado gelatinização (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010). A gelatinização ocorre quando o amido é aquecido, em excesso de água, sofrendo uma transição de fase de segunda ordem, irreversível (TROBINI, 2010; MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010). A temperatura na qual ocorre este tipo de transformação é chamada de temperatura de gelatinização e é uma característica que depende em parte da fonte botânica de amido (RATNAYAKE, JACKSON, 2006). No caso do amido de araruta um estudo realizado por Madineni e colaboradores (2012) demonstrou que a sua temperatura de gelatinização é de 74,8 °C, o que segundo os autores é uma temperatura relativamente alta se comparada a outros amidos como, por exemplo, o de sagu (68,28 °C).

Durante o esfriamento do gel de amido, ocorre o processo de retrogradação, no qual as moléculas de amilose se orientam paralelamente, aproximando-se suficientemente para formar ligações de hidrogênio entre as hidroxilas de cadeias adjacentes, provocando assim a diminuição do volume livre e a redução da afinidade pela água, permitindo que o amido gelatinizado forme filmes estáveis (BERTAN, 2008).

3.3.1.3 Plastificação de filmes de amido

Os filmes de amido puro têm sua aplicação limitada por possuírem alta fragilidade devido às extensas forças intermoleculares existentes entre suas cadeias (MATHEW; BRAHMAKUMAR; ABRAHAM, 2006).

Uma solução para diminuir a fragilidade dos filmes de amido é a incorporação de plastificantes porque estes reduzem as forças intermoleculares entre as moléculas de amido e, conseqüentemente, aumentam a mobilidade das cadeias, resultando em filmes menos quebradiços (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

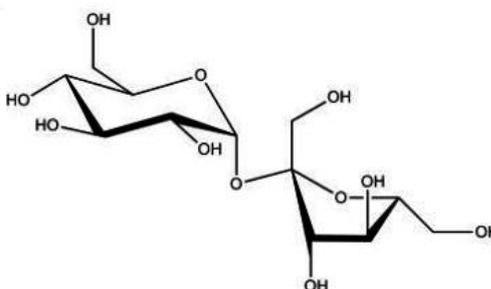
Contudo, os plastificantes não influenciam apenas as propriedades mecânicas, eles geralmente tendem, também, a aumentar a permeabilidade a gases e ao vapor de água e podem, ainda, diminuir a coesividade dos filmes (SOTHORNVIT; KROCHTA, 2005). Assim, o tipo e a quantidade de plastificante empregada é um aspecto muito importante a considerar e o entendimento dos seus efeitos no filme é crucial para otimizar as propriedades do material.

Os plastificantes comumente usados em filmes de amido são os polióis (glicerol, sorbitol e poli(etileno glicol)), mas, os açúcares (glicose e sacarose) e os lipídios (monoglicéridos, fosfolípidios e surfactantes) também podem ser utilizados com esta função (VIEIRA et al, 2011).

3.3.1.4 Plastificação de filmes de amido com sacarose

A sacarose, um dissacarídeo formado pelos monossacarídeos glicose e frutose (Figura 5), quando incorporada em filmes de amido, inibe a retrogradação, aumenta a tensão de ruptura e tem um efeito plastificante mais alto em comparação com o sorbitol e o glicerol (PLOYPETCHARA; GOHTANI, 2018).

Figura 5 – Estrutura da sacarose consistindo de glicose (porção à esquerda) e frutose (porção à direita)



Fonte: Pijning (2014).

O efeito plastificante da sacarose em filmes poliméricos à base de amido foi investigado por Arvanitoyannis, Psomiadou e Nakayama (1996), que demonstraram que em filmes comestíveis a partir de misturas de caseinato de sódio com amidos de milho e trigo, a sacarose apresenta maior eficácia plastificante que o sorbitol e o glicerol.

A adição de sacarose como plastificante em filmes de amido também já foi estudada por outros autores. Veiga-Santos et al. (2005) constataram que a sacarose aumentou o alongamento na ruptura de filmes de amido e goma xantana. O mesmo autor em outra pesquisa, constatou também que a adição de sacarose em filmes de amido de mandioca resulta em maior alongamento na ruptura que a adição de açúcar invertido (Veiga-Santos et al., 2007).

3.3.1.5 Blendas poliméricas de amido e pectina

Além da incorporação de plastificantes, outras maneiras para melhorar as propriedades mecânicas de filmes de amido também têm sido estudadas, como, por exemplo, a preparação de blendas poliméricas.

Segundo Canevarolo Jr. (2006) blenda polimérica pode ser definida como uma mistura física de dois ou mais polímeros predominando interações intermoleculares, porém, sem a ocorrência de significativa reação química entre os componentes. O interesse tecnológico das blendas é devido principalmente a sua possibilidade de combinar as propriedades dos diferentes componentes possibilitando a obtenção de materiais poliméricos para uma ampla gama de aplicações (LUNA et al., 2016).

Um exemplo de material que pode ser utilizado na produção de blendas poliméricas a fim de melhorar as propriedades do amido é a pectina, já que segundo Park e Zhao (2006) este material auxilia na formação de filmes, fortalecendo as suas propriedades mecânicas.

Na literatura já foram relatados trabalhos sobre o desenvolvimento de blendas de amido e pectina.

Coffin e Fishman (1993) avaliaram filmes formados com misturas de pectina cítrica do limão e amido (*amylomaize VII* - amido de milho de alto teor de amilose). As misturas preparadas deram origem a filmes com resistência à tração da ordem de 30 MPa e alongamentos de 1 a 3%. Além disso, os módulos de armazenamento e perda das misturas variavam de 1500 a 6000 e 130 a 500 MPa, respectivamente (o que segundo os autores é igual ou superior ao encontrado em muitos filmes comerciais).

Coffin e Fishman (1994) prepararam filmes misturando soluções de pectina e glicerina com soluções de amido (*amylomaize VII*) gelatinizado e obtiveram filmes fortes, resistentes e flexíveis, com valores de módulo elástico variando em uma faixa muito ampla (de 75 a 3400 MPa). Os autores associaram a variação nos módulos às diferenças na cristalinidade no estado sólido entre a pectina e o amido com alto teor de amilose, e ainda segundo os autores a glicerina tende a interagir rapidamente com a pectina amorfa, mas atinge os domínios cristalinos do amido com muito menos facilidade; assim a medida que a proporção de amido na blenda aumenta, a fração de domínios amorfos diminui, limitando a capacidade da matriz de ser plastificada.

Fishman et al. (2004) estudaram propriedades microestruturais e mecânicas de filmes de pectina e glicerol com várias combinações de albedo de laranja e amido (*amylomaize VII*) obtidos por extrusão. Os autores constataram que as misturas extrudadas de pectina/albedo/amido/glicerol fornecia melhores propriedades mecânicas do que as de pectina/albedo/glicerol.

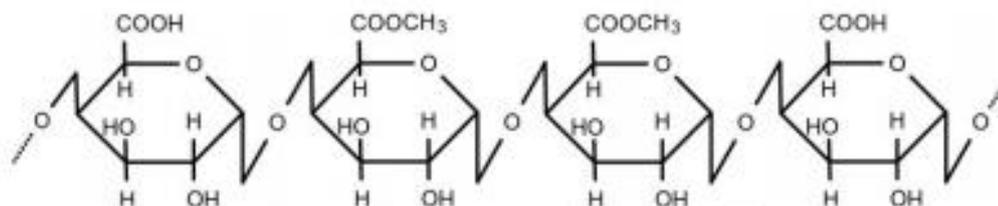
Um estudo mais recente de Dash et al. (2019) investigou filmes de amido de batata doce, pectina da casca do limão e nanopartículas de óxido de titânio. Os resultados mostraram que as blendas de pectina e amido apresentaram módulos de armazenamento e perda significativamente maiores do que os filmes de amido puro, indicando que a presença de pectina aumenta as propriedades viscoelásticas da mistura. Além disso, as blendas de amido e pectina puras (isto é, sem a adição das nanopartículas) apresentaram baixa transmitância na região ultravioleta (2%) e uma tendência de crescimento constante (5-25%) no espectro visível (400-800 nm), indicando boa capacidade no bloqueio da luz ultravioleta sem comprometer a transparência. A porcentagem de transmitância diminuiu com o aumento da concentração de nanopartículas de TiO_2 (o valor máximo de transmitância no espectro visível diminuiu de 8 para 4%, quando a concentração foi aumentada de 0,5 para 2%). Os autores também verificaram que a adição de baixa concentração de nanopartículas de TiO_2 nos filmes de amido-pectina melhorou significativamente as propriedades mecânicas e de barreira à umidade.

Embora, blendas de pectina e amido de diferentes fontes vegetais já tenham sido reportadas, não há estudos que relatem a produção de blenda polimérica de pectina e amido de araruta, o que torna um tema interessante para ser investigado.

3.3.2 Pectina

A pectina, cuja estrutura é apresentada na Figura 6, é um polissacarídeo composto de unidades repetidas do ácido D-galacturônico, unidos por ligações $\alpha(1,4)$ com grau variável de grupos carboxilas metilesterificados (CANTERI et al., 2012). Segundo Barros-Alexandrino, Martelli-Tosi e De Assis (2017) este polissacarídeo tem grande potencial para formação de filmes e, além disso, é antioxidante e promotor de plasticidade.

Figura 6 – Estrutura química da pectina



Fonte: Barros-Alexandrino; Martelli-Tosi; De Assis (2017).

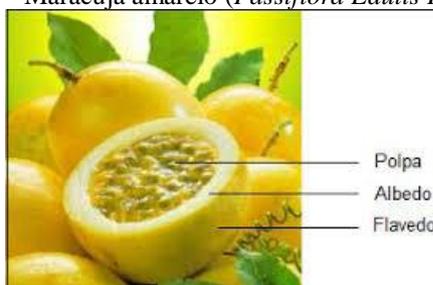
A pectina é obtida de matérias-primas vegetais, sendo que as principais fontes para sua extração comercial são a polpa de maçã e as cascas de frutas cítricas (BRASIL, 2014).

A obtenção de pectina varia de acordo com a matéria-prima, contudo, de forma geral, o processo compreende a extração da pectina do vegetal de origem em meio aquoso acidificado e o seu isolamento desse extrato líquido por precipitação (CANTERI et al., 2012).

Uma fonte promissora para a extração de pectina é a casca do maracujá amarelo (*Passiflora Edulis Flavicarpa*), principalmente no Brasil, por ser o maior produtor e consumidor desta espécie no mundo, com 56,3% da produção mundial (GOULART JUNIOR; REITER; MONDARDO, 2018). Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística a produção brasileira de maracujá em 2018 foi de 602.651 toneladas, sendo que a região nordeste tem a maior participação nessa produção (62,3%).

O maracujá amarelo, conforme mostrado na Figura 7, é composto pela polpa, flavedo (parte amarela) e albedo (parte branca), sendo este último rico em pectina e compostos fenólicos (DE DEUS, 2011).

Figura 7 – Maracujá amarelo (*Passiflora Edulis Flavicarpa*)



Fonte: Chaicouski; Silva; Canteri (2016).

A casca do maracujá, correspondente a aproximadamente 90% do peso da fruta fresca, muitas vezes é descartada como resíduo no ambiente (NASCIMENTO; CALADO; CARVALHO, 2012; SANTOS et al., 2018). Assim, a utilização das cascas de maracujá amarelo como fonte de pectina é uma importante forma de transformar este resíduo agroindustrial em um produto de alto valor agregado (SANTOS et al., 2018).

Na literatura é possível encontrar trabalhos que relatam a extração de pectina da casca do maracujá amarelo.

D'Addosio et al. (2005) extraíram e caracterizaram a pectina da casca do maracujá amarelo em diferentes estágios de maturação (verde-branco, verde-amarelo e amarelo). Os autores observaram que casca no estado amarelo apresentou o maior teor de pectina (18,45%). Além disso, os autores constataram que em comparação com a pectina comercial, a pectina da casca do maracujá não oferece nenhuma característica incomum que apontariam para alguma potencial desvantagem comercial.

Kliemann (2006) extraiu e caracterizou a pectina da farinha da casca do maracujá amarelo com e sem flavedo. O autor realizou extrações com ácidos cítrico, clorídrico e nítrico. As amostras sem flavedo apresentaram um melhor rendimento de pectina para as extrações com ácido nítrico e com ácido clorídrico, contudo para a extração com ácido cítrico não houve diferença estatística no rendimento entre as amostras com e sem flavedo.

Na extração de pectina diferentes ácidos podem ser utilizados. Yapó (2009) observou que o suco de limão e o ácido cítrico puro podem ser utilizados como extratores naturais de pectina da casca do maracujá-amarelo, contudo uma quantidade maior de pectina com maior poder de gelificação é extraída com suco de limão. Assim, os autores concluíram que o suco natural de limão melhora as características de extração e a qualidade da pectina da casca do maracujá-amarelo.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

Para obtenção dos filmes poliméricos utilizou-se amido de araruta da marca Torres, sacarose (açúcar cristal refinado) da marca Olho d'água e óleo essencial de alecrim da marca Live Aloe (todos obtidos comercialmente) e um extrato pectinoso do albedo da casca do maracujá amarelo produzido em laboratório.

Para obtenção do extrato pectinoso utilizou-se frutos de maracujá amarelo (bem firmes e maduros - grau de maturação definido pela coloração amarela da casca) e limão, adquiridos no comércio local da cidade do Recife/PE.

4.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO PECTINOSO DO ALBEDO DA CASCA DO MARACUJÁ AMARELO

O extrato pectinoso do albedo da casca do maracujá amarelo foi obtido seguindo metodologia de Lira e Jackix (1996) com adaptações. Inicialmente os maracujás foram lavados e sanitizados e, em seguida, foram cortados ao meio para retirada da polpa. Após a retirada da polpa, retirou-se a película amarela (flavedo) e o albedo (parte de interesse) foi cortado em pequenos pedaços.

Para obtenção do extrato utilizou-se 500 mL de água destilada para cada 200 g de albedo, usando-se 20 mL de sumo de limão como acidificante. A água e o albedo foram colocados em aquecimento a 100 °C até o albedo amolecer, depois adicionou-se o sumo de limão e deixou-se a mistura em aquecimento por mais 10 minutos. Após este tempo cessou-se o aquecimento e deixou-se a mistura resfriando. Após o resfriamento à temperatura ambiente, filtrou-se o extrato com o auxílio de uma peneira. O extrato pectinoso resultante foi armazenado em vidro âmbar sob refrigeração (5 °C) até a utilização.

4.3 PREPARAÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS

Os filmes foram preparados pelo método de *solution casting*, conforme trabalho de Veiga-Santos et al. (2007) com adaptações, a partir de uma solução filmogênica de amido de araruta (4%, m/m), extrato pectinoso da casca do maracujá amarelo, sacarose (0 - 1,4%, m/m) e OEA (0,5 - 1,5%, m/m). As formulações dos filmes foram definidas por delineamento

fatorial, com um modelo de ordem (2²) e duas repetições no ponto central. Filmes sem adição dos aditivos, sacarose e OEA, foram produzidos para serem utilizados como controles. O delineamento experimental aplicado encontra-se descrito na Tabela 1.

Tabela 1 – Delineamento experimental

Formulações	Fatores		Composição da Solução filmogênica			
	OEA (%)	Sacarose (%)	OEA (g)	Sacarose (g)	Amido de Araruta (g)	Extrato Pectinoso (g)
F1	(-1) 0,50	(-1) 0,00	1,00	0,00	8,00	191,00
F2	(-1) 0,50	(1) 1,40	1,00	2,80	8,00	188,20
F3	(1) 1,50	(-1) 0,00	3,00	0,00	8,00	189,00
F4	(1) 1,50	(1) 1,40	3,00	2,80	8,00	186,20
F5 (Ponto Central)	(0) 1,00	(0) 0,70	2,00	1,40	8,00	188,60
F6 (Ponto Central)	(0) 1,00	(0) 0,70	2,00	1,40	8,00	188,60
F7 (Controle)	-----				8,00	192,00

Fonte: A autora (2020).

Para preparação da solução filmogênica todos os materiais foram misturados, em concentrações que variaram de acordo com a Tabela 1, em um béquer com o auxílio de um bastão de vidro e, em seguida, foram agitados mecanicamente por 5 minutos a 500 rpm. Após homogeneização, a solução foi aquecida em micro-ondas, com agitação intermitente, até temperatura entre 72 e 78°C para que ocorresse a completa gelificação do amido. Após isto, a solução filmogênica foi deixada em repouso por 1 hora e 30 minutos para retirada de bolhas de ar formadas durante o processo e, em seguida, foi pesada em placas de petri de poliestireno de 140x15 mm (45 g por placa). Por fim, realizou-se a secagem em estufa de circulação de ar a 40 °C por 7 horas. Após serem retirados da estufa, os filmes foram acondicionados a 25 °C e 75% de umidade relativa (UR) até utilização. Os filmes foram produzidos em triplicata.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DO OEA E DO EXTRATO PECTINOSO

4.4.1 Cromatografia gasosa acoplada a um detector de massas (GC/MS)

A composição química do OEA foi determinada por cromatografia gasosa acoplada a um detector de massas (GC/MS) seguindo método padrão da central analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE. O cromatógrafo utilizado foi o modelo Trace 1300 da marca *ThermoScientific* com coluna capilar TGMS (30 m de comprimento x 0,250 mm de diâmetro interno x 0,25 µm de espessura) e hélio como gás de arraste. A

temperatura da coluna foi mantida a 60 °C por 3 minutos e programada a 240 °C a uma taxa de 10 °C/min, seguido de um aumento de 60 °C/min até atingir 300 °C mantendo constante esta temperatura por 4 minutos. A temperatura do injetor foi ajustada em 270 °C. A amostra foi dissolvida em hexano na proporção de 1:10. A identificação dos constituintes foi feita por comparação computadorizada dos seus tempos de retenção e espectro de massas com o banco de dados do equipamento.

