

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS**  
**Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química**

P

P

E

Q



**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES ATIVOS DE POLI  
(BUTILENO ADIPATO CO-TEREFTALATO) (PBAT) E  
INVESTIGAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO EM SOLO**

***Luiz Emílio Pessôa Timeni de Moraes Filho***

***Orientadoras:***

***Profa. Dra. Glória Maria Vinhas***

***Profa. Dra. Maria de Los Angeles Perez Fernandez Palha***

**LUIZ EMÍLIO PESSÔA TIMENI DE MORAES FILHO**

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES ATIVOS DE POLI (BUTILENO ADIPATO  
CO-TEREFTALATO) (PBAT) E INVESTIGAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO EM  
SOLO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Área de concentração: Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos

Orientadora: Profa. Dra. Glória Maria Vinhas

Coorientadora: Profa. Dra. Maria de Los Angeles Perez Fernandez Palha

Recife

2020

Catálogo na fonte  
Bibliotecário Gabriel Luz, CRB-4 / 2222

- M827d      Moraes Filho, Luiz Emílio Pessoa Timeni de.  
Desenvolvimento de filmes ativos de poli (butileno adipato co-tereftalato) (PBAT) e investigação da biodegradação em solo / Luiz Emílio Pessoa Timeni de Moraes Filho – Recife, 2020.  
83 f.: figs. tabs., abrev. e siglas.
- Orientadora: Profa. Dra. Glória Maria Vinhas.  
Coorientadora: Profa. Dra. Maria de Los Angeles Perez Fernandez Palha.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG.  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, 2020.  
Inclui referências e apêndices.
1. Engenharia Química. 2. Embalagem ativa. 3. Embalagem antimicrobiana. 4. Biodegradação. 5. PBAT. I. Vinhas, Glória Maria (Orientadora). II. Palha, Maria de Los Angeles Perez Fernandez. III. Título.
- UFPE
- 660.2 CDD (22. ed.)      BCTG / 2020-146

**LUIZ EMÍLIO PESSÔA TIMENI DE MORAES FILHO**

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES ATIVOS DE POLI (BUTILENO ADIPATO  
CO-TEREFTALATO) (PBAT) E INVESTIGAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO EM  
SOLO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia  
Química da Universidade Federal de  
Pernambuco, como requisito parcial à obtenção  
do título de Mestre em Engenharia Química.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Glória Maria Vinhas (Orientadora)

Universidade Federal de Pernambuco

---

Profa. Dra. Maria de Los Angeles Perez Fernandez Palha (Coorientadora)

Universidade Federal de Pernambuco

---

Profa. Dra. Carolina Lipparelli Morelli (Examinadora Externa)

Universidade Federal de Pernambuco

---

Profa. Dra. Fernanda Araújo Honorato (Examinadora Interna)

Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Dr. Fernando Hallwass (Examinador Externo)

Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho a minha Mãe, Ceres Veiga Moraes, que me apoia em todas as minhas decisões, e ao meu sobrinho Giovanni Veiga Moraes, que faz meus dias mais felizes.

## **AGRADECIMENTOS**

A minha família, pelo apoio, amor, incentivo e por propiciar condições para que este trabalho fosse realizado.

As minhas orientadoras, Professora Doutora Glória Maria Vinhas, que durante esse curso me acolheu, ensinou e caminhou comigo. Professora Doutora Maria de Los Angeles Perez Fernandez Palha, que me acompanha desde a graduação e gentilmente me acolheu novamente como aluno nesse curso. Vocês deixam comigo uma parcela dos seus conhecimentos, e serei eternamente grato pelas suas contribuições.

Ao laboratório de Petroquímica do Instituto de Pesquisa Laboratório Integrado de Tecnologia em Petróleo e Energia, LITPEG - UFPE; ao laboratório de Microbiologia Industrial do Departamento de Engenharia Química da UFPE; ao laboratório de Bioprocessos do Departamento de Engenharia Química da UFPE, obrigado pela infraestrutura, disposição, acolhimento e cordialidade. Ao CNPq pelo apoio financeiro.

Aos técnicos de laboratório, em especial à Maria da Conceição Gomes da Silva Andrade, pelo comprometimento, conselhos e disponibilidade.

Aos professores Luiz Stragevitch, Mohand Benachour, pelos conhecimentos partilhados em sala de aula e especialmente às professoras Yêda Medeiros Bastos de Almeida e Maria Fernanda Pimentel pelos conhecimentos partilhados não só em sala de aula, como também sempre que solicitadas.

Aos meus colegas de curso e de laboratório, em especial a Pedro Souto Orem, Ziani Santana, Breno Dantas, Chesque Cavassano, Ivo Diego, Michelle Andrade, Izabelle Duarte, José Augusto Almeida, Paulo Victor Cavalcante e Lhaira Barreto, sem os quais, o curso não seria o mesmo.

Aos meus alunos de iniciação científica, Levi Mota e Leonardo Ferreira, que me auxiliaram e acompanharam durante a pesquisa.

## RESUMO

O plástico tem sido cada vez mais utilizado para fabricação de embalagens, por ter propriedades adequadas para acondicionar e promover barreiras físicas que separam o produto do meio externo. Inovações na área de embalagens permitem aditivá-las com substâncias ativas, fazendo com que essas substâncias interajam com o alimento, aumentando o tempo de prateleira do produto. Tais embalagens são chamadas de embalagens ativas. Dentre essas embalagens, a embalagem ativa antimicrobiana, que recentemente vem sendo desenvolvida com agentes antimicrobianos, como os óleos essenciais, para atuar inibindo ou retardando o crescimento microbiano em alimentos. Porém, a depender do tipo de polímero com o qual a embalagem é confeccionada, elas podem contribuir para o acúmulo de plástico no meio ambiente, um problema grave que vem afetando todo o ecossistema. Assim, tem sido procurado plásticos que sejam biodegradáveis e não se acumulem na natureza. Neste trabalho, foram produzidos filmes ativos à base de poli (butileno adipato-co-tereftalato) (PBAT) - um poliéster biodegradável e compostável, com boas propriedades para a produção de filmes para embalagens - que usam óleos essenciais de cravo ou canela como agente antimicrobiano e a melhor dentre elas foi escolhida. Além disso, estudou-se o processo de biodegradação do filme escolhido e foi feita uma comparação com filme do polímero puro. Para a escolha, foram produzidos filmes de PBAT nas concentrações de 2, 4 e 8 % em massa dos óleos essenciais de cravo e canela. Esses filmes foram analisados por espectroscopia por infravermelho com transformada de Fourier, ensaio mecânico de tração, análise termogravimétrica, calorimetria exploratória diferencial e método do disco-difusão. Após a caracterização, os filmes foram pesados e dispostos em solo e avaliados a cada 2 semanas por 24 semanas. Então, esses filmes foram novamente analisados pelas técnicas de espectroscopia por infravermelho com transformada de Fourier, análise termogravimétrica, calorimetria exploratória diferencial, análise visual, relaxometria de ressonância magnética nuclear e foram pesados novamente. As propriedades mecânicas dos filmes foram alteradas com a aditivação, mas as propriedades térmicas se mantiveram com o aumento da fração de óleo essencial. Todos os filmes com canela apresentaram atividade antimicrobiana, porém apenas o filme com concentração 8% cravo apresentou tal atividade. Durante os testes de biodegradação, houve redução significativa de massa e visível deterioração do material em estudo. Caracterizou-se a biodegradação pelo alargamento da faixa de fusão e degradação do

filme, pelos índices de carbonila e hidroxila, bem como com medidas de RMN em campo baixo, onde foi observada a diminuição do tempo de relaxação transversal ( $T_2$ ). Da primeira parte do trabalho, concluiu-se que o melhor filme obtido foi o filme de PBAT aditivado com 2% de óleo essencial de canela. Da segunda parte, concluiu-se que a presença do óleo não retardou ou alterou o processo de biodegradação.

Palavras-chave: Embalagem ativa. Embalagem antimicrobiana. Biodegradação. PBAT.



## ABSTRACT

Plastic has been increasingly used for packaging manufacturing because of its adequate properties for conditioning and promoting physical barriers that separate the product from the external environment. Innovations in the packaging area allow the addition of active substances which interact with the food, raising products' shelf life. Such packaging is called active packaging. Among these packaging, antimicrobial active packaging, which recently has been being developed with antimicrobial agents, such as essential oils, act to inhibit or delay microbial growth in food. However, depending on the type of the polymer that make up the packaging, they can contribute to the accumulation of plastic in the environment, a serious problem that has been affecting the entire ecosystem. Therefore, plastics that are biodegradable and do not accumulate in nature have been researched. In this work, active films made of poly (butylene adipate-co-terephthalate) – a biodegradable and compostable polyester with good properties for packaging film production – that use clove and cinnamon essential oils as antimicrobial agents were produced, and the best formulation among them was chosen. Furthermore, the biodegradation process of the chosen packaging was studied, and a comparison between that one and a neat PBAT packaging was performed. In order to choose the packaging, PBAT films were produced with concentrations of 2, 4 and 8 % weight of cinnamon and clove essential oils. These films were analyzed by Fourier transform infrared spectroscopy, tensile testing, thermogravimetric analysis, differential scanning calorimetry and disk-diffusion method. After characterization, films were weighed and buried in soil, and analyzed every 2 weeks for 24 weeks. Then, these films were once again analyzed by Fourier transform infrared spectroscopy, thermogravimetric analysis, differential scanning calorimetry, visual analysis, nuclear magnetic resonance relaxometry and weighed. Mechanical properties were altered with essential oil addition, but thermal properties did not change as the amount of essential oil increased. All films with cinnamon oil presented antimicrobial activity, but only the 8% wt. clove films did. During the biodegradation tests, there was significant weight reduction and visual deterioration of the studied material. The biodegradation was characterized by broadening of melting and degradation temperature ranges, carbonyl and hydroxyl indices, as well as low field NMR measurements, where a decrease in the transversal relaxation time ( $T_2$ ) was observed. From the first part of the work, it was concluded that the best film obtained was the PBAT with 2%

cinnamon essential oil added. From the second part, it was concluded that the presence of the oil did not delay nor altered the biodegradation process.

**Keywords:** Active packaging. Antimicrobial packaging. Biodegradation. PBAT.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mecanismos de migração do antibiótico para o produto. ....	24
Figura 2 - Rotas de polimerização para formação de PLA de alto peso molecular a partir de l-ácido láctico e d-ácido láctico. ....	31
Figura 3 - Estruturas do PBAT e suas unidades formadoras: BT – butileno tereftalato; BA – butileno adipato; B – 1,4 butanodiol; T – ácido tereftálico; A – ácido adípico. ....	32
Figura 4 - Mecanismo de despolimerização por ataque enzimático. ....	35
Figura 5 - Pontos de leitura do espectro do infravermelho com acessório ATR no filme. ..	40
Figura 6 - Localização dos filmes no solo. ....	42
Figura 7 - Espectros FTIR para filmes de 2, 4, 8% óleo essencial de cravo/PBAT e óleo essencial de canela/PBAT, e PBAT puro. ....	49
Figura 8 - Scores da PCA para os filmes de PBAT puro e com 2, 4 e 8% de cravo (a), e os loadings correspondentes (b). ....	50
Figura 9 - Scores da PCA para os filmes de PBAT puro e com 2, 4 e 8% de canela (a), e os loadings correspondentes (b). ....	51
Figura 10 - Curvas termogravimétricas: (a) TGA e (b) dTGA dos filmes 2, 4, e 8% óleo essencial de cravo/PBAT e filmes de PBAT puro. ....	52
Figura 11 - Curvas termogravimétricas: (a) TGA e (b) dTGA dos filmes 2, 4, e 8% óleo essencial de canela/ PBAT e filmes de PBAT puro. ....	53
Figura 12 - Curva DSC para filmes 2, 4, e 8% óleo essencial de cravo/ PBAT e PBAT puro. ....	55
Figura 13 - Curva DSC para filmes 2, 4, e 8% óleo essencial de canela/ PBAT e PBAT puro. ....	56
Figura 14 - Perda de massa e desvio padrão ao longo de 24 semanas para filmes de PBAT puro e filmes de PBAT com 2% de óleo essencial de canela. ....	58
Figura 15 - Aspecto macroscópico dos filmes de (a) 2% óleo essencial de canela/ PBAT e (b) PBAT puro após período de biodegradação. Da esquerda para a direita, os tempos de biodegradação são de: 4, 8, 12, 16, 20 e 24 semanas. ....	61
Figura 16 - Fissuras observadas através do microscópio. (a) 1,27 mm após 6 semanas de biodegradação - PBAT puro; (b) 3,18 mm após 8 semanas de biodegradação	

- PBAT puro; (c) 0,425 mm após 4 semanas de biodegradação – PBAT /canela; (d) 0,754 mm após 8 semanas de biodegradação – PBAT /canela. .... 62

Figura 17 - Espectros no infravermelho antes e após 24 semanas de biodegradação para filmes (a) PBAT puro; (b) 2% óleo essencial de canela. .... 63

Figura 18 - Tempos de relaxação e erros correspondentes para os filmes após remoção do solo em diferentes tempos. (a) região amorfa; (b) região cristalina. .... 69

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ação antimicrobiana de embalagens ativas de diferentes polímeros. ....	25
Tabela 2 - Técnicas de caracterização de polímeros, objetivos e características. ....	28
Tabela 3 - Microrganismos e enzimas associadas à degradação de alguns tipos de poliéster.....	36
Tabela 4 - Composição dos filmes. ....	38
Tabela 5 - Tensão na força máxima, modulo de elasticidade e alongação na ruptura para filmes de PBAT puro e aditivado com óleo essencial de cravo e canela. ....	46
Tabela 6 - Medida dos raios dos halos de inibição contra os microrganismos E. coli e S. aureus para todos os filmes desenvolvidos. ....	48
Tabela 7 - Resíduo, temperaturas no começo, no pico e no fim da degradação térmica e energia de ativação para a análise termogravimétrica. ....	53
Tabela 8 - Temperatura de fusão ( $T_f$ ) e cristalização ( $T_c$ ), grau de cristalinidade ( $X_c$ ) e entalpia de fusão ( $\Delta H_f$ ) e cristalização ( $\Delta H_c$ ) para todos os filmes obtidos através de DSC. ....	57
Tabela 9 - População microbiana do solo que vizinho os filmes retirados em cada tempo do processo de biodegradação. ....	60
Tabela 10 - Índice de carbonila e de hidroxila para os filmes PBAT puro e 2% óleo essencial de canela/PBAT após a biodegradação. ....	64
Tabela 11 - Resíduo, temperaturas no começo, no pico e no fim da degradação térmica e energia de ativação para a análise termogravimétrica dos filmes de PBAT puro em diferentes tempos de biodegradação.....	65
Tabela 12 - Resíduo, temperaturas no começo, no pico e no fim da degradação térmica para a análise termogravimétrica dos filmes de 2% óleo essencial de canela/PBAT em diferentes tempos de biodegradação. ....	66
Tabela 13 - Temperatura de fusão ( $T_f$ ) e cristalização ( $T_c$ ), grau de cristalinidade ( $X_c$ ) e entalpia de fusão ( $\Delta H_f$ ) e cristalização ( $\Delta H_c$ ) para filmes de PBAT puro ao longo do período de biodegradação obtidos através de DSC. ....	67
Tabela 14 - Temperatura de fusão ( $T_f$ ) e cristalização ( $T_c$ ), grau de cristalinidade ( $X_c$ ) e entalpia de fusão ( $\Delta H_f$ ) e cristalização ( $\Delta H_c$ ) para filmes de PBAT aditivados	

com 2% óleo essencial de canela ao longo do período de biodegradação obtidos através de DSC.....	68
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Adipato - unidade precursora do monômero butileno adipato
ANOVA	Análise de Variância
ATR	Refletância Total Atenuada
B	Butileno - unidade precursora do butileno tereftalato e butileno adipato
BA	Unidade formadora do PBAT - butileno adipato
BT	Unidade formadora do PBAT - butileno tereftalato
CMC	Carboximetil celulose
DRX	Difração de raio-X
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
dTGA	Derivada da curva da análise termogravimétrica
FDA	<i>Food and Drug Administration</i> , agência reguladora de alimentos e fármacos
FTIR	Espectroscopia por infravermelho com transformada de Fourier
IC	Índice de Carbonila
IH	Índice de Hidroxila
PBAT	Poli (butileno adipato co-tereftalato)
PC	Componente principal
PCA	Análise de componentes principais
PCL	Policaprolactona
PEBD	Polietileno de baixa densidade
PEBDL	Polietileno de baixa densidade linear
PET	Polietileno tereftalato
PHA	Polihidroxialcanoato
PHB	Poli(3-hidroxibutirato) ou polihidroxibutirato
PLA	Poliácido láctico
PLGA	Poli (ácido láctico-co-ácido glicólico)
PP	Polipropileno
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
T	Tereftalato - unidade precursora do monômero butileno tereftalato
TGA	Análise termogravimétrica
UFC	Unidade formadora de colônia

## LISTA DE SÍMBOLOS

$Abs_{C-H}$	Absorbância do pico 1453 $cm^{-1}$
$Abs_{C=O}$	Absorbância do pico 1715 $cm^{-1}$
$Abs_{O-H}$	Absorbância do pico 3310 $cm^{-1}$
$M_0$	Massa inicial do filme (mg)
$M_t$	Massa do filme após período t de biodegradação (mg)
R	Redução percentual mássica (%)
$T_1$	Tempo de relaxação longitudinal
$T_2$	Tempo de relaxação transversal
$T_C$	Temperatura de cristalização ( $^{\circ}C$ )
$T_f$	Temperatura de fusão ( $^{\circ}C$ )
$T_{Máx. Degradação}$	Temperatura de máxima degradação ( $^{\circ}C$ )
$T_{OFFSET}$	Temperatura de fim da degradação térmica ( $^{\circ}C$ )
$T_{ONSET}$	Temperatura de início da degradação térmica ( $^{\circ}C$ )
$X_C$	Cristalinidade relativa (%)
$\Delta H_f$	Entalpia de fusão (J/g)
$\Delta H_f^{\circ}$	Entalpia padrão de fusão (J/g)
$\Delta H_C$	Entalpia de cristalização (J/g)



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>18</b>
1.1	OBJETIVO GERAL.....	19
1.1.1	Objetivos Específicos.....	19
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>20</b>
2.1	EMBALAGENS ATIVAS.....	20
2.1.1	Tipos de Embalagem Ativa.....	21
2.1.1.1	<i>Embalagens Antimicrobianas.....</i>	<i>23</i>
2.2	POLÍMEROS .....	26
2.2.1	Morfologia, Estrutura Cristalina e Orientação.....	26
2.2.2	Poliésteres.....	28
2.2.3	Poliésteres Sustentáveis e Notáveis.....	29
2.3	BIODEGRADAÇÃO DE POLÍMEROS.....	33
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>38</b>
3.1	PREPARAÇÃO DOS FILMES ANTIMICROBIANOS.....	38
3.2	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES ANTIMICROBIANOS .....	39
3.2.1	Propriedade Mecânicas.....	39
3.2.2	Atividade Antimicrobiana .....	39
3.2.3	Espectroscopia por Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) .....	40
3.2.4	Análise Termogravimétrica (TGA) .....	40
3.2.5	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....	41
3.3	REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS DE BIODEGRADAÇÃO .....	41
3.4	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES ANTIMICROBIANOS APÓS OS ENSAIOS DE BIODEGRADAÇÃO.....	43
3.4.1	Perda de Massa.....	43
3.4.2	Avaliação Visual .....	43
3.4.3	Espectroscopia por Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) .....	43
3.4.4	Análise Termogravimétrica (TGA) .....	44
3.4.5	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....	44
3.4.6	Relaxometria de RMN .....	45

<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>46</b>
4.1	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES ANTIMICROBIANOS .....	46
4.1.1	Propriedades Mecânicas .....	46
4.1.2	Atividade Antimicrobiana .....	48
4.1.3	Espectroscopia por Infravermelho com Transformada de Fourier.....	49
4.1.4	Análise Termogravimétrica (TGA) .....	52
4.1.5	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....	54
4.2	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADADOS.....	57
4.2.1	Perda de Massa.....	57
4.2.2	Avaliação Visual .....	60
4.2.3	Espectroscopia por Infravermelho com Transformada de Fourier .....	62
4.2.4	Análise Termogravimétrica (TGA) .....	65
4.2.5	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....	67
4.2.6	Relaxometria de RMN .....	68
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>71</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>72</b>
	<b>APÊNDICE A – CURVAS TGA E dTG.....</b>	<b>82</b>
	<b>APÊNDICE B – CURVAS DSC.....</b>	<b>83</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A embalagem de um produto é utilizada para protegê-lo do ambiente externo ao qual ele se encontra. Isto pode incluir o calor, a luz, os microrganismos, a pressão, a umidade e outros. Portanto, a embalagem é uma barreira entre o produto e as condições diversas. Se esta embalagem for inerte, isto é, apenas uma barreira física, ela é considerada uma embalagem convencional. Se esta embalagem interage de alguma forma com o produto, promovendo a melhora ou conservação de suas propriedades, ela é considerada uma embalagem ativa (BIJI *et al*, 2015; RESTUCCIA, 2010).

Uma embalagem ativa pode ter diferentes funções em sua interação com o produto. Notoriamente, as embalagens ativas são utilizadas para estender o tempo de vida do produto ou para conferir alguma característica. Essas embalagens atuam em fatores importantes para a preservação do produto, como o sequestro de oxigênio, manutenção da umidade, controle de temperatura, liberação controlada de produtos químicos como óleos essenciais e ácidos naturais ou uma combinação desses efeitos. O resultado esperado é a melhora na qualidade e segurança no produto a ser consumido (FABRA, LÓPEZ-RUBIO e LAGARON, 2016; RESTUCCIA, 2010).

Dentre os tipos de embalagem ativas, destaca-se a embalagem ativa antimicrobiana. O objetivo desta embalagem é inibir ou impedir o crescimento microbiano nos alimentos. Isso é feito através da adição de agentes antimicrobianos na embalagem. Esta adição pode ser feita na composição do polímero ou apenas como uma camada na superfície da embalagem em contato com o alimento. Os agentes antimicrobianos preferencialmente utilizados nessas embalagens são naturais, assim, a utilização dos óleos essenciais é ressaltada (HERAS-MOZOS *et al*, 2019; WORANUCH, YOKSAN e AKASHI, 2015).

No contexto de produtos naturais e meio ambiente, é esperado que uma embalagem alimentícia, de curto tempo de vida útil, seja biodegradável, e se possível, compostável. Essa necessidade se dá para que se mantenha a sustentabilidade da indústria de embalagens, visto que uma boa parte do plástico coletado oficialmente ainda vai para aterros. Em dados de 2016, de todo o plástico coletado oficialmente pela Europa (27,1 milhões de toneladas), em torno de 27% foi para aterro. Se considerados apenas os números de embalagens de plástico (16,7 milhões de toneladas), em torno de 20% dessas embalagens vão parar em aterro. Estes números não incluem a destinação final de plásticos desprezados de maneira não oficial

(PLASTICSEUROPE, 2018; RYDZ *et al*, 2018). No Brasil, que se gera anualmente perto 9 milhões de toneladas de plástico, em torno de 75% do plástico coletado vai para aterros sanitários ou controlados e apenas cerca de 1% é reciclado (KAZA *et al*, 2018).

