

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental**

RAFAELA SILVA CESCA

**PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E POTENCIAL
INDUSTRIAL DO ADITIVO NATURAL *HYSSOPUS
OFFICIANALIS L.* NO DESENVOLVIMENTO DE
MEMBRANAS BIODEGRADÁVEIS**

**DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2024**

RAFAELA SILVA CESCA

**Produção, Caracterização e Potencial Industrial do Aditivo
Natural *Hyssopus Officinalis* L. no Desenvolvimento de
Membranas**

**Orientador: Prof. Dr. William Renzo Cortez-Vega
Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Fossa da Paz**

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental (área de concentração: tecnologia ambiental), para obtenção do título de Doutor.

**DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2024**

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

C421p Cesca, Rafaela Silva
PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E POTENCIAL INDUSTRIAL DO ADITIVO
NATURAL HYSSOPUS OFFICIANALIS L. NO DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS
BIODEGRADÁVEIS [recurso eletrônico] / Rafaela Silva Cesca. -- 2024.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: WILLIAM RENZO CORTEZ-VEGA.
Coorientador: MARCELO FOSSA DA PAZ .
Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Ambiental)-Universidade Federal da Grande
Dourados, 2024.
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Biodegradável. 2. Bioembalagens. 3. Filmes biopoliméricos. 4. Hissopo. 5. Óleo essencial. I.
Cortez-vega, William Renzo. II. Paz, Marcelo Fossa Da. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

TERMO DE APROVAÇÃO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Fundação Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologias



TERMO DE APROVAÇÃO

Após apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora, foi emitido o parecer Aprovada, para a TESE intitulada: " **PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E POTENCIAL INDUSTRIAL DO ADITIVO NATURAL *Hyssopus officianalis* L. NO DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS BIODEGRADÁVEIS**", de autoria de **RAFAELA SILVA CESCA SCHEFFEL**, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Grande Dourados.


Prof. Dr. Marcelo Fossa da Paz
Presidente da Banca Examinadora


Prof. Dr. William Renzo Cortez Vega
Membro Examinador (UFGD)


Profa. Dra. Rosalinda Arevalo Pinedo
Membro Examinador (UFGD)


Prof. Dr. Clitor Junior Fernandes de Souza
Membro Examinador (UFGD)


Profa. Dra. Rozanna Marques Muzzi
Membro Examinador (UFGD)

Dourados/MS, 14 de março de 2024.

DEDICATÓRIA

Para minha família e amigos.

AGRADECIMENTOS

Após anos estudando e realizando este trabalho, agradeço primeiramente e para sempre a Deus e Nossa Senhora que sempre me apanharam nos momentos de dificuldade e me deram forças para continuar nesta caminhada.

Aos meus familiares, principalmente meu esposo Tiago André e meus pais, Luiza Marilac e Francisco, que confiaram em mim e me apoiaram durante esse período tanto financeiramente como emocionalmente.

Aos meus orientadores William Renzo Cortez-Vega e Marcelo Fossa da Paz, que me auxiliaram sabiamente em tudo que precisei e me apoiaram para a realização deste trabalho. Assim como todo o corpo docente do curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental.

Aos meus amigos, que foram compassivos e me apoiaram quando precisei me distanciar para focar neste estudo. Em especial, Mario Garutti, Caroline, Sigrid e aos amigos de infância da vila, que colaboraram com esse estudo, seja fazendo experimentos ou escutando meus choros e reclamações.

À Capes pela bolsa concedida, tornando possível a realização de um sonho.

CESCA, R.S. **Desenvolvimento, Caracterização e Potencial Industrial do Aditivo Natural *Hyssopus Officinalis* L. na produção de Membranas Biodegradáveis**. 2023. 138f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Ambiental). Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2023.

RESUMO

O consumo de materiais plásticos de origens fósseis e não biodegradáveis tem impulsionado o desenvolvimento de materiais inovadores a partir de recursos renováveis. O uso de aditivos naturais, como os óleos essenciais, no desenvolvimento de películas biodegradáveis se mostra eficiente como agentes antimicrobianos, antifúngicos e antioxidantes. O Hissopo é utilizado como condimento, medicamento natural e produzido como óleo essencial. Possui propriedades antimicrobianas, antifúngicas, antiespasmódicas, antissépticas, antivirais e antioxidantes, amplamente utilizadas na área da medicina natural. Visando sua aplicabilidade na área de filmes biopoliméricos, o objetivo deste trabalho foi produzir e caracterizar membranas biodegradáveis com o óleo essencial de Hissopo, analisando seu possível potencial industrial e apresentando metodologias sustentáveis. Os filmes oriundos de fécula de mandioca foram denominados: filme controle (T0), as concentrações e denominações dos óleos essenciais de Cravo, Hissopo e Orégano em filmes de fécula de mandioca, foram de (TC05=0,5%, TH05=0,5%, TO05=0,5%) e (TC1=1%, TH1=1%, TO1=1%). A produção dos filmes foi pelo método de *casting*. Comparou-se as características dos filmes com óleo essencial de Hissopo, com óleo-essencial de Cravo e Orégano. Com o intuito de melhorar as particularidades das membranas, também foram produzidas películas de fécula de mandioca com diferentes concentrações de nano argila bentonita, adicionadas com óleo essencial de Hissopo. As concentrações e denominações da nano argila foram de (B1=0,1g; B2= 0,2g; B3=0,3g, B4=0,4g), e com adição de 1% de óleo essencial de Hissopo (HB1=0,1+1%, HB2=0,2+1%, HB3=0,3+1%, HB4=0,4+1%). Em todas as produções foi adicionado 30% de plastificante (glicerina PA) e utilizado 3,0g de fécula de mandioca. Foram avaliadas as propriedades de espessura, densidade, coloração, opacidade, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade em água, ângulo de contato, resistência a tração, alongação, e microestruturas pelas análises de microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia na região do infravermelho por Transformada de Fourier, espectroscopia na região do UV-Vis, suas propriedades térmicas por calorimetria exploratória diferencial e Termogravimetria, e sua biodegradabilidade em solo. Em membranas de fécula de mandioca, o uso do óleo essencial

de Hissopo apresentou resultados significativos de alongação 65%, a atividade antimicrobiana comprovada contra *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, solubilidade em água (41,78%, para TH05), alta luminosidade ($L^* = 94,56 \pm 0,82$ para TH1, baixa opacidade (37,53%, para TH05) e segundo menor tempo de biodegradação em solo (175,15 dias, para TH1), calculado pelo método de regressão linear. Apesar das adições dos óleos essenciais, as películas apresentaram características hidrofílicas. Os filmes com adição de bentonita, indicaram melhora nas propriedades mecânicas, como resistência a tração, proteção contra raios UV e considerável transparência na região do Visível. A característica hidrofóbica do óleo essencial de Hissopo causou baixa permeabilidade ao vapor de água ($HB1 = 4,45 \pm 0,82$ g mm/m²diaKpa). A adição do aditivo natural influenciou positivamente na luminosidade dos filmes ($L^* = 92,04 \pm 0,33$ para HB1) e diminuição em sua opacidade ($HB2 = 44,06\%$). Os filmes HB1 e HB4 apresentaram inibição contra *Enterobacter aerogenes*. Os filmes B3, HB3 e HB4 apresentaram significativa perda de massa através da biodegradação. As membranas demonstraram propriedade exotérmica. Todas as amostras produzidas neste trabalho manifestaram microestruturas porosas. Constatou-se que o óleo essencial de Hissopo apresenta relevância como aditivo natural em membranas biodegradáveis, e que as películas produzidas exibem um significativo potencial industrial, podendo então ser um substituinte de filmes sintéticos. E buscando tal aplicação os filmes desenvolvidos, T0; H1; HB1; B1; HB4 e B4 foram aplicados em carne bovina *in natura* analisando seus comportamentos como substitutos de embalagens sintéticas durante o período de prateleira refrigerada de sete dias. Os tratamentos passaram pelas metodologias de coloração, atividade de água (A_w), textura (kgf) e perda de massa (%). Os filmes resultaram em películas que obtiveram alteração em sua coloração, todavia, não demonstraram alteração de intenção de consumo. Os filmes ocasionaram perda de A_w nas amostras de carne bovina ($H1 = 0,447 a_w$), sucedendo sua perda de massa ($HB4 = 68,07\%$) e amostras de carne secas com texturas rígidas. Apesar dos resultados encontrados, as membranas com OEH apresentaram ação antioxidante, evitando a oxidação lipídica e assim o controle da proliferação de bactérias e fungos, mantendo uma aparência e odor agradável da carne bovina.

Palavras-chave: Biodegradável; Bioembalagens; Filmes biopoliméricos; Hissopo; Óleo essencial.