4.4.2 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

O OEA e o extrato pectinoso foram analisados por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) com Reflectância Total Atenuada Horizontal (HATR) na região de 4000-400 cm^{-1} com 45 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} em um espectrofotômetro SHIMADZU IR TRACER 100.

4.4.3 Teor de compostos fenólicos totais (TFT)

O TFT do OEA e do extrato pectinoso foi determinado pelo método espectrofotométrico utilizando o reagente Folin-Ciocalteu, de acordo com a metodologia de Rossi & Singleton (1965) com adaptações de Kadam et al. (2018). Em tubos de ensaio colocou-se 90 μL de amostra e 60 μL do reagente de Folin-Ciocalteu e agitou-se por 1 minuto; em seguida, adicionou-se 2700 μL de água destilada e 180 μL de solução de carbonato de sódio e agitou-se por mais 30 segundos. Os tubos foram mantidos em ambiente escuro por 2 horas e, após este tempo, a leitura da absorbância foi medida a 760 nm. O teste foi realizado em triplicata e os resultados, expressos em mg de EAG (equivalente de ácido gálico) por g de amostra, foram calculados por meio de uma curva padrão de ácido gálico ($y = 0,092x + 0,122$, $R^2 0,986$), nas concentrações de 1 a 20 mg/L.

4.4.4 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante do OEA e do extrato pectinoso foi investigada pelo método de capacidade de sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH) seguindo a metodologia Brand-Williams; Cuvelier e Berset (1995) e pelo potencial de redução do ferro FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) conforme metodologia descrita por Rufino et al. (2006).

4.4.4.1 Método de sequestro do radical livre DPPH

Para determinação da atividade antioxidante pelo método de capacidade de sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH), inicialmente, preparou-se uma solução etanólica de DPPH de forma a apresentar absorvância entre 0,6 e 0,7 em 517 nm. Nas amostras, realizou-se a mistura reacional pela adição de 2700 µL da solução etanólica de DPPH, 90 µL do OEA e 210 µL de etanol. A leitura das absorvâncias foi realizada em triplicata após 30 minutos de reação a 517 nm em espectrofotômetro UV-visível da marca Edutec. A solução etanólica de DPPH foi usada como controle e a atividade de captura do radical DPPH foi expressa por meio da porcentagem de inibição (% de Inibição), segundo a Equação 1.

$$\% \text{ de Inibição} = \frac{\text{Absorvância do controle} - \text{Absorvância da amostra}}{\text{Absorvância do controle}} \times 100 \quad (1)$$

4.4.4.2 Método de redução do ferro – FRAP

Para determinação da atividade antioxidante pelo método de redução do ferro FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), inicialmente o reagente FRAP foi preparado através da mistura de 25 mL de tampão acetato 0,3 M, com 2,5 mL da solução TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil-1,3,5-triazina) a 10 mM e 2,5 mL de solução aquosa de cloreto férrico a 20 mM. Para realização do experimento, pipetou-se, em tubo de ensaio, 90 µL da amostra, 270 µL de água destilada e 2700 µL do reagente FRAP. A mistura foi homogeneizada e incubada a 37 °C em banho-maria durante 30 minutos. A leitura da absorvância foi medida a 595 nm em espectrofotômetro UV-visível da marca Edutec. O teste foi realizado em triplicata e a atividade antioxidante em reduzir o ferro foi expresso em mmol de sulfato ferroso (Fe₂SO₄) por g de amostra, obtido a partir de uma curva padrão de sulfato ferroso ($y = 0,0006x - 0,0294$, $R^2 0,9979$), nas concentrações de 500 a 2000 µM.

4.4.5 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana do OEA e do extrato pectinoso foi determinada pela técnica de disco-difusão conforme metodologia descrita por Silva et al. (2019) contra três

espécies bacterianas: *Staphylococcus Aureus* (*S. aureus*), *Escherichia coli* (*E. coli*) e *Enterobacter Aerogenes* (*E. aerogenes*). O meio de cultura (Ágar Nutritivo) foi preparado em placa de Petri estéril; e para que o teste fosse realizado em triplicata a placa foi dividida em 4 quadrantes sendo 1 para o depósito do disco de controle – sem adição da amostra – e os outros 3 para depósito dos discos impregnados com a amostra. Após a solidificação do meio de cultura, uma alíquota 0,1 mL da suspensão microbiana da bactéria (padronizada visualmente de acordo com o padrão 0,5 da escala McFarland) foi espalhada sobre ele, e então, os discos de papel de filtro, impregnados com amostra, foram transferidos assepticamente para a superfície do meio de cultura inoculado. A placa foi incubada à 35 °C por 48 horas, e após este período, realizou-se a medida do halo de inibição com o auxílio de uma régua.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

4.5.1 Aspecto visual

O aspecto visual dos filmes foi medido por meio da variação de cor e transparência dos mesmos.

A transparência foi determinada usando um espectrofotômetro UV-visível da marca Edutec. Inicialmente, os filmes foram cortados em retângulos e aderidos à parede interna da cubeta de quartzo e, em seguida, a transmitância no comprimento de onda de 600 nm foi medida. Três réplicas de cada filme foram testadas e usadas para calcular a transparência mediante a Equação 2, proposta por Han e Floros (1997).

$$\text{Transparência} = \frac{\text{Log}(T_{600})}{X} \quad (2)$$

Sendo: T_{600} a transmitância a 600 nm (%) e X a espessura média do filme (mm).

A determinação da cor dos filmes foi realizada seguindo a ASTM E308-17 (2017) e as adaptações propostas por Jaramillo et al. (2015). A análise foi realizada em um colorímetro GRETAG MACBETH - COLOR-EYE 2180, utilizando o iluminante D65, o ângulo de leitura de 10° e a área de visão de uma polegada quadrada (0,00064516 m²). Os parâmetros colorimétricos obtidos, seguindo o sistema CIELAB, foram: L^* que representa a luminosidade e pode variar de 0 para o preto absoluto a 100 para o branco total, a^* a coordenada que varia do verde (-) ao vermelho (+) e b^* a coordenada que varia do azul (-) ao amarelo (+). Estes

parâmetros foram medidos, em relação à placa branca padrão ($L = 95,83$; $a = -0,22$; $b = 2,35$), em 6 pontos aleatórios de cada filme e a diferença total da cor (ΔE) foi calculada pela Equação 3.

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (3)$$

Sendo: ΔL a diferença de brilho, Δa a diferença de cromaticidade vermelho-verde e Δb a diferença de cromaticidade azul-amarelo.

4.5.2 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os filmes foram analisados por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) com Reflectância Total Atenuada (ATR) na região de $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ com 45 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} em um espectrofotômetro SHIMADZU IR TRACER 100. As medidas foram realizadas em 5 pontos distintos do filme.

Os espectros foram tratados matematicamente aplicando a técnica de Análise por Componentes Principais utilizando o software *The Unscrambler 9.7*.

4.5.3 Análise termogravimétrica (TGA)

A análise de TGA dos filmes foi realizada em equipamento TGA-50 SHIMADZU, trabalhando sob fluxo de nitrogênio com vazão de 50 mL/min . A massa das amostras preparadas variou de 9 a 12 mg. As medidas foram realizadas no intervalo de temperaturas de 25 a $550 \text{ }^\circ\text{C}$ a uma taxa de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ em cadinhos de alumina.

4.5.4 Espessura

A determinação da espessura dos filmes foi realizada por meio de um micrômetro Mitutoyo 103-137 com precisão de 0,01 mm, sendo resultante da média de 3 medições em posições aleatórias.

4.5.5 Teor de sólidos totais

Para determinação o teor de sólidos totais, amostras de filme no formato de disco com 2 cm de diâmetro foram pesadas e em seguidas secas em estufa de circulação de ar a 105°C

até peso constante. As medidas foram realizadas em triplicata. O teor de sólidos totais foi determinado por meio da Equação 4.

$$\text{Teor de Sólidos Totais} = \left[100 - \frac{m_{\text{inicial}} - m_{\text{final}}}{m_{\text{inicial}}} \right] \times 100 \quad (4)$$

Sendo: m_{inicial} a massa da amostra antes da secagem em estufa e m_{final} a massa da amostra após a secagem em estufa.

4.5.6 Ensaio mecânico em tração

As propriedades mecânicas em tração dos filmes foram avaliadas usando um instrumento de ensaios estáticos da SHIMADZU – Linha AGS - X 10 Kn com separação inicial das garras de 50 mm e taxa de 12 mm/min. A análise foi realizada seguindo as especificações da norma ASTM D882-12 (2012). Antes do teste, mediu-se as espessuras dos filmes com auxílio de paquímetro digital de inox (LEE TOOLS), em cinco posições aleatórias em todas as amostras. Para o ensaio, os filmes foram cortados em tiras retangulares com uma dimensão de 100 x 15 mm. A resistência à tração foi determinada pela relação entre a força máxima de tração e a área da seção transversal do corpo de prova e o alongamento foi calculado com base na distância percorrida até a ruptura do filme. Os valores relatados são as médias de quatro medições, expressos em MPa para resistência a tração e % para o alongamento.

4.5.7 Solubilidade em água

A solubilidade em água dos filmes foi determinada de acordo com a metodologia proposto por Gontard et al (1994) com adaptações. Inicialmente, amostras de 2 cm de diâmetro, preparadas em triplicata, foram cortadas e secas em estufas de circulação de ar a 105 °C por 24 horas. Posteriormente, os discos secos foram imersos em 50 mL de água destilada e mantidos sob agitação durante 24 horas, em uma incubadora de bancada estilo *shaker* sob uma velocidade de agitação de 100 rpm e temperatura de 25°C. Após a agitação, a água foi removida por meio de secagem em estufa de circulação de ar a 105°C por 24 horas. A solubilidade foi calculada de acordo com a Equação 5.

$$\text{Solubilidade} = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad (5)$$

Sendo: m_i a massa inicial do material seco (g) e m_f a massa final do material seco não solubilizado (g).

4.5.8 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A PVA dos filmes foi determinada gravimetricamente seguindo as especificações da norma ASTM - E96-95 (2014). Os filmes foram cortados em partes quadradas (6 cm x 6 cm) e selados no topo de frascos de 30 mL contendo cloreto de cálcio (CaCl_2) em seu interior, deixando um espaço de 1,5 cm entre o filme e o dessecante. Estes recipientes foram acondicionados em dessecador com umidade relativa de 75% a 25°C (com solução saturada de NaCl). O ganho de massa do material foi registrado durante 8 dias, pesando-se as amostras 2 vezes ao dia. O teste foi realizado em triplicata para cada uma das formulações dos filmes produzidos e, além disso, utilizou-se um frasco preparado sem o dessecante (branco) para descontar ou acrescentar a variação de massa do material. A PVA foi calculada de acordo com a Equação 6.

$$\text{PVA} = \frac{\Delta m \times X}{t \times A \times \Delta P} \quad (6)$$

Sendo: Δm o ganho de massa pelo agente dessecante (g), X a espessura média do filme (m), t o tempo de incubação (h), A a área do filme exposta à permeação (m^2) e ΔP a diferença parcial da pressão do vapor de água nos dois lados do filme (Pa).

4.5.9 Permeabilidade ao oxigênio

A permeabilidade dos filmes ao oxigênio (PO_2) foi testada seguindo as normas ASTM D 1434 (2009) e ISO 15105/1 (2007), em um equipamento GPD-C Brugger a uma temperatura controlada de 25 °C. Após inserir a amostra de filme, o sistema foi evacuado durante 20 minutos e, em seguida, o oxigênio foi injetado na parte inferior da célula do equipamento. O ensaio foi realizado em duplicata e a área de filme testada foi de 78,4 cm^2 . Os parâmetros obtidos no ensaio são difusividade (propriedade que especifica o quão rápido os gases podem percorrer o material) e solubilidade (indica a solubilidade dos gases no polímero). Tais parâmetros foram utilizados para calcular a permeabilidade, expressa em $\text{cm}^3/\text{cm} \cdot \text{h} \cdot \text{bar}$, de acordo com a Equação 7.

$$PO_2 = D \times S \times 3600 \text{ (s/h)} \quad (7)$$

Sendo: D a Difusividade (cm^2/s) e S a Solubilidade do gás (sob condições padrão de temperatura e pressão (0°C , 1 atm) em unidades de $\text{cm}^3/\text{cm}^3 \cdot \text{bar}$).

4.5.10 Atividade antioxidante *in vitro*

Para extração dos compostos ativos incorporados nos filmes foram cortadas amostras de filmes em partes quadradas de 9 cm^2 , as quais foram imersas em 10 mL de água destilada e centrifugadas a 4400 rpm durante 30 minutos à 5°C . Do sobrenadante foram retiradas as alíquotas para determinação da atividade antioxidante pelos métodos DPPH e FRAP, seguindo o mesmo procedimento descrito no item 4.4.4.

4.5.11 Teste de migração

O teste de migração foi realizado com dois simulantes alimentares diferentes (água destilada e óleo de soja da marca Lisa). Para o experimento, os filmes foram cortados em partes quadradas de $1,5 \text{ cm} \times 1,5 \text{ cm}$ e colocadas, em tubos falcon, imersos em 6 mL do simulante. Os tubos foram armazenados protegidos da luz em temperatura ambiente durante 30 dias. A migração das substâncias ativas dos filmes foi verificada por meio da determinação do teor de compostos fenólicos totais no meio simulador nos tempos 0, 10, 20 e 30 dias de armazenamento, usando o mesmo método descrito anteriormente no item 4.4.3. As amostras foram preparadas em duplicata.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada utilizando software *Assistat versão 7.7*, e os dados foram avaliados por meio de teste estatístico de Duncan para determinar a diferença no nível de significância de 5 % ($p < 0,05$).

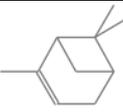
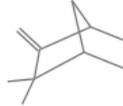
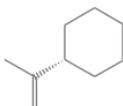
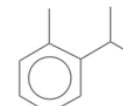
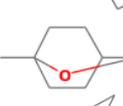
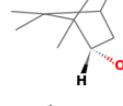
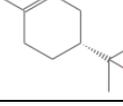
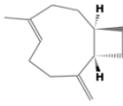
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO OEA

5.1.1 Análise por GC/MS

A composição química do OEA foi analisada por GC/MS e os principais componentes identificados estão apresentados na Tabela 2. Os constituintes majoritários foram α -Pineno (26,53%), Cânfora (20,32%) e 1,8 Cineol (19,36%), similarmente ao encontrado no estudo de Wang et al. (2008) que relataram 1,8 Cineol (27,23%), α -pineno (19,43%) e cânfora (14,26%) como principais componentes do OEA.

Tabela 2 – Composição química do OEA

Classe	Composto	Estrutura química*	Porcentagem Relativa
Monoterpenos	α -Pineno		26,53
	Canfeno		9,04
	D-Limoneno		3,64
	o-Cimeno		2,61
Monoterpenóides	Cânfora		20,32
	1,8 Cineol		19,36
	Endo-Borneol		4,60
	α -Terpineol		2,55
Sesquiterpenos	Cariofileno		2,21
Outros compostos	-----		9,14

Fonte: A autora (2020).

Nota: *Imagens retiradas do NIST Chemistry WebBook.

Na literatura são encontrados óleos essenciais de alecrim com variações na composição e no teor de constituintes, sendo assim é fundamental que os seus componentes, variáveis de acordo com diversos fatores, sejam conhecidos, pois, podem alterar o seu princípio ativo (NASCIMENTO et al., 2007). De fato, a atividade biológica do OEA é relacionada com a estrutura química dos seus constituintes, com as proporções em que eles estão presentes e com as interações entre os mesmos (ÉVORA, 2015).

Com relação à influência da estrutura química dos constituintes do óleo na sua atividade biológica, alguns autores verificaram que a presença das duplas ligações conjugadas nas moléculas de monoterpenos dos OEs foram responsáveis pela atividade relativamente elevada de eliminação dos radicais livres, uma vez que os compostos que não possuíam essas ligações exerceram atividade mais fraca ou inexistente (OLIVEIRA, 2018). Postula-se que essa característica química resulta num melhor deslocamento do elétron doado, fazendo com que a eliminação dos radicais livres ocorra de forma mais rápida (WOJTUNIK; CIESLA; WAKSMUNDZKA-HAJNOS, 2014). Da mesma forma, outros autores verificaram correlação positiva entre a quantidade de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante (CARVALHO et al., 2016). Os compostos fenólicos apresentam expressiva atividade de eliminação de radicais livres devido a sua estrutura química, constituída de grupos benzênicos que possuem pelo menos um de seus hidrogênios substituídos por um grupamento hidroxila, que fornece maior estabilidade à molécula doadora de elétrons ou de átomos de hidrogênio (ACHKAR et al., 2013; OLIVEIRA, 2018).

Na literatura, há relatos também que a atividade antimicrobiana dos OEs é relacionada com sua composição química, sendo atribuída principalmente aos compostos terpênicos presentes (DE SOUSA, 2012). Acredita-se que esses compostos se dissolvem na membrana microbiana e penetram na célula onde podem interagir com mecanismos essenciais para o metabolismo celular (MARINO; BERSANI; COMI, 2001).

No que diz respeito as interações entre os constituintes, estudos científicos evidenciaram que o OEA apresentou maior atividade antimicrobiana contra várias bactérias (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*) e fungos (*Candida albicans* e *Aspergillus niger*) que os seus compostos majoritários isoladamente 1,8-cineol (26,54%) e α -pineno (20,14%) (Jiang et al., 2011), tal resultado pode ser atribuído a um efeito sinérgico entre os seus componentes (OLIVEIRA, 2018).