Uma vez desprezada, seja em aterros ou irregularmente no ambiente, a embalagem passará pelo processo de degradação, que poderá ser biótica ou abiótica. Como embalagens ativas são eficientes no combate às células microbianas presentes nos alimentos, se faz necessário estudar se este efeito pode alterar o tempo de degradação da embalagem no solo, visto que o processo de biodegradação ocorre na presença de microrganismos. (EL-GENDY *et al*, 2017; EMADIAN, ONAY, DEMIREL, 2017; MATHEW *et al*, 2019; LI *et al*, 2012).

## 1.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a biodegradação de filmes ativos antimicrobianos à base de poli (butileno adipato co-tereftalato), contendo óleo essencial como agente antibiótico.

### 1.1.1 Objetivos Específicos

Como objetivos específicos, buscou-se:

- Preparar filmes ativos antimicrobianos com óleos essenciais de cravo ou canela à base de poli (butileno adipato co-tereftalato);
- Caracterizar os filmes por: teste mecânico de tração, espectroscopia por infravermelho com transformada de Fourier, análise termogravimétrica, calorimetria exploratória diferencial e sua atividade antimicrobiana contra as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*;
- Realizar ensaios de biodegradação em solo;
- Caracterizar filmes após os ensaios de biodegradação por: espectroscopia por infravermelho com transformada de Fourier, análise termogravimétrica, calorimetria exploratória diferencial, perda de massa, análise visual e relaxometria de ressonância magnética nuclear.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste capítulo, traz-se uma fundamentação com base em artigos científicos, livros e materiais de fornecedores dos temas envolvidos neste trabalho.

### 2.1 EMBALAGENS ATIVAS

Uma embalagem ativa pode ser definida como uma embalagem na qual foram adicionados, intencionalmente e de maneira controlada, substâncias ativas que objetivam a melhora do desempenho da embalagem. Essa adição pode ser dada tanto dentro do material da embalagem quanto no espaço que se dá entre a embalagem e o produto. A melhoria do sistema pode ser avaliada pela manutenção ou melhoria dos efeitos sensoriais, segurança, qualidade e aspecto do produto (ROBERTSON, 2012).

A utilização de embalagens ativas para aumentar o tempo de prateleira dos produtos, nos casos onde o problema é a deterioração microbiana, apresenta vantagem pois o componente ativo é liberado gradualmente no produto durante o seu tempo de vida, produzindo uma quantidade inibitória ou letal para microrganismos patogênicos que afetam o produto. Assim, o produto terá concentrações adequadas do componente ativo por um período maior. Ainda, a embalagem ativa traz outras vantagens, como a diminuição da quantidade do ativo necessária, a concentração desses ativos na superfície do produto e principalmente a diminuição das etapas no processo de fabricação que visam adicionar conservantes químicos nos alimentos (BOLUMAR, ANDERSEN e ORLIEN, 2011; HERAS-MOZOS *et al*, 2018).

De uma forma geral, as embalagens ativas são classificadas de acordo com sua função. Os tipos que são comercialmente relevantes são as embalagens absorvedoras de gás oxigênio (O<sub>2</sub>), absorvedoras de umidade, geradoras de etanol, absorvedoras de etileno e emissoras e absorvedoras de gás carbônico (CO<sub>2</sub>). Porém, existem outros tipos de embalagem que têm sido estudadas para que se tornem comercialmente viáveis. Dentre elas estão as embalagens antimicrobianas (ROBERTSON, 2012; YILDIRIM *et al*, 2017).

### 2.1.1 Tipos de Embalagem Ativa

As embalagens ativas absorvedoras de oxigênio servem para diminuir a concentração de oxigênio em contato com o produto. As embalagens que são utilizadas para sequestrar o oxigênio encontrado no espaço entre o produto e a embalagem, também conhecido como *headspace*, geralmente vêm em forma de sachê poroso, e se encontra no *headspace* da embalagem e não no filme plástico em si. Esses sachês se utilizam majoritariamente de pó de ferro, mas também sendo encontrado com ácido ascórbico. Nessas condições, a concentração de oxigênio pode ser reduzida a 0,01%. A reação que descreve o consumo do oxigênio para o sachê de ferro está apresentada na Equação 1:



Quando o objetivo da embalagem é impedir que o oxigênio permeie do ar ambiente para dentro da embalagem, então a formulação contra o oxigênio é embutida no filme. Muitos absorvedores de oxigênio estão disponíveis no mercado. Alguns exemplos são OS BestKept® 120 (Alpine Foods Co., Ltd., Bangkok, Tailândia), ZPT 200 EC O<sub>2</sub> absorber 165 (Ageless®, Mitsubishi Gas Chemical Company, Japão), OxyFree 504 type iron based O<sub>2</sub> absorber (Süd-Chemie Company, Istanbul, Turquia), entre outros. Esses absorvedores de oxigênio podem ser misturados na composição do polímero em diferentes quantidades para um maior tempo de vida do produto, mas eles não são eficientes em sequestrar o oxigênio já contido na embalagem. Portanto, podem ser utilizados em conjunto com o sachê, outros métodos de remoção de oxigênio, ou em embalagens a vácuo (ERKAN, 2017; JANJARASSKUL *et al*, 2016; REMYA *et al*, 2017; ROBERTSON, 2012).

As embalagens absorvedoras de umidade têm a função de evitar o acúmulo de água na forma líquida dentro das embalagens. Esse acúmulo pode ser proveniente de flutuações na temperatura de armazenamento do produto, do fluido tecidual de produtos cárneos ou ainda da transpiração de produtos da horticultura. Em qualquer um dos casos, o acúmulo de água pode provocar o crescimento de bolores e bactérias, além de alterar a textura e aparência, diminuindo o tempo de prateleira. Assim, as embalagens ativas que absorvem umidade são colocadas no *headspace* da embalagem, e geralmente vem em forma de almofadas. Essas almofadas podem ser compostas de duas camadas de um filme plástico poroso como os filmes feitos de polietileno de baixa densidade (PEBD) ou polipropileno

(PP), e no meio desses filmes, um polímero superabsorvente que pode absorver até 500 vezes sua própria massa em água, tais como o poliacrilato, entre outros. Dentre os polímeros capazes desse feito estão os de carboximetil celulose (CMC) e copolímeros de enxerto de amido (ROBERTSON, 2012; YILDIRIM, 2017).

As embalagens geradoras de etanol são utilizadas em produtos com alta atividade de água e são majoritariamente utilizadas para controlar o crescimento microbiano, estendendo o tempo de prateleira dos produtos. Também já foi demonstrado que o etanol consegue retardar o envelhecimento de pães e bolos. Os sachês contendo 55% de etanol, 10% de água e 35% de pó carreador, geralmente dióxido de silício ( $\text{SiO}_2$ ), em massa, são colocados no *headspace* da embalagem. À medida que a umidade do produto embalado vai sendo absorvida pelo sachê, o etanol vai sendo liberado. A quantidade de sachês dentro da embalagem deve ser determinada de acordo com a umidade e quantidade de produto, bem como o tempo de prateleira pretendido para tal produto. A desvantagem desse método é que o etanol altera o odor e o sabor do alimento no qual ele está sendo liberado, e por isso não pode ser usado em grandes quantidades (JANJARASSKUL *et al*, 2016; ROBERTSON, 2012).

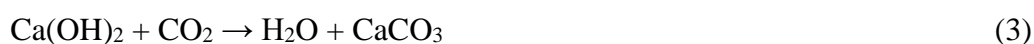
As embalagens absorvedoras de etileno são utilizadas para controlar o nível de etileno em frutas e outros produtos da horticultura. O etileno é um gás que atua como hormônio externo, liberado pelas plantas, e é responsável pelo amadurecimento e envelhecimento dela mesma e de seus frutos. Efeitos do etileno incluem a perda da firmeza pelos frutos, que os deixam susceptíveis a danos provenientes de choques mecânicos e infecção por patógenos. Assim, é essencial que a quantidade de etileno seja controlada no armazenamento de frutas, principalmente as que serão exportadas e precisarão de um tempo maior de prateleira. Para remover o etileno do *headspace*, utiliza-se o permanganato de potássio para provocar uma oxidação e quebrar a dupla ligação no etileno. Como o permanganato não é indicado para se utilizar diretamente sobre alimento, pode-se impregná-lo em uma substância inerte, como carvão ativado, zeólitas, alumina, entre outros. Além disso, pode-se promover a remoção do etileno diretamente por adsorção com carvão ativado ou zeólitas, sem o uso do permanganato de potássio (APRILLIANI *et al*, 2018; BOTTON, TONUTTI e RUPERTI, 2018; LEE *et al*, 2015).

Há dois tipos de embalagem quanto à presença de  $\text{CO}_2$ : as que emitem  $\text{CO}_2$  e as que o capturam. Uma alta concentração de dióxido de carbono associado com uma baixa

concentração de oxigênio é efetiva para alimentos que se deterioram rapidamente, pois isso diminui a taxa de respiração dos microrganismos. Concentrações em torno de 70% de dióxido de carbono inibem o crescimento de bactérias aeróbias Gram-negativas, pois essa concentração cria uma atmosfera anaeróbica que inibe a descarboxilação enzimática, e então o acúmulo de CO<sub>2</sub> na membrana pode alterar sua permeabilidade. Porém, a maior parte dos plásticos é permeável ao dióxido de carbono, e rapidamente, a concentração interna à embalagem se torna baixa. Dessa forma, há sachês que emitem esse gás por um período longo de tempo, aumentando assim o tempo de prateleira do produto. Normalmente, os emissores de gás carbônico são associados a removedores de oxigênio, pois o objetivo é diminuir a respiração microbiana e as reações químicas se complementam, vide Equação 2.



Enquanto na equação 1 a reação precisa de água para ocorrer, a equação 2 fornece água. Se colocados no mesmo sachê, elas se tornam complementares. Por outro lado, há embalagens com objetivo de remover o gás carbônico que é produzido pelo produto embalado, e cuja embalagem não seja permeável ao gás. Este é o caso do café, que gera uma grande quantidade de gás carbônico, o suficiente para explodir as embalagens durante o armazenamento. Um exemplo de composto que pode remover o gás carbônico é o hidróxido de cálcio, que reage com o gás carbônico de acordo com a Equação 3 (LEE *et al*, 2015; GAIKWAD e LEE, 2017).



#### 2.1.1.1 Embalagens Antimicrobianas

Embalagens com funções antimicrobianas têm sido desenvolvidas para aumentar o tempo de vida de produtos frescos, minimamente processados, isto é, produtos que não têm conservantes adicionados à sua composição. Para isso, essas embalagens liberam, ao longo do tempo, agentes antibióticos na superfície dos alimentos, local onde ocorre a deterioração do alimento. Isso é uma vantagem em relação à abordagem tradicional de se adicionar conservantes no alimento, visto que seria necessária uma quantidade maior de processamento e componente ativo para se obter o mesmo resultado. A demanda por produtos naturais faz

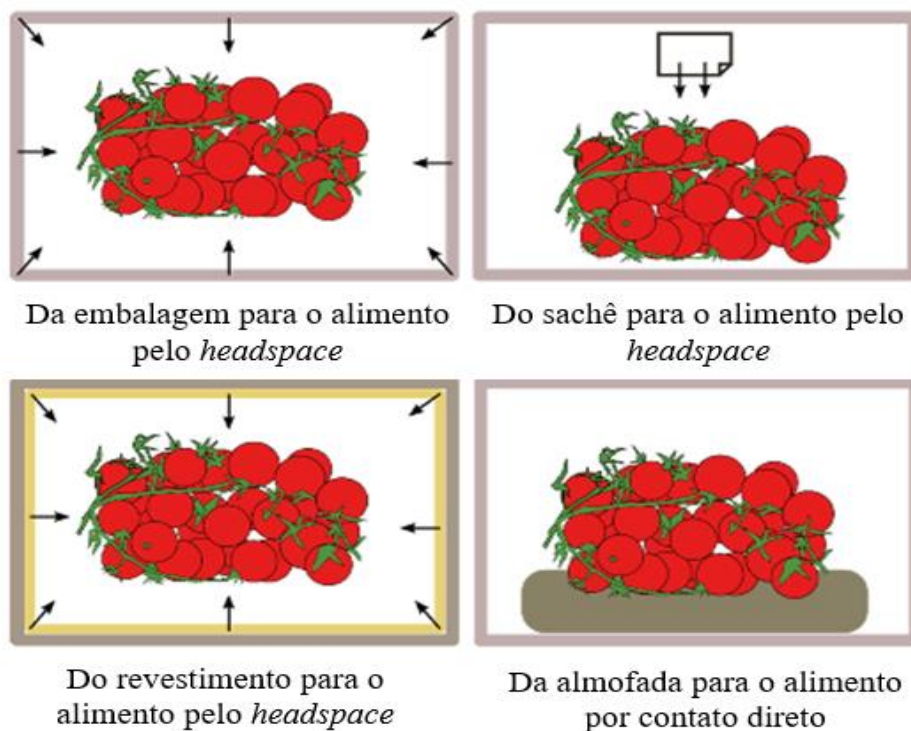


com que os agentes antibióticos utilizados sejam mais restritos, e têm se pesquisado o poder antimicrobiano de óleos essenciais, por serem uma opção sustentável e disponível (FABRA, LÓPEZ-RUBIO e LAGARON, 2016; MARTURANO *et al*, 2019).

O aumento no tempo de prateleira provocado por essas embalagens antimicrobianas se dá pelo retardo, redução ou inibição do crescimento microbiano. O componente antimicrobiano pode estar presente em diferentes locais da embalagem. Utiliza-se, notoriamente, sachês ou almofadas contendo agentes antibióticos voláteis, embalagens poliméricas com antibióticos (voláteis ou não) em sua composição, revestimento ou adsorção de agentes antimicrobianos na superfície interna da embalagem, imobilização de antibióticos por ligação química com o polímero ou ainda polímeros naturalmente antimicrobianos. (ROBERTSON, 2012).

A Figura 1 apresenta alguns métodos de funcionamento das embalagens antimicrobianas. Observam-se métodos que mostram diferentes maneiras da migração do agente ativo para o alimento: da embalagem para o alimento, de um sachê para o alimento, de um revestimento para o alimento e de uma almofada para o alimento.

Figura 1 - Mecanismos de migração do antibiótico para o produto.



Fonte: Adaptado de Marturano *et al*, 2019

O efeito da adição de componentes ativos em embalagens também tem sido estudado. Foi reportado que a adição de óleos essenciais no filme pode alterar a microestrutura do polímero. Isso causa alteração em propriedades importantes como resistência mecânica, cor, transparência, propriedades ópticas e de barreira quando em quantidades maiores, que variam de acordo com a interação óleo essencial-polímero. Uma solução para esse problema é a diminuição da concentração do óleo essencial na embalagem (ATARÉS e CHIRALT, 2016; ATEF, REZAEI e BEHROOZ, 2015).

Autores têm demonstrado a eficiência de óleos essenciais para aplicação em embalagens ativas. Alguns desses compostos, como o linalol (diferentes plantas, como menta e cítricas), carvacrol e timol (óleo essencial de tomilho e orégano), cinamaldeído (óleo essencial de canela), eugenol (óleo essencial de cravo), entre outros, com suas aplicações estão descritos na Tabela 1 (AHMED *et al*, 2018<sup>a</sup>; BLACK-SOLIS *et al*, 2019, LLANA-RUIZ-CABELLO *et al*, 2018; MLALILA *et al*, 2018; NARAYANAN; NEERA E RAMANA, 2013).

Tabela 1- Ação antimicrobiana de embalagens ativas de diferentes polímeros. (continua)

Polímero	Óleos Essenciais	Meio de Crescimento	Microrganismo	Referência
Amido	Linalol, Cravo, Canela, Tomilho ou Orégano	Meio de	<i>E. coli</i>	Mlalila <i>et al</i> , 2018
		cultura	<i>S. aureus</i>	
		Lacticínios	<i>P. commune</i>	
		Pão	<i>E. amstelodami</i>	
PHB	Cravo	Meio de cultura	<i>E. coli</i>	Narayanan; Neera e Ramana, 2013
			<i>S. aureus</i>	
			<i>S. typhimurium</i>	
			<i>B. cereus</i>	
			<i>A. flavus</i>	
			<i>A. niger</i>	
			<i>Penicillium sp.</i>	
PLGA	Linalol, Cravo, Canela, Tomilho ou Orégano	Meio de cultura	<i>Rhizopus sp.</i>	Mlalila <i>et al</i> , 2018
			<i>E. coli</i>	
			<i>S. aureus</i>	
			<i>P. aeruginosa</i>	

			<i>Listeria sp.</i>	
			<i>Salmonella sp.</i>	
PEBDL	Canela	Meio de cultura	<i>S. enterica sv Typhimurium</i>	Ahmed <i>et al</i> , 2018 <sup>a</sup>
		Carne de frango	<i>C. jejuni</i>	
			<i>L. monocytogenes</i>	
PP	Orégano	Presunto cozido	<i>B. thermophacta</i>	Llana-Ruiz-Cabello <i>et al</i> , 2018
Blenda de PLA e PBAT	Canela	Meio de cultura	<i>A. alternata</i>	Black-Solis <i>et al</i> , 2019
		Tomate		

Fonte: O autor, 2020

## 2.2 POLÍMEROS

Neste subcapítulo, apresentam-se as características dos polímeros de um modo geral, e também dos poliésteres, em específico sobre o PBAT, alvo desse estudo.

### 2.2.1 Morfologia, Estrutura Cristalina e Orientação

A morfologia de um polímero semicristalino envolve o seu tamanho, forma e interação entre seus cristais. Em um polímero semicristalino, sua morfologia é definida pelas estruturas lamelares ou fibrilares, e nelas, uma das dimensões tem pelo menos 10 nm. Ainda pode ocorrer a formação de esferulitos com o crescimento ordenado das fibrilas. A morfologia de polímeros pode ser estudada por diferentes técnicas, sendo mais comuns as técnicas de raio X, como a dispersão de raio X em pequeno ângulo e difração de raio X, ou ainda com técnicas de microscopia, como microscopia eletrônica de transmissão (FARIKOV, 2005; WORANUCH *et al*, 2015).

A habilidade de melhorar as propriedades de um polímero depende da capacidade de controlar a morfologia do mesmo. A orientação do polímero pode ser induzida na maioria dos métodos de fabricação, como a extrusão, moldagem por injeção, moldagem por sopro,

entre outros, mas convém caracterizar a orientação e morfologia do polímero depois de processado. Existem polímeros que não se cristalizam, devido a sua falta de regularidade na estrutura, como é o caso de copolímeros aleatórios (FARIKOV, 2005; CAMPBELL, PETHRICK e WHITE, 2000).

A investigação dessas propriedades é necessária para que se possa indicar a finalidade do polímero em questão. Cada tipo de polímero tem sua utilização no mercado. Utilizam-se, por exemplo, filmes para embalagens, revestimentos para fármacos, e a correta identificação de quais polímeros podem ser utilizados para essa finalidade é feita através da sua caracterização. Diferentes técnicas de caracterização já bem aceitas e estabelecidas podem ser utilizadas, mas algumas inovadoras têm sido pesquisadas. A Tabela 2 mostra algumas dessas técnicas de caracterização tradicionais de polímeros, seus objetivos e suas características (MUKHERJEE e GOWEN, 2015).

Tabela 2- Técnicas de caracterização de polímeros, objetivos e características.

<b>Método</b>	<b>Objetivo Principal</b>	<b>Características</b>
Espectroscopia (Ultravioleta – visível, vibracional, ressonância magnética nuclear, ressonância de spin eletrônica)	Determinar a estrutura molecular	Dá detalhes específicos sobre a conformação e composição da molécula.
Difração de Raio X	Determinar estrutura do cristal	Também é capaz de investigar a orientação e a fração de cristalinidade.
Microscopia (Transmissão eletrônica, varredura eletrônica, de luz)	Determinar a morfologia, mecanismo de fratura e propriedades ópticas	Dá informações detalhadas sobre a morfologia
Análise Térmica	Determinar propriedades térmicas	Diferentes técnicas que geram diversos resultados sobre propriedades como temperatura de fusão dos cristais, de transição vítrea, entre outras

Fonte: Campbell, Pethrick e White, 2000; Mukherjee e Gowen, 2015.

### 2.2.2 Poliésteres

Poliésteres, formados por monômeros contendo um grupo éster em sua cadeia principal, têm bastante utilidade na indústria devido ao seu baixo custo, boas propriedades, versatilidade e facilidade na produção. Existem poliésteres termofixos (aqueles que não podem ser remodelados com o calor) e termoplásticos (remodeláveis com calor). Os termofixos são conhecidos como poliésteres insaturados, enquanto os termoplásticos são saturados (ROSATO, ROSATO, ROSATO, 2004).

As reações de polimerização dos poliésteres, podem ser classificadas em seis tipos, a esterificação direta do álcool com ácido carboxílico ou derivados de ácido, a auto condensação de hidroxíácidos, reação de di-haleta alceno com sais dicarboxílicos, troca de éster, reação de diácidos com diepóxidos, e polimerização por abertura de anéis. Essas reações ainda podem ser caracterizadas como reações de policondensação, poliadição ou polimerização em cadeia. Os quatro primeiros tipos de poliesterificação são reações de policondensação, isto é, uma reação do tipo:



Sendo A e B grupos funcionais e C um composto de massa molecular baixa, como água, metanol ou ácido clorídrico. A quinta reação é uma reação de poliadição, que procede similarmente à equação 4, com exceção do composto C, que não é formado, ou seja, não há subprodutos. A sexta reação é uma reação de polimerização em cadeia (FARIKOV, 2005).

Uma vez que o polímero foi produzido, é necessário que ele seja processado para que tenha seu uso final. Existem diferentes formas de se trabalhar com o polímero para que esse seja conformado, e cada uma é adequada para certa aplicação. Alguns dos métodos de conformação do polímero são extrusão, modelagem por sopro, modelagem por injeção, *casting*, entre outros (ROSATO, ROSATO, ROSATO, 2004).

O método de produção de filmes antimicrobianos por *casting* é um método que requer a dissolução do polímero e do componente ativo em um solvente em comum, com a subsequente disposição dessa solução para favorecer a evaporação do solvente. O resultado desse processo é um filme polimérico contendo o composto ativo que foi introduzido juntamente com o polímero durante o processo de preparação da solução polimérica (WEN *et al*, 2016; WANG, RHIM e HONG, 2016).