ABSTRACT

The quest to minimize the consumption of fossil-based and non-biodegradable plastic materials has driven the development of innovative materials from renewable resources. The use of natural additives, such as essential oils, in the development of biodegradable films is proving to be effective as antimicrobial, antifungal and antioxidant agents. Hyssop is used as a condiment, natural medicine and produced as an essential oil. It has antimicrobial, antifungal, antispasmodic, antiseptic, antiviral and antioxidant properties, which are widely used in the field of natural medicine. With a view to its applicability in biopolymeric films area, the aim of this work was to produce and characterize biodegradable membranes with Hyssop essential oil, analyzing their possible industrial potential and presenting sustainable methodologies. Films made from cassava starch were developed using the casting method. The characteristics of the films containing Hyssop essential oil and Clove and Oregano essential oil were compared. For the control test (T0), the concentrations and names of clove, hyssop and oregano essential oils in cassava starch films were (TC05=0.5%, TH05=0.5%, TO05=0.5%) and (TC1=1%, TH1=1%, TO1=1%). To improve the characteristics of the membranes, cassava starch films were also produced with different concentrations of bentonite nano-clay, added with hyssop essential oil. The concentrations and names of the nano-clay were (B1=0.1g; B2= 0.2g; B3=0.3g, B4=0.4g), and with the addition of 1% Hyssop essential oil (HB1=0.1+1%, HB2=0.2+1%, HB3=0.3+1%, HB4=0.4+1%). In all productions, 30% plasticizer (glycerin) was added and 3.0g of cassava starch was used. The properties of thickness, density, color, opacity, water vapor permeability, water solubility, contact angle, tensile strength, elongation, and microstructures were evaluated by scanning electron microscopy, Fourier Transform Infrared Spectroscopy, UV-Vis Spectroscopy, their thermal properties by Differential Scanning Calorimetry and Thermogravimetry, and their biodegradability in soil. In cassava starch membranes, the use of Hyssop essential oil showed significant results of 65% elongation, proven antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, water solubility (41, 78%, for TH05), high luminosity ($L^*=94.56\pm0.82$ for TH1, low opacity (37.53%, for TH05) and the second shortest biodegradation time in soil (175.15 days, for TH1), calculated by the linear regression method. Despite the addition of essential oils, the films showed hydrophilic characteristics. The films with added bentonite showed improved mechanical properties, such as tensile strength, protection against UV rays and considerable transparency in the Visible region. The hydrophobic characteristics of hyssop essential oil caused low water vapor permeability ($HB1=4.45\pm0.82$ g mm/m²diaKpa).

The addition of the natural additive had a positive influence on the films' luminosity ($L^*=92.04\pm0.33$ for HB1) and a reduction in their opacity (HB2=44.06%). Tests HB1 and HB4 showed inhibition against *Enterobacter aerogenes*. Tests B3, HB3 and HB4 showed significant loss of mass through biodegradation. The membranes showed exothermic properties. All the samples produced in this work showed porous microstructures. Hyssop essential oil is relevant as a natural additive in biodegradable membranes, and that the films produced have significant industrial potential and could therefore be a substitute for synthetic films. With this in mind, the films produced, T0; H1; HB1; B1; HB4 and B4 were applied to chilled fresh beef, analyzing their behavior as a substitute for synthetic packaging during a seven-day shelf life. The treatments were tested for color, water activity (A_w), texture (kgf) and mass loss (%). The tests resulted in films that had a change in color, but did not show low attractiveness. The films caused a loss of A_w in the beef samples ($H1=0.447a_w$), followed by a loss of mass (HB4=68.07%) and dried meat samples with rigid textures. Despite the results found, the membranes with OEH showed antioxidant action, preventing lipid oxidation and thus controlling the proliferation of bacteria and fungi, while maintaining a pleasant appearance and smell of the beef.

Keywords: Biodegradable; Biopackaging; Biopolymer films; Hyssop; Essential oil.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação de países em relação ao consumo de plásticos de origem fósseis	17
Tabela 2. Teor de amilose e amilopectina em diferentes fontes vegetais. (SARMENTO, 1999)	26
Tabela 3. Filmes de fécula de mandioca e suas respectivas composições	35
Tabela 4. Dados da análise qualitativa dos filmes.....	43
Tabela 5. Dados de coloração nos filmes de fécula de mandioca e OEs.....	45
Tabela 6. Dados das caracterizações dos filmes de fécula de mandioca e OEs.	46
Tabela 7 . Tempo de degradação dos filmes biopoliméricos	52
Tabela 8. Concentrações de nano argila Bentonita e OE	71
Tabela 9. Dados de Coloração e Opacidade dos filmes de fécula de mandioca, bentonita e OEH.	77
Tabela 10. Dados das caracterizações dos filmes de fécula de mandioca, bentonita e OEH ...	78
Tabela 11. Dados de diâmetro de inibição dos filmes com fécula de mandioca, bentonita e OEH.....	89
Tabela 12. Concentrações de OEH e Bentonita	101
Tabela 13. Parâmetros de cores CIELAB dos filmes durante sete dias	104
Tabela 14. Parâmetros de cores CIELAB da carne in natura.	105
Tabela 15. Dados de perda de massa dos tratamentos durante o processo de armazenagem refrigerada por sete dias.....	106

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Ramificação da fécula de mandioca e amilose. Fonte: (Ribeiro, 2014).....	26
Figura 2.2. Classificação dos plásticos quanto à matéria prima e biodegradabilidade. Fonte: (Amaral, Borschiver e Morgado, 2019) (Adaptado).	28
Figura 3. Teste de biodegradação das películas de fécula de mandioca. Fonte: (a autora).	40
Figura 4. Ângulo de contato entre o líquido e a superfície. γ_S é a energia de superfície do sólido; γ_{Lv} tensão superficial do líquido em equilíbrio com o vapor; e γ_{SL} é a energia da interface sólido-líquido. Fonte: (PEROVAL et al., 2002).....	41
Figura 5. Resultado do teste de ágar pela bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> nos filmes. Fonte: (a autora).	44
Figura 6. Resistencia a Tração dos filmes de fécula de mandioca e OEs. Fonte: (a autora).	49
Figura 7. Elongação dos filmes de fécula de mandioca e OEs. Fonte: (a autora).	50
Figura 8. Gráfico de biodegradação dos filmes de fécula de mandioca e OEs. Fonte: (a autora).	51
Figura 9. Teste de ângulo de contato com água destilada. Fonte: (Autora).	53
Figura 10. Imagens do MEV dos filmes de fécula de mandioca e OEs.	54
Figura 11. Espectros na região do Infravermelho dos filmes de fécula de mandioca e OEs. Fonte: (a autora).	55
Figura 12. Espectro na região do UV-Vis dos filmes de fécula de mandioca e OEs. Fonte: (a autora).	57
Figura 13 (a) Dados de calorimetria exploratória e (b) Dados termogravimétricos dos filmes de fécula de mandioca e OEs. Fonte: (a autora).	58
Figura 14. Difractometria de raios X dos filmes de fécula de mandioca e OEs.	59
Figura 15. Resistencia a tração dos filmes de fécula de mandioca, diferentes concentrações de bentonita e OEH. Fonte: (a autora).	80
Figura 16. Elongação dos filmes de fécula de mandioca, diferentes concentrações de bentonita e OEH. Fonte: (a autora).	81
Figura 17. Micrografia dos filmes de fécula de mandioca, com concentrações de bentonita e OEH, imagens superficiais. Fonte: (a autora).	82
Figura 18. Espectros na região do Infravermelho por Transformada de Fourier, por transmitância. Fonte: (a autora).	84

Figura 19. Espectros na região do UV-Vis, por absorbância. (a) filmes de fécula de mandioca e concentrações de bentonita. (b) filmes com OEH. Fonte: (a autora).....	85
Figura 20. Dados de calorimetria exploratória diferencial (a) filmes de fécula de mandioca com diferentes concentrações de bentonita. (b) filmes com adição de OEH. Fonte: (a autora).	87
Figura 21. Dados de TG (a) de filmes de fécula de mandioca e diferentes concentrações de bentonita (b) com adição de OEH. Fonte: (a autora).....	88
Figura 22. Inibição contra bactéria <i>Enterobacter aerogenes</i> (-) nos filmes HB1 e HB4.Fonte: (autora).....	89
Figura 23. Gráfico de biodegradação dos filmes, mediante a perda de massa das amostras por 42 dias (D0=1ºdia, D1=7ºdia, D2=14ºdia, D3=21ºdia, D4=28ºdia, D5=35ºdia e D6=42ºdia).	90
Figura 24. Análise de biodegradação após 35 dias em solo argiloso dos filmes elaborados. (a) HB1, (b) HB2, (c) HB3 e HB4.	91
Figura 25.(a) Tratamentos antes do processo de refrigeração (fundo azul). (b) Tratamentos após processo de refrigeração (fundo branco).	104
Figura 26. Atividade de água da carne in natura envolvidas em películas biodegradáveis. ..	107
Figura 27. Valores de Textura (kgF) das amostras de carne em distintas películas.....	108

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	
ESTRUTURA DO TRABALHO	18
OBJETIVOS.....	19
REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1. Óleos essenciais	20
2.1.1. Propriedades físicas de óleos essenciais	20
2.1.2. Óleo essencial de cravo	23
2.1.3. Óleo essencial de hissopo	23
2.3.4. Óleo essencial de orégano	24
2.2. Fécula de mandioca	25
2.3. Nano argila – Bentonita.....	27
2.4. Filmes Biopoliméricos.....	28
INTRODUÇÃO.....	34
MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
3.2.1 Desenvolvimento dos filmes	35
3.2.2 Análise qualitativa dos filmes	36
3.2.3 Atividade antimicrobiana	36
3.2.4 Coloração	36
3.2.5 Espessura.....	37
3.2.6 Densidade	37
3.2.7 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	37
3.2.8 Solubilidade em água	38
3.2.9 Resistência à tração (RT)	38

RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	43
3.3.1. Análise qualitativa dos filmes	43
3.3.2. Atividade Antimicrobiana	44
3.3.3. Coloração	45
3.3.4. Espessura.....	46
3.3.5. Densidade	47
3.3.6. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	47
3.3.7. Solubilidade em Água	48
3.3.8. Resistencia a Tração (RT).....	49
3.3.9. Elongação	50
3.3.10. Biodegradação	51
3.3.11. Análise de ângulo de contato	52
3.3.12. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	53
3.3.13. Espectroscopia Na Região Do Infravermelho Por Transformada De Fourier.....	54
3.3.14. Espectroscopia na Região Ultravioleta-Visível (Uv-Vis)	56
3.3.15. Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial e Termogravimétrica (Tg).....	58
3.3.16. Difração de Raio X.....	59
CONCLUSÃO.....	60
REFERÊNCIAS	61
INTRODUÇÃO.....	70
MATERIAL E MÉTODOS.....	71
4.2.1 Desenvolvimentos dos filmes	71
4.2.2 Coloração e Opacidade	72
4.2.3 Espessura.....	73
4.2.4 Permeabilidade ao vapor de água (PVA).....	73
4.2.5 Solubilidade em água (S%).....	73
4.2.6 Resistencia a Tração (RT).....	74
4.2.7 Elongação (E%)	74
4.2.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	74

4.2.9	Espectroscopia Na Região Do Infravermelho Por Transformada De Fourier ..	75
4.2.10	Espectroscopia na Região UV-Vis.....	75
4.2.11	Calorimetria exploratória e Termogravimetria (TG)	75
4.2.12	Atividade Antimicrobiana.....	76
4.2.13	Biodegradação.....	76
4.2.14	Análise Estatística	76
RESULTADOS E DISCUSSÕES.....		77
4.3.1	Coloração	77
4.3.2	Espessura.....	78
4.3.3	Solubilidade em água.....	79
4.3.4	Permeabilidade ao vapor de água (PVA).....	79
4.3.5	Resistência a tração (RT)	80
4.3.6	Elongação.....	81
4.3.7	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	82
4.3.8	Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier	83
4.3.9	Espectroscopia na Região UV-Vis.....	85
4.3.10	Calorimetria exploratória diferencial e Termogravimetria (TG)	86
4.3.11	Atividade antimicrobiana.....	89
4.3.12	Biodegradação.....	90
CONCLUSÕES.....		92
REFERÊNCIAS		92
INTRODUÇÃO.....		99
MATERIAIS E MÉTODOS.....		100
RESULTADOS		103
CONCLUSÃO.....		109
REFERÊNCIAS		109
CONCLUSÃO GERAL.....		113
ANEXO.....		114

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. JUSTIFICATIVA

Pesquisadores e instituições estão desenvolvendo investigações com intuito de solucionar um problema que impacta negativamente o meio ambiente, o plástico não degradável. Desde a sua criação, que ocorreu no final do século XIX, o plástico faz parte da vida cotidiana das pessoas no planeta Terra e seu consumo só aumenta em escala exponencial, sendo encontrado no ambiente e nos alimentos, o que podem causar sérios danos a fauna, flora e para a saúde pública (CONCEIÇÃO *et al.*, 2019).

O Brasil é o quarto maior produtor de resíduos plástico do mundo (WWF, 2016), com 11,3 milhões de toneladas por ano, superados apenas pelos Estados Unidos, China e Índia, conforme Tabela 1. Deste total somente 1,28% foi reciclado, um dos menores índice do mundo, sendo que a média global gira em entorno de 9%, segundo (CONCEIÇÃO *et al.*, 2019).

Tabela 1. Classificação de países em relação ao consumo de plásticos de origem fósseis

País	Total de lixo plástico gerado	Total incinerado	Total reciclado	Relação produção e reciclagem
Estados Unidos	70.782,577	9.060,170	24.490,772	34,60%
China	54.740,663	11.988,226	12.000,331	21,92%
Índia	19.311,633	14.544	1.105,677	5,73%
Brasil	11.355,220	0	145.043	1,28%
Indonésia	9.885,081	0	362.070	3,66%
Rússia	8.948,132	0	320.088	3,58%
Alemanha	8.286,827	4.876,027	3.143,700	37,94%

FONTE: CONCEIÇÃO *et al.*, 2019 adaptado

Estes polímeros são originários de materiais fósseis, do petróleo, e sua invenção trouxe para a sociedade um avanço na área da saúde, alimentação e tecnologia, portanto, foi fundamental para a evolução do planeta, mas paradoxalmente pode ser sua ruína se não controlada sua produção e seu reuso no setor industrial. Eis, o desafio para as futuras gerações, conviver com este mal ou substituí-lo por algo menos danoso.

Visando a diminuição de resíduos plásticos de origem fóssil no meio ambiente, houve grande interesse na pesquisa e no desenvolvimento de materiais para embalagem biodegradáveis. Uma solução parcial para esse problema seria a utilização de um material alternativo na fabricação de embalagens, como os bioplásticos de fontes renováveis.

O desenvolvimento de materiais plásticos biodegradáveis e de base biológica tem ganhado notoriedade, pois polímeros naturais constituem uma alternativa viável devido seu baixo custo e sendo capazes de formar embalagens que garantam a qualidade e segurança alimentar de produtos e satisfaçam seus clientes (MONTEIRO et al., 2018 e WANG et al., 2016).

Entre os biopolímeros naturais mais utilizados na produção das películas, destacam-se dos filmes de proteínas e polissacarídeos (SILVA, 2020). Entre os polissacarídeos, a fécula de mandioca se encontra presente em grande quantidade nos vegetais, como, tubérculo, raízes e cereais, sendo uma das matérias primas promissoras para a produção de polímeros biodegradáveis, devido ao seu baixo custo e sua abundância, e que pode ser processado como um material termoplástico na presença de plastificantes e sob ação de calor (JACOBS, 2020).

Para controle de atividades antimicrobianas dos filmes, os óleos essenciais extraídos de plantas têm atraído grande atenção nas indústrias para serem utilizados como aditivos naturais por exibirem atividade antimicrobiana e antioxidante, além desses compostos serem classificados como GRAS (Generally Recognized As Safe) (RUIZ-NAVAJAS et al., 2013).

Tendo em vista as diversas possibilidades de substituições de plásticos não degradáveis para plásticos biodegradáveis, há a proposta de produção de membranas biodegradáveis de fécula de mandioca, com interação de Óleo Essencial de Hissopo como agente antimicrobiano que possa representar uma alternativa interessante e sustentável, permitindo a obtenção de materiais ativos que podem auxiliar a extensão da vida útil do conteúdo embalado.

ESTRUTURA DO TRABALHO

Capítulo 1: Introdução geral e objetivos

Capítulo 2: Revisão de Literatura

Capítulo 3: Artigo 1: APLICABILIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Hyssopus officianallis* L. EM PELÍCULAS DE FÉCULA DE MANDIOCA: Comparação de filmes biopoliméricos obtidos de diferentes óleos essenciais.

Capítulo 4: Artigo 2: PROPRIEDADES DE ENGENHARIA DE FILMES BIOPOLIMÉRICOS DE FÉCULA DE MANDIOCA AGREGADOS DE BENTONITA E ÓLEO ESSENCIAL DE *Hissopus officianallis* L.

Capítulo 5: Artigo 3: APLICABILIDADE DE BIOEMBALAGENS DE FÉCULA DE MANDIOCA, ÓLEO ESSENCIAL DE HISSOPO E NANOARGILA EM CARNE BOVINA *in natura*.

OBJETIVOS

Objetivo geral: Desenvolvimento de membranas biodegradáveis com Óleo Essencial de Hissopo incorporados em fécula de mandioca e glicerol.

Objetivos específicos:

- Desenvolver e caracterizar as membranas de fécula de mandioca com o aditivo natural, denominado Óleo Essencial de *Hyssopus officianallis* L.;
- Desenvolver e caracterizar as películas de fécula de mandioca e nano argila Bentonita, com Óleo Essencial de *Hyssopus officianallis* L.;
- Avaliar o efeito das concentrações de Óleo Essencial de *Hyssopus officianallis* L., como agente antimicrobiano e suas propriedades físicas, estruturais e térmicas dos filmes biopoliméricos;
- Comparar as características da incorporação do Óleo Essencial de *Hyssopus officianallis* L., em películas, com os Óleos Essenciais de Cravo e Orégano;
- Avaliar o potencial industrial de filmes biopoliméricos aditivos de Óleo Essencial de *Hyssopus officianallis* L. em carne bovina *in natura*.

2. CAPÍTULO 2

REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Óleos essenciais

2.1.1. Propriedades físicas de óleos essenciais

Os óleos essenciais são substâncias voláteis, lipofílicas e geralmente apresentam-se aromáticos. Podem ser extraídos de várias partes do vegetal, como caule, folhas, raízes e frutos. Esses óleos são resultantes do metabolismo secundário dos vegetais, sendo compostos, principalmente, de terpenóides (monoterpenos e sesquiterpenos) e fenilpropanóides, metabólitos que conferem as características organolépticas (RIBEIRO *et al.*, 2018).

Os terpenos ou terpenóides, constituem o maior grupo de metabólitos secundários. Os monoterpenos e sesquiterpenos são estruturas terpênicas de menor massa molecular, que apresentam volatilidade acentuada. Essa última característica, por sua vez, apresenta grande importância para o aroma dos produtos naturais (FELIPE; BICAS, 2017).