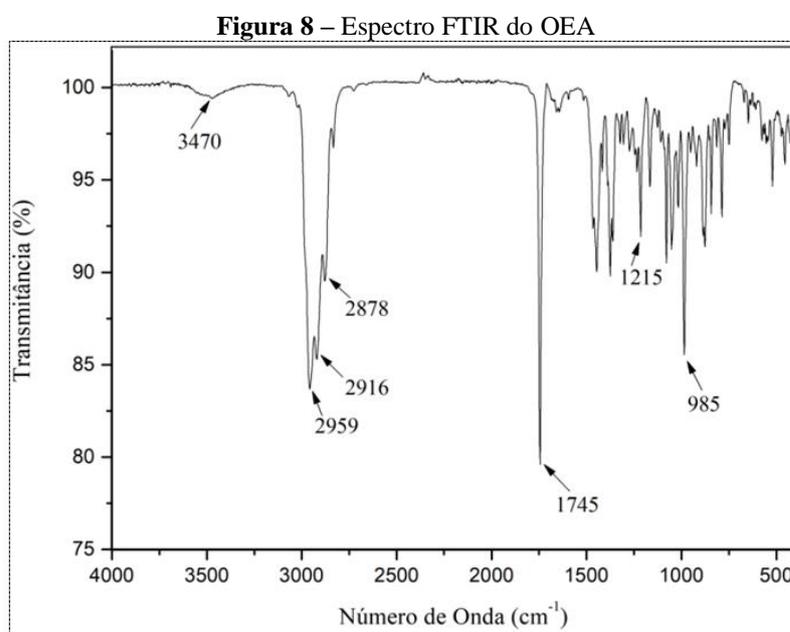
A influência do teor de constituintes na atividade biológica do OEA também já foi verificada na literatura. Segundo Évora (2015), a presença de 1,8-cineol como composto

majoritário do OEA diminuía consideravelmente a eficácia do óleo contra *Staphylococcus aureus*, enquanto a presença de α -pineno como composto majoritário aumentava a sua eficácia contra este microrganismo.

5.1.2 Análise por FTIR

A Figura 8 mostra o espectro de FTIR do OEA. O espectro apresenta bandas características em posições relativas consistentes com as relatadas na literatura (ELZEY et al., 2006).

A banda larga na região de 3470 cm^{-1} corresponde ao estiramento O-H e as bandas que apareceram em aproximadamente 2900 cm^{-1} e em 1745 cm^{-1} correspondem aos estiramentos das ligações C-H e C = O, respectivamente. Já as bandas em 1215 cm^{-1} e em 985 cm^{-1} são características da vibração de éteres.



Fonte: A autora (2020).

Correlacionado os espectros de FTIR com os resultados de GC/MS podemos constatar que a banda de forte intensidade em 1745 cm^{-1} é atribuída principalmente ao cetogruppo da cânfora e as bandas em 1215 cm^{-1} e 985 são associadas à função éter do anel epóxido do 1,8 cineol (FERNANDES et al., 2014). Além disso, a banda larga na região de 3470 cm^{-1} pode ser atribuída aos grupos hidroxilas dos compostos endo-borneol e α -terpineol e de compostos fenólicos presentes em menores quantidades (ZGARIAN et al., 2017).

5.1.3 TFT e atividades antioxidante e antimicrobiana

Os compostos fenólicos são um grupo de substâncias que possuem um anel aromático com uma ou mais hidroxilas (DEL RE; JORGE, 2012). O teor de compostos fenólicos totais (TFT) pode ser usado como um importante indicador da capacidade antioxidante do óleo essencial, pois estes compostos têm um alto potencial redox, exercido por vários mecanismos possíveis: eliminação de radicais livres, quelação de metais de transição e/ou capacidade de extinção de oxigênio singlete (ALVES-SILVA et al., 2013).

Conforme mostrado na Tabela 3, o TFT do OEA foi 33,12 mg de EAG/g de OEA. Este valor está de acordo com o relatado na literatura por Baydar et al. (2009), que avaliou o TFT do OEA extraído de plantas colhidas durante 4 meses e encontrou um valor variando de 18,53 a 37,95 mg de EAG/g de OEA. Contudo, é um valor considerado baixo quando comparado aos óleos essenciais de outras espécies descritas na literatura, tais como o OE de cúrcuma ($56,79 \pm 1,37$ mg de EAG/g) e o OE de tomilho (177,3 mg de EAG/g) (ANTUNES et al., 2012; ALJABEILI; BARAKAT; ABDEL-RAHMAN, 2018).

Os constituintes presentes em maior quantidade no OEA, segundo resultados de GC/MS, foram α -Pineno, Cânfora e 1,8 Cineol, sendo que nenhum desses compostos apresentam estrutura fenólica, razão pela qual quantificou-se baixo teor de compostos fenólicos totais.

Tabela 3 – Teor de compostos fenólicos totais e atividades antioxidante e antimicrobiana para o OEA

TFT (mg de EAG/g de OEA)	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE		ATIVIDADE ANTIMICROBIANA (halo de inibição em milímetros)		
	DPPH (% inibição)	FRAP (mmol Fe ₂ SO ₄ /g de OEA)	<i>S. aureus</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>E. coli</i>
33,12± 1,53	38,11± 0,62	6,24± 0,23	15,3± 5,0	10,3 ± 1,5	15,7± 2,1

Fonte: A autora (2020).

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados das atividades antioxidantes pelos dois métodos utilizados, o teste de sequestro do radical livre DPPH e o método de redução de ferro (FRAP). O OEA apresentou 38,11% de inibição de DPPH, este resultado foi superior ao encontrado por Gachkar et al. (2007) e Tural e Turhan (2017) que relataram 23 e 21,31% de inibição, respectivamente. Essa diferença já era esperada uma vez que estes valores são influenciados pela composição química do óleo, e no trabalho Gachkar et al. (2007), por exemplo, o OEA utilizado continha piperitona (23,7%), α -pineno (14,9%) e linalol (14,9%)

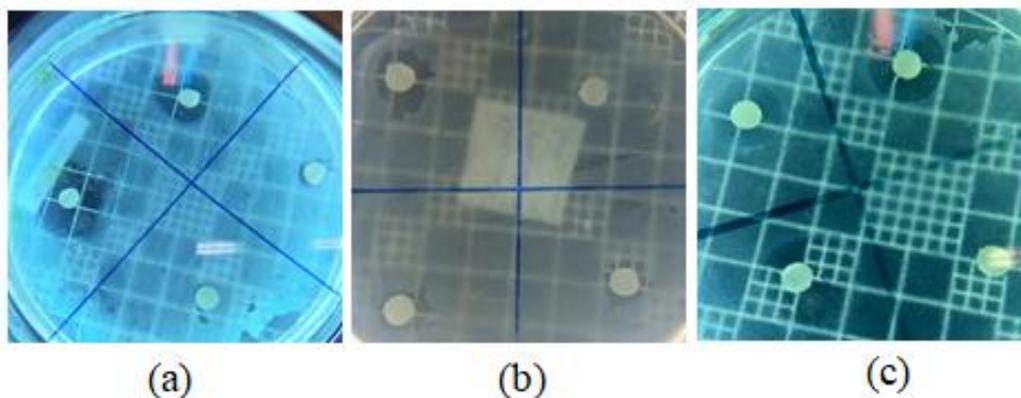
diferentemente desse trabalho onde os principais constituintes foram α -Pineno (26,53%), Cânfora (20,32%) e 1,8 Cineol (19,36%).

Com relação a atividade antioxidante por FRAP o resultado foi de 6,24 mmol $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$ de OEA. Lado et al (2004) avaliaram a atividade antioxidante de diferentes óleos essenciais pelo ensaio FRAP, e para o OEA os autores encontraram um valor de 0,031 (mmol $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$ de OEA); este resultado é muito inferior ao encontrado aqui. Entretanto, neste trabalho a amostra foi incubada por 30 minutos com o reagente FRAP, enquanto no trabalho de Lado et al (2004) as amostras foram incubadas apenas por 5 minutos; devido ao maior tempo de incubação é esperado que nosso óleo expresse maior valor de redução do ferro.

O OEA apresentou atividade antioxidante moderada comparativamente à do antioxidante sintético butil-hidroxitolueno que exibe 51,6% de inibição de DPPH e um poder de redução do ferro de 10,58 mmol $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$ (ŽIVKOVIĆ1, ĆEBOVIĆ, MAKSIMOVIĆ, 2012; COSTA et al., 2013). Este resultado pode ser atribuído ao teor de fenólicos, que foi baixo se comparado com o de outros OEs descritos na literatura, visto que compostos com estrutura fenólica tendem a apresentar uma expressiva atividade antioxidante, como foi descrito anteriormente.

Na avaliação da atividade antimicrobiana do OEA contra às bactérias testadas (Tabela 3 e Figura 9), constatou-se que o OEA apresentou atividade antimicrobiana intermediária para *S. aureus* e *E. coli*, entretanto demonstrou baixa atividade frente às cepas de *E. aerogenes*. Esta classificação foi realizada de acordo com o protocolo M02-A10 do *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2003) que estabelece as categorias sensível (para halo de inibição superior a 20 mm), intermediária (para halo de inibição entre 15 e 19 mm) e resistente (para halo de inibição igual ou menor que 14 mm).

Figura 9 – Halo de inibição apresentado pelo OEA para (a) *S. aureus*, (b) *E. aerogenes* e (c) *E. coli*



Fonte: A autora (2020).

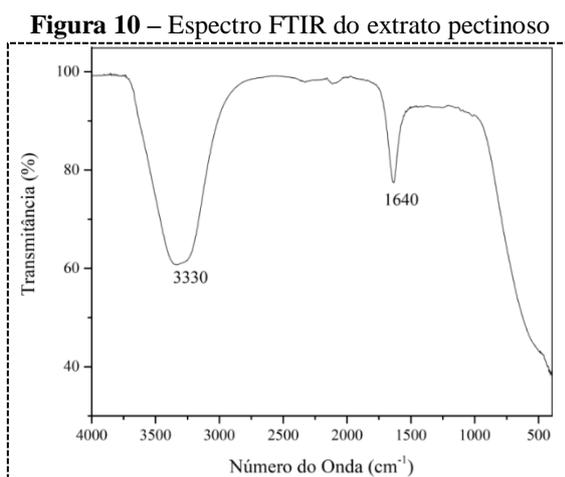
O resultado do teste de atividade antimicrobiana indica que o OEA é um candidato promissor a agente antimicrobiano em embalagens ativas, tendo em vista que as cepas testadas são possíveis causadores de doenças infecciosas, sendo que as duas para as quais o OEA apresentou maior potencial inibidor (*S. aureus* e *E. coli*) estão entre as principais causadoras de doenças transmitidas por alimentos no Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

Diferentes mecanismos estão envolvidos na ação dos óleos essenciais sobre os microrganismos. Segundo Ribeiro (2011) as inibições mais frequentes envolvem a sensibilização da bicamada lipídica da membrana celular, causando aumento da permeabilidade e liberação dos constituintes intracelulares vitais. No entanto, ainda segundo o autor, devido ao grande número de compostos químicos presentes nos óleos essenciais, provavelmente, sua atividade antimicrobiana não é atribuível a um mecanismo específico, podendo haver outros alvos na célula.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO PECTINOSO

5.2.1 Análise por FTIR

A análise por FTIR do extrato pectinoso, conforme espectro exibido na Figura 10, mostrou bandas características em 3330 cm^{-1} e em 1640 cm^{-1} correspondentes as vibrações de alongamento e de flexão dos grupos OH (da água, da pectina ou de compostos fenólicos contidos no extrato), respectivamente (CASAGRANDE; REPETTE, 2018). O pico que ocorre em 1640 cm^{-1} também pode ser associado aos grupos carboxílicos não esterificados (COO^-) da pectina (VIEIRA, 2017).



Fonte: A autora (2020).

O espectro FTIR não foi suficiente para confirmar a extração de pectina, isto porque a água apresenta alta absorção da radiação infravermelha dificultando a análise de substâncias aquosas. Assim, como sugestão, recomenda-se em trabalhos futuros que o teor de pectina seja determinado na forma de pectato de cálcio.

5.2.2 TFT e atividades antioxidante e antimicrobiana

A Tabela 4 apresenta o teor de compostos fenólicos totais (TFT) e o resultados da atividade antioxidante para o extrato pectinoso. O extrato pectinoso apresentou um alto valor de TFT ($230,09 \pm 29,08$ mg de EAG/g de extrato pectinoso) e também boa atividade antioxidante pelos dois métodos usados ($70,83 \pm 1,82\%$ de inibição de DPPH e um poder de redução de ferro de $53,20 \pm 1,95$ mmol $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$ de extrato pectinoso).

De acordo com resultados obtidos, o extrato pectinoso apresenta alto potencial para ser utilizado como aditivo antioxidante em alimentos, uma vez que apresentou ação superior à do antioxidante sintético butil-hidroxitolueno ($51,6\%$ de inibição de DPPH e $10,58$ mmol $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$ de OEA) pelos dois métodos testados. Este resultado está associado tanto ao fato da casca do maracujá amarelo apresentar compostos fenólicos em sua composição (como é o caso da isoorientina) (ZERAIK et al., 2012), como também por ter sido empregado suco de limão como acidificante na extração de pectina, pois, como se sabe, o suco do limão contém ácido cítrico e ácido ascórbico, dois fortes antioxidantes.

Tabela 4 – Teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante para o extrato pectinoso

TFT (mg de EAG/g de extrato pectinoso)	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	
	DPPH (% inibição)	FRAP (mmol $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$ de extrato pectinoso)
$230,09 \pm 29,08$	$70,83 \pm 1,82$	$53,20 \pm 1,95$

Fonte: A autora (2020).

O extrato pectinoso também foi caracterizado quanto a sua atividade antimicrobiana pelo método de disco-difusão frente as espécies bacteriológicas *E. coli*, *E. aerogenes* e *S.aureus*. Contudo, não foi verificado halo de inibição para nenhum dos microrganismos testados.

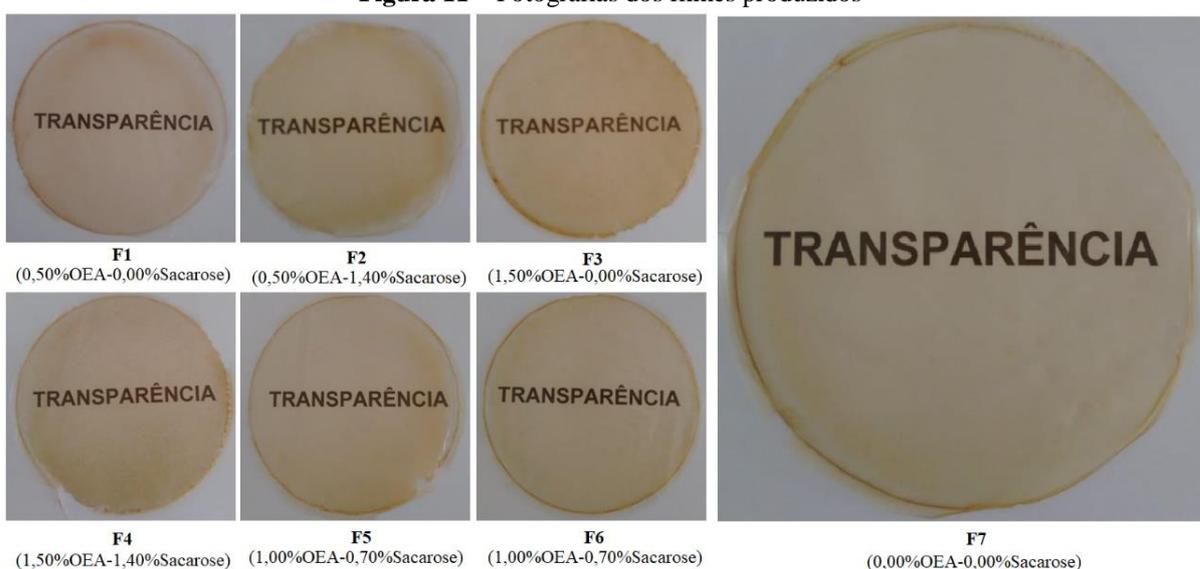
5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

5.3.1 Aspecto visual

O aspecto visual dos filmes para embalagem é um fator muito importante, pois influencia na apresentação do produto embalado e, conseqüentemente, na aceitação dos consumidores. Especificamente na área de alimentos, na maioria das vezes, deseja-se filmes transparentes a fim de permitir a visualização do produto.

A Figura 11 exibe fotografias dos filmes produzidos, onde é possível observar que todos os filmes se mostraram visualmente transparentes e com uma cor amarelo-ocre.

Figura 11 – Fotografias dos filmes produzidos



Fonte: A autora (2020).

Além disso, verificou-se, visualmente, que o filme sem adição de OEA (F7) apresentou superfície lisa, entretanto, nos filmes com OEA verificou-se a formação de partículas na superfície e quanto maior o percentual de OEA mais evidente era esta observação. Este resultado é, possivelmente, associado à diferença de polaridade entre o óleo (hidrofóbico) e a solução filmogênica a base de polissacarídeos de caráter hidrofílico (amido e pectina) que dificulta homogeneização da solução.

A fim de quantificar a intensidade da transparência os filmes foram analisados em espectrofotômetro UV-Vis na região visível do espectro (faixa de comprimento de onda de 600 nm), sendo obtidos valores entre 12,60 e 16,71 mm^{-1} (Tabela 5). A formulação F4 (1,50%OEA-1,40%Sacarose) foi a única em que o resultado de transparência diferiu estatisticamente do filme de controle (F7), assim pode-se dizer que esta diferença estatística não está associada nem ao óleo e nem a sacarose, já o valor de transparência do filme F3 (sem

sacarose e com mesma concentração de OEA que o F4) e do filme F2 (com mesma concentração de sacarose que o F4) não apresentou diferença significativa para o filme de controle.