### 2.2.3 Poliésteres Sustentáveis e Notáveis

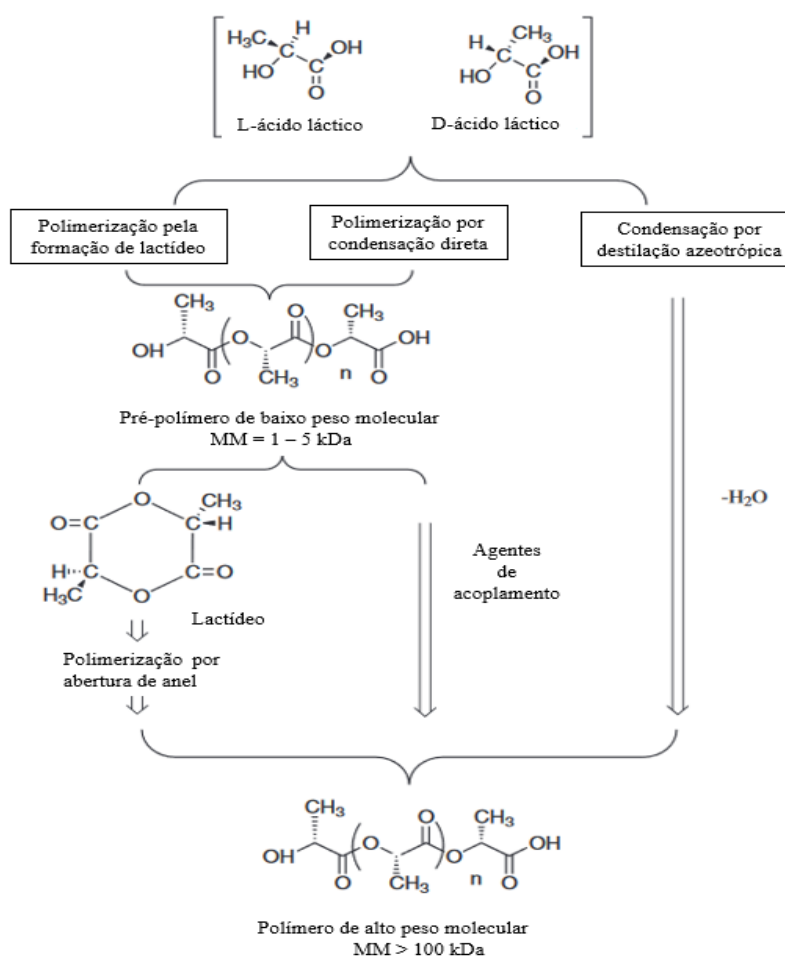
Existe uma vasta gama de poliésteres que são utilizados nas mais diversas aplicações. Alguns desses polímeros têm destaque especial, pelas suas propriedades. Exemplos de propriedades de interesse econômico e ambiental são resistência mecânica e térmica, permeabilidade, biodegradabilidade, entre outras. Entretanto, não há um só polímero que

atenda todas as necessidades de uma só vez. O poliéster mais utilizado na indústria é o polietileno tereftalato (PET), um polímero semicristalino, aromático, resistente, seguro e transparente. Ele é utilizado em garrafas plásticas na indústria de bebidas e em fibras para tecidos, dentre outras aplicações. Porém, como os monômeros que compõem o PET são de origem fóssil, e ele não é biodegradável, outros polímeros vêm sendo estudados, pela demanda crescente por sustentabilidade (AL-SABAGH *et al*, 2016; LÓPEZ-FONSECA *et al*, 2011; DANSO *et al*, 2018).

Poli(ácido láctico), ou PLA, é um poliéster alifático, biodegradável e derivado de plantas, portanto, renovável. Este polímero tem sido utilizado em diversas aplicações substituindo polímeros de fontes fósseis, além de aplicações médicas. Um outro fator positivo no quesito sustentabilidade é que ele também é compostável, fazendo com que sua disposição final seja menos danosa ao ambiente. Existem enantiômeros do ácido láctico que dão diferentes propriedades a esses polímeros, especialmente na cristalinidade, temperatura de fusão e de transição vítrea. As demais propriedades como a resistência mecânica e alongação são semelhantes. São polímeros naturalmente duros e frágeis. Também é possível fazer um polímero com uma mistura dos diferentes enantiômeros para conferir propriedades diferentes. Os enantiômeros utilizados são o L-ácido láctico ou o D-ácido láctico. A Figura 2 apresenta os monômeros e algumas rotas de polimerização (CASTRO-AGUIRRE *et al*, 2016; NARAYANAN *et al*, 2016).

Na Figura 2, observam-se os três principais métodos de polimerização para obtenção de PLA de alto peso molecular. A formação de um polímero de baixo peso molecular pode preceder a formação do polímero de alto peso molecular por uma polimerização por formação de lactídeo ou por condensação direta. Um pré-polímero é formado e então é despolimerizado controladamente para a formação do lactídeo, que por sua vez, pode então seguir por uma polimerização por abertura de cadeia para um polímero de alto peso molecular. No caso da polimerização por condensação direta, a água livre é removida, então ocorre uma policondensação do oligômero formado e por fim uma policondensação em estado fundido do polímero de alto peso molecular. Uma terceira etapa para se obter o polímero de alto peso molecular é realizar a condensação dos monômeros enquanto se retira a água proveniente da condensação por destilação azeotrópica. Dos três métodos, a policondensação em estado fundido é o mais econômico (CASTRO-AGUIRRE *et al*, 2016).

Figura 2 - Rotas de polimerização para formação de PLA de alto peso molecular a partir de L-ácido láctico e D-ácido láctico.



Fonte: Adaptado de CASTRO-AGUIRRE *et al*, 2016

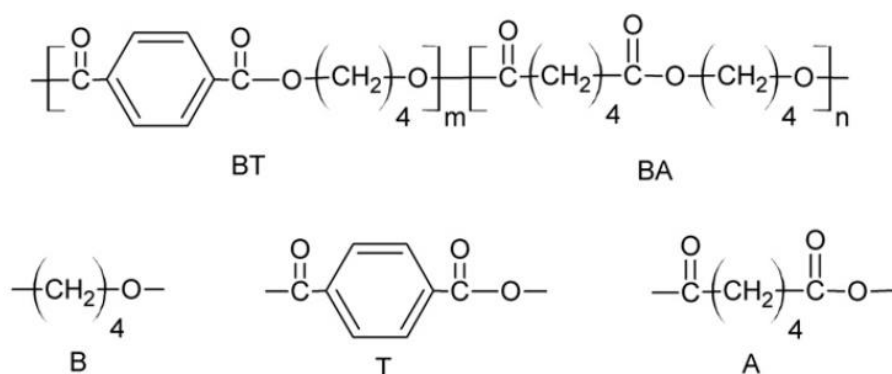
O polihidroxibutirato, ou PHB, é o poliéster mais comumente utilizado da família dos polihidroxialcanoatos (PHAs), polímeros produzidos naturalmente por microrganismos. O PHB é um polímero que é utilizado como fonte de carbono e energia pelos próprios microrganismos, e é formado por 3 reações enzimáticas em série. Na primeira reação, a enzima beta-cetotiolase condensa duas moléculas de acetilcoenzima A (acetil-CoA) em acetoacetil-CoA. Na segunda etapa, a acetoacetil-CoA redutase catalisa a formação de 3-hidroxibutiril-CoA. Na terceira etapa, a P(3HB) polimerase catalisa a polimerização dos monômeros 3-hidroxibutiril-CoA, formando o PHB. Entretanto, essa forma de produção do PHB resulta em um polímero de cadeia longa isotático, ou seja, com todos os radicais para o mesmo lado da molécula, o que aumenta a cristalinidade. Esse polímero microbiano é rígido e frágil, dificultando seu processamento. Por essa razão, existem métodos alternativos



de obtenção de PHB atático ou ainda sindiotático. Notoriamente, pode-se destacar a modificação química do PHB produzido naturalmente, ou a produção sintética do PHB pela polimerização por abertura de anel da beta-butirolactona. Dessa forma, pode-se manipular as propriedades termomecânicas desse polímero (BAROUTI, JAFFREDO e GUILLAUME, 2017; DAL'MOLIN *et al*, 2018; PATEL *et al*, 2015).

O Poli (butileno adipato co-tereftalato), ou PBAT é um polímero que foi desenvolvido pela BASF em 1998. Ele é um copolímero alifático e aromático, preparado pela policondensação de 1,4-butanodiol com ácidos adípico e tereftálico. Segundo a BASF (2013), trata-se de um plástico biodegradável e tem propriedades mecânicas comparáveis às do PEBD. Possui excelentes propriedades para preparação de filmes por extrusão ou para revestimentos, além de ser aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA), agência federal americana que controla e supervisiona a segurança nos alimentos e fármacos, o que o torna um excelente candidato para a preparação de embalagens ativas. Sua estrutura é apresentada na Figura 3. (WITT *et al*, 2001, ZEHETMEYER *et al*, 2015).

Figura 3 - Estruturas do PBAT e suas unidades formadoras: BT – butileno tereftalato; BA – butileno adipato; B – 1,4 butanodiol; T – ácido tereftálico; A – ácido adípico.



Fonte: Kijchavengkul et al, 2010.

De acordo com o fabricante, o PBAT pode ser utilizado para produção de filmes por sopro ou por extrusão, com destinações finais típicas sendo embalagens alimentícias, filmes agrícolas e sacolas compostáveis, com espessura mínima de 10  $\mu$ m. Ele também é certificado para ter contato com alimentos pelas normas europeia e americana *EU Directive* 2002/72/EC e *US food contact notification* FCN 907, respectivamente, além de ser

certificado como biodegradável e compostável pelas normas europeia, americana e japonesa, respectivamente: DIN EN 13432, ASTM D 6400 e GreenPla. O ponto de fusão do polímero é estimado na faixa de 110 a 120 °C, pelo método da calorimetria exploratória diferencial (DSC), e é estável termicamente até 230 °C (BASF, 2013).

### 2.3 BIODEGRADAÇÃO DE POLÍMEROS

Plásticos, de maneira geral, são resistentes a ataques microbianos, e, portanto, duram por anos quando descartados na natureza. O descarte de plásticos não biodegradáveis causa problemas severos no ambiente, como a infertilidade do solo devido ao acúmulo de plástico e especialmente no marinho, onde coloca em perigo todo um ecossistema. A necessidade do desenvolvimento de novos plásticos biodegradáveis impulsionou a pesquisa na área e dessa forma, eles alcançaram o mercado nas últimas décadas. Esse tipo de polímero pode ser tratado por processos biológicos, como compostagem ou digestão anaeróbica, não sendo acumulado ao longo dos anos (AHMED *et al*, 2018<sup>b</sup>; HU *et al*, 2010; SHAH *et al*, 2015).

Não apenas fatores bióticos afetam a degradação de um polímero. Polímeros submetidos à luz solar, altas temperaturas, agentes químicos, água, entre outros fatores podem também sofrer deterioração. O processo de deterioração abiótica pode, e vai, na maioria das vezes, ajudar ou iniciar o processo de biodegradação. Essa deterioração pode ser concomitante à ação microbiana (LUCAS *et al*, 2008).

A biodegradabilidade de um polímero depende de sua composição química. Polímeros aromáticos são praticamente não biodegradáveis, enquanto os alifáticos são. A adição de grupos alifáticos em polímeros aromáticos é uma técnica para tornar alguns desses polímeros biodegradáveis. A biodegradação ocorre com a ação de microrganismos que atuam sobre o material polimérico, resultando em gás carbônico e água. A degradação de cada tipo de plástico depende de enzimas que são produzidas por microrganismos específicos, podendo ser fungos, leveduras e/ou bactérias (HU *et al*, 2010; SHINOZAKI *et al*, 2012).

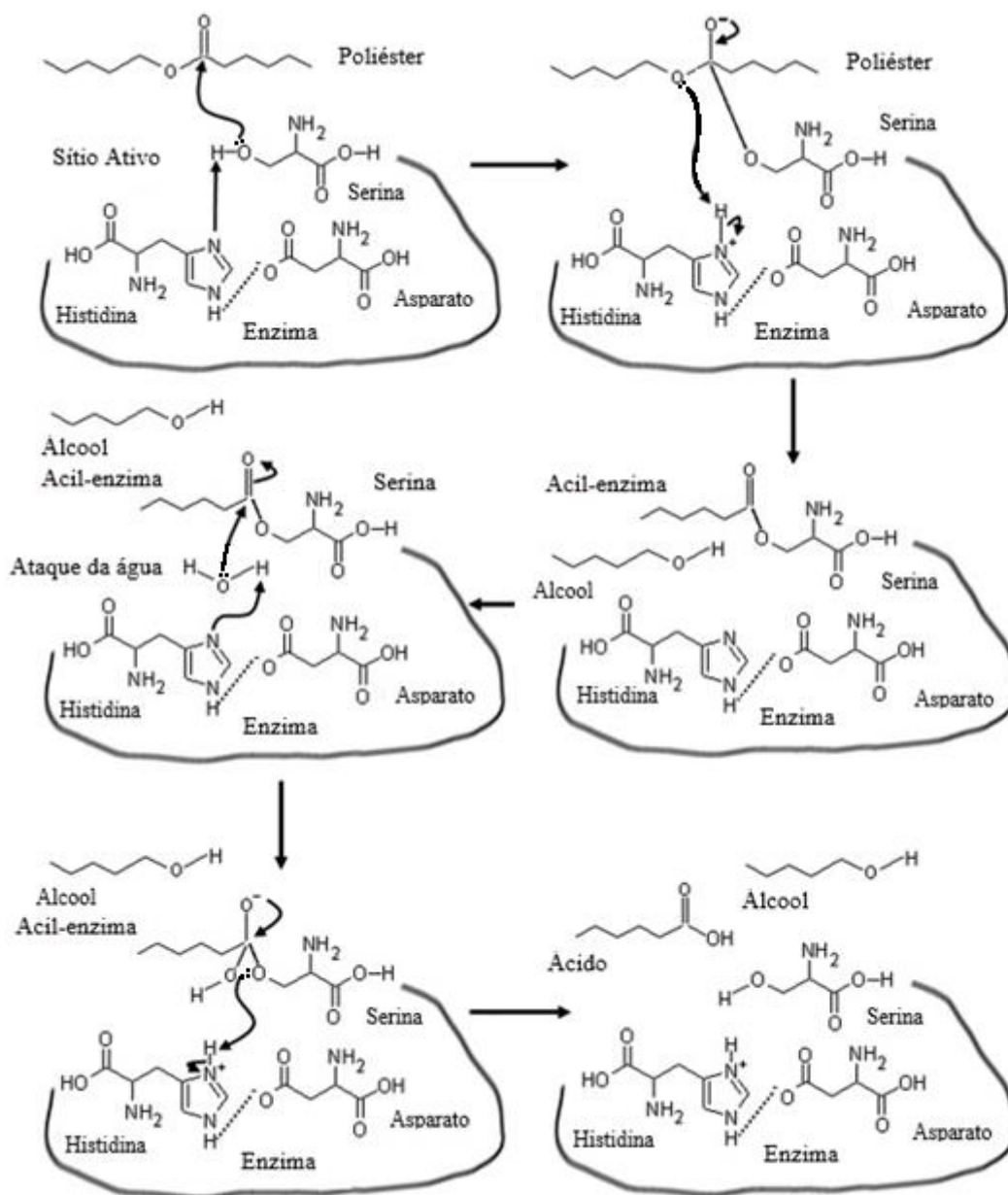
O mecanismo de biodegradação em polímeros envolve várias etapas. Primeiramente, o microrganismo excreta exoenzimas que têm a função de despolimerizar a molécula complexa em moléculas menores e isso ocorre na superfície, ou há a penetração de água e outras moléculas e a despolimerização acontece também no interior do polímero. Dessa forma, são formados monômeros e oligômeros e há a assimilação dessas moléculas mais

simples pela membrana semipermeável do microrganismo. Ele as utiliza como fonte de carbono e energia para sua sobrevivência. As reações de biodegradação envolvem inúmeras outras enzimas intracelulares e há etapas tanto aeróbias como anaeróbias. O processo de biodegradação no qual os produtos finais são gás carbônico, água e/ou metano é chamado de mineralização (MUTHUKUMAR e VEERAPPAPILLAI, 2015; AHMED *et al*, 2018<sup>b</sup>, LUCAS, 2008). A Figura 4 apresenta o esquema de despolimerização de um poliéster genérico com uma enzima hidrolase.

Como ilustrado na Figura 4, a presença da enzima (proteína, neste caso contendo três aminoácidos específicos dentre vários: asparato, histidina e serina em sua cadeia) contendo o grupo asparato forma uma ligação de hidrogênio com a histidina, e o anel da histidina interage com a serina. A histidina age como uma base, retirando o próton e deixando um alcóxido, que por sua vez, ataca a ligação éster da cadeia do polímero. Há a liberação de um álcool e a formação de um complexo acil-enzima. Na presença de água, esse complexo é desfeito, liberando a enzima novamente e um ácido pela formação do grupo carboxílico. Essa tríade de aminoácidos em uma proteína é conhecida como a tríade catalítica (LUCAS, 2008).

Especificamente sobre poliésteres, são considerados biodegradáveis os alifáticos, sintetizados a partir de ácidos dicarboxílicos e dióis, e os copolímeros alifático-aromático, sintetizados a partir de ácidos dicarboxílicos alifáticos e aromáticos e dióis alifáticos. A etapa limitante na velocidade de biodegradação é a hidrólise extracelular da ligação tipo éster, realizada por uma hidrolase, conhecida como carboxilesterase. Esta etapa pode ser tão mais rápida quanto mais flexível for a cadeia polimérica, e é desacelerada em caso de não uniformidade (regiões mais concentradas do composto aromático) em copolímeros (ZUMSTEIN *et al*, 2017).

Figura 4 - Mecanismo de despolimerização por ataque enzimático.



Fonte: Adaptado de LUCAS, 2008.

Pode-se testar a biodegradação de um polímero por diferentes métodos. Os dois métodos de maior frequência reportados na literatura são o método de biodegradação em solo e em solução. No método de degradação em solo, utiliza-se uma amostra de solo de compostagem ou solo artificial, e enterra-se o polímero na amostra. Analisa-se o polímero após intervalos de tempo para determinar a perda de massa e variações nas propriedades. Variáveis como umidade do solo e temperatura devem ser controladas. No ensaio em solução, o polímero deve ser adicionado a um meio sem fonte de carbono e estéril. O meio

deve então ser inoculado com um microrganismo capaz de utilizar o polímero como fonte de carbono. Pode-se analisar a perda de massa e variação das propriedades bem como a evolução do gás carbônico, produto final da mineralização. Apesar do teste em solução poder ser melhor controlado e a biodegradação melhor avaliada com a evolução do CO<sub>2</sub>, esse método necessita de equipamentos sofisticados e é mais complexo quando comparado ao teste no solo (SHAH *et al*, 2016; WANG *et al*, 2015). A Tabela 3 apresenta alguns microrganismos capazes de degradar certos poliésteres.

De acordo com Nair *et al* (2017), a biodegradação do PBAT é completa em condições de compostagem em um período de 180 dias. Também foi reportado que a estrutura butileno-adipato é mais susceptível à hidrólise que seu co-monômero e que a biodegradação ocorre com maior velocidade nas porções amorfas do polímero, quando comparada às regiões cristalinas (KIJCHAVENGKUL *et al*, 2010). Autores também identificaram que hidrolases e lipases de alguns microrganismos foram capazes de degradar o polímero, e que a temperatura de incubação é um fator importante na taxa de degradação, o que indica que o processo ocorre a partir de uma hidrólise (HERRERA *et al*, 2002, SAADI *et al*, 2013, NAIR *et al*, 2017).

Tabela 3-Microrganismos e enzimas associadas à degradação de alguns tipos de poliéster.

<b>Poliéster</b>	<b>Microrganismo</b>	<b>Referência</b>
PLA	<i>F. solani</i>	Shah <i>et al</i> , 2008
	<i>P. roquefort</i>	
	<i>Amycolaptosis sp.</i>	
	<i>B. brevis</i>	
	<i>R. delemere</i>	
PHB	<i>P. stutzeri</i>	Ahmed <i>et al</i> , 2018 <sup>b</sup>
	<i>Cephalosporium sp.</i>	Lee; Gimore e Huss, 2005
	<i>A. fumigatus</i>	
	<i>Outros não identificados</i>	
PBAT	<i>Cryptococcus sp.</i> MTCC 545	Aarthy <i>et al</i> , 2018;
	<i>Bacillus pumilus</i>	Muroi <i>et al</i> , 2017

Fonte: O autor, 2020

Em testes de biodegradação em solo, diversos autores reportaram perda de massa e variações em propriedades do PBAT após certo período. Wang *et al* (2015) conseguiram 2,5% de redução de massa após 3 meses, e notou aumentos suaves nas propriedades térmicas como temperatura de fusão e entalpia de fusão, e também na cristalinidade. Palsikowski *et al* (2018) reportou mineralização de 21% do PBAT após 180 dias, e aumento no índice de carbonila, pois na hidrólise há o aparecimento de grupos carbonila. Rychter *et al* (2010) encontrou uma perda de massa na ordem de 15% no décimo mês de biodegradação. Souza *et al* (2019), em seus estudos, também identificou uma elevação na temperatura de fusão do PBAT, porém não houve alteração na cristalinidade do polímero no início do processo, havendo redução da cristalinidade ao fim do mesmo. Ainda segundo os mesmos pesquisadores, o aumento da cristalinidade do polímero deveria acontecer pela reorganização das cadeias nas regiões amorfas. Gan *et al* (2004) explica que a maior cristalinidade e temperatura de fusão do PBAT se dá pela presença de mais unidades BT (aromáticas), o que explica o aumento dessas propriedades na biodegradação, visto que a parte alifática é mais rapidamente degradada, aumentando a porcentagem das unidades BT no polímero. Apesar da unidade BT ser aromática, Zumstein *et al* (2018) conseguiram identificar a biodegradação desta unidade utilizando espectroscopia por cavidade ressonante tipo *ring-down* (CRDS) para detecção de CO<sub>2</sub> com um isótopo específico, o <sup>13</sup>C, e fazendo com que o polímero possuísse tal isótopo do carbono apenas na unidade BT. Com a percepção de tal isótopo no CO<sub>2</sub>, fica claro que a unidade está sendo degradada. Como resultado final, foi quantificada mineralização de 8% do <sup>13</sup>C nessas amostras.

### 3 METODOLOGIA

Neste capítulo, apresentam-se os métodos utilizados para o desenvolvimento deste trabalho.

#### 3.1 PREPARAÇÃO DOS FILMES ANTIMICROBIANOS

O filme antimicrobiano foi produzido em placas de Petri de 15cm de diâmetro, pelo método de *casting*, sendo adicionados óleos essenciais diretamente ao polímero. O poliéster utilizado foi o PBAT (ECOFLEX® F BLEND C1200), e os óleos essenciais foram de cravo (*Eugenia caryophyllata*) e canela (*Cinnamomum cassia*), adquiridos da PHYTOTERÁPICA, em concentrações de 2, 4 e 8% (m/m).

Uma massa de 2g da mistura polímero e óleo essencial foi dissolvida em 60 mL de clorofórmio, a temperatura ambiente, sob constante agitação magnética em recipiente fechado. Primeiramente, uma massa de polímero correspondente à concentração de óleo utilizada foi adicionada a um recipiente com 50 mL de clorofórmio, e após um período de 40 minutos sob agitação, o óleo foi adicionado juntamente com 10 mL de clorofórmio e agitado em conjunto com o polímero dissolvido por mais 20 minutos. No caso do polímero puro, o PBAT foi adicionado a um recipiente com 60 mL de clorofórmio e colocado sob agitação por 60 minutos, sem a adição de óleo essencial. A fração de polímero e óleo para cada concentração se encontra na Tabela 4.

Tabela 4 - Composição dos filmes.

Concentração de óleo essencial (% m/m)	Polímero (g)	Óleo Essencial (g)	Clorofórmio (mL)
0	2	0	60
2	1,96	0,04	60
4	1,92	0,08	60
8	1,84	0,16	60

Fonte: O autor, 2020

Após o período de agitação, a mistura polimérica foi disposta em placas de Petri de 15 cm de diâmetro e tampadas com placas complementares. Essa mistura foi colocada para secagem em capela a temperatura ambiente por um período de 24 a 72h, até a completa evaporação do solvente.

## 3.2 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES ANTIMICROBIANOS

Os filmes produzidos foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), ensaio mecânico de tração, análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). O método do disco-difusão (com tamanho do halo de inibição) foi utilizado para determinar atividade antimicrobiana do filme.