Os óleos essenciais vindos de plantas medicinais são empregados nas indústrias de cosméticos, alimentícia e farmacêutica, contribuindo na ação terapêutica. Algumas substâncias presentes em óleos essenciais possuem alto valor comercial, os quais são isolados ou sintetizadas em laboratório (GASPARIN *et al.*, 2014).

Entre as diversas propriedades farmacêuticas e biológicas óleos essenciais, destacam-se devido a sua ação: antibacteriana, antifúngica, anticancerígena, antioxidante, antiviral e anti-inflamatória (RAUT; KARUPPAYIL, 2014).

No Brasil, os óleos essenciais são corriqueiramente utilizados na aromaterapia, que é considerada uma prática integrativa e complementar, a fim de potencializar os resultados de um tratamento adotado. Além disso, auxilia o reequilíbrio físico e/ou emocional. Desta forma, a aromaterapia contribui com o Sistema Único de Saúde (SUS), agregando benefícios ao paciente, ao ambiente hospitalar e colaborando com a economia de gastos da instituição pública por utilizar matéria-prima de custo relativamente baixo, principalmente quando analisada comparativamente às grandes vantagens que ela pode proporcionar (BRASIL, 2018).

De acordo com Ali *et al.* (2015), a aromaterapia é uma das terapias de medicina complementar e alternativa, em que utiliza óleos essenciais e essências de ervas para tratar várias doenças e melhorar a saúde do corpo.

Além do mais, os óleos essenciais são utilizados em formulações tópicas. Por possuírem ação antimicrobiana, podem inibir o crescimento bacteriano e promover o processo de cicatrização de feridas, fornecendo uma melhor alternativa ao tratamento, uma vez que os antimicrobianos mais comuns, como a sulfadiazina de prata, podem apresentar limitações, como a resistência microbiana (MODARRESI, *et al.*, 2018). Outra aplicabilidade promissora dos óleos essenciais é o mercado de cosméticos, visto que o uso de matéria-prima de origem vegetal é um diferencial para o desenvolvimento de novos produtos (CRUZ; BEZERRA, 2017).

As plantas medicinais possuem compostos voláteis que podem ser perdidos com facilidade, desta forma, para garantir sua integridade, as folhas devem ser consumidas logo após a colheita, ou secas (STORCK; DESCHAMPS, 2015). Contudo, durante a secagem, são necessários cuidados com os limites de temperatura (°C) do ar de secagem, sendo determinados de acordo com a sensibilidade das substâncias químicas, que podem ser perdidas por volatilização, como é o caso dos óleos essenciais (OEs) (LEMOS *et al.*, 2012).

A fim de obter maiores conhecimentos sobre o efeito da secagem na composição química das plantas medicinais, é necessário fazer o uso de análises específicas. No caso de óleo essencial, regularmente é recomendado o uso do sistema de cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massas (CG/EM), a fim de identificar substâncias oriundas do metabolismo secundário (MIRZAHOSSEINI *et al.*, 2017; HOWYZELA *et al.*, 2018).

Recomenda-se que a secagem artificial de plantas medicinais não exceda temperaturas acima de 40 °C, a fim de evitar alterações metabólicas do produto (MELO *et al.*, 2004). Embora, Gasparin *et al.* (2014), ao secar folhas de hortelã pimenta (*Mentha x piperita* L.), verificaram o máximo de rendimento do óleo essencial e o mínimo de degradação da cor, na temperatura do ar de secagem de 50 °C, independentemente da velocidade do ar empregada.

Vários fatores podem influenciar na composição e rendimento dos óleos essenciais, como clima, temperatura, composição do solo, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, poluição atmosférica a que a planta está submetida, além de ataque de patógenos, idade da planta, horário de coleta, equipamento utilizado para extração e tipo de extração (ANDRÉ *et al.*, 2018).

Os OEs são líquidos à temperatura ambiente e raramente viscosos. Em temperaturas mais baixas (10°C), alguns podem cristalizar sem que haja qualquer alteração química, o que

inclusive indica uma boa qualidade de produto. São voláteis, o que explica seu caráter odorante e possibilita que sejam destilados com vapor d'água. Os OEs são menos densos que a água ($\rho < 1$) e não se misturam a ela, são hidrofóbicos, o que permite que sejam separados de forma natural e espontânea após a condensação (BAUDOUX, 2018).

Boudoux (2018) afirma que os OEs são ativos sob luz polarizada e quase sempre tem índice de refração elevado. Apresentam diferente coloração. Em todo OE, os componentes aromáticos são moléculas conhecidas e bioquimicamente definidas. São esses elementos químicos que dão aos OEs propriedades específicas.

A aplicação de OEs em embalagens ativas pode ser usada nas formas de filme e revestimento, onde os filmes são tapetes finos produzidos principalmente pelo método de fundição de solvente e podem ser aplicados como revestimento, embalagem, invólucro ou separador de camada. Por outro lado, os revestimentos são suspensões líquidas de grau alimentício que se fixam na superfície dos alimentos ou filme como uma camada fina por meio de técnicas de pulverização, espalhamento ou imersão (BODIBA *et al.*, 2018; NISAR *et al.*, 2018).

Ebrahimzadeh *et al.* (2023), em seus estudos afirma que a adição de OEs tem efeitos notáveis nas embalagens de alimentos, podem melhorar as propriedades antimicrobianas, mecânicas e outras propriedades dos filmes. Porém, também sofrem certas limitações e a principal limitação das aplicações de OEs como compostos funcionais bioativos é sua alta volatilidade, baixa solubilidade e seu alto sabor que às vezes é indesejável para alguns consumidores e pode ter um efeito negativo nas propriedades organolépticas.

Os óleos essenciais podem ter muitos componentes, sendo os compostos fenólicos os principais responsáveis pelas propriedades antimicrobianas. Os compostos fenólicos são hidrofóbicos e o seu sítio de ação é a membrana celular da célula microbiana. Esses compostos se acumulam na bicamada lipídica causando desarranjo na função e na estrutura da membrana e penetram a célula bacteriana, exercendo atividade inibitória no citoplasma celular, provocando lise e liberação do ATP intracelular (WALSH *et al.*, 2003). Outro mecanismo documentado é a perda de constituintes celulares pelo aumento da permeabilidade da membrana citoplasmática (SMITH-PALMER; STEWART; FYFE, 1998; CONSENTINO *et al.*, 1999; POL; SMID, 1999; FRIEDMAN; HENIKA; MANDRELL, 2002; RHAYOUR *et al.*, 2003; YUSTE; FUNG, 2003; NAZER *et al.*, 2005).

Porém, em muitos casos o uso de óleos essenciais como conservante em alimentos é limitado pelo seu forte sabor e aroma (ATARÉS; CHIRALT, 2016).

2.1.2. Óleo essencial de cravo

Caryophyllus aromaticus L., popularmente conhecido como cravo da Índia, é uma espécie pertencente à família Myrtaceae, originalmente da Indonésia. Possui aroma e sabor muito característicos, devido ao eugenol, um composto fenólico volátil. Pode ser empregado como aromatizante e como uma planta medicinal (SCHERER *et al.*, 2009.)

O cravo-da-Índia é uma planta arbórea, nativa das Ilhas Molucas (Arquipélago da Insulândia, Indonésia), possui odor fortemente aromático, sabor ardente e característico. Das sementes, de aroma ativo, extrai-se o ácido eugênico, incolor e de sabor picante. Os extratos de cravo-da-Índia reduzem o número de *Escherichia coli* e outras bactérias durante a armazenagem de sucos, leites e chás (MAU *et al.*, 2001). Sua composição química é constituída principalmente por eugenol, acetato de eugenol, betacaroteno, ácido oleânico, e substâncias das classes: triterpeno, ceras vegetais, cetonas, resinas, taninos e esteróis.

O eugenol apresenta efeito anti-inflamatório, cicatrizante, analgésico e é eficaz no combate e diminuição de bactérias presentes na boca. Seus efeitos medicinais compreendem o tratamento de náuseas, flatulências, indigestão, diarreia. Com propriedades antibactericidas é também usado como anestésico e antisséptico para o alívio de dores de dente (NASCIMENTO *et al.*, 2000).

2.1.3. Óleo essencial de hissopo

De nome botânico, *Hyssopus officinalis* L. e comercial, Hissopo, essa planta perene é nativa de regiões temperadas da Ásia, principalmente no Irã, sul da Europa e norte da África (KAZAZI e REZAEI, 2009; AKGÜL, 1983). Pertencente à família Lamiaceae, conhecida pela riqueza de espécies e seu principal uso em especiarias culinárias e na medicina popular (PANDEY *et al.* 2014).

Conforme Harley e Pastore (2012) a família Lamiaceae compreende cerca de 7200 espécies e 240 gêneros que são nativas principalmente na área do Mediterrâneo, embora algumas tenham origem na Austrália, no Sudoeste da Ásia e na América do Sul (CUPPETT e HALL, 1998). No Brasil, existem 23 gêneros e mais de 230 espécies nativas. A maioria das espécies é conhecida pelo seu uso condimentar e muitas delas possuem atividade biológica relatada na literatura por diversos autores (LORENZI e MATOS, 2002).