A diferença observada entre a transparência das formulações F4 (1,50%OEA-1,40%Sacarose) e F7 (filme de controle) pode ser atribuída à quantidade de extrato pectinoso usado na preparação da solução filmogênica. Como o extrato pectinoso foi utilizado como solvente, sua quantidade na solução era variável de acordo com o percentual dos aditivos utilizados, logo, como a formulação F4 é a que possui maior percentual de aditivos, menor quantidade de extrato pectinoso foi empregada para a sua produção, conforme mostrado no delineamento experimental (Tabela 1).

Tabela 5 – Parâmetros colorimétricos e transparência dos filmes estudados

Formulações (% OEA - % Sacarose)	Parâmetros colorimétricos			ΔE	Transparência (mm ⁻¹)
	L*	a*	b*		
F1 (0,50% - 0,00%)	82,01 ± 4,39 ^c	2,65 ± 2,12 ^a	27,61 ± 3,62 ^{a,b}	29,06 ± 5,37 ^{a,b}	14,74 ± 2,21 ^{a,b}
F2 (0,50% - 1,40%)	86,99 ± 1,32 ^a	0,70 ± 1,83 ^c	23,47 ± 2,98 ^c	22,92 ± 3,26 ^c	15,42 ± 0,60 ^{a,b}
F3 (1,50% - 0,00%)	82,87 ± 1,46 ^{b,c}	2,18 ± 0,57 ^{a,b}	29,00 ± 2,04 ^a	29,74 ± 2,51 ^{a,b}	16,71 ± 0,85 ^a
F4 (1,50% - 1,40%)	84,47 ± 1,58 ^{a,b}	1,37 ± 0,54 ^{b,c}	25,36 ± 2,49 ^{b,c}	25,72 ± 2,92 ^{b,c}	12,60 ± 0,43 ^c
F5 (1,00% - 0,70%)	82,80 ± 2,49 ^{b,c}	2,18 ± 1,01 ^{a,b}	30,25 ± 3,82 ^a	30,90 ± 4,56 ^a	13,68 ± 1,03 ^{b,c}
F6 (1,00% - 0,70%)	85,17 ± 1,36 ^{a,b}	1,25 ± 0,53 ^{b,c}	26,90 ± 2,35 ^{a,b}	26,80 ± 2,72 ^{a,b}	12,88 ± 2,30 ^{b,c}
F7 (0,00% - 0,00%)	86,73 ± 0,64 ^a	0,57 ± 0,41 ^c	24,43 ± 1,90 ^{b,c}	23,90 ± 1,20 ^c	14,94 ± 1,25 ^{a,b}

Fonte: A autora (2020).

Nota: Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão. Valores seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo o Teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05).

Os parâmetros colorimétricos dos filmes também estão apresentados na Tabela 5. O parâmetro L*, que representa o índice de luminosidade, mostrou que todos os filmes apresentaram valores próximos a 100, ou seja, resultados voltados para luminosidade branca, originando filmes mais claros. Entretanto, não foi observada correlação entre os resultados do parâmetro L* e a concentração de sacarose e OEA utilizada, indicando que estes aditivos não afetaram, ou tiveram pouco efeito, sobre a luminosidade dos filmes, o que concorda com os resultados de transparência apresentados anteriormente.

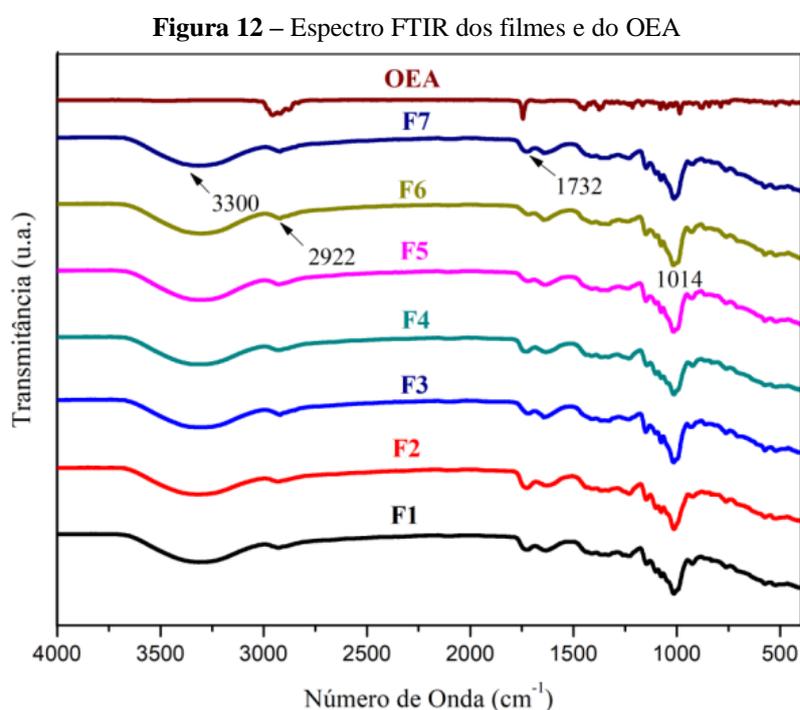
De forma geral, os valores positivos para o parâmetro b* indicam que a coloração amarela predominou no material e, as médias positivas, porém próximas a 0, do parâmetro a* indicam que há baixa tendência a coloração vermelha. A cor dos filmes é, naturalmente,

devido ao extrato pectinoso que apresenta uma cor levemente amarela, já que o OEA utilizado era incolor.

Ao analisar a diferença total de cor (ΔE), observou-se diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre as amostras, com valores variando de 22,92 na F2 (0,50% OEA-1,40% Sacarose) a 30,90 na F5 (1,00% OEA-0,70% Sacarose) (Tabela 5). Com exceção da amostra F2, todas as outras apresentaram ΔE superior ao filme de controle (F7), assim, de maneira geral, verificou-se uma redução da diferença total de cor com a incorporação de OEA. Resultado semelhante foi encontrado por Yeddes et al. (2020) que verificaram que a incorporação do OEA resultou em uma diminuição significativa do valor de ΔE em filmes de gelatina-quitosana-pectina.

5.3.2 Análise por FTIR

A Figura 12 mostra os espectros FTIR para os filmes estudados e para o óleo essencial de alecrim puro. Como pode ser observado, todos os filmes apresentaram espectros muito semelhantes com picos definidos sob os mesmos comprimentos de onda. A semelhança entre os espectros dos filmes com e sem adição de óleo, ocorre devido ao OEA apresentar bandas características nas mesmas regiões do filme de amido/extrato pectinoso (F7), resultando em sobreposição de bandas no espectro.



Fonte: A autora (2020).

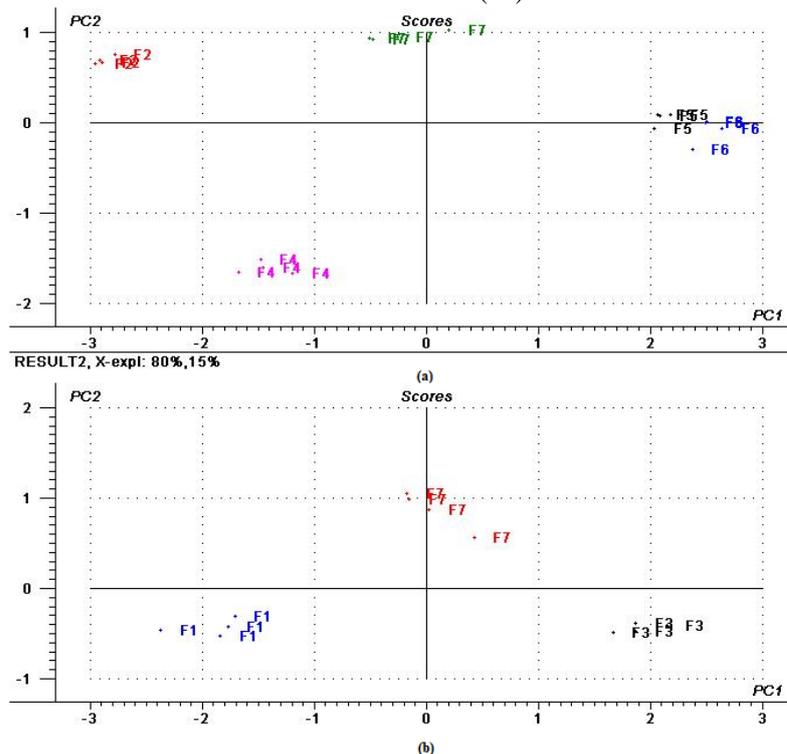
A banda larga e forte na região de 3300 cm^{-1} corresponde ao estiramento dos grupos hidroxila (-OH) que participam da formação de ligações de hidrogênio inter e intramoleculares e a banda encontrada em 2922 cm^{-1} é referente ao estiramento da ligação C-H (CUNHA, 2016).

Em 1732 cm^{-1} aparece uma banda que pode ser relacionada ao estiramento vibracional C=O de grupos carboxílicos esterificados (CORRÊA, 2011) e em 1014 cm^{-1} tem-se uma banda espectral atribuída aos estiramentos de éteres C-O-C presentes nas cadeias poliméricas do amido (CUNHA, 2016).

5.3.2.1 PCA

Como os espectros FTIR não foram suficientes para indicar se óleo foi incorporado na matriz polimérica, realizou-se a Análise por Componentes Principais (PCA) para evidenciar diferenças entre o filme de amido/extrato pectinoso (F7) e os filmes com adição de OEA (F1 a F6). Os gráficos de *scores* (PC1 X PC2) para os filmes estão apresentados na Figura 13, onde foram divididos em filmes com e sem adição de sacarose (Figura 13 (a) e (b), respectivamente).

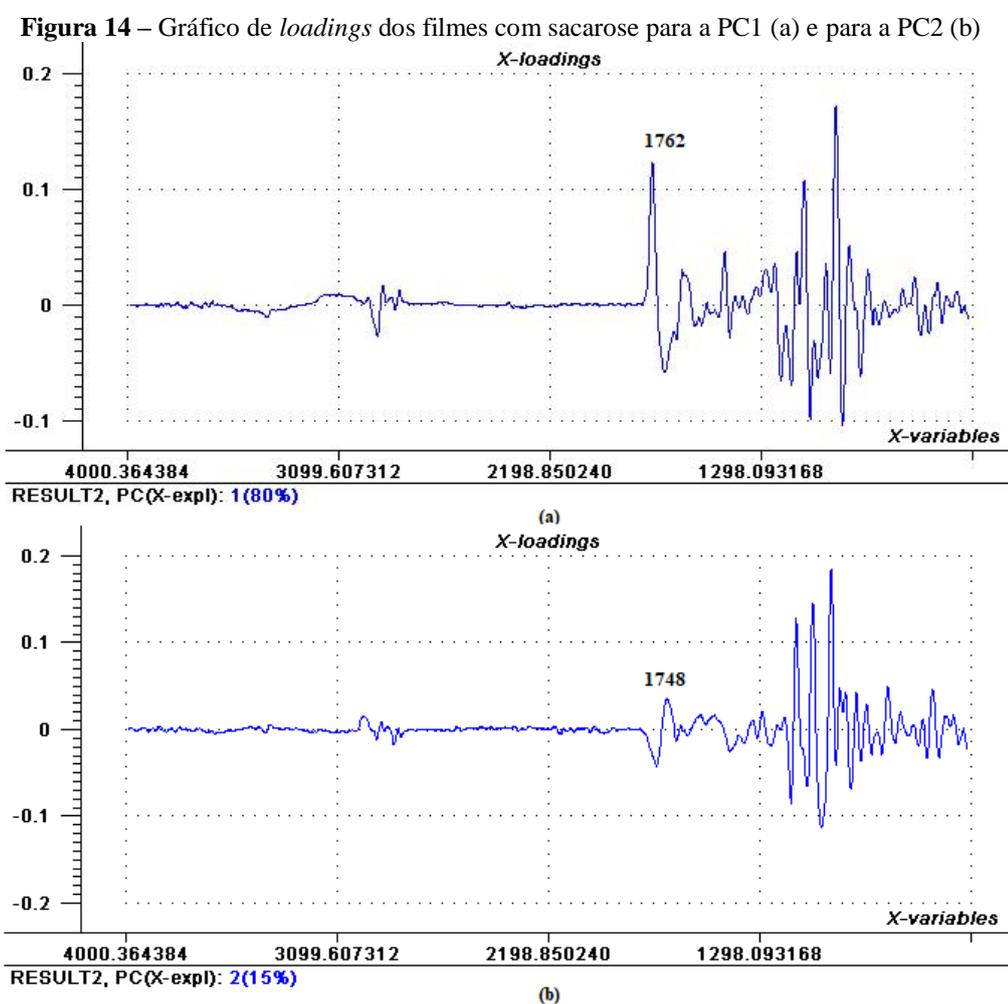
Figura 13 – Gráficos de *scores* da PC1 x PC2 para os filmes com sacarose (a) e sem sacarose (b) comparados ao filme de controle (F7)



Fonte: A autora (2020).

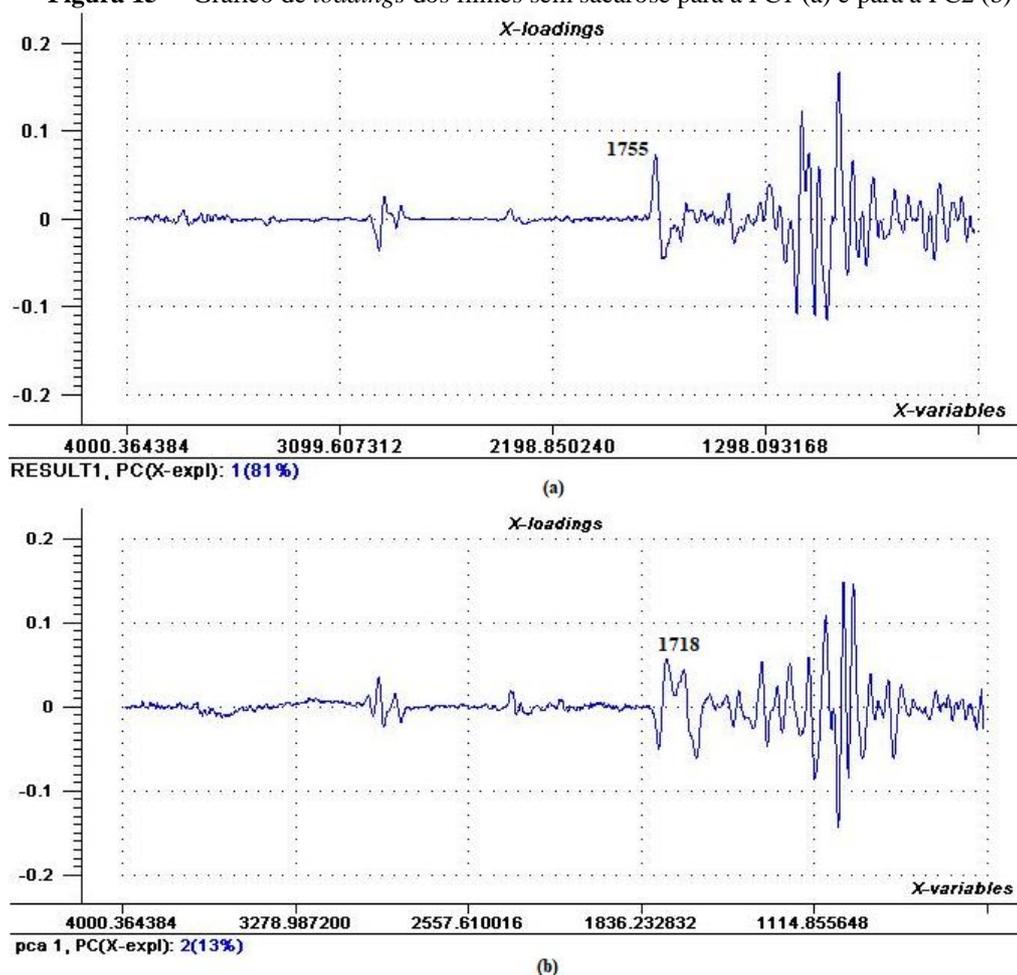
Em ambos os gráficos (13 (a) e (b)), os filmes com diferentes concentrações de óleo são encontrados em agrupamentos distintos, indicando que houve diferenciação química do filme de amido/extrato pectinoso (F7) para os filmes aditivados com OEA e, portanto, confirmando a presença do óleo na matriz polimérica dos filmes aditivados. Além disso, como era esperado, as formulações F5 e F6 não apresentaram separação significativa na PCA, por serem idênticas (ponto central do delineamento experimental).

As Figuras 14 e 15 apresentam o gráfico de *loadings* para a primeira e segunda componente principal dos filmes com e sem sacarose, respectivamente. A partir dos gráficos de *loadings* é possível identificar os sinais responsáveis pela formação dos diferentes agrupamentos observados nos gráficos de *scores*. Analisando-se as figuras, nota-se a existência de sinais na faixa de 1700 cm^{-1} a 1800 cm^{-1} , região de estiramento do grupo funcional C=O, podendo-se atribuir a presença do constituinte cânfora do OEA utilizado.



Fonte: A autora (2020).