### 3.2.1 Propriedade Mecânicas

A determinação das propriedades mecânicas do filme foi realizada através de uma máquina universal de ensaio mecânico DL 500 MF de marca EMIC. Para esse ensaio, os filmes foram cortados em tiras de 7,5 x 2,5 cm. O espaço entre as garras foi determinado em 4 cm e a velocidade de separação das garras de 500 mm/min. Foram calculados a tensão na força máxima, elongação na ruptura e módulo de elasticidade. Teste estatístico de Duncan foi realizado no software STATISTICA.

### 3.2.2 Atividade Antimicrobiana

O teste de disco-difusão foi realizado em placas de Petri de 10 cm de diâmetro. Meio de cultura Glicose-Ágar foi escolhido para a proliferação dos microrganismos *Escherichia Coli* (Gram -) e *Staphylococcus Aureus* (Gram +). Cada placa foi inoculada com 0,1 mL de uma solução com uma concentração em torno de  $1,5 \times 10^8$  bactérias/mL de acordo com a escala nefelométrica de McFarland (tubo nº 0,5). O tempo de secagem das placas foi de 5 minutos antes da introdução dos discos de filmes de 1 cm de diâmetro. As placas foram incubadas em estufa a 35 °C por 24h. Planejamento fatorial (2 fatores para cada bactéria) foi utilizado para determinar o melhor filme. Cada formulação do filme foi testada em duplicata

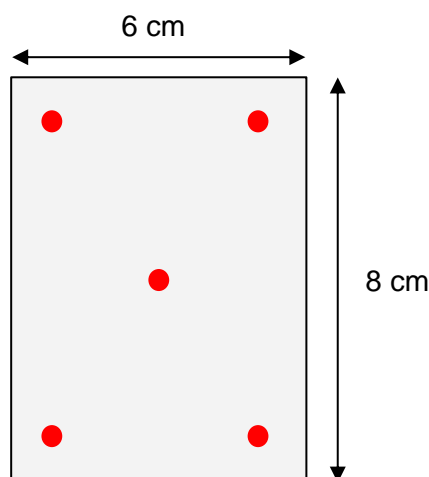


e resultados foram lidos com escalímetro. Teste de análise de variância (ANOVA) foi realizado no software STATISTICA.

### 3.2.3 Espectroscopia por Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As caracterizações por FTIR foram realizadas com um espectrômetro SHIMADZU IR TRACER 100, com acessório de refletância total atenuada (ATR). Os filmes retirados das placas foram cortados em retângulos de 6x8 cm para a realização deste teste. As medidas foram realizadas em 5 pontos distintos do filme como na Figura 5. Duplicata dos filmes foram lidos na faixa de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Os espectros obtidos foram a média de 45 medidas com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

Figura 5 - Pontos de leitura do espectro do infravermelho com acessório ATR no filme.



Fonte: O autor, 2020

Os espectros foram plotados no Origin 8.5 Pro (versão de testes), e os dados foram tratados no MATLAB® (R2010a 7.10.0.499, MathWorks).

### 3.2.4 Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica foi realizada em equipamento METTLER TOLEDO TGA 2 Star System. O teste se procedeu sob uma atmosfera de  $\text{N}_2$  com vazão de 50 mL/min. A rampa de aquecimento foi de 30 a 600  $^{\circ}\text{C}$  com taxa de aquecimento de 10  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . Utilizou-

se aproximadamente 5 mg de filme em cadinhos de alumina de 70 µL. Utilizou-se o software que comanda o programa (STAR<sup>e</sup>, METTLER TOLEDO) para retirada dos dados. Gráficos foram plotados no Origin 8.5 Pro (versão de testes).

### 3.2.5 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial foi realizada em equipamento METTLER TOLEDO DSC 1 Star System. A primeira rampa de aquecimento ocorreu a 30 °C/min de 0 a 200 °C. O resfriamento foi realizado a 10 °C/min de 200 a 0 °C. O segundo aquecimento foi, novamente, de 0 a 200 °C a uma taxa de 10 °C/min. Todas as rampas aconteceram sob atmosfera de N<sub>2</sub> com vazão de 50 mL/min. Utilizou-se o software que comanda o programa (STAR<sup>e</sup>, METTLER TOLEDO) para retirada dos dados. Gráficos foram plotados no Origin 8.5 Pro (versão de testes).

A cristalinidade relativa foi calculada de acordo com a Equação 5.

$$X_c = \frac{\Delta H_f}{(f \times \Delta H_f^o)} \times 100\% \quad (5)$$

Sendo  $\Delta H_f$  a entalpia de fusão obtida do equipamento,  $f$  a fração mássica de PBAT no filme, e  $\Delta H_f^o$  a entalpia do PBAT 100% cristalino, que é calculada em 114 J/g (CHIVRAC *et al*, 2006).

## 3.3 REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS DE BIODEGRADAÇÃO

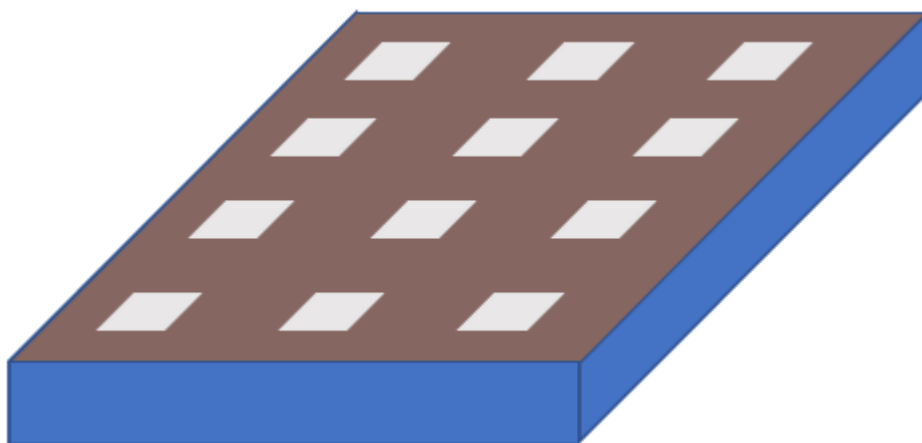
A partir das análises do item anterior, a melhor formulação para filme antimicrobiano foi escolhida para realização dos ensaios de biodegradação. Realizou-se também o ensaio com os filmes sem óleo para comparação. Escolheu-se ensaiar os filmes não envelhecidos para estudar a pior hipótese, que é a do descarte com pouco tempo de uso.

Os filmes previamente caracterizados foram cortados com dimensões 6x8 cm e pesados em balança analítica METTLER TOLEDO XS105 Dual Range com sensibilidade 0,01 mg. Cada filme foi enterrado em posição predeterminada e identificada com sua massa inicial. A altura do recipiente foi de 14 cm. A primeira camada de solo foi de 1 cm, acima dessa camada os filmes foram dispostos, e o restante do solo acima desses filmes. Os recipientes foram dispostos em incubadora a  $35 \pm 1$  °C. A água evaporada foi repostada 2 vezes

por semana, ao longo de todo o experimento. A composição do solo foi de 2/3 de um mix de solo fértil e areia (5 cm superiores de solo de jardim), e 1/3 de estrume curtido, e peneirado com uma peneira de 10 mesh (2 mm). Essa metodologia é adaptada de Sociedade Americana de Testes e Materiais - ASTM G160-12 (2012).

O ensaio teve a duração de 24 semanas, sendo uma amostra em triplicata retirada do solo a cada 2 semanas. Um total de 36 amostras de filmes com óleo (12 triplicatas) e outras 36 sem óleo foram acondicionadas no solo conforme a Figura 6. Um total de 4 recipientes foram utilizados, sendo 18 amostras em cada um.

Figura 6 - Localização dos filmes no solo.



Fonte: Autor

Simultaneamente à retirada das amostras, uma amostra de 1g de solo foi retirada de cada recipiente para acompanhamento da população microbiana do solo. Esse solo foi suspenso em 99g de água estéril, agitado e deixado descansar por 5 minutos. Dessa suspensão, procedeu-se uma diluição sucessiva em 4 tubos de ensaio contendo 9 g de água estéril para bactérias e fungos e uma diluição sucessiva em 2 tubos, o primeiro com 9g de caldo glicosado (fervido por 5 minutos após inoculação) e outro com 9 g de água para bacilos esporulados. De cada diluição obtida, inoculou-se 1 mL em uma placa de Petri e então verteu-se meio de cultura para crescimento e incubação. O meio utilizado para bactérias e bacilos esporulados foi Ágar Nutritivo e para os fungos foi Czapeck Ágar acidificado (1 mL ácido láctico 60% P.A. para 250 mL de meio). As placas de bactérias e bacilos esporulados foram incubadas a temperatura ambiente por 48h e as com fungos foram incubadas a temperatura ambiente por 144h.

### 3.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES ANTIMICROBIANOS APÓS OS ENSAIOS DE BIODEGRADAÇÃO

Após retirados do solo, os filmes foram limpos, secos e armazenados em dessecador por pelo menos 24h antes da realização de qualquer análise. Eles foram caracterizados por espectroscopia por infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), relaxometria de ressonância magnética nuclear (RMN) no domínio do tempo, análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). A massa do filme foi medida e fez-se uma avaliação visual dos mesmos.

#### 3.4.1 Perda de Massa

A massa dos filmes foi medida 24h após a retirada do filme do solo. Ela foi obtida em balança analítica METTLER TOLEDO XS 105 Dual Range, com sensibilidade 0,01mg. A perda de massa percentual foi calculada de acordo com a Equação 6.

$$R (\%) = \frac{M_0 - M_t}{M_0} \times 100 \quad (6)$$

Sendo:  $M_0$  a massa do filme antes da biodegradação;  $M_t$  a massa do filme após período  $t$  de biodegradação e  $R$  a redução percentual.

#### 3.4.2 Avaliação Visual

A avaliação visual dos filmes foi feita inicialmente por microscopia ótica para identificação de rachaduras, e posteriormente por fotografia para verificação de manchas características da ação microbiana. O microscópio utilizado foi o LEICA DM 750, com acessório ICC 50 para transmissão de imagem digital juntamente com o software LEICA EZ.

#### 3.4.3 Espectroscopia por Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As caracterizações por FTIR foram realizadas com um espectrômetro SHIMADZU IR TRACER 100, com acessório de refletância total atenuada (ATR). Os filmes após a degradação foram lidos 24h após a retirada do solo. As medidas foram realizadas em um

ponto para cada filme retirado do solo. A faixa de leitura foi de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Os espectros obtidos foram a média de 45 medidas com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Calculou-se o Índice de Carbonila (IC) de acordo com a equação 7.

$$IC = \frac{Abs_{C=O}}{Abs_{C-H}} \quad (7)$$

Sendo IC o índice de carbonila,  $Abs_{C=O}$  a absorbância do pico da carbonila, 1715  $\text{cm}^{-1}$  e  $Abs_{C-H}$  a absorbância do pico C-H escolhido como de referência, 1453  $\text{cm}^{-1}$  (PALSIKOSKI *et al*, 2018).

Calculou-se também o Índice de Hidroxila (IH) de acordo com a Equação 8 (FECHINE *et al*, 2009).

$$IH = \frac{Abs_{O-H}}{Abs_{C-H}} \quad (8)$$

Sendo IH o índice de hidroxila,  $Abs_{O-H}$  a absorbância do pico da hidroxila, 3310  $\text{cm}^{-1}$  (LARKIN, 2011) e  $Abs_{C-H}$  a absorbância do pico C-H escolhido como de referência, 1453  $\text{cm}^{-1}$

#### 3.4.4 Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica foi realizada em equipamento METTLER TOLEDO TGA 2 Star System. O teste se procedeu sob uma atmosfera de  $\text{N}_2$  com vazão de 50 mL/min. A rampa de aquecimento foi de 30 a 600  $^{\circ}\text{C}$  com taxa de aquecimento de 10  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . Utilizou-se aproximadamente 5 mg de filme em cadinhos de alumina de 70  $\mu\text{L}$ . Utilizou-se o software que comanda o programa (STAR<sup>e</sup>, METTLER TOLEDO) para retirada dos dados. Gráficos foram plotados no Origin 8.5 Pro (versão de testes). A amostra utilizada foi uma mistura de retalhos dos três filmes tirados do solo.

Calculou-se a Energia de Ativação da reação de degradação de acordo com a Método de Broido (BROIDO, 1969).

#### 3.4.5 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial foi realizada em equipamento METTLER TOLEDO DSC 1 Star System. A primeira rampa de aquecimento ocorreu a 30  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  de 0

a 200 °C. O resfriamento foi realizado a 10 °C/min de 200 a 0 °C. O segundo aquecimento foi, novamente, de 0 a 200 °C a uma taxa de 10 °C/min. Todas as rampas aconteceram sob atmosfera de N<sub>2</sub> com vazão de 50 mL/min. Utilizou-se o software que comanda o programa (STAR<sup>®</sup>, METTLER TOLEDO) para retirada dos dados. Gráficos foram plotados no Origin 8.5 Pro (versão de testes). A amostra utilizada foi uma mistura de retalhos dos três filmes tirados do solo.

A cristalinidade relativa foi calculada de acordo com a Equação 5, previamente descrita.

#### **3.4.6 Relaxometria de RMN**

A relaxometria de RMN foi realizada em equipamento Minispec mq60, marca BRUKER, operando a 60 MHz. Foram realizadas leituras dos tempos de relaxação transversal, T<sub>2</sub>, para cada amostra. Os parâmetros utilizados nessa análise foram 64 varreduras, temperatura de 37 °C,  $\tau$  de 0,04  $\mu$ s, número de ecos de 100. O ganho foi ajustado para cada amostra pelo software do equipamento. A amostra utilizada foi uma mistura de retalhos dos três filmes tirados do solo.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo, os resultados referentes às metodologias descritas no capítulo 3 são descritos e discutidos.

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES ANTIMICROBIANOS

Esta seção se destina aos resultados referentes aos filmes antimicrobianos desenvolvidos antes de passarem pelo processo de biodegradação.

#### 4.1.1 Propriedades Mecânicas

A partir dos dados adquiridos, foi possível calcular os resultados como a média das medidas e desvio padrão correspondente. Esses resultados estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Resistência à tração, módulo de elasticidade e alongação na ruptura para filmes de PBAT puro e aditivado com óleo essencial de cravo e canela.

Concentração	Resistência à Tração (MPa)	Módulo de Elasticidade (MPa)	Elongação na Ruptura (%)
Puro	9,31 <sup>a</sup> ± 0,34	48,53 <sup>a</sup> ± 1,89	340,10 <sup>a</sup> ± 35,92
2% (m/m) canela	8,43 <sup>b</sup> ± 0,21	42,37 <sup>a</sup> ± 4,48	278,60 <sup>a,b</sup> ± 50,07
4% (m/m) canela	5,68 <sup>c</sup> ± 0,53	29,04 <sup>b,c</sup> ± 3,45	137,50 <sup>c</sup> ± 11,20
8% (m/m) canela	5,83 <sup>c</sup> ± 0,13	25,46 <sup>c</sup> ± 4,29	141,18 <sup>c</sup> ± 13,63
2% (m/m) cravo	9,17 <sup>a</sup> ± 0,41	41,37 <sup>a</sup> ± 4,35	309,87 <sup>a,b</sup> ± 22,65
4% (m/m) cravo	8,01 <sup>b</sup> ± 0,19	32,11 <sup>b</sup> ± 5,18	261,67 <sup>b</sup> ± 48,37
8% (m/m) cravo	6,28 <sup>c</sup> ± 0,42	28,61 <sup>b,c</sup> ± 4,48	169,07 <sup>c</sup> ± 36,31

Fonte: Autor

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as concentrações de acordo com o teste de Duncan ( $p < 0,05$ ).

Pode ser observado que os valores para todas as propriedades estudadas variaram significativamente ( $p < 0,05$ ) com o aumento da concentração de óleo. De acordo com Andrade et al (2018) e Hosseini et al (2015), o módulo de elasticidade e Resistência à Tração

podem diminuir simultaneamente devido ao deslizamento molecular. Uma causa possível para esse evento é a presença de pequenas moléculas voláteis na matriz polimérica (SWAIN et al, 2004), como o eugenol e o cinamaldeído, componentes principais dos óleos essenciais de cravo e canela, respectivamente.

A resistência à tração mostra a tensão máxima que um filme pode aguentar antes de se deformar permanentemente e posteriormente romper. Portanto, é preferível que um filme tenha uma menor concentração de óleo porque tal tensão diminui significativamente para qualquer concentração de óleo de canela maior ou igual a 2% ou de cravo maior ou igual a 4%. Também pode ser observado que a tensão continua a diminuir quando a concentração de óleo aumenta, atingindo o menor valor para concentrações de óleo maiores que 4% para a canela e 8% para o cravo.

O módulo de elasticidade tem um comportamento similar ao da tensão na força máxima, com exceção de que a queda significativa nessa propriedade só é observada para concentrações maiores ou iguais a 4% para ambos os casos.

Para a elongação na ruptura, filmes com 2% de ambos os óleos não apresentaram mudança significativa nesta propriedade quando comparados com o filme puro. Os filmes feitos com 4% e 8% de óleo de canela e 8% cravo apresentaram a mesma elongação na ruptura, estatisticamente. O filme com 4% cravo apresentou elongação similar aos filmes de 2%, mas diferente do filme puro.

Andrade *et al* (2018), quando estudaram embalagens ativas de PBAT com óleo essencial de laranja, obtiveram resultados similares nas propriedades mecânicas. Rojas-Graü *et al* (2007) encontraram comportamentos similares na tensão na força máxima e módulo de elasticidade em filmes com óleo de canela, porém, comportamento diferente para a elongação na ruptura. Pesquisadores estudando filmes com diversos polímeros aditivados com óleos essenciais também encontraram uma tendência de diminuição na elongação na ruptura, e isso pode ser devido à formação de espaços livres intermoleculares dentro da cadeia polimérica, diminuindo a interação molecular entre monômeros. Essa diminuição das interações intermoleculares pode estar acontecendo com a adição dos óleos essenciais estudados (ANDRADE et al, 2018; CARDOSO et al, 2017; MARTUCCI et al, 2015; KIMURA et al, 2016).



#### 4.1.2 Atividade Antimicrobiana

Os raios dos halos de inibição foram medidos e os resultados encontrados estão reportados na Tabela 6. Os valores são as médias seguidas dos desvios padrões.

Tabela 6 - Medida dos raios dos halos de inibição contra os microrganismos *E. coli* e *S. aureus* para todos os filmes desenvolvidos.

Concentração de Óleo	Raio do Halo de Inibição (mm)			
	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
	Cravo	Canela	Cravo	Canela
Filme Puro (0%)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Filme 2 %	0 ± 0	11,0 ± 1,4	0 ± 0	13,5 ± 0,7
Filme 4 %	0 ± 0	8,5 ± 0,7	0 ± 0	13,0 ± 2,8
Filme 8 %	0,5 ± 0,7	9,5 ± 0,7	11,0 ± 1,4	15,0 ± 2,8
Óleo Puro (100%)	6,5 ± 2,1	21,5 ± 0,7	10,0 ± 0	Inibição Total (>50)

Fonte: O autor, 2020

É possível observar que ambos os óleos têm atividade antimicrobiana, como mostrado na linha Óleo Puro (100%) do teste de disco-difusão, enquanto o polímero puro não mostrou nenhuma atividade. Em cada experimento, a significância de cada fator foi calculada. Foi observado que para o experimento com *E. coli*, apenas o tipo de óleo é significativo, e o melhor óleo foi o de canela. Para a bactéria *S. aureus*, o tipo do óleo, a concentração e a interação entre os fatores são significativas ( $p < 0,05$ ). Para o experimento com *S. aureus*, há um aumento no tamanho do halo quando o tipo de óleo é mudado de cravo para canela. Quando comparando a mudança na concentração, de 2 para 8%, há um aumento maior para o óleo de cravo (11 mm) que para o óleo de canela (1,5 mm). O ponto central foi utilizado para verificar que há uma curvatura no modelo, mas como ela é negativa, a melhor combinação de fatores se encontra nas extremidades do intervalo. Embora a interpretação do tamanho do halo de inibição dependa de resultados previamente publicados por uma organização de elaboração de padrões para cada droga testada, o tamanho do halo é inversamente proporcional ao logaritmo da concentração mínima inibitória (JORGENSEN e TURNIDGE, 2007). Assim, é perceptível que os filmes com óleo de canela são promissores

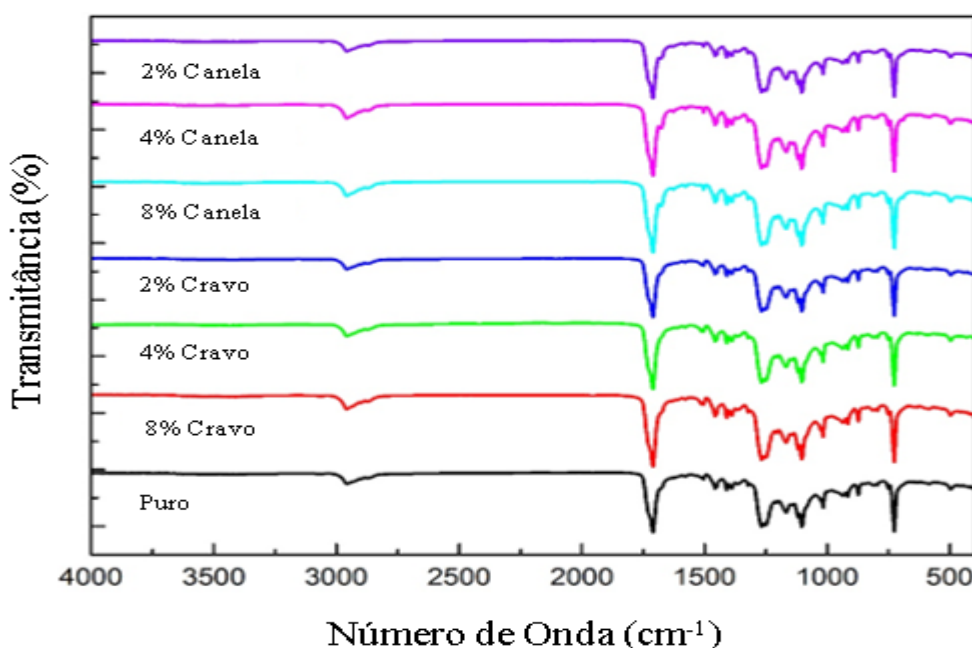
para uma melhor embalagem ativa com propriedades antimicrobianas. Wen *et al* (2016) quando trabalhando com óleos essenciais de cravo e canela incorporados em acetato de polivinila (PVA) encontraram resultados similares.

Pareando os resultados das propriedades mecânicas com a atividade antimicrobiana, pode-se afirmar que os filmes com cravo não formam um candidato ideal para embalagem, pois a única formulação que apresentou atividade antimicrobiana (8%) apresentou propriedades mecânicas inferiores às das formulações com menores quantidades de óleo. É possível perceber que o filme 2% óleo de canela/PBAT é a melhor formulação para embalagem antimicrobiana porque nessa formulação, há propriedades mecânicas próximas ao PBAT puro e uma atividade antimicrobiana satisfatória tanto para bactérias *E. coli* quanto para *S. aureus*.

#### 4.1.3 Espectroscopia por Infravermelho com Transformada de Fourier

A Figura 7 mostra o espectro FTIR para cada concentração de filme.