O Hissopo, conforme Jahantigh *et al.*, (2016) é consumido como uma planta medicinal, aromática e culinária, em que, por exemplo, as folhas do hissopo são imersas em

chás, tônicos, sopas, saladas, molhos, entre outros. Como agente aromatizante natural, é utilizado em várias indústrias, incluindo higiene, cosmética, bebidas e alimentos preparados, carne e produtos cristalizados (KIZIL *et al.*, 2016).

Hissopo, segundo Baj *et al.*, (2018) rico em óleo volátil, flavonóides, taninos e marrubina, têm sido usados como uma erva medicinal para aliviar distúrbios digestivos, curar laringite ou acelerar a cicatrização de feridas na medicina popular turca. Relaxa vasos sanguíneos periféricos e promove a sudorese. Isso é também usado como expectorante, carminativo, anti-inflamatório, anti-catarral e antiespasmódico na medicina tradicional em muitas partes do mundo.

Apresenta os seguintes constituintes químicos: ácido caféico, ácido ursólico, benzaldeído, borneol, canfeno, cânfora, carvacrol, cetona, colina, cineol, colina, criptona, elemol, eugenol, α e β -felandreno, geraniol, heterósido, hissopina, α -humuleno, limoneno, linalol, metil-chavicol, nerol, α -pineno, resina, sabineno, β -sitosterol, taninos, α -terpineno, α -terpineol, timol, α e β -tujeno, verbenol (JAHANTIGH *et al.*, 2016).

Kizil *et al.*, (2016) em seus estudos relatou que o OE obtido da parte aérea do hissopo é um líquido verde claro ou amarelo claro com um aroma canfórico adocicado para conservar e aromatizar alimentos. O OE de Hissopo (OEH) possui propriedades antisséptico, antimicrobiano, antifúngico, antiviral (especialmente contra o HIV), antitumoral, antiespasmódicas e antioxidantes. O seu efeito fito terapêutico permite-lhe acelerar a cicatrização e o tratamento de problemas pulmonares (por exemplo, constipações, tosse e asma), inflamação da mucosa do trato gastrointestinal, nervosismo exaustão, e certas doenças de pele (ZAWISLAK, 2013).

Kazazi *et al.*, (2007) informam que os três maiores componentes identificados no OEH são os Sabinenos, iso-pinocanfona e pinocanfona, considerados tóxicos em grande quantidade.

2.1.4. Óleo essencial de orégano

Origanum vulgare L., comercialmente conhecido como orégano, da família Lamiaceae, é uma erva mediterrânea, nativa das regiões montanhosas do sul da Europa até o oeste asiático, conhecida pelo aroma inconfundível e usada há séculos na preparação de alimentos devido ao seu sabor característico, provenientes de seu OE (BENITEZ *et al.*, 2014). Além de seu uso na culinária, possui também aplicação ornamental e medicinal onde, estudos

científicos comprovam sua eficácia já conhecida pela medicina tradicional (FONNEGRA-GOMEZ e RAMIREZ, 2007).

Estudos científicos mostraram que o orégano apresenta, além da altíssima atividade antioxidante, propriedades anti-helmíntica, anti-inflamatória, analgésica, bactericida, antiespasmódica, antisséptica e vasoconstritora.

Segundo Benavides *et al.* (2012) os principais componentes antimicrobianos presentes no OE de orégano (OEO) Carvacrol, timol, γ -terpineno e p-cimeno. No entanto, a eficácia da atividade bactericida de OEO pode variar em função dos teores de timol e carvacrol presentes, que dependem de fatores abióticos como tipo de solo, clima, práticas agrícolas, variedade do orégano e processo de extração do óleo essencial (OUSSALAH *et al.*, 2006).

2.2. Fécula de mandioca

A fécula é o amido extraído das raízes de tubérculos, como a mandioca. A estrutura molecular da fécula de mandioca é formada por dois diferentes tipos de polímeros de glicose: a amilose e a amilopectina (Figura 2.1). A forma em que a amilose e a amilopectina estão dispostas nos grânulos, tem como consequência a formação de regiões mais ou menos densas (JACOBS *et al.*, 2020). A região onde se concentra a amilopectina é mais densa ou cristalina, onde sua parte linear é responsável pela origem desta cristalinidade. A amilopectina é um polímero altamente ramificado, com unidades de D-glicose ligadas por ligações α -(1 $\rightarrow$ 4) e ramificações em α -(1 $\rightarrow$ 6). As áreas amorfas são formadas por cadeias de amilose e ramificações da amilopectina. A amilose é um polímero linear composto por unidades de D-glicose ligadas por ligações α -(1 $\rightarrow$ 4), com grau de polimerização entre 200 e 3000, dependendo da fonte de fécula de mandioca (ELLIS *et al.*, 1998).

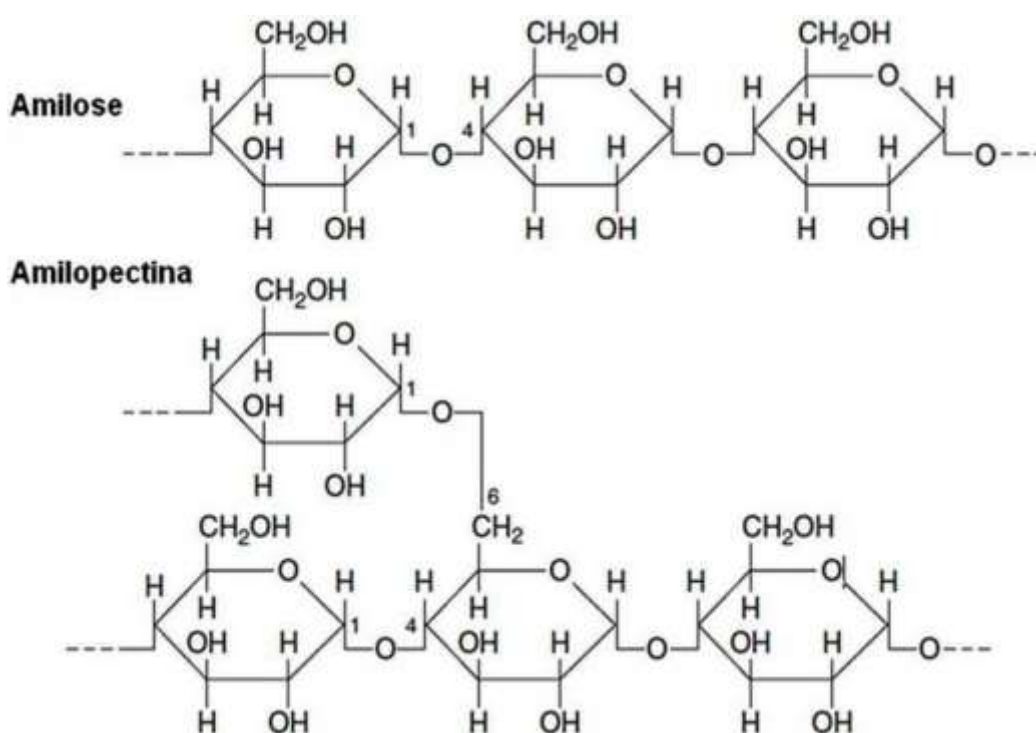


Figura 1. Ramificação da fécula de mandioca e amilose. Fonte: (Ribeiro, 2014)

Os teores dessas duas frações tendem a variar nas proporções entre estes componentes e em suas estruturas e propriedades de acordo com a fonte vegetal, resultando em grânulos com propriedades físico-químicas e funcionais muito diferentes para uso industrial e, portanto, impactando as suas aplicações. Tais concentrações são demonstradas na Tabela 2.

Tabela 2. Teor de amilose e amilopectina em diferentes fontes vegetais. (SARMENTO, 1999)

Fonte vegetal	Amilose (%)	Amilopectina (%)
Arroz	30	70
Batata	20	80
Mandioca	17	83
Milho	27	73

A produção de raiz de mandioca foi estimada em mais de 250 milhões de toneladas por ano (MARTÍN *et al.*, 2017). Essas raízes são processadas para produzir fécula de mandioca, um ingrediente alimentar básico essencial que fornece nutrição e promove a segurança alimentar em muitas nações do mundo. A fécula de mandioca contém cerca de 17% a 20% de amilose e cerca de 80% a 83% de amilopectina (MAMADOU, 1994).

De acordo com Wang *et al.* (2022), a produção global de fécula de mandioca tem se expandido rapidamente e deve chegar a 8,8 milhões de toneladas em 2020. O processo de produção de fécula de mandioca geralmente envolve uma série de etapas de processamento mecânico, como descascamento e raspagem das raízes de mandioca, separação de fibras, desidratação e secagem da fécula de mandioca (PADI e HIMPHANGO, 2020).

A crescente demanda por fécula de mandioca dos setores alimentício e não alimentício levou a uma expansão significativa dos volumes de produção de fécula de mandioca nos últimos anos (WANG *et al.*, 2022). Com a demanda cada vez maior por fécula de mandioca, a contribuição da indústria de fécula de mandioca para a produção de resíduos agroindustriais, como casca de mandioca, bagaço e águas residuais, é inevitavelmente alta (EDAMA *et al.*, 2014). A produção de 1 tonelada de fécula de mandioca contribui para a geração de aproximadamente 0,38 tonelada de casca de mandioca e 1,4 tonelada de bagaço.