Figura 15 – Gráfico de *loadings* dos filmes sem sacarose para a PC1 (a) e para a PC2 (b)

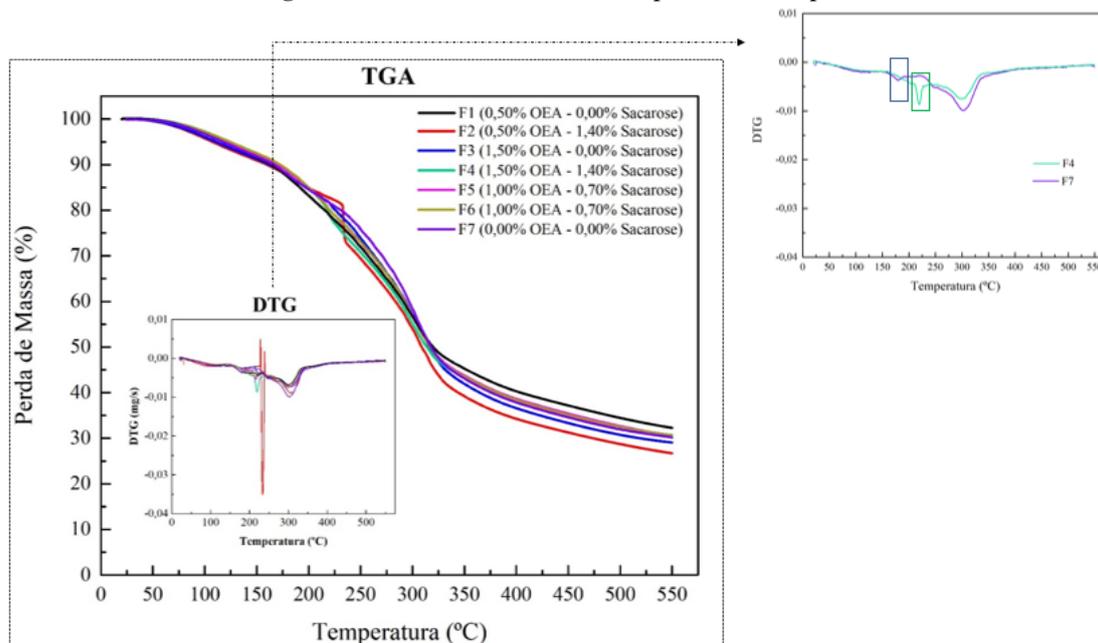


Fonte: A autora (2020).

5.3.3 Análise termogravimétrica (TGA)

As curvas de TGA e DTG, apresentadas na Figura 16, evidenciam que todos os filmes produzidos exibiram perfis de decomposição térmica similares. As curvas de TGA obtidas apresentam eventos térmicos sobrepostos, conforme ficou evidenciado pelas curvas DTG, onde foi possível verificar que a decomposição ocorreu em dois estágios. As temperaturas em que ocorreu cada estágio estão apresentadas na Tabela 6.

O primeiro estágio de decomposição ocorre entre 150 e 200 °C para o filme F7 (filme de controle) e entre 200 e 250 °C para os demais filmes, esse pequeno evento térmico é provavelmente relacionado à degradação de moléculas de baixa massa molecular. O segundo estágio, correspondente a maior perda de massa, acontece entre 250 °C e 350 °C e é predominantemente devido à degradação da matriz polimérica (amido e pectina), como relatado em outros trabalhos (DASH et al., 2019; KANG; SONG, 2019).

Figura 16 – Curvas de TGA e DTG para os filmes produzidos

Fonte: A autora (2020).

Tabela 6 – Parâmetros termogravimétricos para os filmes estudados

Formulações (%OEA - % Sacarose)	Primeiro Estágio			Segundo Estágio		
	T onset (°C)	T máx (°C)	T endset (°C)	T onset (°C)	T máx (°C)	T endset (°C)
F1 (0,50% - 0,00%)	210,03	218,46	229,51	272,10	302,01	332,90
F2 (0,50% - 1,40%)	223,68	233,71	240,28	275,20	308,25	336,87
F3 (1,50% - 0,00%)	211,52	223,92	231,87	274,25	304,86	337,36
F4 (1,50% - 1,40%)	210,96	219,38	232,87	264,05	300,31	337,49
F5 (1,00% - 0,70%)	206,21	215,38	231,57	272,13	302,71	334,79
F6 (1,00% - 0,70%)	208,97	215,86	225,90	265,93	302,31	335,36
F7 (0,00% - 0,00%)	161,91	179,25	195,68	257,22	300,82	340,49

Fonte: A autora (2020).

Conforme mostrado na Tabela 6, observa-se que a adição de OEA provocou um aumento na temperatura de início do primeiro estágio de degradação, enquanto para o filme sem OEA (F7) o primeiro estágio de degradação se iniciou em 161,91 °C, para os filmes com OEA ocorreu acima de 200°C.

5.3.4 Espessura, teor de sólidos totais e propriedades mecânicas

A espessura é um parâmetro importante para um material filmogênico e serve para avaliar a sua homogeneidade. Com relação a esta propriedade, pode-se observar na Tabela 7 que os valores variaram de 0,12 mm para a formulação F7 (filme de controle) a 0,19 mm para a formulação F4 (1,50% OEA-1,40% Sacarose). O filme de controle (F7) apresentou menor espessura, mostrando que o OEA adicionado provocou um pequeno aumento na espessura dos filmes produzidos, podendo atribuir esse aumento à formação de partículas na superfície dos filmes aditivados com OEA. Resultado semelhante foi encontrado por Bertan et al. (2005) que observaram que a adição de substâncias hidrofóbicas (ácidos graxos e elemi do Brasil) promoveu aumento na espessura de filmes à base de gelatina.

Tabela 7 – Resultados da espessura, teor de sólidos totais e propriedades mecânicas dos filmes estudados

Formulações (% OEA - % Sacarose)	Espessura (mm)	Teor de Sólidos Totais (%)	Resistência a Tração (MPa)	Alongamento (%)
F1 (0,50% - 0,00%)	0,16±0,02 ^{a,b}	85,44±1,08 ^a	4,50±0,15 ^d	70,78±1,67 ^e
F2 (0,50% - 1,40%)	0,16±0,03 ^{a,b}	87,82±1,87 ^a	9,17±0,42 ^a	68,76±1,77 ^e
F3 (1,50% - 0,00%)	0,16±0,01 ^{a,b}	87,29±1,99 ^a	7,86±0,08 ^b	57,31±0,55 ^f
F4 (1,50% - 1,40%)	0,19±0,01 ^a	82,76±1,09 ^b	4,40±0,15 ^d	77,24±2,05 ^d
F5 (1,00% - 0,70%)	0,15±0,02 ^{b,c}	81,32±1,15 ^b	5,76±0,27 ^c	89,75±0,92 ^b
F6 (1,00% - 0,70%)	0,15±0,01 ^b	80,46±0,22 ^b	5,54±0,16 ^c	82,64±3,21 ^c
F7 (0,00% - 0,00%)	0,12±0,02 ^c	82,89±1,74 ^b	9,42±0,13 ^a	104,76±1,15 ^a

Fonte: A autora (2020).

Nota: Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão. Valores seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Com relação ao teor de sólidos totais, os valores variaram de 80,46 na F6 (1,00% OEA-0,70% Sacarose) a 87,82 na F2 (0,50% OEA-1,40% Sacarose). Observou-se que houve pouca diferença significativa entre as formulações, indicando boa homogeneidade e consistência no processo de produção dos filmes.

Na Tabela 7 também estão apresentados os resultados das propriedades mecânicas (resistência à tração (RT) e alongamento). Conforme apresentado na tabela, os valores de RT variaram de 4,40 MPa para a F4 (1,50% OEA-1,40% Sacarose) a 9,42 MPa para a F7 (filme de controle). Segundo Kim, Lee e Park (1995) para ser utilizado como embalagem, é necessário que o material polimérico tenha RT maior que 3,5 MPa; sendo assim, os resultados obtidos são muito promissores, pois mostraram que todas as formulações testadas apresentaram valores mais altos do que o indicado. Além disso, a RT dos filmes preparados é comparável

com as do polietileno de baixa densidade (6,9-16 MPa), material comumente usado em embalagens comerciais (COUTINHO; MELLO; SANTA MARIA, 2003).

Os resultados de RT mostraram ainda que o filme de controle (F7) apresentou maior resistência, sugerindo que a tendência de redução da RT está relacionada com a concentração do OEA utilizada; o que concorda com estudos anteriores que demonstram que a inclusão de componentes lipídicos em filmes, resulta em uma matriz menos resistente (BATISTA et al., 2005; SPOTTI et al., 2016). A diminuição da resistência mecânica com a adição do óleo essencial é provavelmente devido à substituição parcial de interações polímero-polímero mais fortes por interações mais fracas de polímero-óleo, gerando descontinuidades na matriz polimérica (LEE et al., 2019).

Na análise do percentual de alongamento, observou-se valores variando de 57,31% na F3 (1,50% OEA-0,00% Sacarose) a 104,66% na F7 (filme de controle). De uma maneira geral, comparando as demais formulações com o filme de controle, observa-se uma redução de até 47,35% no alongamento. Um parâmetro que pode exercer influência sobre o alongamento percentual é o teor de sólidos totais, visto que a água também pode atuar como agente plastificante. Conforme mostrado na Tabela 7, as formulações F1, F2 e F3 apresentaram maior teor de sólidos e diferiram significativamente das demais (F4, F5, F6 e F7), concordando com os resultados de alongamento percentual, pois, de fato, estas formulações com menores umidades apresentaram menor alongamento percentual.

Nos filmes plastificados com sacarose, o percentual de alongamento, em relação aos filmes não plastificados, foi dependente da concentração de OEA utilizada. Para os filmes com 1,50% de OEA (F3 e F4), verificou-se que a incorporação de sacarose aumentou o alongamento em cerca de 20%. Já nos filmes com 0,50% de OEA (F1 e F2) a sacarose parece não exercer função plastificante, pois não há diferença significativa no alongamento destas amostras.

5.3.5 Solubilidade em água e propriedades de barreira

A solubilidade em água é uma propriedade muito importante para definir o uso de um material como embalagem alimentícia. Para a maioria das aplicações, a solubilidade em água é indesejada, a fim de manter a integridade do produto. Para outras aplicações, no entanto, a solubilidade em água pode ser benéfica, como no caso da aplicação em filmes comestíveis para produtos semiprontos destinados ao preparo por cocção (BATISTA; TANADA-PALMU; GROSSO, 2005).

Na Tabela 8 a solubilidade dos filmes variou de 37,60% na F2 (0,50%OEA-1,40% Sacarose) a 55,81% na F7 (filme de controle). Geralmente, a sensibilidade à água dos filmes hidrofílicos pode ser reduzida pela adição de materiais hidrofóbicos, assim, pela natureza hidrofóbica do OEA, era esperado que sua adição na matriz polimérica levasse a uma diminuição na solubilidade (SHAH et al., 2015). Contudo, isso parece não ter acontecido, pois, a solubilidade da formulação F4, com o maior percentual de óleo, foi estatisticamente semelhante à do filme de controle (F7), possivelmente porque a quantidade de OEA incorporada não foi suficiente para mudar a natureza hidrofílica do filme de polissacarídeos.

Tabela 8 – Solubilidade em água e propriedades de barreira dos filmes estudados

Formulações (% OEA - % Sacarose)	Solubilidade (%)	PVA (10^{-8} g/h•m•Pa)	PO2* (10^{-10} cm ³ /cm ³ •h•bar)
F1 (0,50% - 0,00%)	44,51±1,65 ^b	4,86±1,73 ^a	2,74±2,11
F2 (0,50% - 1,40%)	37,60±1,75 ^c	5,07±0,55 ^a	3,60±1,13
F3 (1,50% - 0,00%)	44,45±0,55 ^b	5,37±1,23 ^a	3,84±0,00
F4 (1,50% - 1,40%)	54,97±1,04 ^a	4,70±0,52 ^a	N.I.**
F5 (1,00% - 0,70%)	54,48±1,14 ^a	4,07±0,38 ^{a,b}	3,91±1,47
F6 (1,00% - 0,70%)	45,64±0,45 ^b	4,32±0,51 ^{a,b}	2,28±1,48
F7 (0,00% - 0,00%)	55,81±0,64 ^a	2,56±1,03 ^b	2,43±0,00

Fonte: A autora (2020).

Nota: Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão. Valores seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$). *O resultado da análise de variância revelou um valor de F não significativo ao nível de 5% de probabilidade. **N.I. = Não Identificado.

Analisando os resultados de solubilidade apresentados na Tabela 8, pode-se observar, também, que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras com e sem sacarose. Nota-se que, para os filmes com 0,50% de OEA (F1 e F2) houve diminuição da solubilidade com a adição de sacarose, contudo, para os filmes com 1,50% de OEA (F3 e F4) o efeito foi inverso, isto é, a solubilidade aumentou passando de 44,45% para 54,97% com a adição de sacarose. Entretanto, é importante destacar que a diferença significativa entre as amostras pode estar relacionada a falta de uniformidade dos filmes, pois houve diferença significativa entre a duplicata do ponto central (formulações F5 e F6).

A Tabela 8 apresenta também aos resultados de permeabilidade ao vapor d'água (PVA). Normalmente, espera-se que a adição de óleos essenciais em matrizes poliméricas

hidrofílicas reduza a PVA devido às propriedades hidrofóbicas do óleo, no entanto, verificou-se que o filme de controle (F7) apresentou a menor taxa, sugerindo que a adição do OEA é responsável pelo aumento nesta propriedade. Da mesma forma, no estudo de Klangmuang e Sothornvit (2016) a adição de Óleo Essencial de Plai (*Zingiber cassumunar*) aumentou significativamente ($p < 0,05$) a PVA de filmes à base de hidroxipropilmetilcelulose.

Os resultados de PVA encontrados indicam que o OEA apresenta efeito negativo nessa propriedade, pois, normalmente, menores taxas de PVA são desejáveis para assegurar a estabilidade do produto, visto que, em alguns alimentos, o ganho de umidade pode aumentar a velocidade das reações de oxidação lipídica e a taxa de crescimento microbiano, e, em outros, a perda de umidade para o ambiente pode provocar ressecamento e alterações de cor e textura (MATTA JUNIOR, 2009).

Além disso, esperava-se que a sacarose por seu caráter plastificante facilitasse a difusão das moléculas de vapor de água através do filme e, por conseguinte, aumentasse a PVA, porém, conforme mostrado na Tabela 8, a adição deste aditivo não teve efeito sobre esta propriedade, já que não houve diferença significativa entre as amostras com e sem sacarose.

Conforme mostrado na Tabela 8, os filmes produzidos também foram analisados com relação à taxa de permeabilidade ao oxigênio (PO_2). Esta é uma propriedade importante para embalagens alimentícias e o valor requerido para ela dependerá do tipo de produto que será embalado. Se o objetivo for embalar alimentos ricos em lipídios, baixa PO_2 é desejável já que nesses alimentos o oxigênio leva à formação de radicais livres o que pode causar a deterioração e modificação de suas características sensoriais e nutricionais (SOUZA, 2011; KLANGMUANG; SOTHORNVIT, 2016). Por outro lado, em outros casos, deseja-se uma embalagem com alta PO_2 , tais como no acondicionamento de carnes vermelhas frescas, pois o oxigênio é responsável pela formação de oximioglobina, pigmento que dá a cor característica do produto (SOUZA, 2011).

Era esperado que a sacarose, pelo seu caráter plastificante, provocasse uma elevação da taxa de permeabilidade ao oxigênio. Contudo, a análise de variância dos resultados de PO_2 dos filmes estudados revelou um valor de F não significativo ao nível de 5% de probabilidade, evidenciando que nenhum dos aditivos adicionados exerceram influência sobre esta propriedade.

Os valores de PO_2 dos filmes produzidos neste trabalho foram bastante diferentes dos obtidos por Arvanitoyannis, Psomiadou e Nakayama (1996) para blendas de amido com caseinato de sódio plastificadas com sacarose e água, que observaram valores variando de $2,48 \times 10^{-3}$ a $8,3 \times 10^{-8}$ ($cm^3/cm \cdot h \cdot bar$). Além disso, todos os filmes apresentaram valores de

PO₂ muito inferiores aos do polietileno de baixa densidade (aproximadamente $7,2 \times 10^{-5}$ cm³/cm²•h•bar), o polímero mais comum na indústria de embalagens para alimentos (SANCHEZ-GARCÍA, 2011). Isso indica que este material é promissor para limitar as transferências de oxigênio em embalagens.

5.3.6 Atividade antioxidante *in vitro*

As temperaturas de gelatinização e de secagem dos filmes podem causar a degradação de componentes ativos do OEA e do extrato pectinoso. Sendo assim, realizou-se a análise da atividade antioxidante *in vitro* dos filmes produzidos a fim de avaliar se os agentes ativos antioxidantes se mantiveram após o processo de produção. Além disso, os filmes também foram avaliados após 30 dias de armazenamento a 25 °C e 75% UR a fim de avaliar o efeito do tempo de armazenamento na estabilidade da atividade antioxidante.

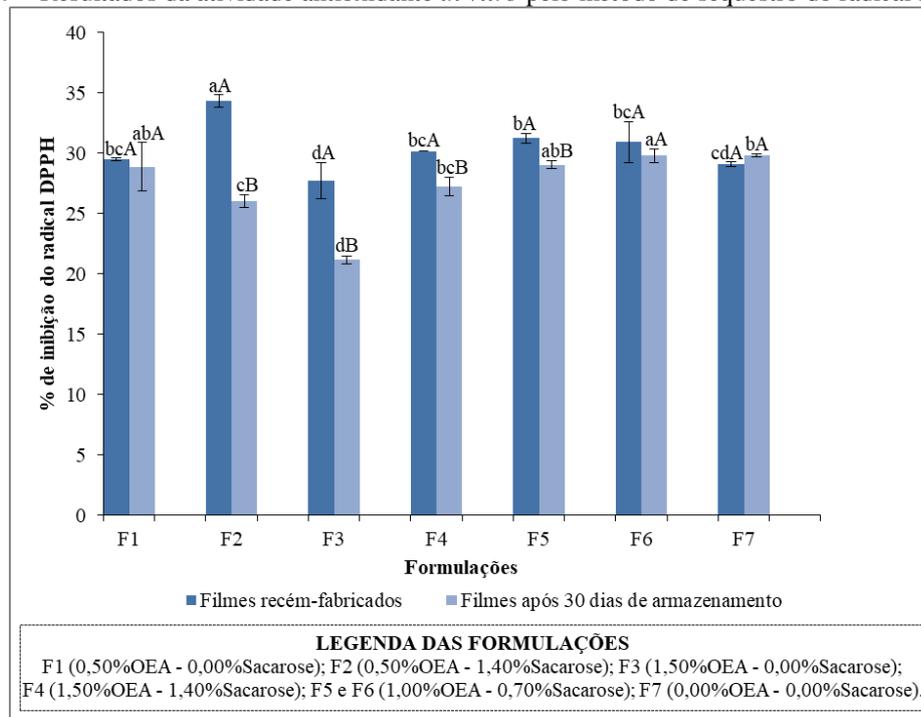
Os resultados da atividade antioxidante *in vitro* dos filmes pelos métodos DPPH e FRAP, estão apresentados nas Figuras 17 e 18, respectivamente. Conforme mostrado nas figuras, na análise dos filmes recém-fabricados, pelo método DPPH o filme F2 (0,50%OEA-1,40%Sacarose) apresentou maior ação antioxidante (34,32% de inibição de DPPH); já, pelo método FRAP, o filme com maior atividade antioxidante foi o F1 (0,50%OEA-1,40%Sacarose) que apresentou um poder de redução do ferro de 1,06 mmol Fe₂SO₄/g.