Figura 7 - Espectros FTIR para filmes de 2, 4, 8% Óleo Essencial de Cravo/PBAT e Óleo Essencial de Canela/PBAT, e PBAT puro

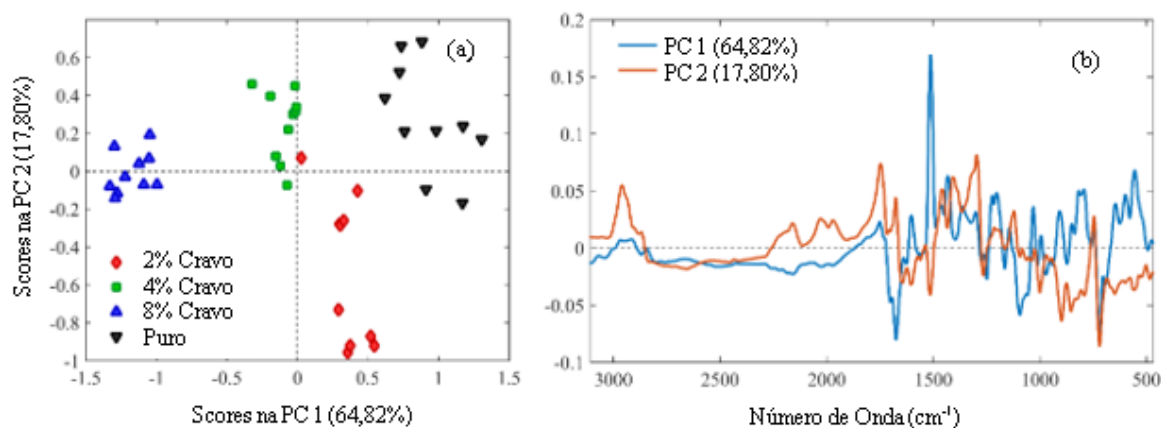


Fonte: O autor, 2020

Na Figura 7, é observável que todos os espectros têm comportamento similar. É difícil identificar mudanças nas bandas espectrais que diferenciem os grupos das estruturas químicas do PBAT e dos óleos nos espectros. Entretanto, os picos que são usualmente identificáveis no espectro do PBAT foram encontrados. O pico em torno de  $2956\text{ cm}^{-1}$  é devido a rotação do  $-\text{CH}_2-$ ;  $1710\text{ cm}^{-1}$  devido ao estiramento do  $-\text{C}=\text{O}$ ;  $1458\text{ cm}^{-1}$  devido à deformação angular do  $-\text{CH}_3$ ;  $1267$ ,  $1166$ ,  $1118$  e  $1104\text{ cm}^{-1}$  devido ao estiramento do  $-\text{C}-\text{O}-$ ;  $727\text{ cm}^{-1}$  devido a rotação do  $-\text{CH}_2-$  (SIRISINHA e SOMBOON, 2012).

Uma análise de componentes principais (PCA) foi feita para verificar se é possível identificar alguma informação não perceptível visualmente nos espectros. Para minimizar efeitos do espalhamento e do ruído, o intervalo selecionado foi de  $490 - 3100\text{ cm}^{-1}$  para os filmes com cravo e  $600 - 3100\text{ cm}^{-1}$  para os filmes de canela, e os dados foram pré-tratados por suavização usando filtros Savitsky-Golay (janela de 21 pontos, polinômio de segunda ordem), Variável Normal Padrão (SNV), e centrado na média. A Figura 8 mostra os *scores* e os *loadings* do PCA para filmes de PBAT puro e aditivados com óleo essencial de cravo.

Figura 8 - *Scores* da PCA para os filmes de PBAT puro e com 2, 4 e 8% de cravo (a), e os *loadings* correspondentes (b).



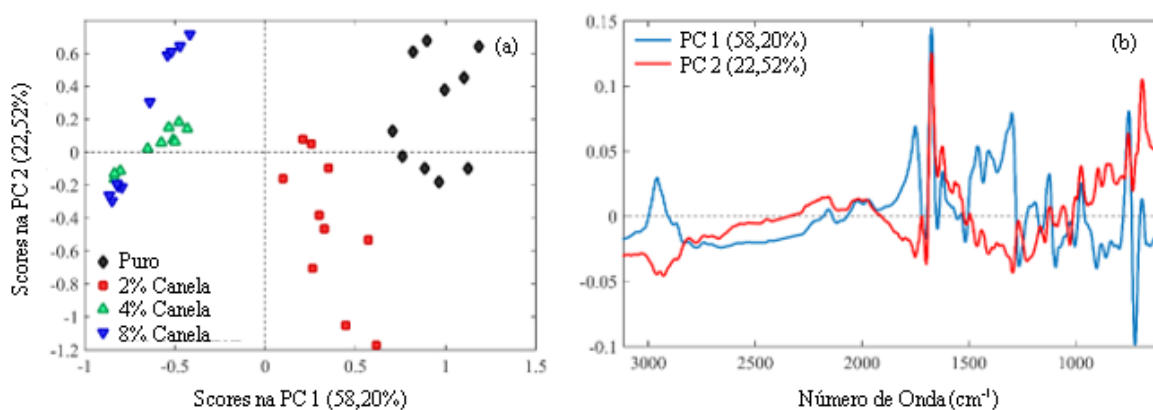
Fonte: O autor, 2020

Através da Figura 8(a), percebe-se que a PC1 mostra a separação dos filmes em três grupos: puros, 2 e 4% em um único grupo e 8% cravo. Também é possível observar na PC2 que há uma tendência de separação dos filmes 2% de todos os outros, embora não tenha sido possível a completa separação. A PCA encontrou combinações lineares dos diferentes números de onda no espectro de tal forma que foi possível observar a formação de grupos que correspondem às diferentes formulações. Filmes 2 e 4% foram agrupados próximos

devido às concentrações de óleo serem mais próximas. A PC1 conseguiu explicar 64,82% da variabilidade amostral e a segunda explicou outros 17,80%. Da Figura 2 (b), pode ser visto que os picos mais notáveis que contribuem para essa variância são 1645, 1514, 1263, e 727 $\text{cm}^{-1}$  na PC1, sendo o principal responsável por essa separação o pico em 1514  $\text{cm}^{-1}$ , e 2956, 1712, 1514 e 727  $\text{cm}^{-1}$  na PC2. Os números de onda 2956, 1712, 1263, e 727 $\text{cm}^{-1}$  correspondem aos estiramento  $-\text{CH}_2-$ , estiramento  $\text{C}=\text{O}$ , estiramento  $-\text{C}-\text{O}-$  e rotação  $-\text{CH}_2-$  do PBAT, respectivamente (SIRISINHA e SOMBOON, 2012; KIJCHAVENGKUL, AURAS e RUBINO, 2008), enquanto os picos 1645 e 1514 correspondem ao anel aromático do eugenol (MULLA *et al*, 2017).

A Figura 9 mostra os *scores* e os *loadings* do PCA para filmes de PBAT puro e aditivados com óleo essencial de canela.

Figura 9: Scores da PCA para os filmes de PBAT puro e com 2, 4 e 8% de canela (a), e os loadings correspondentes (b).



Fonte: O autor, 2020

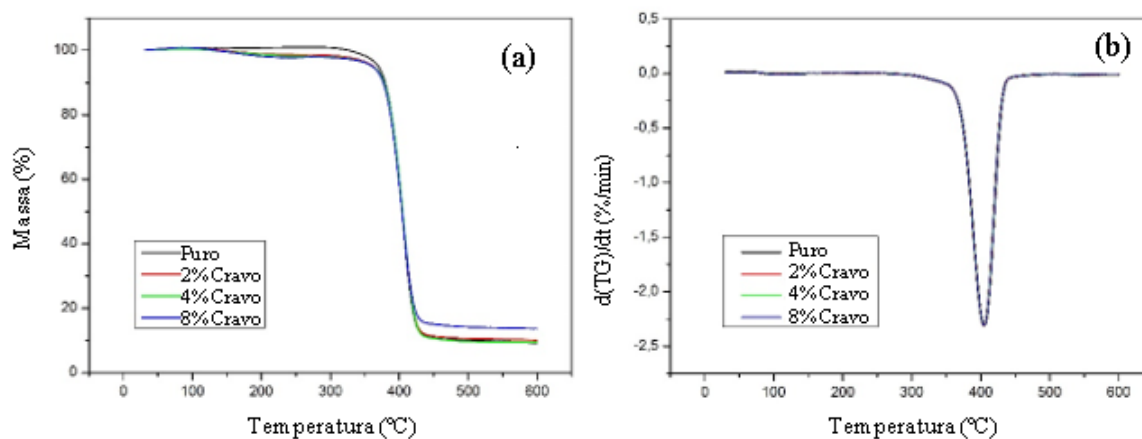
Da Figura 9 (a) pode ser observado que PC1 é capaz de mostrar a separação dos filmes em três grupos: PBAT puro, filmes 2% canela e as demais formulações próximas. PC2 não foi capaz de mostrar separação dos filmes 4 e 8%, que parecem ocupar a mesma região do sistema de coordenadas criado. A PC1 explicou 58,20% e a PC 2 explicou 22,52% da variabilidade da amostra. A Figura 9 (b) mostra que os números de onda que mais contribuem para tal variabilidade são 2956, 1712, 1674, 777 e 727  $\text{cm}^{-1}$  para a PC1. Para a PC2, eles são 2956, 1728, 1674, 1298, 777, e 700  $\text{cm}^{-1}$ . As novas informações estão contidas nos picos em 1728, 1298, 777, e 700, que vem do estiramento do  $\text{H}-\text{C}=\text{O}$  do cinamaldeído, balanço do -

CH<sub>2</sub>, vibração do =CH do anel benzênico e a vibração do C=C, respectivamente, sendo o pico em 1728 o mais importante para a separação exibida na PC1 (LI, KONG e WU, 2013).

#### 4.1.4 Análise Termogravimétrica (TGA)

Os gráficos da análise termogravimétrica (TGA) e a sua derivada (dTGA) podem ser vistos nas Figuras 10 e 11 para as formulações Óleo Essencial de Cravo/PBAT e Óleo Essencial de Canela/PBAT, respectivamente.

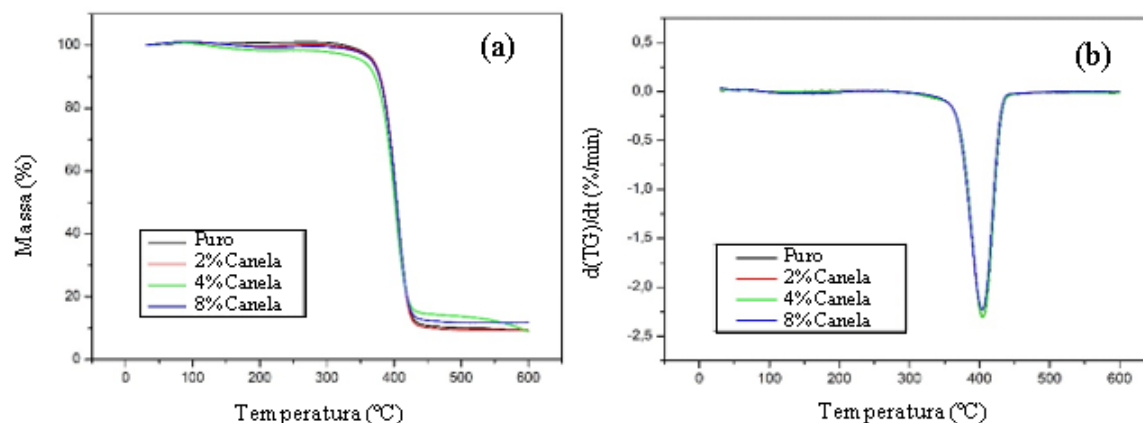
Figura 10 - Curvas termogravimétricas: (a) TGA e (b) dTGA dos filmes 2, 4, e 8% Óleo Essencial de Cravo/PBAT e Filmes de PBAT puro.



Fonte: Autor

Pode ser observado da Figura 10 (a) que a degradação aconteceu em apenas um estágio para todos os filmes e que essa degradação se mostrou abrupta nas condições estudadas. A presença do óleo não alterou a temperatura de degradação dos filmes em questão, pois todos eles se comportaram similarmente, dada a Figura 10 (b).

Figura 11 - Curvas termogravimétricas: (a) TGA e (b) dTGA dos filmes 2, 4, e 8% Óleo Essencial de Canela/PBAT e Filmes de PBAT puro.



Fonte: O autor, 2020

Similarmente ao que foi observado para os filmes com cravo, a degradação dos filmes de canela, como mostrado na Figura 11 (a) aconteceu de forma brusca. A concentração de óleo não alterou a tendência das curvas: todos eles tiveram temperatura de máxima degradação próximas.

A Tabela 7 mostra dados importantes sobre a degradação térmica que podem ser obtidos a partir das curvas nas Figuras 10 e 11. Temperatura de início ( $T_{ONSET}$ ) e fim ( $T_{OFFSET}$ ) de degradação foram obtidas pela interseção das tangentes às curvas na respectiva região de interesse (Figuras 10 e 11 (a)). A temperatura de máxima degradação foi obtida lendo o pico obtido nas Figuras 10 e 11 (b).

Tabela 7 - Resíduo, temperaturas no começo, no pico e no fim da degradação térmica e energia de ativação para a análise termogravimétrica.

Concentração	$T_{ONSET}$ (°C)	$T_{OFFSET}$ (°C)	Energia de Ativação (kJ/mol)	T Máx. Degradação (°C)	Resíduo (%)
Puro	382,61	421,44	310,78	404,00	9,20
2 % (m/m) canela	382,32	421,34	308,68	403,67	9,34
4 % (m/m) canela	379,70	417,68	287,16	401,33	8,97
8 % (m/m) canela	382,10	420,36	304,95	403,17	11,83
2 % (m/m) cravo	383,15	422,09	290,47	405,50	10,11
4 % (m/m) cravo	383,10	422,95	288,54	405,50	9,40
8 % (m/m) cravo	381,96	421,10	285,83	403,33	13,64

Fonte: O autor, 2020

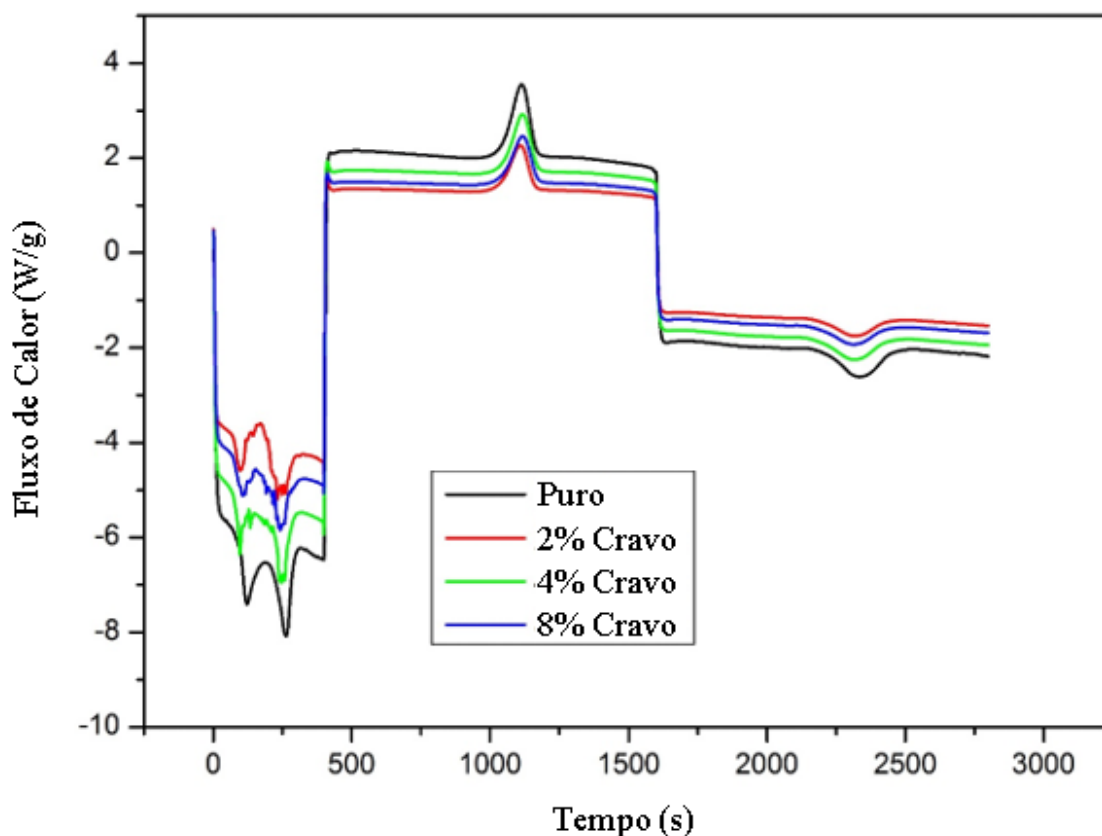
Os dados foram obtidos com os mesmos valores das variáveis estudadas nos outros testes para obter o máximo de informação possível do espaço amostral, embora nenhuma replicata tenha sido feita. Pode ser dito que a degradação começou em torno de 382 °C e terminou em torno de 421 °C, para a maior parte das concentrações. A máxima taxa de degradação foi obtida em torno de 404 °C. Uma exceção para esse comportamento geral foi encontrada no filme contendo 4% de canela, que começou a se degradar a 379 °C, alcançando pico de degradação a 401 °C e se encerrou a 417 °C. O resíduo variou de 9 a 13%. Quanto a energia de ativação, observa-se que é necessário menos energia para que a degradação ocorra quanto mais óleo essencial há na composição do filme. Foge à essa tendência, novamente, o filme de 4% óleo essencial de canela, para o qual se obteve valor menor que para o de 8%.

Ibrahim *et al* (2010) encontraram dois estágios de degradação térmica. Um que coincide com o encontrado nesse trabalho, o que ele atribui a degradação da parte alifática do PBAT, e outro estágio que vai de 520 a 600 °C, que ele atribui a degradação da parte aromática. Entretanto, diversos outros autores estudando o PBAT também encontraram apenas um estágio de degradação, de 350 a 430 °C (ANDRADE *et al*, 2018; FUKUSHIMA *et al*, 2012; MOHANTY e NAYAK, 2012). A quantidade de estágios na degradação pode estar ligada à quantidade de cada monômero no polímero, sendo aqueles com mais unidades alifáticas degradados em um único estágio.

#### **4.1.5 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)**

Figuras 12 e 13 apresentam gráficos do fluxo de calor como função do tempo para os filmes puro e de Óleo Essencial de Cravo/PBAT, e puro e Óleo Essencial de Canela/PBAT, respectivamente.

Figura 12 - Curva DSC para filmes 2, 4, e 8% Óleo Essencial de Cravo/PBAT e PBAT puro.

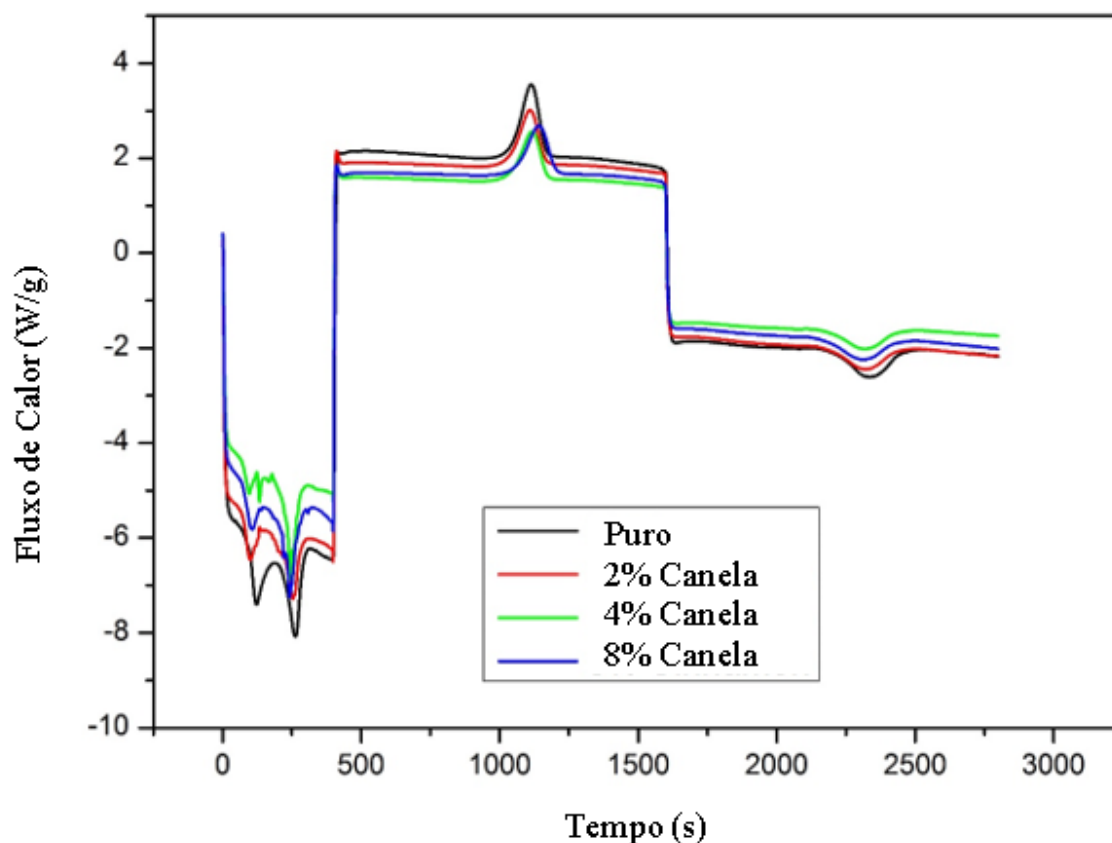


Fonte: O autor, 2020

A primeira rampa de aquecimento foi até 200 °C (ou 400 segundos) para que a história térmica do polímero pudesse ser desprezada e não interferisse no experimento. Nenhum dado foi calculado a partir desta rampa. Para a rampa de resfriamento e para o segundo aquecimento, pode ser observado nas Figuras 12 e 13 que todas as concentrações de óleo essencial formaram picos de cristalização e fusão na mesma região, sem deslocamento, com exceção do pico de cristalização para o filme 8% Óleo Essencial de Canela/PBAT.



Figura 13 - Curva DSC para filmes 2, 4, e 8% Óleo Essencial de Canela/PBAT e PBAT puro.



Fonte: O autor, 2020

A Tabela 8 resume as informações importantes que podem ser obtidas através das curvas nas Figuras 12 e 13. Novamente, os dados foram obtidos no mesmo intervalo das variáveis para otimizar a coleta de informações dentre as formulações estudadas, apesar da ausência de replicatas.

Com exceção do filme feito com 8% Óleo Essencial de Canela, nenhuma das outras formulações alterou os parâmetros estudados em um valor apreciável. Ainda assim, a alteração em dita concentração se apresentou apenas na temperatura de cristalização. É perceptível que para todos os filmes, de uma forma geral, a temperatura de cristalização ficou em torno de 80 °C, a temperatura de fusão, próximo de 119 °C, o percentual de cristalinidade encontrado ficou em torno de 12%, a entalpia de cristalização foi de 15 J/g, enquanto a de fusão foi de 11 J/g. Autores também encontraram que nenhuma ou pequenas mudanças acontecem quando óleo é adicionado ao PBAT (ANDRADE *et al*, 2018). Ainda, valores para a temperatura de fusão se encontram dentro do intervalo informado pelo fornecedor, que é de 110 a 120 °C (BASF, 2013). Esses resultados sugerem que o PBAT é um polímero termicamente estável.

Tabela 8 - Temperatura de fusão ( $T_f$ ) e cristalização ( $T_c$ ), grau de cristalinidade ( $X_c$ ) e entalpia de fusão ( $\Delta H_f$ ) e cristalização ( $\Delta H_c$ ) para todos os filmes obtidos através de DSC.