2.3. Nano argila – Bentonita

De acordo com Silva e Ferreira (2008) pode-se definir a nano argila Bentonita como uma rocha constituída essencialmente por um argilomineral montmorilonítico (esmetítico). Uma argila formada pela desvitrificação e subsequente alteração química de um material vítreo, de origem ígnea, usualmente um tufo ou cinza vulcânica em ambientes alcalinos de circulação restrita de água (ROSS e SHANON, 1926).

Essa nano argila, possui excelentes propriedades de adsorção e como principais características: a alta capacidade de troca iônica, capacidade de inchamento, grande área superficial e baixa condutividade hidráulica (MACHADO *et al.*, 2018).

A capacidade de troca iônica pode ocorrer por ions de mesmo número ou número de oxidação diferente, onde nos tetraedros, o íon Al^{3+} pode substituir o Si^{4+} , e nos octaedros Mg^{2+} , Fe^{3+} podem substituir Al^{3+} . O que acaba ocasionando um desbalanceamento elétrico, compensado por Na^{1+} e Ca^{2+} , dando origem as bentonitas sódicas e bentonitas cálcicas (GUNGOR, 2000).

Além das propriedades e características dessa nano argila, Albarnaz *et al.* (2009) exemplifica as aplicações industriais da bentonita, sendo: “componente de fluidos utilizados para perfuração de poços de petróleo; aglomerante de areias de moldagem usadas em fundição; pelotização de minério de ferro; descoramento de óleos e clarificação de bebidas; impermeabilizante de solos; absorvente sanitário para animais de estimação; carga mineral

em produtos farmacêuticos, rações animais, produtos cosméticos e outros; agente plastificante para produtos cerâmicos; composição de cimento, entre outros”.

Investigações sobre o uso da bentonita na produção de biopolímeros tem ganhado espaço, devido ao grau de dispersão de argila ao longo da matriz biopolimérica que pode estar relacionado com a melhoria das propriedades de barreira ao vapor de água dos filmes (MONTEIRO *et al.*, 2018 e SOUZA *et al.*, 2012).

2.4. Filmes Biopoliméricos

Biopolímeros são materiais mais viáveis que os polímeros sintéticos. Os filmes de fontes renováveis e biodegradáveis estão diferenciados pela Figura 2.2.

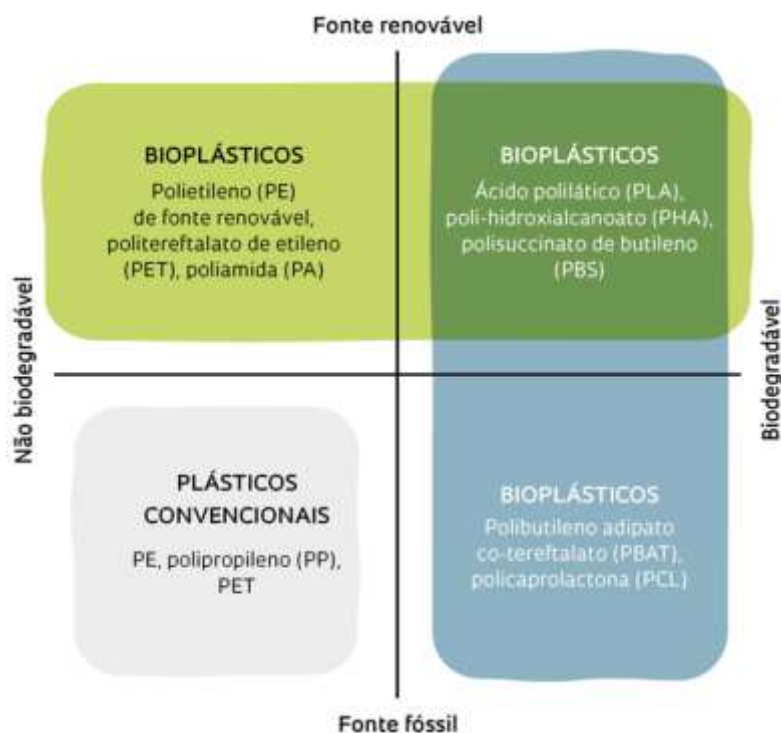


Figura 2.2. Classificação dos plásticos quanto à matéria prima e biodegradabilidade. Fonte: (Amaral, Borschiver e Morgado, 2019) (Adaptado).

As fontes renováveis, como por exemplo, os polissacarídeos naturais, possuem baixo custo, ao serem comparados com outros biopolímeros, são altamente biocompatíveis e contêm produtos de degradação bioabsorvíveis; eles também não oferecem problemas ambientais ou econômicos (NASERI-NOSAR e ZIORA, 2018).

Os biopolímeros mais utilizados na elaboração de filmes e coberturas comestíveis são as proteínas (gelatina, caseína, ovoalbumina, glúten de trigo, zeína e proteínas miofibrilares), os polissacarídeos (fécula de mandioca e seus derivados, pectina, celulose e seus derivados,

alginato e carragena) e os lipídios (monoglicerídeos acetilados, ácido esteárico, ceras e ésteres de ácido graxo) ou a combinação dos mesmos (CASTRO, 2007 e VICENTINO *et al.*, 2011).

Os filmes produzidos a partir de polissacarídeos possuem uma forte ligação de hidrogênio (H) que se liga a outros aditivos funcionais, como cores, sabores e micronutrientes (MOHAMED *et al.*, 2020; XU *et al.*, 2019). Apresentam caráter predominantemente hidrofílico e, como há fortes interações intermoleculares secundárias entre cadeias adjacentes, apresentam boas propriedades de barreira ao oxigênio, mas não à umidade, apresentam baixa resistência aos vapores de água e baixa resistência mecânica (JEEVAHAN *et al.*, 2020; TULAMANDI, 2016).

REFERÊNCIAS

- ALBARNAZ, L. D., DANI, N., FORMOSO, M. L., MEXIAS, A., e LISBOA, N. A. A jazida de bentonita de Bañado de Medina, Melo, Uruguai. Geologia, mineralogia e utilização tecnológica. **Pesquisas Em Geociências**, 36(3), 263–281. 2009. <https://doi.org/10.22456/1807-9806.17838>
- AMARAL, M.A.; BORSCHIVER, S.; MORGADO, C.R.V. Análise do segmento de bioplásticos: prospecção tecnológica em “plásticos verdes”, PHA e PLA. **Engevista** V. 21, n.2, p.228-241, Maio 2019. ISSN online: 2317-6717
- ATARÉS, L., CHIRALT, A. Essential oil as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. **Trends in Food Science e Technology**, v. 48, p. 51-62, 2016.
- BODIBA, D.; SZUMAN, K. M.; LALL, N. Chapter 6 - The Role of Medicinal Plants in Oral Care. **Medicinal Plants for Holistic Health and Well-Being** 2018, Pages 183-212. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812475-8.00006-8>
- CASTRO, FÁBIO DE. Plástico de mandioca para embalar alimentos é biodegradável e pode ser comido. Inovação tecnológica, 8 de fev. de 2007. Disponível em: <<https://www.inovacaotecnologica.com.br/noticias/noticia.php?artigo=010160070208#.Y8VkJMLIU>>.
- EBRAHIMZADEH, S; BISWAS, D.; ROY, S.; MCCLEMENTS, D.J. Incorporation of essential oils in edible seaweed-based films: A comprehensive review. **Trends in Food Science e Technology**. V. 135, May 2023, Pages 43-56. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.03.015>

- EDAMA, N. A., SULAIMAN, A., e RAHIM, S. N. A. Enzymatic saccharification of Tapioca processing wastes into biosugars through immobilization technology (Mini Review). **Biofuel Research Journal**, 1(1), 2–6. 2014. <https://doi.org/10.18331/BRJ2015.1.1.3>
- ELLIS, R.P.; COCHRANE, M. P.; DALE, M. F. B.; DUFFUS, C. M.; LYNN, A.; MORRISON, I. M.; PRENTICE, R. D. M.; SWANSTON, J. S.; TILLER, S. A. Starch production and industrial use (Review). **Journal of Science Food and Agriculture**, London, v.77, n. 3, p.289-311, 1998.
- FONNEGRA-GOMÉZ, R.J.; RAMÍREZ, S.L.J. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. 2°. ed. Medellín: Editorial Universidad de Antioquia. 2007.
- GÜNGÖR, N. Effect of the adsorption of surfactants on the rheology of Na-bentonite slurries. **Journal of Applied Polymer Science**, 75, 107-110, 2000.
- JACOBS *et al.*, Produção e caracterização de biofilmes de fécula de mandioca incorporados com polpa de acerola. **Revista Iberoamericana de Polímeros**. v.21(3). 2020.
- JEEVAHAN, J. J.; CHANDRASEKARAN, M.; VENKATESAN, S. P.; SRIRAM, V.; JOSEPH, G. B.; MAGESHWARAN, G.; DURAIRAJ, R. B. Scaling up difficulties and commercial aspects of edible films for food packaging: A review. **Trends in Food Science e Technology**, v. 100, p. 210–222, 2020.
- KANG, H. J.; SEA, C. M. Potato peel-based biopolymer film development using high-pressure homogenization, irradiation, and ultrasound. **Food Science and Technologies**, v.43. n. 6, p.903-909, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.025>
- LIU, J.; WANG, Y.; HOU, X.; CUI, Q.; WU, H.; SHEN, G.; LUO, Q.; LI, S.; LIU, X. LI, M.; ZHOU, M.; ZHU, X.; CHEN, A.; ZHANG, Z. Starch-based film functionalized with Zanthoxylum armatum essential oil improved the shelf life of beef sauce, **LWT**, Volume 183, 2023, 114930, ISSN 0023-6438, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114930>.
- MACHADO, M.C.P.; LANGBEHN, J.T.; OLIVEIRA, C.M.; ELYSEU, F.; CARGNIN, M.; DE NONI JR, A.; FRIZON, T. E. A; PETERSON, M. Estudo do comportamento e caracterização de argilas bentoníticas após processo de liofilização. **Cerâmica** 64, 2018. 207-213. <https://doi.org/10.1590/0366-69132018643702324>
- MAMADOU, S. Etude du procédé de fabrication de barquettes a base de produits amylaces expanses, application au manioc. 1994. 53p. Thèse (Diplôme D'Études Approfondies) - **L'Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires**, Massy, 1994.
- MARTÍN, C., WEI, M., XIONG, S., e JONSSON, L. J. Enhancing saccharification of cassava stems by starch hydrolysis prior to pretreatment. **Industrial Crops and Products**, 97, 21–31. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.11.067>