Contudo, na análise dos filmes após 30 dias de armazenamento, verificou-se que, em ambos os métodos utilizados, os filmes que apresentaram maior ação antioxidante foram também os menos estáveis. Pelo método DPPH, o filme F2 (0,50%OEA-1,40%Sacarose) teve redução de 8,33% na capacidade de inibição do DPPH e, na análise por FRAP, o filme F1 (0,50%OEA-0,00%Sacarose) teve sua capacidade antioxidante reduzida de 1,06 para 0,44 mmol Fe₂SO₄/g (decréscimo de 0,62 mmol Fe₂SO₄/g).

Deve-se salientar que a determinação da atividade antioxidante foi realizada a partir de amostra de 9 cm² dos filmes de forma que a variabilidade dos resultados pode estar relacionada com a distribuição dos agentes ativos na matriz polimérica.

Nas Figuras 17 e 18 também foi possível notar que os filmes aditivados com OEA e o filme de controle (F7), embora apresentem diferenças estatísticas ($p < 0,05$), mostraram uma atividade antioxidante semelhante pelos dois métodos testados, indicando que a ação antioxidante dos filmes se deve, principalmente, ao extrato pectinoso.

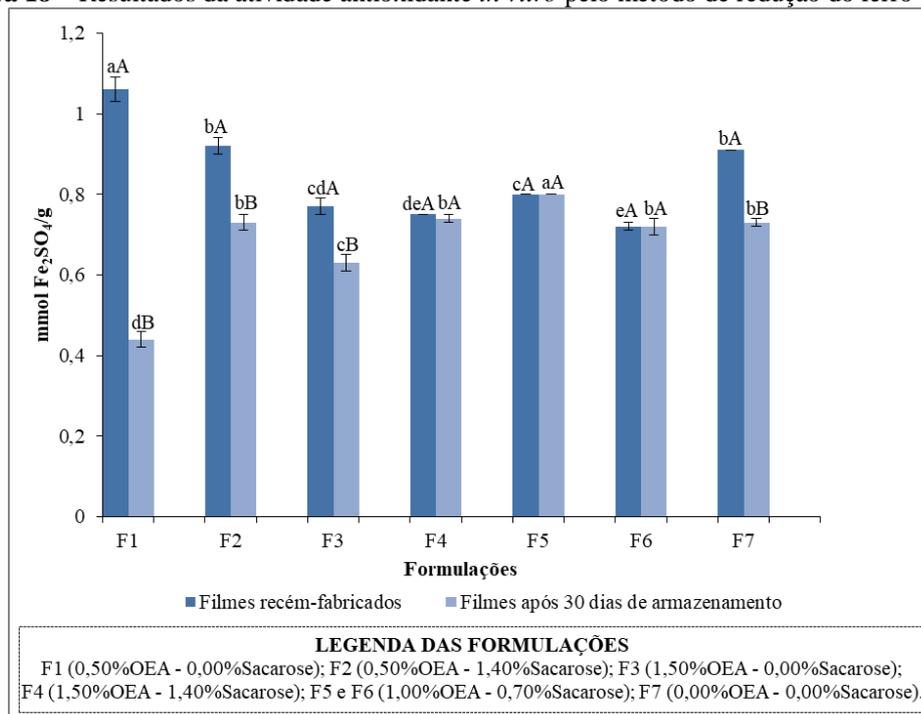
Figura 17 – Resultados da atividade antioxidante *in vitro* pelo método de sequestro do radical livre DPPH



Fonte: A autora (2020).

Nota: Os resultados foram analisados pelo o Teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$), sendo a classificação acima das colunas com letras minúsculas para análise das diferentes formulações no mesmo período e com letras maiúsculas para análise da mesma formulação em diferentes períodos.

Figura 18 – Resultados da atividade antioxidante *in vitro* pelo método de redução do ferro (FRAP)



Fonte: A autora (2020).

Nota: Os resultados foram analisados pelo o Teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$), sendo a classificação acima das colunas com letras minúsculas para análise das diferentes formulações no mesmo período e com letras maiúsculas para análise da mesma formulação em diferentes períodos.

Além disso, percebeu-se, pela análise estatística, que a adição de sacarose influi na atividade antioxidante dos filmes produzidos, visto que filmes com sacarose apresentaram maior ação antioxidante pelo teste de inibição do DPPH. Tal resultado pode estar associado à presença de compostos fenólicos residuais (originários da cana de açúcar) na sacarose comercial, visto que estes compostos apresentam expressiva capacidade de sequestro de radicais livres. Iqbal e colaboradores (2017) avaliaram o teor de compostos fenólicos totais (TFT) de amostras de diferentes açúcares e encontraram um valor de 23,81 (μg EAG/g de amostra) no açúcar refinado, confirmando a presença de compostos fenólicos na sacarose comercial.

A análise estatística mostrou, também, que pelo método de inibição do DPPH as formulações F1, F6 e F7 mantiveram-se estáveis. Já pelo método FRAP as formulações mais estáveis foram as F4, F5 e F6. Contudo, de forma geral, todos os filmes foram capazes de preservar a atividade antioxidante durante o período de acondicionamento.

5.3.7 Teste de migração

Para executar sua função como embalagem antioxidante, ao longo do tempo de contato com o alimento, o agente ativo incorporado no material deve migrar da parede da embalagem para a sua superfície. Como a atividade antioxidante da embalagem é baseada em um processo de migração, a determinação dessa migração em diferentes matrizes alimentares é necessária para indicar a potencial aplicação do material.

Nesse trabalho, o ensaio de migração foi realizado em dois meios simulantes: um aquoso (água destilada) e outro lipídico (óleo de soja). Conforme mostrado na Tabela 9, todos os filmes mostraram migração de compostos ativos para os meios simulantes estudados, contudo, a maior migração foi observada para o simulante lipídico.

Os resultados também mostraram que a formulação que apresentou maior migração para o simulante aquoso foi a F5 (1,00%OEA-0,70%Sacarose), enquanto que para o simulante lipídico foram a F3 (1,50%OEA-0,00%Sacarose) e a F7 (filme de controle). Além disso, para o simulante aquoso, as formulações F1, F2, F3 e F6 apresentaram migração máxima nos 10 primeiros dias e as demais atingiram o pico nos 20 dias de ensaio. Já, para o simulante lipídico, as formulações que atingiram migração máxima nos 10 primeiros dias foram F1, F3, F4 e F6, com as outras atingindo o pico somente nos 20 dias de ensaio.

Tabela 9 – Teor de compostos fenólicos totais no meio simulante (mg de EAG/g de filme)

SIMULANTE AQUOSO				
Formulações (% OEA - % Sacarose)	Tempo de incubação			
	0 dias	10 dias	20 dias	30 dias
F1 (0,50% - 0,00%)	0 ^C	11,35±0,00 ^{dB}	11,65±0,99 ^{cB}	15,68±0,09 ^{deA}
F2 (0,50% - 1,40%)	0 ^C	19,48±0,04 ^{cB}	20,16±2,74 ^{bcB}	25,58±1,19 ^{cA}
F3 (1,50% - 0,00%)	0 ^C	14,34±0,00 ^{cdB}	18,18±2,54 ^{bcA}	14,05±0,04 ^{eB}
F4 (1,50% - 1,40%)	0 ^C	28,02±0,00 ^{bB}	44,51±2,60 ^{aA}	29,14±2,35 ^{bB}
F5 (1,00% - 0,70%)	0 ^B	43,83±6,14 ^{aA}	45,60±8,43 ^{aA}	31,30±2,29 ^{bA}
F6 (1,00% - 0,70%)	0 ^C	25,89±0,00 ^{bA}	27,00±8,25 ^{bA}	18,72±0,52 ^{dB}
F7 (0,00% - 0,00%)	0 ^C	18,66±0,59 ^{cB}	38,16±2,75 ^{aA}	34,53±0,23 ^{aA}
SIMULANTE LIPÍDICO				
Formulações (% OEA - % Sacarose)	Tempo de incubação			
	0 dias	10 dias	20 dias	30 dias
F1 (0,50% - 0,00%)	22,98±0,29 ^C	66,72±0,66 ^{bA}	41,29±4,96 ^{cB}	47,28±5,91 ^{bB}
F2 (0,50% - 1,40%)	22,98±0,29 ^C	47,36±0,83 ^{dB}	62,77±0,54 ^{bA}	57,80±3,57 ^{a,bA}
F3 (1,50% - 0,00%)	22,98±0,29 ^B	73,29±0,05 ^{aA}	83,66±5,06 ^{aA}	76,86±9,75 ^{aA}
F4 (1,50% - 1,40%)	22,98±0,29 ^B	64,77±1,05 ^{bA}	82,70±1,97 ^{aA}	66,62±15,4 ^{abA}
F5 (1,00% - 0,70%)	22,98±0,29 ^C	60,50±3,19 ^{cB}	81,82±0,53 ^{aA}	74,42±4,77 ^{aA}
F6 (1,00% - 0,70%)	22,98±0,29 ^B	59,06±0,63 ^{cA}	45,29±3,18 ^{cA}	58,56±10,5 ^{abA}
F7 (0,00% - 0,00%)	22,98±0,29 ^D	72,99±1,91 ^{aB}	86,71±1,17 ^{aA}	58,74±6,30 ^{abC}

Fonte: A autora (2020).

Nota: Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão. Valores seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo o Teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$), sendo a classificação, do lado direito superior, com letras minúsculas para análise nas colunas e com letras maiúsculas para análise nas linhas.

6 CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, evidenciou-se que o extrato pectinoso apresenta maior potencial para desempenhar o papel de antioxidante, enquanto que o OEA tem maior possibilidade de atuar como agente antimicrobiano.

Com o uso da análise por componentes principais (PCA) dos espectros FTIR dos filmes produzidos, foi possível confirmar, pela separação dos filmes em agrupamentos, a incorporação do OEA na matriz polimérica.

De maneira geral, a adição de OEA e sacarose teve pouco ou nenhum efeito sobre a transparência, resultado corroborado pelo ensaio de colorimetria, onde se verificou ausência de correlação entre os resultados de luminosidade e a concentração destes aditivos.

Com relação ao efeito da incorporação dos aditivos (OEA e sacarose) nas propriedades físico-químicas, mecânicas e de barreiras dos filmes produzidos, verificou-se que a adição de OEA provocou redução nas propriedades de resistência à tração e alongamento percentual e aumento na permeabilidade ao vapor de água. A sacarose, por sua vez, exerceu influência na solubilidade e nas propriedades mecânicas, contudo, esta influência foi dependente da concentração de OEA utilizada. Em filmes com 1,50% de OEA (F3 e F4) a sacarose provocou aumento na solubilidade e no alongamento percentual, enquanto que em filmes com 0,50% de OEA (F1 e F2) a sacarose diminuiu a solubilidade e não modificou o alongamento.

Na análise da atividade antioxidante *in vitro* dos filmes produzidos, verificou-se que todos os filmes apresentaram atividade antioxidante pelos dois métodos testados. As formulações com maior ação antioxidante foram a F1 (pelo método FRAP) e a F2 (pelo método DPPH), contudo, ao avaliar a atividade antioxidante após 30 dias de armazenamento, observou-se que estes filmes eram também os menos estáveis.

O ensaio de migração mostrou que ocorreu migração de compostos ativos dos filmes para os dois simulantes testados (aquoso e lipídico). No entanto, maior migração foi observada para o simulante lipídico.

Desta forma, pode-se concluir que os filmes desenvolvidos nesta pesquisa são muito promissores para aplicação como embalagens ativas emissoras de antioxidantes para produtos lipídicos. Além disso, a incorporação do óleo essencial de alecrim (OEA) nestes filmes poderá resultar em embalagens com ação antimicrobiana, visto que o OEA apresentou inibição significativa contra as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

7 PERSPECTIVAS

Neste trabalho foram desenvolvidos filmes biodegradáveis à base de amido de araruta e extrato pectinoso (do albedo da casca do maracujá amarelo) aditivados com óleo essencial de alecrim. As observações que surgiram aqui foram muito importantes, pois, mostrou um material que tem potencial para ser aplicado como embalagem ativa e que além de ser uma possível alternativa aos conservantes químicos e aos polímeros sintéticos é, também, uma forma de agregar valor a um resíduo de um produto agroindustrial produzido em alta escala no Brasil e até então subutilizado e a um amido ainda pouco explorado economicamente no país.

Contudo, como toda pesquisa científica, esta não se esgotou e os resultados aqui apresentados, embora promissores, ainda precisam ser aprofundados, abrindo perspectivas para a realização de novos trabalhos. Algumas das trajetórias possíveis são:

1. Um grande complemento a este estudo é a realização do teste de atividade antimicrobiana dos filmes produzidos para avaliar se o efeito antimicrobiano do OEA permanece após sua incorporação na matriz polimérica. Isto porque, em geral, os óleos essenciais são quimicamente instáveis na presença de luz, calor e umidade o que pode causar a degradação de alguns componentes ativos durante o processo de fabricação dos filmes (LAI et al., 2006).

2. Ainda por uma perspectiva complementar seria interessante escolher a melhor formulação e aplicá-la em um alimento para estudar a interação entre o filme e o produto.

3. Uma possibilidade de estudo adicional é também a aplicação do material proposto neste trabalho em revestimentos comestíveis, pois, todos os seus componentes são considerados GRAS (reconhecidos como seguros para a alimentação) e, além disso, possuem propriedades nutricionais benéficas para a saúde.

4. Neste trabalho os filmes foram produzidos pelo método *solution casting*, contudo, a fabricação por este método tem suas limitações e, do ponto de vista industrial, seria mais interessante a produção dos filmes por um processo onde seja possível obtê-los em larga escala, como a extrusão. Diante disso, uma nova abordagem seria estudar a produção dos filmes por extrusão a fim de possibilitar a produção desse material em escala industrial.

5. Outra interessante perspectiva é estudar a biodegradabilidade em solo dos filmes produzidos para avaliar o efeito do OEA sobre a taxa de biodegradação da matriz polimérica.

REFERÊNCIAS

- ABDOLLAHI, M.; REZAEI, M.; FARZI, G. A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. **Journal of Food Engineering**, v. 111, n. 2, p. 343-350, 2012.
- ACHKAR, M. T.; NOVAES, G. M.; SILVA, M. J. D.; VILEGAS, W. Propriedade antioxidante de compostos fenólicos: importância na dieta e na conservação de alimentos. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 11, n. 2, p. 398-406, 2013.
- ALJABEILI, H. S.; BARAKAT, H.; ABDEL-RAHMAN, H. A. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of thyme essential oil (*Thymus vulgaris*). **Food and Nutrition Sciences**, v. 9, n. 05, p. 433, 2018.
- ALVES, G. S.; SAMPAIO, A. P. L.; ZAVOLSKI, C. A.; BRITO, V. H.; CEREDA, M. P.; NEVES, E. Material a base de amido de mandioca para fabricação de embalagem de alimentos. **Revista Citino**, v. 2, n. 1, p. 16-24, 2012.
- ALVES-SILVA, J. M.; DOS SANTOS, S. M. D.; PINTADO, M. E.; PÉREZ ÁLVAREZ, J. A.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; VIUDA-MARTOS, M. Chemical composition and in vitro antimicrobial, antifungal and antioxidant properties of essential oils obtained from some herbs widely used in Portugal. **Food Control**, v. 32, n. 2, p. 371-378, 2013.
- ANDRADE, M. A. **Embalagem alimentar ativa à base de proteína de Soro de Leite com propriedades antioxidantes e antimicrobianas**: desenvolvimento, segurança e eficácia. 2016. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Ambiente) – Faculdade de Ciências. Universidade de Lisboa, Lisboa, 2016.
- ANTUNES, S. A.; ROBAZZA, W. D. S.; SCHITTLER, L.; GOMES, G. D. A. Synergistic and antimicrobial properties of commercial turmeric (*Curcuma longa*) essential oil against pathogenic bacteria. **Food Science and Technology**, v. 32, n. 3, p. 525-530, 2012.
- ARENAS, A. M. Z. **Filme biodegradável à base de fécula de mandioca como potencial indicador de mudança de pH**. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Escola politécnica. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.
- ARVANITOYANNIS, I.; PSOMIADOU, E.; NAKAYAMA, A. Edible films made from sodium caseinate, starches, sugar or glycerol. Part 1. **Carbohydrate Polymers**, v. 31, n. 4, p. 179-192, 1996.
- ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM D1434-82 Standard Test Method for Determining Gas Permeability Characteristics of Plastic Film and Sheeting**, 2009.
- ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM D833 Standard Methods of identification and quantitative analysis of synthetic elastomers**, 1946.

ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM D882-12 Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting**, 2012.

ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM E308-17 Standard Practice for Computing the Colors of Objects by Using the CIE System**, 2017.

ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM E96-95 Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials**, 2014.