Concentração	$T_c$ (°C)	$\Delta H_c$ (J/g)	$T_f$ (°C)	$\Delta H_f$ (J/g)	$X_c$ (%)
Puro	81,11	13,69	122,57	11,01	13,41
2 % (m/m) canela	81,60	15,29	119,91	11,39	11,81
4 % (m/m) canela	80,41	14,80	119,42	10,92	12,69
8 % (m/m) canela	76,25	16,92	118,08	12,52	12,31
2 % (m/m) cravo	81,74	13,11	119,10	10,13	12,21
4 % (m/m) cravo	80,43	16,28	119,08	11,39	12,29
8 % (m/m) cravo	80,58	17,16	118,26	10,50	10,67

Fonte: O autor, 2020

Kuwabara *et al* (2002) dizem que a baixa temperatura de fusão do PBAT, quando comparado a um de seus homopolímeros pode ser devido à sua estrutura cristalina, e os picos largos de fusão podem indicar que as regiões cristalinas do PBAT não são ordenadas nem rígidas, como confirmados em seus estudos de microscopia de força atômica, ressonância magnética nuclear de carbono em estado sólido e difração de raio-X.

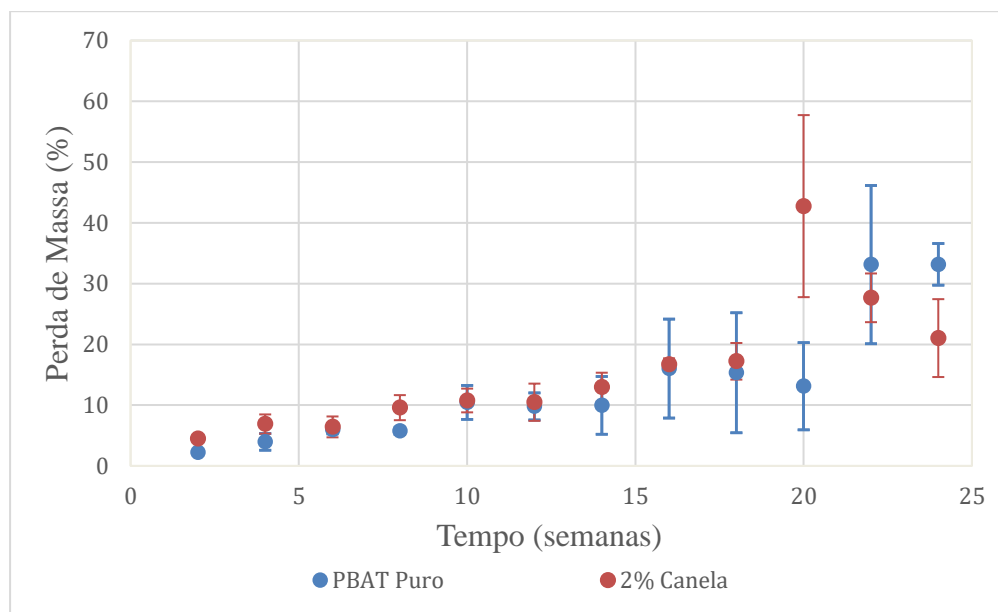
## 4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES BIODERADADOS

Esta seção se destina aos resultados obtidos após diferentes períodos de biodegradação. Dentre os filmes estudados na seção anterior, escolheu-se estudar a biodegradação dos filmes contendo 2% de óleo essencial de canela, devido as suas propriedades mecânicas serem próximas as do PBAT puro, ter boa estabilidade térmica e apresentar atividade antimicrobiana contra *E. coli* e *S. aureus*, e compará-la com a degradação do filme de PBAT puro.

### 4.2.1 Perda de Massa

A Figura 14 mostra a evolução da perda de massa dos filmes de PBAT puro e com 2% óleo essencial de canela ao longo de 24 semanas.

Figura 14 - Perda de massa e desvio padrão ao longo de 24 semanas para filmes de PBAT puro e filmes de PBAT com 2% de óleo essencial de canela.



Fonte: O autor, 2020

Pode-se observar que, inicialmente, a perda de massa dos filmes com óleo essencial é mais acentuada. Isso pode ser devido à migração do óleo para o meio ao seu redor. À medida que o tempo de biodegradação aumenta, essa diferença se torna menor e a variabilidade do resultado aumenta devido à fragmentação do filme. O alto desvio padrão, que pode ser encontrado nos pontos a partir da 14ª semana na Figura 14, se deve à dificuldade da completa remoção dos fragmentos do solo. Ao final do ensaio, 168 dias dos filmes enterrados no solo, os filmes puros apresentaram uma perda de massa de 33%, enquanto os filmes aditivados apresentaram perda de 21%. Entretanto, dado o desvio padrão das amostras, não se pode afirmar que essa diferença seja significativa. Percebe-se assim, que o PBAT é susceptível ao ataque microbiano e que a adição de um óleo essencial com efeito bactericida não retarda a perda de massa do polímero quando no solo, nas condições estudadas.

Outros autores, quando estudando a biodegradação do PBAT em diversas condições, também obtiveram resultados positivos quanto ao processo de biodegradação. Wang *et al* (2015) encontraram uma redução de 2,7% da massa do filme após 3 meses em condições reais de solo. Falcão *et al* (2018) observaram perda de massa de 49 a 62% após o envelhecimento dos filmes com radiação UV, em torno de 5 semanas. Souza *et al* (2019) obtiveram uma mineralização de 18% dos filmes de PBAT após 182 dias em solo. Em condições de compostagem, Kijchavengkul *et al* (2010) calcularam a mineralização de seus

filmes em torno de 60%. Vale salientar que diferentemente da perda de massa, a mineralização leva em consideração apenas a quantidade de polímero que foi transformada em CO<sub>2</sub>, e pode diferir da perda de massa, que leva em conta também matéria que foi assimilada para o crescimento microbiano ou que não pode ser recuperada devido ao tamanho do fragmento ou migração de moléculas hidrolisadas para o solo.

Além da variabilidade explicada nos parágrafos precedentes, a Tabela 9 apresenta a população microbiana que vizinhoou cada amostra no momento da retirada do solo. A população microbiana também tem efeito na redução da massa, visto que uma quantidade diferente de microrganismos atua sobre os filmes enterrados em solo. Consequentemente, diferentes quantidades de enzimas e taxas de consumo dos monômeros são esperadas (ONG e SUDESH, 2016; ADHIKARI *et al*, 2016).

Como todo o solo foi peneirado junto antes da separação das porções nas quais cada amostra foi enterrada, observa-se uma certa similaridade na ordem de grandeza do número de unidades formadoras de colônia (UFC) duas semanas após o início do teste. Diferenças no número exato UFC são esperadas, pois não se pode desprezar a variação micro espacial da microbiota do solo (MERCIER *et al*, 2017).

Como não houve influência externa, a água de reposição utilizada foi destilada e o solo utilizado continha apenas a microbiota natural, a variabilidade do número de microrganismos presentes no solo que circundou o filme com o passar do tempo provavelmente se deve à limitação dos microrganismos ao acesso às fontes de carbono. Wardle (1992) relata que fontes de carbono mais complexas provocam uma resposta lenta no crescimento microbiano em solo e que há dependência do crescimento com a quantidade de carbono disponível no solo. Ele ainda relata que os ciclos de umedecimento e secagem do solo provocam alterações na quantidade de biomassa microbiana.

Tabela 9 - População microbiana do solo que vizinhou os filmes retirados em cada tempo do processo de biodegradação.

Tempo de Biodegradação (semanas)	UFC/g x 10 <sup>-3</sup>					
	2% Óleo Essencial de Canela			PBAT Puro		
	Bactérias	Fungos	Bacilos Esporulantes	Bactérias	Fungos	Bacilos Esporulantes
2	7167	17	8	4167	4	19
4	1767	12	4	807	7	5
6	1047	15	20	273	10	2
8	228	287	10	7100	2	17
10	3867	17	8	1397	9	12
12	1267	8	8	1690	2	21
14	1163	4	21	1093	2	23
16	5633	24	14	1030	3	16
18	1557	8	4	1727	6	17
20	5533	20	6	943	9	13
22	1267	16	5	497	5	8
24	4867	23	9	553	6	7

Fonte: Autor

Fanin *et al* (2019) dizem em seu estudo que solos com fontes de carbono frescas e disponíveis favorecem o crescimento de microrganismos copiotróficos, que têm taxa de reprodução e renovação altas. Já solos com fontes de carbono menos acessíveis favorecem o crescimento de comunidades microbianas oligotróficas, que possuem menor atividade enzimática, taxa de respiração e menor biomassa. Dessa forma, no início, quando ainda havia grande parte das fontes de carbono acessíveis, a população microbiana era maior e renovada mais rapidamente que nas semanas seguintes, quando a fonte de carbono principal era o polímero, uma fonte de carbono complexa.

#### 4.2.2 Avaliação Visual

Bem como a redução da massa, a análise visual dos filmes é um importante fator para definir a susceptibilidade do material sendo testado ao ataque microbiano. A ASTM G160-

12 (2012) sugere que os filmes sejam classificados em uma escala de 0 a 4, sendo 0 - nenhuma mancha ou crescimento aparente; 1 - traços de atividade microbiana (10% da área coberta); 2 - atividade leve (10 a 30% da área); 3 - atividade moderada (30 a 60%); e 4 – atividade pesada (60 a 100%). Ainda segundo a norma, a susceptibilidade ao ataque microbiano pode ser determinada pela avaliação visual das amostras. Assim, como mais uma maneira de identificar o ataque microbiano ao filme, registrou-se fotografias ao longo do estudo de biodegradação. A Figura 15 apresenta a evolução do aspecto dos filmes estudados ao longo das 24 semanas.

Figura 15 - Aspecto macroscópico dos filmes de (a) 2% Óleo Essencial de Canela/PBAT e (b) PBAT puro após período de biodegradação. Da esquerda para a direita, os tempos de biodegradação são de: 4, 8, 12, 16, 20 e 24 semanas.

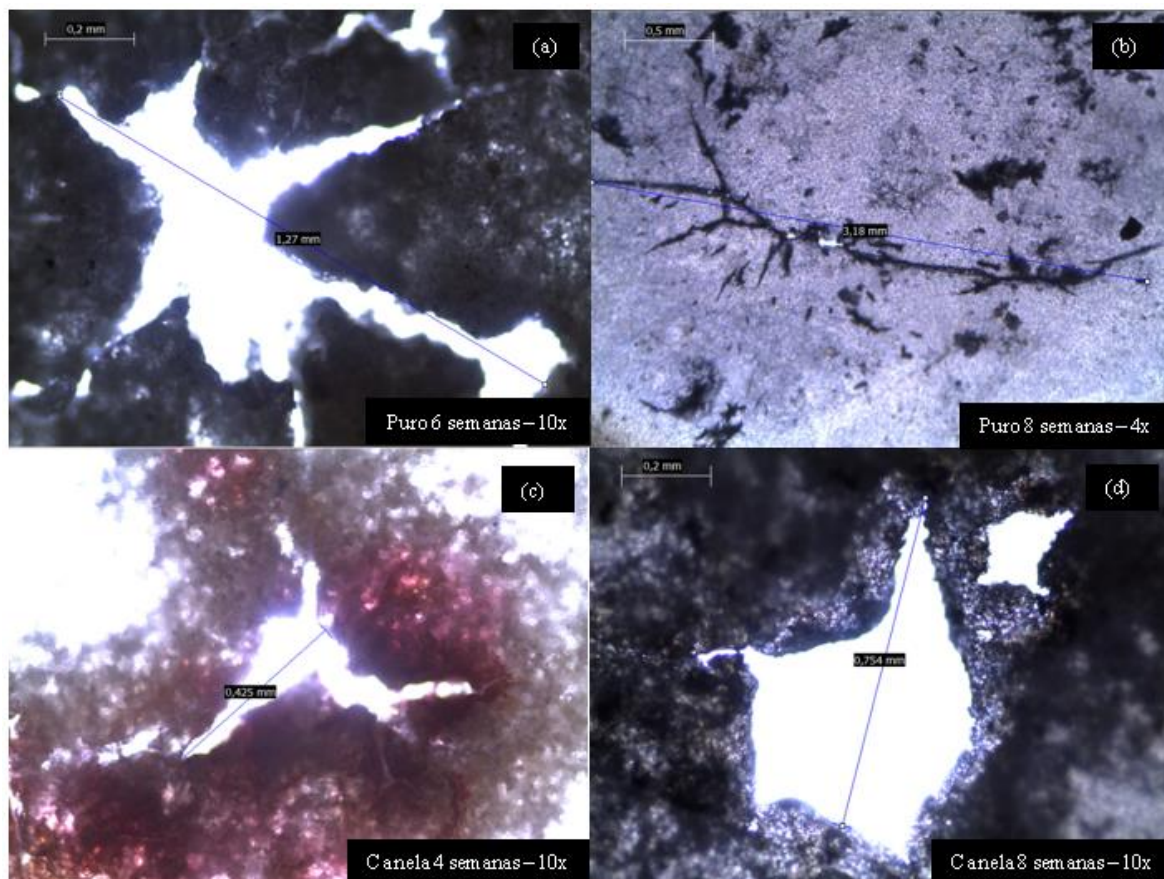


Fonte: O autor, 2020

É fácil observar, pela Figura 15 (a), que os filmes contendo óleo de canela sofrem atividade microbiana moderada nas 8 primeiras semanas enterrados, e a partir daí sofrem atividade pesada. O mesmo comportamento se observa na Figura 15 (b). Pode-se afirmar que o filme estudado é susceptível ao ataque microbiano.

Em estágios mais avançados, é possível observar imperfeições no filme a olho nu. A partir da 12ª semana furos e rachaduras se tornam notáveis no filme, não sendo mais necessária a ajuda do microscópio para enxergá-los. Antes disso, porém, já era possível observar microfuros e microfissuras no filme com a ajuda da microscopia ótica. A Figura 16 ilustra alguns desses fenômenos.

Figura 16 - Fissuras observadas através do microscópio. (a) 1,27 mm após 6 semanas de biodegradação - PBAT puro; (b) 3,18 mm após 8 semanas de biodegradação - PBAT puro; (c) 0,425 mm após 4 semanas de biodegradação - PBAT/canela; (d) 0,754 mm após 8 semanas de biodegradação - PBAT/canela.



Fonte: O autor, 2020

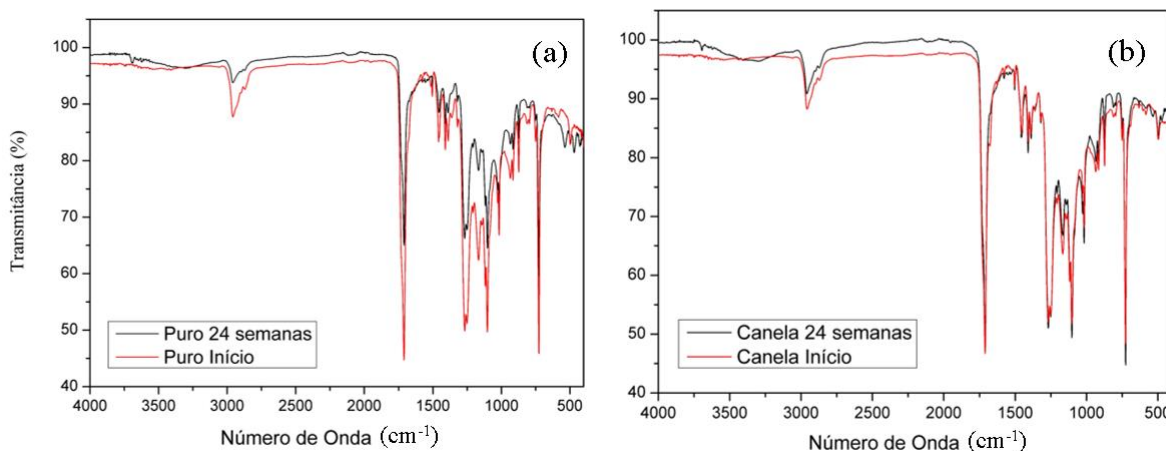
Como se pode observar através da microscopia na Figura 16, os filmes já apresentavam fissuras e furos de tamanhos pequenos, o que dificulta a apreciação a olho nu. Entretanto, apesar de apenas algumas microscopias estarem ilustradas na Figura 16, todos os filmes a partir da 4ª semana apresentavam falhas na sua integridade. Essas falhas se apresentavam distribuídas por toda a extensão do filme. A partir da 12ª semana, não foi mais necessário a utilização do microscópio para identificá-las.

#### 4.2.3 Espectroscopia por Infravermelho com Transformada de Fourier

A Figura 17 mostra os espectros no infravermelho das amostras estudadas no início e no fim do período de biodegradação.



Figura 17 - Espectros no infravermelho antes e após 24 semanas de biodegradação para filmes (a) PBAT puro; (b) 2% óleo essencial de canela.



Fonte: O autor, 2020

Observa-se, a partir da Figura 17 (a) e (b), que houve poucas mudanças no espectro, uma vez que as vibrações das ligações covalentes dos grupos estão presentes independente da degradação. Mas, há o aparecimento de uma banda na região da hidroxila ( $3200 - 3400 \text{ cm}^{-1}$ ) (LARKIN, 2011) e a variação na intensidade de alguns picos. Os picos característicos encontrados na primeira parte deste trabalho foram comparados com as amostras pós biodegradação, para verificar se houve deslocamento dos mesmos.

Não houve alteração significativa da posição das bandas de absorção no infravermelho. As pequenas mudanças que se encontram na região de  $1710$  e  $1458 \text{ cm}^{-1}$  são da ordem de  $2 \text{ cm}^{-1}$ , portanto, não podem ser consideradas, dada a resolução de  $4 \text{ cm}^{-1}$  do equipamento utilizado. Em estudo similar, Palsikowski *et al* (2018) e Weng *et al* (2013) também não detectaram alteração na banda de absorção do PBAT.

Dessa forma, para caracterizar a mudança na estrutura molecular do polímero, calculou-se os índices de carbonila e de hidroxila. Visto que a hidrólise do éster resulta em ácido carboxílico e álcool, uma mudança na quantidade desses compostos presentes deve ser observada. Assim, os índices calculados estão apresentados na Tabela 10.



Tabela 10 - Índice de carbonila e de hidroxila para os filmes PBAT puro e 2% óleo essencial de canela/PBAT após a biodegradação.

Tempo de Biodegradação (semanas)	PBAT puro		2% Óleo Essencial de canela	
	Índice de Carbonila	Índice de Hidroxila	Índice de Carbonila	Índice de Hidroxila
0	4,44	0,22	4,65	0,18
2	3,86	0,22	3,73	0,19
4	4,22	0,22	3,99	0,20
6	3,67	0,31	4,06	0,26
8	3,99	0,31	4,30	0,24
10	4,19	0,27	4,02	0,26
12	3,44	0,37	3,94	0,31
14	3,80	0,37	3,79	0,31
16	3,72	0,26	3,52	0,34
18	3,64	0,27	3,44	0,30
20	4,37	0,29	3,90	0,28
22	4,13	0,33	4,49	0,24
24	3,58	0,33	3,72	0,26

Fonte: O autor, 2020

Avaliando a evolução do índice de carbonila, observa-se que há oscilação quanto à quantidade de carbonila presente no material em estudo. O PBAT apresenta carbonila na sua cadeia principal. Desta forma, se o ataque microbiano hidrolisar as ligações tipo éster do polímero, seu número total de carbonila não mudará, mas haverá produção de álcool pela hidrólise (LUCAS, 2008). Porém, se a hidrólise ocorrer em uma outra ligação, haverá formação de novas carbonilas. Além disso, os ácidos carboxílicos formados na hidrólise, à medida que reduzem de tamanho, são assimilados pelos microrganismos ou migram para o solo, ocasionando a diminuição do referido índice (PANDEY e SINGH, 2001; SADI, FECHINE e DEMARQUETTE, 2013). Desta forma, dependendo do ambiente químico, da biota do solo e do estágio de degradação em que o material se encontra, pode haver aumento ou diminuição do índice de carbonila do material na biodegradação, enquanto um valor fixo pode indicar pouca alteração molecular. Souza *et al* (2019) encontraram redução no índice de carbonila após biodegradação. Palsikowski *et al* (2018) encontraram aumento em referido índice, também após biodegradação.

Avaliando o índice de hidroxila, percebe-se uma tendência sempre crescente. Como não há grupos hidroxila na molécula do PBAT, nem no cinamaldeído, o aumento no índice provavelmente indica a produção de álcoois pela hidrólise da ligação éster, ou ainda o grupo

OH do ácido carboxílico formado nessa quebra. Alguma variabilidade pode estar associada à migração para o solo ou consumo das moléculas produzidos pelos microrganismos degradadores. Quantidades apreciáveis de água não foram detectadas, visto que na análise termogravimétrica (discutida a seguir), não há perda de massa relacionada à evaporação da água.

#### 4.2.4 Análise Termogravimétrica (TGA)

Para facilitar a compreensão, as inúmeras curvas semelhantes obtidas nesses testes foram plotadas e estão exibidas no Apêndice A, nas Figuras A.1 e A.2. As informações que podem ser obtidas delas estão nas Tabelas 11 e 12.

Pode-se observar, na Tabela 11, que durante o processo de biodegradação, houve uma expansão na faixa de temperatura de degradação no PBAT, porém a temperatura de máxima degradação se manteve aproximadamente constante. A energia de ativação da reação de degradação oscilou, e no geral, apresentou pequena diminuição.

Para o caso dos filmes aditivados com óleo essencial de canela, na Tabela 12, também houve expansão do intervalo de degradação, porém este é um pouco maior, quando comparada com os filmes de PBAT puro biodegradados. Assim como também aconteceu com as outras amostras analisadas, a energia de ativação também oscilou ao longo do tempo, porém com decréscimo maior ao fim do experimento.

Tabela 11 - Resíduo, temperaturas no começo, no pico e no fim da degradação térmica e energia de ativação para a análise termogravimétrica dos filmes de PBAT puro em diferentes tempos de biodegradação.

<b>Tempo de Biodegradação (semanas)</b>	<b>TONSET (°C)</b>	<b>TOFFSET (°C)</b>	<b>Energia de Ativação (kJ/mol)</b>	<b>T Máx. Degradação (°C)</b>	<b>Resíduo (%)</b>
0	382,61	421,44	310,78	404,00	9,20
2	379,85	422,90	297,89	404,61	14,81
4	376,32	421,76	339,53	403,28	13,95
6	376,53	420,79	321,12	402,95	12,55
8	375,01	425,35	305,63	403,51	8,71
10	373,55	422,53	309,93	403,04	12,84

12	369,61	425,30	288,86	404,00	9,77
14	368,63	424,87	298,37	403,35	12,53
16	368,79	424,99	308,51	402,11	14,81
18	368,92	421,75	283,04	402,92	12,15

Fonte: O autor, 2020

A leve tendência negativa da energia de ativação sugere que haja uma diminuição da massa molecular das cadeias poliméricas, pois segundo Velásquez (1988) *apud* Araújo (2016), a diminuição da massa molecular acarreta redução na energia de ativação da degradação térmica. Além disso, Silva *et al* (2018) dizem em seu estudo que uma menor temperatura de início de degradação térmica pode ocorrer com polímeros de menor massa molecular, o que sugere que houve redução no tamanho das cadeias dos filmes estudados aqui após a biodegradação.