- MONTEIRO, M. K. S., OLIVEIRA, V. R. L., SANTOS, F. K. G., *et al.*,, “Hydrophilicity, Solubility and Optical Properties in Composite Films of Gelatin and Bentonite Clay in its Natural Form or Modified”, **Materials science forum**, v. 912, pp. 136-140, 2018.
- MOHAMEDA, S. A. A., EL-SAKHAWYB, M.; EL-SAKHAWYC, M. A. Polysaccharides, Protein and Lipid -Based Natural Edible Films in Food Packaging: A Review. **Carbohydrate Polymers**, v. 238, p. 116-178, 2020.
- NAPASIRTH, V.; NAPASIRTH, P., SULINTHONE, T. *et al.* Microbial population, chemical composition and silage fermentation of cassava residues. **Animal Science Journal**, v.86, p.842-848, 2015.
- NASERI-NOSAR M, ZIORA ZM. Wound dressings from naturally-occurring polymers: a review on homopolysaccharide-based composites. **Carbohydr Polym.** 2018; 189:379–398. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.02.003>.
- NISAR, T.; WANG, Z-Chao; YANG, X.; TIAN, Y.; IGBAL, M.; GUO, Y. Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. **International Journal of Biological Macromolecules** V.106, January 2018, Pages 670-680. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.068>
- PADI, R. K., e CHIMPHANGO, A. Commercial viability of integrated waste treatment in cassava starch industries for targeted resource recoveries. *Journal of Cleaner Production*, 265, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121619>
- Pandey, A., Soccol, C. R., Nigam, P., Soccol, V. T., Vandenberghe, L. P. S., e Mohan, R. Biotechnological potential of agro-industrial residues. II cassavabagasse. **Bioresource Technology**, 74(1), 81–87. 2000. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\) 00143-1](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99) 00143-1)
- RIBEIRO, RAYANE DE TASSO MOREIRA. Mobilização de reservas durante a germinação e estabelecimento plântulas de *Macrolobium acaciifolium* Benth. (Leguminosae) e seu papel na adaptação aos pulsos de alagamento na Amazônia. 64 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica. 2014.
- ROSS, C.S. e SHANNON, E.V., Minerals of Bentonite and Related Clays and Their Physical Properties, **Journal of American Ceramic Society** 9, 77 (1926).
- SCHERER, R., WAGNER, R., DUARTE, M. C. T. e GODOY, H. T. 2009. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palma rosa. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, 11(4): 442-449.

- SILVA, R. S., *et al.*, Analysis of Hybrid sorubim protein films incorporated with glycerol and clove essential oil for packaging applications. **Journal of Polymers and the Environment**, 28, 421–432. 2020.
- SILVA, A.R.V.; FERREIRA, H.C.; Argilas bentoníticas: conceitos, estruturas, propriedades, usos industriais, reservas, produção e produtores/fornecedores nacionais e internacionais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.3.2 (2008) 26-35 ISSN 1809-8797.
- SOUZA, A. C., BENZE, R., FERRÃO, E. S., DITCHFIELD, C., COELHO, A. C. V., e TADINI, C. C. Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature. **LWT - Food Science and Technology**, 46, 110–117. 2012.
- TULAMANDI, S.; RANGARAJANB, V.; RIZVIC, S. S. H.; SINGHALD, R. S.; CHATTOPADHYAYA, S. K R.; SAHAA; N. C. A biodegradable and edible packaging film based on papaya puree, gelatin, and defatted soy protein. **Food Packaging and Shelf Life**. v. 10, p. 60–71, 2016.
- UCHECHUKWU-AGUA, A. D., CALEB, O. J., e OPARA, U. L. Postharvest handling and storage of fresh cassava root and products: A review. **Food and Bioprocess Technology**, 8(4), 729–748. 2015. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1478-z>
- VICENTINO, SUELLEN LAÍS; FLORIANO PATRÍCIA APARECIDA; DRAGUNSKI, DOUGLAS CARDOSO; CAETANO JOSIANE. Filmes de fécula de mandiocas de mandioca modificados para recobrimento e conservação de uvas. **SciELO**, 6 de out. de 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000800003>.
- WANG, Z., MHASKE, P., FARAHNAKY, A., KASAPIS, S., e MAJZOBI, M. Cassava starch: Chemical modification and its impact on functional properties and digestibility, a review. **Food Hydrocolloids**, 129. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107542>
- WANG, L., RHIM, J., HONG, S. “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, pp.454-461, 2016.
- XU, T.; GAO, C.; FENG, X.; YANG, Y., SHEN, X.; TANG, X. Structure, physical and antioxidant properties of chitosan-gum Arabic edible films incorporated with cinnamon essential oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 134, p. 230–236, 2019.

3. CAPÍTULO 3

APLICABILIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Hyssopus officianallis* L. EM PELÍCULAS DE FÉCULA DE MANDIOCA: Comparação de filmes biopoliméricos obtidos de diferentes óleos essenciais.

RESUMO

Conforme as pesquisas sobre filmes biopoliméricos, os Óleos Essenciais (OEs) tem evidenciado a sua viabilidade como aditivos naturais, para controle de atividade antimicrobiana, e propriedades hidrofóbicas, plastificantes e mecânicas. O OE de Hissopo (*Hyssopus officianallis* L.) possui atributos antimicrobianos, antifúngicos e antivirais, qualidades agradáveis para uma possível aplicação em diversas áreas para controle dessas atribuições. Este trabalho teve como intuito a inserção do OE de Hissopo (OEH) em membranas biopoliméricas de fécula de mandioca, inovando sua utilização. Foram produzidas películas com OE de Cravo (OEC) e OE de Orégano (OEO), em percentual de 0,5% e 1%, respectivamente, pela técnica de *casting*. Os filmes foram denominados como: sem adição de OEs (T0); 0,5% de OEH (TH05); 1% de OEH (TH1); 0,5% de OEC (TC05); 1% de OEC (TC1); 0,5% de OEO (TO05) e 1% de OEO (TO1). As avaliações nos diferentes filmes foram durante um período de 24 meses, cujas análises foram: qualitativa, antimicrobiana, cor, propriedades mecânicas tais como: Espessura, densidade, permeabilidade, solubilidade, resistência a tração e alongação. A biodegradação ao solo foi realizada por um período de 30 dias, foram realizados testes em diferentes campus universitários, sendo eles: Ângulo de Contato (IFSC-São Carlos), Microscopia de varredura (Multilam-UFMS), Espectroscopia UV-Vis (UFMS), Calorimetria Explorativa de Varredura (Multilam-UFMS), Termogravimetria (TG) (Multilam-UFMS), e Difração de raios X (UFMS). Os resultados demonstraram películas hidrofílicas, com alta luminosidade, porosas, com pouca resistência a tração e biodegradáveis. De acordo com os resultados na análise qualitativa, os aspectos visual e homogeneidade foram satisfatórios, quanto a maleabilidade, destacam-se os filmes: T0, TC05, TH05 e TO05. Observou-se alta eficiente quanto a atividade antimicrobiana, os filmes não tiveram proliferação no *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* e *Enterobacter aerogenes*. mas não houve formação de halo. Conforme a análise de Espectroscopia no Infravermelho, em todos os tratamentos realizados os OEs não alteraram a composição química da fécula de mandioca. As membranas não apresentaram absorção significativa no espectro UV-Vis. As películas apresentaram características hidrofílicas, alta luminosidade,

porosidade, baixa resistência a tração e biodegradáveis ao solo. O filme com OEH obteve resultados de alongação e solubilidade promissores, constatando sua viabilidade como aditivo natural em biopolímeros.

Palavras-chave: Aditivos naturais; Biopolímeros; Hissopo; Membranas.

INTRODUÇÃO

Os Óleos Essenciais (OEs) consistem em uma mistura complexa de substâncias voláteis e não voláteis, que são de natureza lipofílica e amplamente classificadas em alcaloides carotenóides, ácidos fenólicos, flavonoides, monoterpenos, isoflavonas e aldeídos (RASHED *et al.*, 2021).

Suas propriedades antimicrobianas contra vários agentes patogênicos envolvidos em doenças transmitidas por alimentos têm sido demonstradas através dos anos por estudiosos (ORIANI *et al.*, 2014). No entanto, sua incorporação em sistemas alimentares é limitada principalmente por considerações de sabor, uma vez que doses antimicrobianas eficazes podem exceder a aceitação organoléptica (ACEVEDO-FANI *et al.*, 2015).