AVEROUS, L.; BOQUILLON, N. Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behaviours. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, n. 2, p. 111-122, 2004.

AZEREDO, H. M. C.; FARIA, J. A. F.; AZEREDO, A. M. C. Active packaging for foods. **Food Science and Technology**, v. 20, n. 3, p. 337-341, 2000.

BARROS-ALEXANDRINO, T. T.; MARTELLI-TOSI, M.; DE ASSIS, O. B. G. Efeito da adição de pectina nas propriedades mecânicas e de permeação ao vapor de água de filmes a base de purê de mamão. In: Workshop da Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, 9, 2017, São Carlos. **Anais...** São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2017.

BATISTA, J. A.; TANADA-PALMU, P. S.; GROSSO, C. R. F. Efeito da adição de ácidos graxos em filmes à base de pectina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 781–788, 2005.

BAYDAR, H.; ÖZKAN, G.; ERBAŞ, S.; ALTINDAL, D. Yield, chemical composition and antioxidant properties of extracts and essential oils of sage and rosemary depending on seasonal variations. In: I International Medicinal and Aromatic Plants Conference on Culinary Herbs, 826, 2009, Antália, **Anais...** Antália: Acta Horticulturae, 2009.

BERTAN, L. C. **Desenvolvimento e caracterização de biofilmes ativos à base de polímeros de fontes renováveis e sua aplicação no acondicionamento de pães de forma**. 2008. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

BERTAN, L. C.; TANADA-PALMU, P. S.; SIANI, A. C.; GROSSO, C. R. F. Effect of fatty acids and ‘Brazilian elemi’ on composite films based on gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.19, n.1, p.73-82, 2005.

BOZIN, B.; MIMICA-DUKIC, N.; SAMOJLIK, I.; JOVIN, E. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis L.* and *Salvia officinalis L.*, *Lamiaceae*) essential oils. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 55, n. 19, p. 7879-7885, 2007.

BRAGA, L. R.; PERES, L. Novas tendências em embalagens para alimentos: revisão. **Boletim do CEPPA**, v. 28, n. 1, p. 69-84, 2010.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRASIL, FOOD INGREDIENTS. Pectinas: propriedades e aplicações. **Revista-Fi**, n. 29, p. 46-53, 2014.

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

CANEVAROLO Jr., S. V. **Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. 2ª Edição. São Paulo: ArtiLiber, 2006.

CANTERI, M. H. G; MORENO, L.; WOSIACKI, G.; SCHEER, A. D. P. Pectina: da matéria-prima ao produto final. **Polímeros**, v. 22, n. 2, p. 149-157, 2012.

CAPELEZZO, A.P. **Avaliação da atividade antimicrobiana de filmes poliméricos biodegradáveis aditivados com compostos à base de zinco**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais. Universidade Comunitária da Região de Chapecó, Chapecó, 2017.

CARR, L. G. **Desenvolvimento de embalagem biodegradável tipo espuma a partir de fécula de mandioca**. 2007. Tese (Doutorado em Engenharia) – Escola politécnica. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

CAROCHO, M.; MORALES, P.; FERREIRA, I. C. F. R. Natural food additives: Quo vadis?. **Trends in food science & technology**, v. 45, n. 2, p. 284-295, 2015.

CARVALHO, N. P. B.; SANTOS, A. N. D. S.; PINHEIRO, E. O.; LEAL, L. R. D. A. Potencial antioxidante e antimicrobiano de óleos essenciais de especiarias: uma revisão. **Higiene Alimentar**, v. 30, n. 254/255, p. 12-21, 2016.

CASAGRANDE, C. A.; REPETTE, W. L. Monitoramento da hidrólise/condensação do tetraetoxisilano em solução com baixo teor alcoólico por análises de espectroscopia de infravermelho. **Matéria**, v. 23, n. 4, 2018.

CAZARIN, C. B. B.; SILVA, J. K. D.; COLOMEU, T. C.; ZOLLNER, R. D. L.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R. Capacidade antioxidante e composição química da casca de maracujá (*Passiflora edulis*). **Ciência Rural**, v. 44, n. 9, p. 1699-1704, 2014.

CHAICOUSKI, A.; SILVA, M.; CANTERI, M. H. G. Estudo da atividade da enzima pectinametilesterase obtida a partir do albedo de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*), fresco e liofilizado, em diferentes graus de maturação. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 10, n. 1, p. 2026-2038, 2016.

CHOULITOU DI, E.; VELLIPOULOU, A.; TSIMO GIANNIS, D.; OREOPOULOU, V. Effect of active packaging with Satureja thymbra extracts on the oxidative stability of fried potato chips. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 23, p. 100455, 2020.

COFFIN, D. R.; FISHMAN, M. L. Physical and mechanical properties of highly plasticized pectin/starch films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 54, n. 9, p. 1311-1320, 1994.

COFFIN, D. R.; FISHMAN, M. L. Viscoelastic properties of pectin/starch blends. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, n. 8, p. 1192-1197, 1993.

CONTE A.; BUONOCORE, G. G.; SINIGAGLIA, M.; DEL NOBILE, M. A. Development of immobilized lysozyme based active film. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n.3, p. 741-745, 2007.

CORDEIRO, A. M. T. M. **Desenvolvimento de bioaditivos antioxidantes para otimização da estabilidade oxidativa de óleos comestíveis**. 2013. Tese (Doutorado em Química e Bioquímica de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013.

CORRADINI, E.; LOTTI, C.; MEDEIROS, E. S. D.; CARVALHO, A. J.; CURVELO, A. A.; MATTOSO, L. H. Estudo comparativo de amidos termoplásticos derivados do milho com diferentes teores de amilose. **Polímeros**, v. 15, n. 4, p. 268-273, 2005.

CORRÊA, S. J. P. **Utilização de filmes a base de pectina contendo extrato de própolis vermelha para recobrimento de sementes de girassol**. 2011. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente). Universidade de Tiradentes, Aracaju, 2011.

COSTA, M. A. R.; SANTOS, R. R. C.; SILVA, S. L. C.; GUALBERTO, S. A. Avaliação da atividade antioxidante do extrato etanólico do caule de *Croton argyrophyllus Kunth* (*Euphorbiaceae*) pelo método do sequestro de radicais livres DPPH. In: Reunião anual da SBPC, 65, 2013, Recife, **Anais...** Recife: SBPC, 2013.

COUTINHO, F.; MELLO, I. L.; SANTA MARIA, L. C. Polietileno: principais tipos, propriedades e aplicações. **Polímeros**, v. 13, n. 1, p. 01-13, 2003.

CUNHA, A. L. **Caracterização do amido da araruta tipos seta e redonda, visando utilização na indústria de alimentos**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

D'ADDOSIO, R.; PÁEZ, G.; MARÍN, M.; MÁRMOL, Z.; FERRER, J. Obtención y caracterización de pectina a partir de la cáscara de parchita (*Passiflora edulis f. flavicarpa Degener*). **Revista de la Facultad de Agronomía**, v. 22, n. 3, p. 241-251, 2005.

DASH, K. K.; ALI, N. A.; DAS, D.; MOHANTA, D. Thorough evaluation of sweet potato starch and lemon-waste pectin based-edible films with nano-titania inclusions for food packaging applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 139, p. 449-458, 2019.

DE ANDRADE, M. F.; DE LIMA SILVA, I. D.; DA SILVA, G. A.; CAVALCANTE, P. V. D.; DA SILVA, F. T.; DE ALMEIDA, Y. M. B.; VINHAS, G. M.; DE CARVALHO, L. H. A study of poly (butylene adipate-co-terephthalate)/orange essential oil films for application in active antimicrobial packaging. **LWT**, v. 125, p. 109148, 2020.

DE DEUS, G. I. **Efeitos da temperatura de secagem nos teores de compostos cianogênicos totais e fibra alimentar de casca de maracujá**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

DEL RE, P.V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: Aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v.14, n. 2, p. 389-399, 2012.

DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, p. 945-954, 2009.

DE SOUSA, J. P. **Aplicação dos fitoconstituintes carvacrol e 1, 8-cineol como sanitizantes naturais em hortaliças folhosas minimamente processadas**. 2012. Dissertação (Mestrado em nutrição) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.

DOS SANTOS, M. V.; DA COSTA, A. M. G.; DA FROTA, P. T. T.; DE SOUZA, L. N. C.; DE BRITO, T. S.; CARDOSO, J. H. L.; MAGALHÃES, P. J. C. Efeito vasorelaxante do 1,8-cineol em aorta de rato in vitro. In: Reunião Anual da SBPC, 57, 2005, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBPC, 2005.

EBRAHIMI, E.; HAGHJOU, M.; NEMATOLLAHI, A.; GOUDARZIAN, F. Effects of rosemary essential oil on growth performance and hematological parameters of young great sturgeon (*Huso huso*). **Aquaculture**, v. 521, p. 734909, 2020.

ELZEY, B.; NORMAN, V.; STEPHENSON, J.; POLLARD, D.; FAKAYODE, S. O. Purity analysis of adulterated essential oils by FT-IR spectroscopy and partial-least-squares regression. **Spectroscopy**, v. 31, p. 26-37, 2016.

ÉVORA, L. N. P. **Actividades biológicas e citotoxicidade do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L.** 2015. Dissertação (Mestrado em Segurança Alimentar) – Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2015.

FERREIRA, M. L. A.; MENDES, H. S.; DE SOUZA, C. G.; SPRITZER, I. M. P. A. Embalagens ativas: estado da arte e da técnica a partir do monitoramento de informações tecnológicas. In: Encontro Nacional de Engenharia de Produção, XXIX, 2009, Salvador. **Anais...** Salvador: ENEGEP, 2009.

FERNANDES, R. V. D. B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A.; OLIVEIRA, C. R. D. Physical and chemical properties of encapsulated rosemary essential oil by spray drying using whey protein–inulin blends as carriers. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 49, n. 6, p. 1522-1529, 2014.

FISHMAN, M. L.; COFFIN, D. R.; ONWULATA, C. I.; KONSTANCE, R. P. Extrusion of pectin and glycerol with various combinations of orange albedo and starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, n. 4, p. 401-413, 2004.

FU, L.; ZHU, J.; ZHANG, S.; LI, X.; ZHANG, B.; PU, H.; LI, L.; WANG, Q. Hierarchical structure and thermal behavior of hydrophobic starch-based films with different amylose contents. **Carbohydrate Polymers**, v. 181, p. 528-535, 2018.

GACHKAR, L.; YADEGARI, D.; REZAEI, M. B.; TAGHIZADEH, M.; ASTANEH, S. A.; RASOOLI, I. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. **Food Chemistry**, v. 102, n. 3, p. 898-904, 2007.

GALDEANO, M. C.; WILHELM, A. E.; GROSSMANN, M. V. E.; MALI, S. Efeito do processamento e das condições ambientais nas propriedades de materiais biodegradáveis de amido de aveia. **Polímeros**, v. 24, n. 1, p. 80-87, 2014.

GENENA, A. K.; HENSE, H.; SMÂNIA JUNIOR, A.; SOUZA, S. M. D. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*): a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 2, p. 463-469, 2008.

GOULART JUNIOR, R.; REITER, J. M. W.; MONDARDO, M. **Relatório de projeto:** Situação e perspectivas da cultura do maracujazeiro no Brasil e em Santa Catarina. Florianópolis: Epagri, 2018.

GÓMEZ-ESTACA, J.; LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; CATALÁ, R.; GAVARA, R. Advances in antioxidant active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 35, n. 1, p. 42-51, 2014.

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

GIADA, M. L. R. **Avaliação da capacidade antioxidante dos compostos fenólicos do cotilédone da semente de girassol (*Helianthus annuus L.*) rajada**. 2006. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

HAN, J.H.; FLOROS, J.D. Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. **Journal of Plastic Film Sheeting**, v.13, n.4, p.287-298, 1997.

HORNUNG, P. S.; LAZZAROTTO, S. D. S.; BARBI, R.; LAZZAROTTO, M.; RIBANI, R. Propriedades calorimétricas do biofilme de amido de araruta (*Maranta arundinaceae*) com diferentes concentrações de nanocelulose de *Pinus elliottii*. In: Simpósio de Análise Térmica, 8, 2017, Ponta Grossa. **Anais...** Ponta Grossa: UEPG, 2017.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola** - Lavoura Permanente. Disponível em:< <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/15/0>>. Acesso em: 29 out. 2020.

IQBAL, M.; QAMAR, M. A.; BOKHARI, T. H.; ABBAS, M.; HUSSAIN, F.; MASOOD, N.; KESHAVARZIG, A.; QURESHI, N.; NAZIR, A. Total phenolic, chromium contents and antioxidant activity of raw and processed sugars. **Information Processing in Agriculture**, v. 4, n. 1, p. 83-89, 2017.

ISMAN, M. B.; WILSON, J. A.; BRADBURY, R. Insecticidal activities of commercial rosemary oils (*Rosmarinus officinalis*) against larvae of *Pseudaletia unipuncta*. and *Trichoplusia ni*. in relation to their chemical compositions. **Pharmaceutical Biology**, v. 46, n. 1-2, p. 82-87, 2008.

ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 15105-1 Plastics – Film and sheeting – Determination of gas-transmission rate – Part 1: Differential-pressure methods.** 2007.

JARAMILLO, C. M.; SELIGRA, P. G.; GOYANES, S.; BERNAL, C.; FAMÁ, L. Biofilms based on cassava starch containing extract of yerba mate as antioxidant and plasticizer. **Starch Journal**, v. 67, n. 1, p. 780–789, 2015.

JHA, P. Effect of plasticizer and antimicrobial agents on functional properties of bionanocomposite films based on corn starch-chitosan for food packaging applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 160, n. 1, p. 571–582, 2020.

JU, A.; SONG, K. B. Development of teff starch films containing camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh) extract as an antioxidant packaging material. **Industrial Crops and Products**, v. 141, p. 111737, 2019.

KADAM, D.; SHAH, N.; PALAMTHODI, S.; LELE, S. S. An investigation on the effect of polyphenolic extracts of *Nigella sativa* seedcake on physicochemical properties of chitosan-based films. **Carbohydrate Polymers**, v. 192, n. 1, p. 347–355, 2018.

KANATT, S. R. Irradiation as a tool for modifying tapioca starch and development of an active food packaging film with irradiated starch. **Radiation Physics and Chemistry**, v., p., 2020.

KANG, J.; SONG, K. B. Characterization of Job's tears (*Coix lachryma-jobi* L.) starch films incorporated with clove bud essential oil and their antioxidant effects on pork belly during storage. **LWT**, v. 111, p. 711-718, 2019.

KATZUNG, B.G. **Farmacologia básica e clínica.** 4ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.

KECHICHIAN, V.; DITCHFIELD, C.; VEIGA-SANTOS, P.; TADINI, C. C. Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch. **LWT - Food Science and Technology**, v. 73, n. 7, p. 1088- 1094, 2010.

KLANGMUANG, P.; SOTHORNVIT, R. Barrier properties, mechanical properties and antimicrobial activity of hydroxypropyl methylcellulose-based nanocomposite films incorporated with Thai essential oils. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 609-616, 2016.

KLIEMANN, E. **Extração e Caracterização da Pectina da Casca do Maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*).** 2006. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

KIM, Y. J.; LEE, H. M.; PARK, O. O. Processabilities and mechanical properties of surlyn-treated starch/LDPE blends. **Polymer Engineering & Science**, v. 35, n. 20, p. 1652-1657, 1995.

LADEIRAS, D. F. B. **Estudo de compostos bioativos e actividades biológicas do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.).** 2014. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências

Farmacêuticas) – Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde. Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2014.

LADO, C.; THEN, M.; VARGA, I.; SZÓKE, É.; SZENTMIHÁLYID, K. Antioxidant property of volatile oils determined by the ferric reducing ability. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 59, n. 5-6, p. 354-358, 2004.

LAI, F.; WISSING, S. A.; MÜLLER, R. H.; FADDA, A. M. Artemisia arborescens L essential oil-loaded solid lipid nanoparticles for potential agricultural application: preparation and characterization. **Aaps Pharmscitech**, v. 7, n. 1, p. E10, 2006.

LAROTONDA, F. D. S. **Desenvolvimento de biofilmes a partir da fécula de mandioca**. 2002. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

LEE, J. Y.; GARCIA, C. V.; SHIN, G. H.; KIM, J. T. Antibacterial and antioxidant properties of hydroxypropyl methylcellulose-based active composite films incorporating oregano essential oil nanoemulsions. **LWT**, v. 106, p. 164-171, 2019.

LEONEL, M.; CEREDA, M.P.; SARMENTO, S.B.S. Arrowroot (*Maranta arundinacea*) as a Possible Raw Material for Starch Industries. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 5, 151-155, 2002.

LIRA, J. F.; JACKIX, M. N. H. **Utilização da casca do maracujá-amarelo (*P. edulis f. flavicarpa*, Degener) na produção de geleia**. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 1996.

LUNA, C.B. B.; DA SILVA, D. F.; BASÍLIO, S. K. T.; ARAÚJO, E. M.; DA SILVA, A. L.; BEZERRA, A. F. C. Desenvolvimento de blendas poliméricas visando a tenacificação dos polímeros: uma revisão. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 36, n. 1, p. 67-80, 2015.

MACHADO, B. A. S. **Desenvolvimento e caracterização de filmes flexíveis de amido de mandioca com nanocelulose de coco**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia. Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2011.

MACHADO, B. A. S.; DE OLIVEIRA REIS, J. H.; DE SOUZA, C. O.; DE SANTANA, M. C. C. B.; DRUZIAN, J. I. Tendências tecnológicas de embalagens biodegradáveis através da prospecção em documentos de patentes. **Cadernos de Prospecção**, v. 5, n. 3, p. 132, 2012.

MADINENI, M. N.; FAIZA, S.; SUREKHA, R. S.; RAVI, R.; GUHA, M. Morphological, structural, and functional properties of maranta (*Maranta arundinacea* L) starch. **Food Science and Biotechnology**, v. 21, n. 3, p. 747-752, 2012.