Tabela 12 - Resíduo, temperaturas no começo, no pico e no fim da degradação térmica para a análise termogravimétrica dos filmes de 2% óleo essencial de canela/PBAT em diferentes tempos de biodegradação.

<b>Tempo de Biodegradação (semanas)</b>	<b>T<sub>ONSET</sub> (°C)</b>	<b>T<sub>OFFSET</sub> (°C)</b>	<b>Energia de Ativação (kJ/mol)</b>	<b>T Máx. Degradação (°C)</b>	<b>Resíduo (%)</b>
0	382,32	421,34	308,68	403,67	9,34
2	374,96	424,22	310,74	406,35	11,25
4	374,65	423,64	342,06	405,48	14,61
6	375,29	421,45	300,58	404,21	8,14
8	374,67	424,69	300,45	403,55	11,35
10	370,81	421,92	299,96	402,73	10,48
12	371,16	421,65	314,07	402,27	13,21
14	371,91	422,08	304,96	401,67	13,82
16	374,63	422,83	286,92	402,25	12,33
18	371,10	424,06	273,34	403,33	8,90

Fonte: O autor, 2020

#### 4.2.5 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Assim como no TGA, o excesso de curvas semelhantes dificulta o entendimento dos gráficos, então os valores importantes foram sumarizados nas Tabelas 13 e 14. As curvas podem ser vistas no Apêndice B, nas Figuras B.1 e B.2.

Como se pode observar, há uma tendência crescente na temperatura de cristalização de todas as amostras estudadas. Isto é, o polímero degradado começa a cristalizar numa temperatura maior, quando se está no estado fundido e resfriando. Já para a temperatura de fusão, alterações só são perceptíveis para os filmes aditivados com canela. Há um aumento na temperatura de fusão de tais filmes. Para as outras propriedades estudadas, há oscilação, mas nenhuma tendência em aumentar ou diminuir.

Tabela 13 - Temperatura de fusão ( $T_f$ ) e cristalização ( $T_c$ ), grau de cristalinidade ( $X_c$ ) e entalpia de fusão ( $\Delta H_f$ ) e cristalização ( $\Delta H_c$ ) para filmes de PBAT puro ao longo do período de biodegradação obtidos através de DSC.

<b>Tempo de Biodegradação (semanas)</b>	<b><math>T_c</math> (°C)</b>	<b><math>\Delta H_c</math> (J/g)</b>	<b><math>T_f</math> (°C)</b>	<b><math>\Delta H_f</math> (J/g)</b>	<b><math>X_c</math> (%)</b>
0	81,11	13,69	122,57	11,01	13,41
2	82,63	15,39	121,94	10,96	13,50
4	83,14	14,64	121,68	11,30	12,84
6	87,63	15,22	124,15	11,12	13,36
8	86,69	15,48	122,94	12,12	13,58
10	90,70	12,66	125,48	10,63	11,10
12	87,35	14,09	123,38	10,91	12,36
14	87,84	14,82	123,62	11,71	13,00

Fonte: O autor, 2020

Tabela 14 - Temperatura de fusão ( $T_f$ ) e cristalização ( $T_c$ ), grau de cristalinidade ( $X_c$ ) e entalpia de fusão ( $\Delta H_f$ ) e cristalização ( $\Delta H_c$ ) para filmes de PBAT aditivados com 2% óleo essencial de canela ao longo do período de biodegradação obtidos através de DSC.

<b>Tempo de Biodegradação (semanas)</b>	<b><math>T_c</math> (°C)</b>	<b><math>\Delta H_c</math> (J/g)</b>	<b><math>T_f</math> (°C)</b>	<b><math>\Delta H_f</math> (J/g)</b>	<b><math>X_c</math> (%)</b>
0	81,60	15,29	119,91	11,39	11,81
2	82,17	12,73	123,24	9,37	11,16
4	81,41	17,32	122,91	13,76	15,19
6	86,37	13,82	123,11	12,01	12,12
8	85,46	14,10	122,92	11,53	12,37
10	92,15	15,74	126,15	10,71	13,81
12	91,40	13,15	125,09	10,06	11,54
14	92,17	12,28	126,20	9,97	10,77

Fonte: O autor, 2020

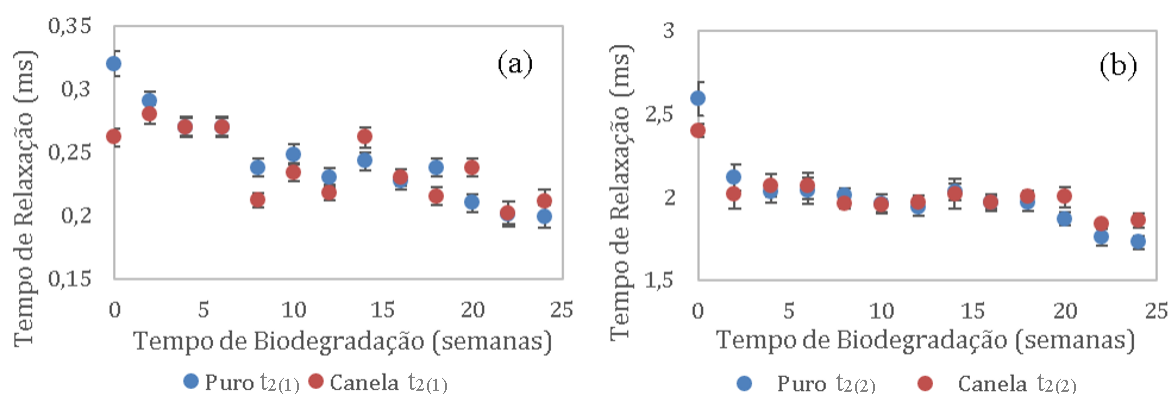
De acordo com Wang *et al* (2015), o ataque microbiano nas unidades BA do PBAT faz com que os cristais presentes no polímero sejam mais ordenados, visto que o PBAT forma estruturas cristalinas mistas de unidades BT e BA. Assim, esses cristais com mais unidades BT possuem maior temperatura de fusão. Entretanto, a pequena oscilação do grau de cristalinidade pode indicar que as regiões cristalinas também foram atacadas pelos microrganismos. Aumento na temperatura de fusão também foi reportado por Weng *et al* (2013) e Palsikowski *et al* (2018). Ren *et al* (2019) reportou aumento tanto na temperatura de cristalização quanto na de fusão quando estudando biodegradação do PBAT em lodo. Ainda no mesmo estudo, eles reportaram oscilação na cristalinidade do PBAT.

#### 4.2.6 Relaxometria de RMN

Utilizando-se de Ressonância Magnética Nuclear de campo baixo, é possível medir o tempo de relaxação dos spins nucleares. Existem dois tempos de relaxação que podem ser medidos, chamados  $T_1$  e  $T_2$ . Enquanto  $T_1$  mede o tempo de relaxação longitudinal,  $T_2$  mede o tempo de relaxação transversal. De modo geral, quanto menor o tempo de relaxação transversal, maior a mobilidade das cadeias do material estudado (SILVA *et al*, 2016, BRITO, SEBASTIÃO e TAVARES, 2015). Desta forma, avaliou-se os filmes biodegradados

por relaxometria, através de  $T_2$ . Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 18. Os filmes analisados apresentaram um decaimento biexponencial, evidenciando a existência de dois valores de  $T_2$  distintos, o que sugere a existência de dois domínios diferentes nos filmes.

Figura 18 - Tempos de relaxação e barras de erros correspondentes para os filmes após remoção do solo em diferentes tempos. (a) região mais móvel; (b) região menos móvel.



Fonte: Autor

Os tempos de relaxação obtidos como resultado desse experimento evidenciam a existência de uma região mais móvel, e uma outra região com menor mobilidade, ou compacta. Diversos estudos identificaram que regiões com maiores tempos de relaxação em polímeros são regiões cristalinas e as com menores tempos são amorfas (BRITO, SEBATIÃO e TAVARES, 2015; SANTOS e TAVARES, 2015; MONTEIRO *et al*, 2013). Além disso, observa-se na Figura 18 que os filmes antes de serem biodegradados tinham diferença significativa no tempo de relaxação, corroborando resultados dos efeitos do óleo essencial previamente discutidos nesse trabalho, ou seja, que há um aumento de mobilidade das cadeias quando se adiciona o óleo essencial.

Com o decorrer do processo de biodegradação, observa-se uma tendência na diminuição dos tempos de relaxação dos filmes de PBAT puro e dos aditivados com óleo essencial de canela em ambas as regiões do polímero. Logo na amostra retirada do solo com 2 semanas, observa-se que há uma aproximação dos tempos do filme puro e do filme aditivado. Isso pode se dar devido à migração do óleo para o solo, e então há uma diminuição da mobilidade das cadeias. Peters *et al* (2018) investigando o efeito do tamanho das cadeias na mobilidade molecular de polímeros encontrou que moléculas menores são significativamente mais móveis que moléculas maiores, e essa mobilidade aumenta ainda mais quanto mais dispersa é a distribuição de tamanho das cadeias. Dessa forma, entende-se

que havendo diminuição das cadeias poliméricas na biodegradação, a amostra deve se mostrar mais móvel, com conseqüente diminuição do tempo de relaxação  $T_2$ .  $T_2$  deve diminuir cada vez mais com o tempo de biodegradação, visto que há a formação de moléculas cada vez menores e aumenta-se a distribuição dos tamanhos das cadeias, sendo as mais próximas à superfície degradadas mais rapidamente. Como visto na Figura 18 (a) e (b), há aumento na mobilidade das cadeias nos dois domínios, indicando que há degradação em todo o filme.

## 5 CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi desenvolvido e caracterizado um filme com propriedades antimicrobianas para ser utilizado como embalagem ativa biodegradável. Para isso, testou-se a melhor formulação para aditivação do PBAT dentre os óleos essenciais de canela e cravo, nas concentrações de 2, 4 e 8%.

Encontrou-se que maiores quantidades de óleo alteravam significativamente as propriedades mecânicas do polímero estudado. O filme aditivado com canela necessitou de menos agente ativo para um bom desempenho antimicrobiano. Todos os filmes estudados se mostraram estáveis termicamente, e observou-se a incorporação dos óleos por espectroscopia por infravermelho com transformada de Fourier. Entendeu-se, a partir das caracterizações realizadas, que a melhor condição de trabalho é a de PBAT/2% óleo essencial de canela.

Desta forma, procederam-se os testes de biodegradação com o filme escolhido para avaliar a mudança de suas propriedades uma vez descartado. Foram enterradas no solo 12 triplicatas para o filme aditivado e 12 para os filmes de PBAT puro, para retirada de uma amostra em triplicata a cada 2 semanas. As propriedades foram comparadas com as propriedades iniciais do filme.

Observou-se perda de massa apreciável e sempre crescente ao longo das 24 semanas de estudo. Avaliação visual mostrou um filme susceptível ao ataque microbiano e filme cada vez mais manchado e deteriorado. Os espectros no infravermelho deram informação que houve mudança estrutural das cadeias poliméricas dos filmes em estudo. A análise térmica mostrou comportamento condizente com a diminuição da massa molecular do polímero. A ressonância magnética de campo baixo mostrou uma crescente mobilidade das cadeias de ambas as fases do polímero com o tempo de biodegradação.

Pôde-se afirmar que os filmes estudados são susceptíveis ao ataque microbiano e que podem ser biodegradados em solo. Além disso, não se verificou mudança no comportamento de biodegradação do plástico com a adição do óleo essencial de canela em teor de 2%. Desta forma, acredita-se que esta seja uma boa formulação para a fabricação de embalagem ativa antimicrobiana.



## REFERÊNCIAS

- AARTHY, M.; PUHAZHSELVAN, P.; APARNA, R.; GEORGE, A. S.; GOWTHAMAN, M. K.; AYYADURAI, N.; MASAKI, K.; NAKAJIMA-KAMBE, T.; KAMINI, N. R. Growth associated degradation of aliphatic-aromatic copolyesters by *Cryptococcus* sp. MTCC 5455. **Polymer Degradation and Stability**, v. 152, p. 20–28, 2018.
- ADHIKARI, D.; MUKAI, M.; KUBOTA, K.; KAI, T.; KANEKO, N.; ARAKI, K.S.; KUBO, M. Degradation of Bioplastics in Soil and Their Degradation Effects on Environmental Microorganisms. **Journal of Agricultural Chemistry and Environment**, v. 5, p. 23-34, 2016.
- AHMED, J.; MULLA, M.; ARFAT, Y. A.; BHER, A.; JACOB, H.; AURAS, R. Compression molded LLDPE films loaded with bimetallic (Ag-Cu) nanoparticles and cinnamon essential oil for chicken meat packaging applications. **LWT – Food Science and Technology**, v. 93, p. 329–338, 2018<sup>a</sup>.
- AHMED, T.; SHAHID, M.; AZEEM, F.; RASUL, I.; SHAH, A. A.; NOMAN, M.; HAMEED, A.; MANZOOR, N.; MANZOOR, I.; MUHAMMAD, S. Biodegradation of plastics: current scenario and future prospects for environmental safety. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 8, p. 7287–7298, 2018<sup>b</sup>.
- AL-SABAGH, A. M.; YEHA, F. Z.; ESHAQ, G.; RABIE, A. M.; ELMETWALLY, A. E. Greener routes for recycling of polyethylene terephthalate. **Egyptian Journal of Petroleum**, v. 25, n. 1, p. 53–64, 2016.
- ANDRADE, M. F.; GOIS, G. S.; GARCIA, S. M. S.; DA SILVA, I. D. L.; CAETANO, V. F.; DE ALMEIDA, Y. M. B.; DE MELO, T. J. A.; VINHAS, G. M. Active Packaging Using Orange Oil Incorporated into PBAT Biodegradable Films. **Materials Science Forum**, v. 930, p. 283–289, 2018
- APRILLANI, F.; WARSIKI, E.; ISKANDAR, A. Kinetic studies of potassium permanganate adsorption by activated carbon and its ability as ethylene oxidation material. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 141, art. 012003, 2018.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. G160-12: Standard Practice for Evaluating Microbial Susceptibility of Nonmetallic Materials By Laboratory Soil Burial, West Conshohocken, 2012.
- ARAÚJO, Tiago L. **Estudo do efeito da radiação gama em compósitos de poli(cloreto de vinila) e pentóxido de níbio**. Dissertação de Mestrado. Recife, PE: UFPE, 2016.
- ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 48, p. 51–62, 2016.

ATEF, M.; REZAEI, M.; BEHROOZ, R. Characterization of physical, mechanical, and antibacterial properties of agar-cellulose bionanocomposite films incorporated with savory essential oil. **Food Hydrocolloids**, v. 45, p. 150–157, 2015.

BAROUTI, G.; JAFFREDO, C. G.; GUILLAUME, S. M. Advances in drug delivery systems based on synthetic poly(hydroxybutyrate) (co)polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 73, p. 1–31, 2017.

BASF, ecoflex® F Blend C1200 Biodegradable polyester for compostable film, 2013. Disponível em: <https://products.basf.com/documents/pim;view/en/8806192818645.ecoflex%C2%AE%20F%20B%20lend%20C1200.pdf>. Acesso em: 25 nov. 2019.

BIJI, K. B.; RAVISHANKAR, C. N.; MOHAN, C. O.; SRINIVASA GOPAL, T. K. Smart packaging systems for food applications: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 10, p. 6125–6135, 2015.

BLACK-SOLIS, J.; VENTURA-AGUILAR, R. I.; CORREA-PACHECO, Z.; CORONA-RANGEL, M. L.; BAUTISTA-BAÑOS, S. Preharvest use of biodegradable polyester nets added with cinnamon essential oil and the effect on the storage life of tomatoes and the development of *Alternaria alternata*. **Scientia Horticulturae**, v. 245, p. 65–73, 2019.

BOLUMAR, T.; ANDERSEN, M. L.; ORLIEN, V. Antioxidant active packaging for chicken meat processed by high pressure treatment. **Food Chemistry**, v. 129, n. 4, p. 1406–1412, 2011.

BOTTON, A.; TONUTTI, P.; RUPERTI, B. Biology and Biochemistry of Ethylene. In: Yahia, E.; Carrillo-Lopez, A., eds. **Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables**, 1ª ed, Cambridge: Woodhead Publishing, 2018. cap. 5, p. 93–112.

BRITO, L. M.; SEBASTIÃO, P. J. O.; TAVARES, M. I B. NMR relaxometry evaluation of nanostructured starch-PLA blends. **Polymer Testing**, v. 45, p. 161–167, 2015.

BROIDO, A. A simple, sensitive graphical method of treating thermogravimetric analysis data. **Journal of Polymer Science Part A-2: Polymer Physics**, v. 7, n.10, p. 1761–1773, 1969.

CAMPBELL, D.; PETHRICK, R. A.; WHITE, J. R. **Polymer Characterization: Physical Techniques**, 2ª ed, Boca Raton: CRC Press, 2000.

CARDOSO, L. G.; PEREIRA SANTOS, J. C.; CAMILLOTO, G. P.; MIRANDA, A. L.; DRUZIAN, J. I.; GUIMARÃES, A. G. Development of active films poly (butylene adipate co-terephthalate) – PBAT incorporated with oregano essential oil and application in fish fillet preservation. **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 388–397, 2017.

CASTRO-AGUIRRE, E.; IÑIGUEZ-FRANCO, F.; SAMSUDIN, H.; FANG, X.; AURAS, R. Poly(lactic acid)—Mass production, processing, industrial applications, and end of life. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 107, p. 333–366, 2016.

CHIVRAC, F., KADLECOVÁ, Z., POLLET, E., AVÉROUS, L. Aromatic Copolyester-based Nano-biocomposites: Elaboration, Structural Characterization and Properties. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 14, n. 4. p. 393-401, 2006.

DAL'MOLIN, C. G. O.; QUEK, L.-E.; SAA, P. A.; PALFREYMAN, R.; NIELSEN, L. K. From reconstruction to C 4 metabolic engineering: A case study for overproduction of polyhydroxybutyrate in bioenergy grasses. **Plant Science**, v. 273, p. 50–60, 2018.

DANSO, D.; SCHMEISSER, C.; CHOW, J.; ZIMMERMANN, W.; WEI, R.; LEGGEWIE, C.; LI, X.; HAZEN, T.; STREIT, W. R. New Insights into the Function and Global Distribution of Polyethylene Terephthalate (PET)-Degrading Bacteria and Enzymes in Marine and Terrestrial Metagenomes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 84, n. 8, p. e02773–17, 2018.

EL-GENDY, A.; ABOU-ZEID, R. E.; SALAMA, A.; DIAB, M. A.; EL-SAKHAWY, M. TEMPO-Oxidized Cellulose Nanofibers/Poly(lactic acid)/TiO<sub>2</sub> as Antibacterial Bionanocomposite for Active Packaging. **Egyptian Journal of Chemistry**, v. 60, n. 6, p. 1007-1014, 2017.

EMADIAN, S. M.; ONAY, T. T.; DEMIREL, B. Biodegradation of bioplastics in natural environments. **Waste Management**, v. 59, p. 526-536, 2017.

ERKAN, N. The effect of active and vacuum packaging on the quality of turkey traditional salted dried fish “çiroz”. **Journal of Food and Health Science**, v. 3, n. 1, p. 29-35, 2017.

FABRA, M. J.; LÓPEZ-RUBIO, A.; LAGARON, J. M. Use of the electrohydrodynamic process to develop active/bioactive bilayer films for food packaging applications. **Food Hydrocolloids**, v. 55, p. 11–18, 2016.

FALCÃO, G. A. M.; ALMEIDA, T. G.; BARDI, M. A. G.; CARVALHO, L. H.; CANEDO, E. L. PBAT/organoclay composite films—part 2: effect of UV aging on permeability, mechanical properties and biodegradation. **Polymer Bulletin**, v. 76, n.1, p. 291-301, 2018.

FANIN, N.; KARDOL, P.; FARRELL, M.; NILSSON, M.-C.; GUNDALE, M. J.; WARDLE, D. A. The ratio of Gram-positive to Gram-negative bacterial PLFA markers as an indicator of carbon availability in organic soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.128, p. 111–114, 2019.

FARIKOV, S., ed. **Handbook of Thermoplastic Polyesters: Homopolymers, Copolymers, Blends and Composites**. 1<sup>a</sup> ed. Mörlenbach: Wiley – VCH, 2005.

FECHINE, G. J. M., ROSA, D. S., REZENDE, M. E., DEMARQUETTE, N. R. Effect of UV radiation and pro-oxidant on PP biodegradability. **Polymer Engineering & Science**, v. 49, n. 1, p. 123–128, 2009.

FUKUSHIMA, K.; WU, M.-H.; BOCCHINI, S.; RASYIDA, A.; YANG, M.-C. PBAT based nanocomposites for medical and industrial applications. **Material and Science Engineering: C**, v. 32, n. 6, p. 1331-1351, 2012.

GAIKWAD, K. K.; LEE, Y. S. Current scenario of gas scavenging systems used in active packaging – a review. **Korean Journal of Packaging Science & Technology**, v. 23, n. 2, p. 109-117, 2017.

GAN, Z.; KUWABARA, K.; YAMAMOTO, M.; ABE, H.; DOI, Y. Solid-state structures and thermal properties of aliphatic–aromatic poly(butylene adipate-co-butylene terephthalate) copolyesters. **Polymer Degradation and Stability**, v. 83, n. 2, p. 289–300, 2004.

HERAS-MOZOS, R.; MURIEL-GALET, V.; LÓPEZ-CARBALLO, G.; CATALÁ, R.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; GAVARA, R. Development and optimization of antifungal packaging for sliced pan loaf based on garlic as active agent and bread aroma as aroma corrector. **International Journal of Food Microbiology**, v. 290, p. 42-48, 2019.

HERRERA, R.; FRANCO, L.; RODRÍGUEZ-GALÁN, A.; PUIGGALÍ, J. Characterization and degradation behavior of poly(butylene adipate-co-terephthalate)s. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, v. 40, n. 23, p. 4141–4157, 2002.

HOSSEINI, S. F.; REZAEI, M.; ZANDI, M.; FARAHMANDGHAHI, F. Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 67, p. 403–413, 2015.

HU, X.; THUMARAT, U.; ZHANG, X.; TANG, M.; KAWAI, F. Diversity of polyester-degrading bacteria in compost and molecular analysis of a thermoactive esterase from *Thermobifida alba* AHK119. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, n. 2, p. 771–779, 2010.

IBRAHIM, N. A.; RAHIM, N. M.; WAN YUNUS, W. Z.; SHARIF, J. A study of poly vinyl chloride / poly(butylene adipate-co-terephthalate) blends. **Journal of Polymer Research**, v. 18, n. 5, p. 891–896, 2010.

JANJARASSKUL, T.; TANANUWONG, K.; KONGPENSOOK, V.; TANTRATIAN, S.; KOKPOL, S. Shelf life extension of sponge cake by active packaging as an alternative to direct addition of chemical preservatives. **LWT - Food Science and Technology**, v. 72, p. 166–174, 2016.

JORGENSEN, J. H.; TURNIDGE, J. D. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods, Em: Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., Pfaller, M. A. (eds), **Manual of clinical microbiology**, 9th ed. Capítulo 68, Washington, D.C., ASM Press, 2007.

KAZA, SILPA; YAO, LISA C.; BHADA-TATA, PERINAZ; VAN WOERDEN, FRANK. What a Waste 2.0 : A Global Snapshot of Solid Waste Management to 2050. Urban

Development; Washington, DC: World Bank., 2018. Disponível em: <https://openknowledge.worldbank.org/handle/10986/30317>, acesso em: 09 dez. 2019.

KIJCHAVENGKUL, T.; AURAS, R.; RUBINO, M.; ALVARADO, E.; CAMACHO MONTERO, J. R.; ROSALES, J. M. Atmospheric and soil degradation of aliphatic–aromatic polyester films. **Polymer Degradation and Stability**, v. 95, n. 2, p. 99–107, 2010.

KIMURA, V. T.; MIYASATO, C. S.; GENESI, B. P.; LOPES, P. S.; YOSHIDA, C. M. P.; SILVA, C. F. DA. The effect of andiroba oil and chitosan concentration on the physical properties of chitosan emulsion film. **Polímeros**, v. 26, n.2, p. 168–175, 2016.

KUWABARA, K.; GAN, Z.; NAKAMURA, T.; ABE, H. Crystalline / Amorphous Phase Structure and Molecular Mobility of Biodegradable Poly (butylene adipate-co-butylene terephthalate) and Related Polyesters. **Biomacromolecules**, v. 3, p. 390–396, 2002.

LARKIN, P. **Infrared and Raman Spectroscopy: Principles and Spectral Interpretation**. 1ª ed. Waltham: Elsevier, 2011.

LEE, K.-M.; GIMORE, D. F.; HUSS, M. J. Fungal Degradation of the Bioplastic PHB (Poly-3-hydroxy- butyric acid). **Journal of Polymers and the Environment**, v. 13, n. 3, p. 213–219, 2005.

LEE, S. Y.; LEE, S. J.; CHOI, D. S.; HUR, S. J. Current topics in active and intelligent food packaging for preservation of fresh foods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 14, p. 2799–2810, 2015.

LI, W.; COFFIN, D. R.; JIN, T. Z.; LATONA, N.; LIU, C.-K.; LIU, B.; ZHANG, J.; Liu, L. Biodegradable composites from polyester and sugar beet pulp with antimicrobial coating for food packaging. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 126 n. S1, p. E362–E373, 2012.

LI, Y.; KONG, D.; WU, H. Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC–MS and FTIR spectroscopy. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 269–278, 2013.

LLANA-RUIZ-CABELLO, M.; PICHARDO, S.; BERMUDEZ, J. M.; BAÑOS, A.; ARIZA, J. J.; GUILLAMÓN, E.; AUCEJO, S.; CAMEÁN, A. M. Characterization and antimicrobial activity of active polypropylene films containing oregano essential oil and Allium extract to be used in packaging for meat products. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 35, n.4, p. 782–791, 2018.

LÓPEZ-FONSECA, R.; DUQUE-INGUNZA, I.; DE RIVAS, B.; FLORES-GIRALDO, L.; GUTIÉRREZ-ORTIZ, J. I. Kinetics of catalytic glycolysis of PET wastes with sodium carbonate. **Chemical Engineering Journal**, v. 168, n. 1, p. 312–320, 2011.

LUCAS, N.; BIENAIME, C.; BELLOY, C.; QUENEUDEC, M.; SILVESTRE, F.; NAVA-SAUCEDO, J.-E. Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques – A review. **Chemosphere**, v. 73, n. 4, p. 429–442, 2008.

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

MARTURANO, V.; BIZZARRO, V.; AMBROGI, V.; CUTIGNANO, A.; TOMMONARO, G.; ABBAMONDI, G.; GIAMBERINI, M.; TYLKOWSKI, B.; CARFAGNA, C. CERRUTI, P. Light-Responsive Nanocapsule-Coated Polymer Films for Antimicrobial Active Packaging. **Polymers**, v. 11, n.1, art. 68, 2019.

MATHEW, S.; S, S.; MATHEW, J.; E.K., R. Biodegradable and active nanocomposite pouches reinforced with silver nanoparticles for improved packaging of chicken sausages. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 19, p. 155–166, 2019.

MERCIER, A.; GRAVOUIL, K.; AUCHER, W.; BROSSET-VINCENT, S.; KADRI, L.; COLAS, J.; BOUCHON, D.; FERREIRA, T. Fate of Eight Different Polymers under Uncontrolled Composting Conditions: Relationships Between Deterioration, Biofilm Formation, and the Material Surface Properties. **Environmental Science & Technology**, v. 51, n. 4, p. 1988–1997, 2017.

MLALILA, N.; HILONGA, A.; SWAI, H.; DEVLIEGHERE, F.; RAGAERT, P. Antimicrobial packaging based on starch, poly(3-hydroxybutyrate) and poly(lactic-co-glycolide) materials and application challenges. **Trends in Food Science & Technology**, v. 74, p. 1–11, 2018.

MOHANTY, S.; NAYAK, K. Biodegradable Nanocomposites of Poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) and Organically Modified Layered Silicates. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 20, n. 1, p. 195–207, 2012.

MONTEIRO, M. S. S. B.; CHÁVEZ, F. V.; SEBASTIÃO, P. J.; TAVARES, M. I. B. <sup>1</sup>H NMR relaxometry and X-ray study of PCL/nevirapine hybrids. **Polymer Testing**, v. 32, n. 3, p. 553–566, 2013.

MUKHERJEE, S.; GOWEN, A. A review of recent trends in polymer characterization using non-destructive vibrational spectroscopic modalities and chemical imaging. **Analytica Chimica Acta**, v. 895, p. 12–34, 2015.

MULLA, M.; AHMED, J.; AL-ATTAR, H.; CASTRO-AGUIRRE, E.; ARFAT, Y. A.; AURAS, R. Antimicrobial efficacy of clove essential oil infused into chemically modified LLDPE film for chicken meat packaging. **Food Control**, v. 73, p. 663–671, 2017.

MUROI, F.; TACHIBANA, Y.; SOULENTHONE, P.; YAMAMOTO, K.; MIZUNO, T.; SAKURAI, T.; KOBAYASHI, Y.; KASUYA, K. Characterization of a poly(butylene adipate-co-terephthalate) hydrolase from the aerobic mesophilic bacterium *Bacillus pumilus*. **Polymer Degradation and Stability**, v. 137, p. 11–22, 2017.

MUTHUKUMAR, A.; VEERAPPAPILLAI, S. Biodegradation of plastics - a brief review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 31, n. 2, p. 204-209, 2015.

NAIR, N. R.; SEKHAR, V. C.; NAMPOOTHIRI, K. M.; PANDEY, A. Biodegradation of Biopolymers. In: Larroche, C.; Sanromán, M. A., Du, G., Pandey, A. eds. **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering**, 1<sup>a</sup> ed, Amsterdam: Elsevier, 2017. cap. 32, p. 739–755.

NARAYANAN, A.; NEERA, M.; RAMANA, K. V. Synergized Antimicrobial Activity of Eugenol Incorporated Polyhydroxybutyrate Films Against Food Spoilage Microorganisms in Conjunction with Pediocin. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 170, n. 6, p. 1379–1388, 2013.

NARAYANAN, G.; VERNEKAR, V. N.; KUYINU, E. L.; LAURENCIN, C. T. Poly (lactic acid)-based biomaterials for orthopedic regenerative engineering. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 107, p. 247–276, 2016.

ONG, S. Y.; SUDESH, K. Effects of polyhydroxyalkanoate degradation on soil microbial community. **Polymer Degradation and Stability**, v. 131, p. 9–19, 2016.

PALSIKOWSKI, P. A.; KUCHNIER, C. N.; PINHEIRO, I. F.; MORALES, A. R. Biodegradation in Soil of PLA/PBAT Blends Compatibilized with Chain Extender. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 26, n. 1, p. 330–341, 2018.

PANDEY, J. K.; SINGH, R. P. UV-Irradiated Biodegradability of Ethylene–Propylene Copolymers, LDPE, and I-PP in Composting and Culture Environments. **Biomacromolecules**, v. 2, n. 3, p. 880–885, 2001.

PATEL, S. K. S.; KUMAR, P.; SINGH, M.; LEE, J.-K.; KALIA, V. C. Integrative approach to produce hydrogen and polyhydroxybutyrate from biowaste using defined bacterial cultures. **Bioresource Technology**, v. 176, p. 136–141, 2015.

PETERS, B. L.; SALERNO, K. M.; GE, T.; PERAHIA, D.; GREEST, G. S. Effect of Chain Length Dispersity on the Mobility of Entangled Polymers. *Physical Review Letters*, v. 121, n. 5, p. 057802-1 - 057802-5, 2018.

PLASTICSEUROPE. **Plastics—the Facts 2018**: an analysis of European plastics production, demand and waste data, Bruxelles, 2018.

REMYA, S.; MOHAN, C. O.; VENKATESHWARLU, G.; SIVARAMAN, G. K.; RAVISHANKAR, C. N. Combined effect of O<sub>2</sub> scavenger and antimicrobial film on shelf life of fresh cobia (*Rachycentron canadum*) fish steaks stored at 2 °C. **Food Control**, v. 71, p. 71–78, 2017.

REN, Y.; HU, J.; YANG, M.; WENG, Y. Biodegradation Behavior of Poly (Lactic Acid) (PLA), Poly (Butylene Adipate-Co-Terephthalate) (PBAT), and Their Blends Under

Digested Sludge Conditions. **Journal of Polymers and the Environment**, v.27, n. 12, p. 2784 – 2792, 2019.

RESTUCCIA, D.; SPIZZIRRI, U. G.; PARISI, O. I.; CIRILLO, G.; CURCIO, M.; IEMMA, F.; PUOCI, F.; VINCI, G.; PICCI, N. New EU regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications. **Food Control**, v. 21, n. 11, p. 1425–1435, 2010.

ROBERTSON, G. L. **Food Packaging : Principles and Practice, Third Edition**. 3<sup>a</sup> ed. [s.l.] Taylor & Francis/CRC Press, 2012.

ROJAS-GRAÜ, M. A.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; OLSEN, C.; FRIEDMAN, M.; HENIKA, P. R.; MARTÍN-BELLOSO, O.; PAN, Z.; MCHUGH, T. H. Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate–apple puree edible films. **Journal of Food Engineering**, v. 81, n. 3, p. 634–641, 2007.

ROSATO, D. V.; ROSATO, D. V.; ROSATO, M. V. **Plastic Product Materials and Process Selection Handbook**. 1<sup>a</sup> ed. [s.l.] Elsevier Science & Technology Books, 2004.

RYCHTER, P.; KAWALEC, M.; SOBOTA, M.; KURCOK, P.; KOWALCZUK, M. Study of Aliphatic-Aromatic Copolyester Degradation in Sandy Soil and Its Ecotoxicological Impact. **Biomacromolecules**, v. 11, n. 4, p. 839–847, 2010.

RYDZ, J.; MUSIOŁ, M.; ZAWIDLAK-WĘGRZYŃSKA, B.; SIKORSKA, W. Present and Future of Biodegradable Polymers for Food Packaging Applications. In: Grumezescu, A.; Holban, A. M., eds. **Biopolymers for Food Design**, v. 20, 1<sup>a</sup> ed, Cambridge: Academic Press, 2018. cap. 14, p. 431–467.

SAADI, Z.; CESAR, G.; BEWA, H.; BENGUIGUI, L. Fungal Degradation of Poly(Butylene Adipate-Co-Terephthalate) in Soil and in Compost. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 21, n. 4, p. 893–901, 2013.

SADI, R. K.; FECHINE, G. J. M.; DEMARQUETTE, N. R. Effect of prior photodegradation on the biodegradation of polypropylene/poly(3-hydroxybutyrate) blends. **Polymer Engineering & Science**, v.53, n. 10, p. 2109 – 2122, 2013.

SANTOS, F. A.; TAVARES, M. I. B. Development of biopolymer/cellulose/silica nanostructured hybrid materials and their characterization by NMR relaxometry. **Polymer Testing**, v. 47, p. 92–100, 2015.

SHAH, A. A.; HASAN, F.; HAMEED, A.; AHMED, S. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 3, p. 246–265, 2008.  
SHAH, A. A.; NAWAZ, A.; KANWAL, L.; HASAN, F.; KHAN, S.; BADSHAH, M. Degradation of poly(ε-caprolactone) by a thermophilic bacterium *Ralstonia* sp. strain MRL-TL isolated from hot spring. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 98, p. 35–42, 2015.



SHAH, Z.; GULZAR, M.; HASAN, F.; SHAH, A. A. Degradation of polyester polyurethane by an indigenously developed consortium of *Pseudomonas* and *Bacillus* species isolated from soil. **Polymer Degradation and Stability**, v. 134, p. 349–356, 2016.

SHINOZAKI, Y.; MORITA, T.; CAO, X.H.; YOSHIDA, S.; KOITA-BASHI, M.; WATANABE, T.; SUZUKI, K.; SAMESHIMA-YAMASHITA, Y.; NAKAJIMA-KAMBE, T.; FUJII, T.; KITA-MOTO, H.K. Biodegradable plastic-degrading enzyme from *Pseudozyma antarctica*: cloning, sequencing, and characterization. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 7, p. 2951–2959, 2012.

SILVA, D. D.; MELO, F. C.; SCHNEIDER, A. L. S.; EINLOFT, S.; PEZZIN, A. P. T. Síntese e biodegradação em solo de copolímeros de PET-co-PLLA. **Revista Matéria**, v. 23, n. 1, n.p., 2018.

SILVA, P.S.R.C., MENEZES, L.R. AND TAVARES, M.I.B. The Influence of Organo-Clay Ratio in the HIPS-OMMT Nanocomposites Analyzed by Proton Spin-Lattice and Spin-Spin Relaxation Times. **Materials Sciences and Applications**, v. 7, p. 150-158, 2016.

SIRISHINHA, K.; SOMBOON, W. Melt characteristics, mechanical, and thermal properties of blown film from modified blends of poly(butylene adipate-co-terephthalate) and poly(lactide). **Applied Polymer Science**, v. 124, p. 4986-4992, 2012.

SOUZA, P. M. S.; COELHO, F. M.; SOMMAGGIO, L. R. D.; MARIN-MORALES, M. A.; MORALES, A. R. Disintegration and Biodegradation in Soil of PBAT Mulch Films: Influence of the Stabilization Systems Based on Carbon Black/Hindered Amine Light Stabilizer and Carbon Black/Vitamin E. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 27, p. 1584-1594, 2019.

SWAIN, S. N.; BISWAL, S. M.; NANDA, P. K.; NAYAK, P. L. Biodegradable Soy-Based Plastics: Opportunities and Challenges. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 12, n. 1, p. 35–42, 2004.

WANG, H.; WEI, D.; ZHENG, A.; XIAO, H. Soil burial biodegradation of antimicrobial biodegradable PBAT films. **Polymer Degradation and Stability**, v. 116, p. 14-22, 2015.

WANG, L.-F.; RHIM, J.-W.; HONG, S.-I. Preparation of poly(lactide)/poly(butylene adipate-co-terephthalate) blend films using a solvent casting method and their food packaging application. **LWT - Food Science and Technology**, v. 68, p. 454–461, 2016.

WARDLE, D. A. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. **Biological Reviews**, v. 67, n. 3, p. 321–358, 1992.

WENG, Y.-X.; JIN, Y.-J.; MENG, Q.-Y.; WANG, L.; ZHANG, M.; WANG, Y.-Z. Biodegradation behavior of poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT), poly(lactic acid) (PLA), and their blend under soil conditions. **Polymer Testing**, v. 32, n. 5, p. 918–926, 2013.

WEN, P.; ZHU, D.-H.; FENG, K.; LIU, F.-J.; LOU, W.-Y.; LI, N.; ZONG, M.-H.; WU, H. Fabrication of electrospun polylactic acid nanofilm incorporating cinnamon essential oil/  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex for antimicrobial packaging. **Food Chemistry**, v. 196, p. 996–1004, 2016.

WITT, U.; EINIG, T.; YAMAMOTO, M.; KLEEBERG, I.; DECKWER, W. D.; MÜLLER, R. J. Biodegradation of aliphatic-aromatic copolyesters: Evaluation of the final biodegradability and ecotoxicological impact of degradation intermediates. **Chemosphere**, v. 44, n. 2, p. 289–299, 2001.

WORANUCH, S.; YOKSAN, R.; AKASHI, M. Ferulic acid-coupled chitosan: Thermal stability and utilization as an antioxidant for biodegradable active packaging film. **Carbohydrate Polymers**, v. 115, p. 744–751, 2015.

YILDIRIM, S.; RÖCKER, B.; PETTERSEN, M. K.; NILSEN-NYGAARD, J.; AYHAN, Z.; RUTKAITE, R.; RADSUIN, T.; SUMINSKA, P.; MARCOS, B.; COMA, V. Active Packaging Applications for Food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 1, p. 165–199, 2017.

ZEHEMMEYER, G.; MEIRA, S. M. M.; SCHEIBEL, J. M.; DE OLIVEIRA, R. V. B.; BRANDELLI, A.; SOARES, R. M. D. Influence of melt processing on biodegradable nisin-PBAT films intended for active food packaging applications. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, n. 13, n.p., 2015.

ZUMSTEIN, M. T.; RECHSTEINER, D.; RODUNER, N.; PERZ, V.; RIBITSCH, D.; GUEBITZ, G. M.; KHOLER, H.-P. E.; MCNEILL, K.; SANDER, M. Enzymatic Hydrolysis of Polyester Thin Films at the Nanoscale: Effects of Polyester Structure and Enzyme Active-Site Accessibility. **Environmental Science & Technology**, v. 51, n. 13, p. 7476–7485, 2017.

ZUMSTEIN, M. T.; SCHINTLMEISTER, A.; NELSON, T. F.; BAUMGARTNER, R.; WOEBKEN, D.; WAGNER, M.; KOHLER, H. E.; MCNEILL, K.; SANDER, M. Biodegradation of synthetic polymers in soils: Tracking carbon into CO<sub>2</sub> and microbial biomass. **Science Advances**, v. 4, n.7, n.p., 2018.

## APÊNDICE A – CURVAS TGA E dTG

Figura A.1 - Curvas (a) TGA e (b) dTG para os filmes de PBAT puro após biodegradação

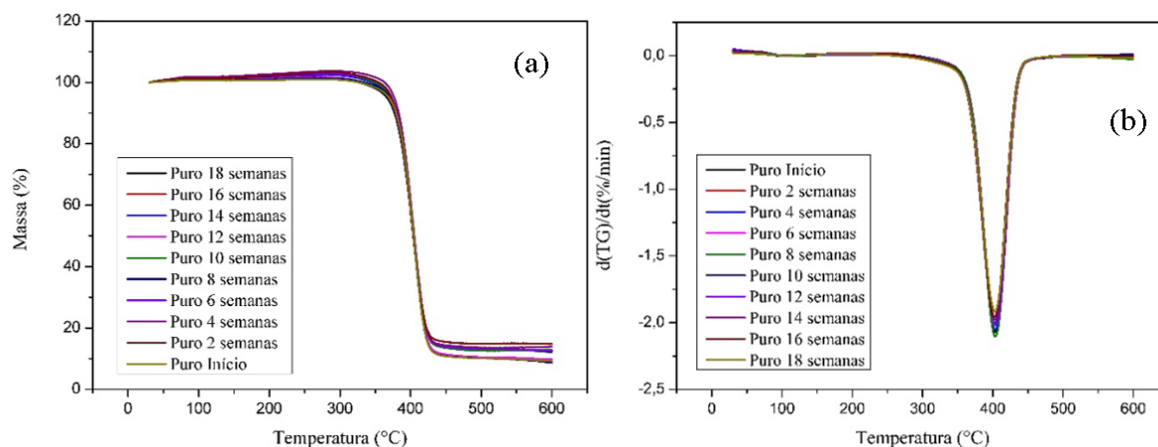
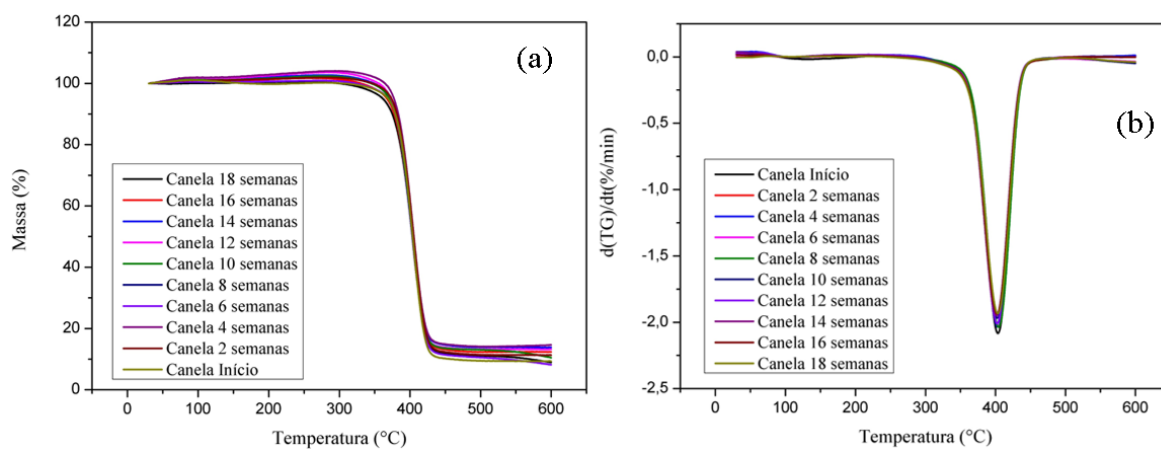


Figura A.2 - Curvas (a) TGA e (b) dTG para os filmes de PBAT aditivados com 2% óleo essencial de canela após biodegradação.



## APÊNDICE B – CURVAS DSC

Figura B.1 - Curva DSC para os filmes de PBAT puro após biodegradação.

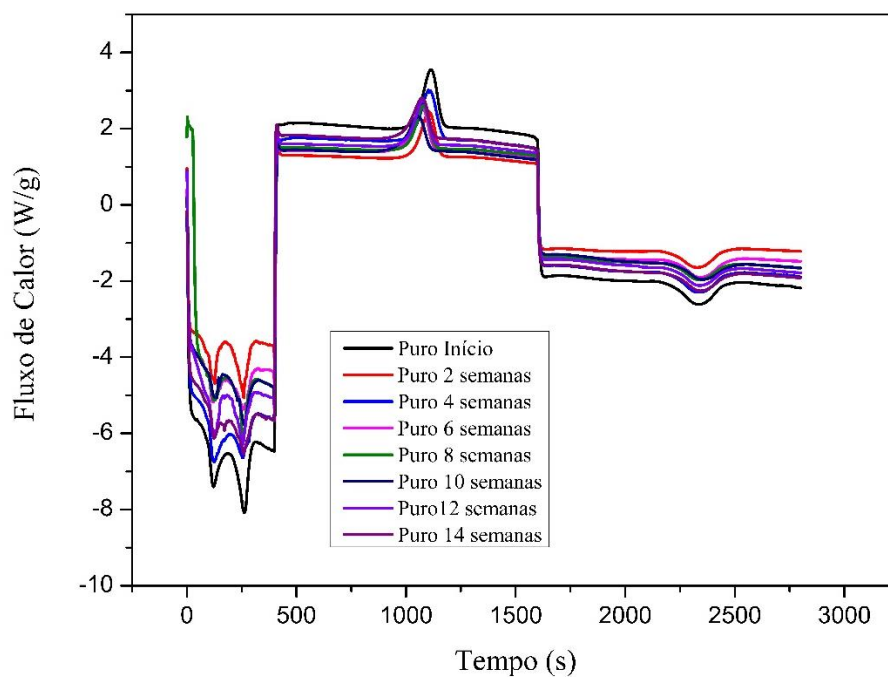


Figura B.2 - Curva DSC para os filmes de PBAT aditivados com 2% óleo essencial de canela após biodegradação.