MAIA, T. F.; DONATO, A.; FRAGA, M. E. Atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 17, n. 1, p. 105-116, 2015.

MALHOTRA, B.; KESHWANI, A.; KHARKWAL, H. Antimicrobial food packaging: potential and pitfalls. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 611, 2015.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 137-155, 2010.

MANIKANDAN, N. A.; PAKSHIRAJAN, K.; PUGAZHENTHI, G. Preparation and characterization of environmentally safe and highly biodegradable microbial polyhydroxybutyrate (PHB) based graphene nanocomposites for potential food packaging applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 154, p. 866-877, 2020.

MARINO, M.; BERSANI, C.; COMI, G. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. **International Journal of Food Microbiology**, v. 67, n. 3, p. 187-195, 2001.

MATHEW, S.; BRAHMAKUMAR, M.; ABRAHAM, T. E. Microstructural Imaging and Characterization of the Mechanical, Chemical, Thermal, and Swelling Properties of Starch–Chitosan Blend Films. **Biopolymers**, v. 82, n. 2, p. 176–187, 2006.

MATTA JUNIOR, M. D. **Caracterização de biofilmes obtidos a partir de amido de ervilha (*Pisum sativum*) associado à goma xantana e glicerol**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz”. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Doenças transmitidas por alimentos**: causas, sintomas, tratamento e prevenção. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/doencas-transmitidas-por-alimentos>>. Acesso em: 27 jun. 2020.

MOHSENBADI, N.; RAJAEI, A.; TABATABAEI, M.; MOHSENI FAR, A. Physical and antimicrobial properties of starch-carboxy methyl cellulose film containing rosemary essential oils encapsulated in chitosan nanogel. **International journal of biological macromolecules**, v. 112, p. 148-155, 2018.

MONTANARI, R. M. **Composição química e atividades biológicas dos óleos essenciais de espécies de *Anacardiaceae*, *Siparunaceae* e *Verbenaceae***. 2010. Tese (Doutorado em Agroquímica) – Programa de Pós-Graduação em Agroquímica. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2010.

MOREIRA, M. R.; PONCE, A. G.; DEL VALLE, C. E.; ROURA, S. I. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. **LWT-Food Science and Technology**, v. 38, n. 5, p. 565-570, 2005.

MOUSSII, I. M.; NAYME, K.; TIMINOUNI, M.; JAMALEDDINE, J.; FILALI, H.; HAKKOU, F. Synergistic antibacterial effects of Moroccan Artemisia herba alba, Lavandula angustifolia and Rosmarinus officinalis essential oils. **Synergy**, v. 10, p. 100057, 2020.

MÜLLER, P. S. **Desenvolvimento de embalagem ativa biodegradável de amido de pinhão e de mandioca com antioxidantes e antimicrobianos naturais para conservação de manteiga orgânica**. 2016. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

NASCIMENTO, P. F. C., NASCIMENTO, A. C., RODRIGUES, C. S., ANTONIOLLI, A. A., SANTOS, P. O., BARBOSA JUNIOR, A. M., TRINDADE, R. C. Antimicrobial activity of the essential oils: a multifactor approach of the methods. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.17, n. 1, p.108-113, 2007.

NASCIMENTO, T. A.; CALADO, V.; CARVALHO, C. W. P. Development and characterization of flexible film based on starch and passion fruit mesocarp flour with nanoparticles. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 588-595, 2012.

NCCLS - NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (UNITED STATES). **M02-A10 Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**. 2003.

NEVES, M. C. P.; COELHO, I. S.; ALMEIDA, D. L. **Araruta**: resgate de um cultivo tradicional. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. (Comunicado Técnico, 79).

NIETO, G.; ROS, G.; CASTILLO, J. Antioxidant and antimicrobial properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A Review. **Medicines**, v. 5, n. 3, p. 98, 2018.

NIST Chemistry WebBook. Disponível em: <<https://webbook.nist.gov/>>. Acesso em: 04 ago. 2020.

NOGUEIRA, G. F.; FAKHOURI, F. M.; OLIVEIRA, R. A. Extraction and characterization of arrowroot (*Maranta arundinaceae* L.) starch and its application in edible films. **Carbohydrate polymers**, v. 186, p. 64-72, 2018.

NOGUEIRA, G. F.; FAKHOURI, F. M.; VELASCO, J. I.; DE OLIVEIRA, R. A. Active edible films based on arrowroot starch with microparticles of blackberry pulp obtained by freeze-drying for food packaging. **Polymers**, v. 11, n. 9, p. 1382, 2019.

NOGUEIRA, G.F. **Incorporação de polpa de amora como antioxidante em filmes comestíveis e biodegradáveis de amido de araruta**. 2018. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Faculdade de Engenharia Agrícola. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2018.

OLIVEIRA, A. N. **Pectinas de casca de manga (*Mangífera índica* L.) cv. Ubá: Otimização da extração, caracterização físico-química e avaliação das propriedades espessantes e gelificantes**. 2013. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

OLIVEIRA, C. T. D. **Caracterização química, atividade antioxidante e antimicrobiana do óleo essencial de *Baccharis oreophila* Malme**. 2016. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2016.

OLIVEIRA, S. D. S. **Atividade antioxidante dos óleos essenciais de genótipos de *Croton grewoides* Baill, *Croton tetradenius* Baill e seus compostos majoritários**. 2018. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Biodiversidade). Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2018.

- OUSSALAH, M., CAILLET, S., SAUCIER, L., LACROIX, M. Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. **Meat science**, v. 73, n. 2, p. 236-244, 2006.
- ÖZKAN, G.; SAĞDIÇ, O.; ÖZCAN, M. Note: Inhibition of pathogenic bacteria by essential oils at different concentrations. **Food Science and Technology International**, v. 9, n. 2, p. 85-88, 2003.
- PARK, S.; ZHAO, Y. Development and characterization of edible films from cranberry pomace extracts. **Journal of food science**, v. 71, n. 2, p. E95-E101, 2006.
- PESAVENTO, G.; CALONICO, C.; BILIA, A. R.; BARNABEI, M.; CALESINI, F.; ADDONA, R.; MENCARELLI, L.; CARMAGNINI, L.; MARTINO, M. C.; NOSTRO, A. L. Antibacterial activity of Oregano, Rosmarinus and Thymus essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. **Food Control**, v. 54, p. 188-199, 2015.
- PIJNING, T. **Just add sugar... Structural Studies on Glucansucrase and Fructansucrase Enzymes from Lactobacilli**. 2014. Tese (Doutorado em Mathematics and Natural Sciences). University of Groningen, Groningen, 2014.
- PIÑEROS-HERNANDEZ, D.; MEDINA-JARAMILLO, C.; LÓPEZ-CÓRDOBA, A.; GOYANES, S. Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. **Food hydrocolloids**, v. 63, p. 488-495, 2017.
- PIRES, J. R. A.; DE SOUZA, V. G. L.; FERNANDO, A. L. Chitosan/montmorillonite bionanocomposites incorporated with rosemary and ginger essential oil as packaging for fresh poultry meat. **Food packaging and shelf life**, v. 17, p. 142-149, 2018.
- PLOYPETCHARA, T.; GOHTANI, S. Effect of sugar on starch edible film properties: plasticized effect. **Journal of food science and technology**, v. 55, n. 9, p. 3757-3766, 2018.
- PROBST, I. D. S. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação de potencial sinérgico**. 2012. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) – Instituto de Biociências. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.
- QIN, Y.; LIU, Y.; ZHANG, X.; LIU, J. Development of active and intelligent packaging by incorporating betalains from red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel into starch/polyvinyl alcohol films. **Food Hydrocolloids**, v. 100, p. 105410, 2020.
- RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.
- RAŠKOVIĆ, A.; MILANOVIĆ, I.; PAVLOVIĆ, N.; ČEBOVIĆ, T.; VUKMIROVIĆ, S.; MIKOV, M. Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 14, n. 1, p. 225, 2014.

RATNAYAKE, W. S.; JACKSON, D. S. Gelatinization and solubility of corn starch during heating in excess water: new insights. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 10, p. 3712-3716, 2006.

REBELLO, F. F. P. Novas tecnologias aplicadas às embalagens de alimentos. **Revista Agrogeoambiental**, v. 1, n. 3, 2009.

RIBEIRO, D. S. **Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) frente a bactérias isoladas de alimentos:** estudos in vitro e em matriz alimentícia. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia. Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2011.

ROCHA, A. A. **Desenvolvimento e caracterização de filmes à base de amido de araruta (*Maranta Arundinacea L.*) com adição de óleo de licuri (*Syagrus Coronata*) e tween 80.** 2019. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Bahia, 2019.

ROSSI, J. A. J.; SINGLETON, V. L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica:** determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006. (Comunicado Técnico, 125).

SANCHEZ-GARCÍA, M. D. Carrageenan polysaccharides for food packaging. In: LAGARÓN, J. M. **Multifunctional and Nanoreinforced Polymers for Food Packaging.** Cambridge: Woodhead Publishing, 2011. p. 594-609.

SANTOS, D.; DE REZENDE, J. C. T.; SANTOS, E. D. J.; SILVA, D. C. Extração ácida de pectina de casca de maracujá amarelo. In: Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia, 5, 2018, Maceió. **Anais...** Maceió: Confea, 2018.

SHAH, U.; GANI, A.; ASHWAR, B. A.; SHAH, A.; AHMAD, M.; GANI, A.; IDREES A. W.; MASOODI, F. A. A review of the recent advances in starch as active and nanocomposite packaging films. **Cogent Food & Agriculture**, v. 1, n. 1, p. 1-9, 2015.

SHI, X.; WU, H.; SHI, J.; XUE, S. J.; WANG, D.; WANG, W.; CHENG, A.; GONG, Z.; CHEN, X.; WANG, C. Effect of modifier on the composition and antioxidant activity of carotenoid extracts from pumpkin (*Cucurbita maxima*) by supercritical CO₂. **LWT-Food Science and Technology**, v. 51, n. 2, p. 433-440, 2013.

SILVA, A. J.; OLIVEIRA, L. P.; REZENDE, J. C. P.; SARAIVA, I. S. Avaliação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais obtidos de diferentes fabricantes. **Sinapse Múltipla**, v. 8, n. 1, p. 33-40, 2019.

SILVA-LEYTON, R.; QUIJADA, R.; BASTÍAS, R.; ZAMORA, N.; OLATE-MOYA, F.; PALZA, H. Polyethylene/graphene oxide composites toward multifunctional active packaging films. **Composites Science and Technology**, v. 184, p. 107888, 2019.

SIROCCHI, V.; CAPRIOLI, G.; CECCHINI, C.; COMAN, M.M.; CRESCI, A.; MAGGI F.; PAPA F.; RICCIUTELLI M.; VITTORI S.; SAGRATINI, G. Biogenic amines as freshness index of meat wrapped in a new active packaging system formulated with essential oils of *Rosmarinus officinalis*. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 64, n. 8, p. 921-928, 2013.

SOARES, N. D. F. F.; DA SILVA, W. A., DOS SANTOS PIRES, A. C.; CAMILLOTO, G. P.; SILVA, P. S. Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. **Ceres**, v. 56, n. 4, 2015.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. Plasticizers in edible films and coatings. In: HAN, J. H. **Innovations in Food Packaging**. Califórnia: Academic Press, 2005. p. 403-433.

SOUZA, A. C. **Desenvolvimento de embalagem biodegradável ativa a base de fécula de mandioca e agentes antimicrobianos naturais**. 2011. Tese (Doutorado em Engenharia) – Escola Politécnica. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

SPOTTI, M. L.; CECCHINI, J. P.; SPOTTI, M. J.; CARRARA, C. R. Brea Gum (from *Cercidium praecox*) as a structural support for emulsion-based edible films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 68, p. 127–134, 2016.

TARIQ, S. WANI, S.; RASOOL, W.; SHAFI, K.; BHAT, M. A.; PRABHAKAR, A.; SHALLA, A. H.; RATHER, M. A. A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. **Microbial pathogenesis**, v. 134, p. 103580, 2019.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J. QI, X. Starch - composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v.39, n. 2, p. 151-165. 2004.

TIUZZI, M.; FURLAN. M. R. Atividade antioxidante do alecrim. **Revista Eletrônica Thesis**, São Paulo, ano XIII, n. 26, p.99-114, 2016.

TIVERON, A. P. **Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

TOMEI, R. R.; SALVADOR, M. J. Metodologias analíticas atuais para avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais. In: Encontro Latino Americano De Iniciação Científica, 11, 2007, Campinas. **Anais...** Campinas: Universidade Vale do Paraíba, 2007.

TRIGO, J. M. **Qualidade de mamão ‘Formosa’ minimamente processado utilizando revestimentos comestíveis**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

TROMBINI, F. R. M. **Caracterização de produtos extrusados de misturas de farinha de soja, fécula e farelo de mandioca.** 2010. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrômicas de Botucatu. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

TURAL, S.; TURHAN, S. Antimicrobial and antioxidant properties of thyme (*Thymus vulgaris L.*), rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) and laurel (*Lauris nobilis L.*) essential oils and their mixtures. **The Journal of Food**, v. 42, n. 5, p. 588-596, 2017.

UGALDE, M. L. **Biofilmes ativos com incorporação de óleos essenciais.** 2014. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Regional Integrada, Erechim, 2014.

VALDÉS, A.; MELLINAS, A. C.; RAMOS, M.; GARRIGÓS, M. C.; JIMÉNEZ, A. Natural additives and agricultural wastes in biopolymer formulations for food packaging. **Frontiers in chemistry**, v. 2, p. 6, 2014.

VEIGA-SANTOS, P.; OLIVEIRA, L. M.; CEREDA, M. P.; SCAMPARINI, A. R. P. Sucrose and inverted sugar as plasticizer. Effect on cassava starch–gelatin film mechanical properties, hydrophilicity and water activity. **Food Chemistry**, v. 103, n. 2, p. 255-262, 2007.

VEIGA-SANTOS, P.; SUZUKI, C. K.; CEREDA, M. P.; SCAMPARINI, A. R. P. Microstructure and color of starch–gum films: Effect of gum deacetylation and additives. Part 2. **Food Hydrocolloids**, v. 19, n. 6, p. 1064-1073, 2005.

VIÉGAS, L. P. **Preparação e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de amido com quitosana para aplicação em embalagens de alimentos.** 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Materiais) – Centro de Ciência e Tecnologia. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, 2016.

VIEIRA, D. P. L. **Farinhas de casca de pequi: caracterização físico-química, perfil de fenólicos, antioxidantes e avaliação do potencial como fonte de pectina via extração por micro-ondas.** 2017. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

VIEIRA, M. G. A.; DA SILVA, M. A.; DOS SANTOS, L. O.; BEPPU, M. M. Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. **European Polymer Journal**, v. 47, n. 3, p. 254-263, 2011.

WANG, W.; Wu, N.; Zu, Y. G.; Fu, Y. J. Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis L.* essential oil compared to its main components. **Food chemistry**, v. 108, n. 3, p. 1019-1022, 2008.

WOJTUNIK, K. A., CIESLA, L. M., WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M. Model Studies on the Antioxidant Activity of Common Terpenoid Constituents of Essential Oils by Means of the 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 37, p. 9088–9094, 2014.

YAPO, B. M. Lemon juice improves the extractability and quality characteristics of pectin from yellow passion fruit by-product as compared with commercial citric acid extractant. **Bioresource technology**, v. 100, n. 12, p. 3147-3151, 2009.

YEDDES, W.; NOWACKA, M.; RYBAK, K.; YOUNES, I.; HAMMAMI, M.; SAIDANI-TOUNSI, M.; WITROWA-RAJCHERT, D. Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activity of Rosemary Essential Oils as Gelatin Edible Film Component. **Food Science and Technology Research**, v. 25, n. 2, p. 321-329, 2019.

YEDDES, W.; DJEBALI, K.; WANNES, W. A.; HORCHANI-NAIFER, K.; HAMMAMI, M.; YOUNES, I.; TOUNSI, M. S. Gelatin-chitosan-pectin films incorporated with rosemary essential oil: Optimized formulation using mixture design and response surface methodology. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 154, p. 92-103, 2020.

YONEDA, J. D.; LEAL, K. Z.; SEIDL, P. R.; AZEREDO, R. B. D. V.; KLEINPETER, E. Cânfora: um bom modelo para ilustrar técnicas de RMN. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 2053-2056, 2007.

ZÁRATE, N. A. H.; VIEIRA, M. C. Produção da araruta ‘comum’ proveniente de três tipos de propágulos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 5, p. 995-1000, 2005.

ZAOUALI, Y.; BOUZAINÉ, T.; BOUSSAID, M. Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 11, p. 3144-3152, 2010.

ZEGARAC, J. P. **Antioxidants: Mechanisms of Action and Effectiveness**. Disponível em: <<https://brunswicklabs.com/blog/antioxidants-mechanisms-of-action-and-effectiveness/>>. Acesso em: 01 abr. 2020.

ZERAIK, M. L.; YARIWAKE, J. H.; WAUTERS, J. N.; TITS, M.; ANGENOT, L. Analysis of passion fruit rinds (*Passiflora edulis*): isoorientin quantification by HPTLC and evaluation of antioxidant (*radical scavenging*) capacity. **Química Nova**, v. 35, n. 3, p. 541-545, 2012.

ZGARIAN, R. G.; IACOB, F.; KAYA, D. A.; RĂU ILEANA, V. G.; TIHAN, G. T. Effect of different essential oils on human dentine structure. **Farmacia**, v. 65, n. 2, p. 247-251, 2017.

ŽIVKOVIĆ, J.; ČEBOVIĆ, T.; MAKSIMOVIĆ, Z. *In vivo* and *in vitro* antioxidant effects of three Veronica species. **Open Life Sciences**, v. 7, n. 3, p. 559-568, 2012.