O OE de Hissopo (OEH) é composto principalmente por pinocamfona, α -pineno, β -pineno e isopinocamfona, apresentando características antifúngicas, antimicrobianas e antioxidantes, sendo utilizado para tratamentos respiratórios, herpes e até mesmo a HIV (SAID-AL *et al.*, 2015).

Biopolímeros são estudados como possíveis substitutos de polímeros sintéticos. Pesquisas demonstram o uso de polissacarídeos e proteínas como fontes renováveis de matérias primas para bioplásticos. Como aditivos naturais, para controle microbiano, aplica-se OEs, que são metabólitos secundários de plantas e ervas aromáticas, e que ganharam grande popularidade durante a última década devido às suas atividades biológicas associadas (REHMAN *et al.*, 2021).

Visando a aplicação do OEH em membranas biopoliméricas e a substituição de embalagens sintéticas não biodegradáveis, pelas de fontes renováveis e biodegradáveis, este trabalho teve como objetivo desenvolver filmes oriundos de fécula de mandioca, com o aditivo natural, OEH, caracterizando suas propriedades antimicrobianas, mecânicas, químicas e térmicas.

Para comparações de características, também foram produzidas películas com adição de OE de Cravo (OEC) e OE de Orégano (OEO).

MATERIAIS E MÉTODOS

A fécula de mandioca, glicerina, água destilada e os óleos essenciais de Cravo (OEC); e Orégano (OEO), utilizados no experimento, foram cedidos pelo laboratório de Bioengenharia da UFGD. O OEH (marca: Now Essential Oils, Illinois, EUA) foi obtido comercialmente. A cromatografia gasosa do OEH encontra-se no Anexo.

3.2.1 Desenvolvimento dos filmes

A produção do filme teve como matéria prima a fécula de mandioca (denominado polvilho doce, granulometria de fração fina ($>150\mu\text{m}$), marca: DONANA, DOURADOS-MS), com adaptação do método de Holsbach *et al.* (2019) a solução de fécula de mandioca foi dissolvida parcialmente em 100 ml de água destilada pré-aquecida por fogareiro elétrico (modelo: XF-FOG-0002, X-FIRE, China) e levadas ao agitador mecânico eletrônico (modelo Q235-1, Quimis, Diadema - SP), com agitação de 350 rpm. Ao chegar à temperatura de 60°C, a fécula de mandioca apresentou processo de dissolução e intumescimento, em seguida foi adicionada a glicerina em proporção 30% (g/ml), sob agitação por 30 minutos, após o resfriamento da solução a uma temperatura de 35°C, houve a adição dos diferentes óleos essenciais, nas proporções de 0,5% e 1% de Cravo (OEC), Hissopo (OEH) e Orégano (OEO), por mais 10 minutos. As membranas foram denominadas conforme tabela abaixo:

Tabela 3.1. Filmes de fécula de mandioca e suas respectivas composições

Filmes	Fécula de mandioca (g)	Glicerol (%)	OE (%/3g fécula)
T0	3,0	30	---
TC05	3,0	30	0,5 de OEC
TC1	3,0	30	1 de OEC
TH05	3,0	30	0,5 de OEH
TH1	3,0	30	1 de OEH
TO05	3,0	30	0,5 de OEO
TO1	3,0	30	1 de OEO

Dados: sem adição de OEs (T0); 0,5% de OEH (TH05); 1% de OEH (TH1); 0,5% de OEC (TC05); 1% de OEC (TC1); 0,5% de OEO (TO05) e 1% de OEO (TO1).

Para a formação do filme, adaptou-se a metodologia utilizada por Chevalier *et al.* (2020). Utilizou-se o método “*casting*”, em que, 25mL das soluções foram adicionadas em placas de acrílico com 9 cm de diâmetro e foram secos à temperatura de 40°C na estufa de

secagem com circulação de ar (Marconi, modelo MA035, São Paulo, Brasil) até total evaporação da água.

Após esse procedimento, os filmes foram armazenados por 24h, em dessecadores mantidos a 20°C e umidade relativa de 75%. A umidade relativa foi controlada usando solução saturada de cloreto de sódio, posteriormente as amostras foram acondicionadas em caixa térmica para proteção de intempéries até o início das análises.

3.2.2 Análise qualitativa dos filmes

Após a etapa final da elaboração dos filmes, as películas foram avaliadas quanto seus aspectos de homogeneidade, visual e maleabilidade.

3.2.3 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi realizada para todos os filmes biopoliméricos desenvolvidos. Os filmes foram cortados em forma de disco de 1,5 cm de diâmetro, e colocados em placas esterilizadas contendo ágar *muller-hinton*. As bactérias utilizadas foram *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 e incubadas durante 36 h a 37 °C para formação dos halos de inibição bacteriana, conforme metodologia de (KIM *et al.*, 2011; MEDINA *et al.*, 2011; FARJANA; ZERIN; KABIR, 2014).

Após a incubação, foi realizada a medição dos halos de inibição. O diâmetro da zona de inibição em torno do poço (incluindo todo poço) as medidas foram realizadas com o auxílio de uma régua. As zonas com diâmetro maior ou igual a 9 mm foram consideradas como inibição (OLIVEIRA *et al.*, 2013; ZHAO; SHAH, 2015).

3.2.4 Cor

A cor foi determinada utilizando o colorímetro CR-400 (Konica Minolta, Chroma Meter, Japan). Os filmes foram depositados em placa branca e analisados em três pontos, um no centro e dois nas bordas. Os filmes foram realizados em triplicata. A escala CIE-Lab foram utilizadas para medir a cor dos filmes, L* indica a luminosidade presente, a*(coordenada vermelho/verde) e b*(coordenada amarelo/azul), C* (intensidade de cor ou saturação), H* ângulo hue (vermelho-roxo em 0°, amarelo em 90°, verde-azul em 180° e azul em 270°) e ΔE como a diferença de coloração (HUNTERLAB, 1997). Valores quais foram calculados pelas seguintes equações:

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (3.1)$$

$$H^*(^\circ) = \arctan \frac{a^*}{b^*} \times \frac{180}{\pi} \quad (3.2)$$

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (3.3)$$

A opacidade foi calculada em porcentagem, com relação entre a opacidade dos filmes sobrepostos ao padrão preto e padrão branco, conforme a equação (3.4):

$$Op(\%) = \frac{P_{preto}}{P_{branco}} \times 100 \quad (3.4)$$

Onde: Op = opacidade do filme (%); Ppreto = opacidade do filme sobreposto a um fundo preto; Pbranco = opacidade do filme sobreposto a um fundo branco.

3.2.5 Espessura

A espessura dos filmes foi mensurada por paquímetro digital Digemess 100.174BL, com uma precisão de 0,001 mm. Os filmes foram medidos aleatoriamente em cinco pontos e então realizada a média final de cada tratamento.

3.2.6 Densidade

A determinação da densidade, em g/cm³, foi feita após desidratação em dessecador durante 24 h, dividindo-se a sua massa (g) pela área superficial correspondente (cm²), resultando em sua gramatura. E então, dividindo-a pela espessura (cm) dos filmes. Para isso, utilizou-se a Equação (3.5)

$$D = G/e \quad (3.5)$$

Onde: G= gramatura dos filmes (g.cm⁻²); e= espessura (cm).

3.2.7 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água indica o quão permeável o filme é às moléculas de água, ou seja, é a taxa de transmissão de vapor de água por unidade de área do material (ASTM, 1980). Segundo metodologia de Chevalier *et al.* (2020), a amostra de filme foi selada na abertura circular de uma célula de permeação contendo cloreto de cálcio anidro (0% de UR). Estas células de permeação foram colocadas em dessecadores de vidro com uma solução saturada de cloreto de sódio e mantidas a 25°C. O ganho de massa através do filme foi

analisado a cada 24h, por sete dias. A permeabilidade ao vapor de água foi calculada pela equação (3.6):

$$PVA = \frac{\Delta W}{t} \times \frac{e}{A \Delta P} \quad (3.6)$$

Onde: PVA = Permeabilidade ao vapor de água (g.mm/KPa.dia.m²); ΔW= Ganho de massa pelo dessecante (g); e= Espessura do filme (mm); t= Tempo de incubação (dias); A= Área da superfície do filme exposto (m²); ΔP= Diferença de pressão parcial (KPa).

3.2.8 Solubilidade em água

Seguindo o método proposto por Gontard *et al.* (1994), as amostras de discos em triplicata com 2 cm de diâmetro foram retiradas dos filmes. A matéria seca inicial das amostras foi obtida por secagem em estufa de circulação de ar forçado por 24 h a 105 °C. Após a primeira pesagem, as amostras foram imersas em recipiente contendo 50 mL de água destilada e mantidas sob agitação constante a 50 rpm em agitador orbital a 25 °C por 24 h (Cientec, CT-712RNT). As amostras solubilizadas foram então removidas e secas em estufa de circulação de ar forçado a 105 °C durante mais 24 h antes de determinar a matéria seca final. A solubilidade do filme foi representada pelo material solúvel total dissolvido em água, calculado de acordo com a Equação (3.7)

$$S(\%) = \frac{(m_i - m_f)}{m_f} \times 100 \quad (3.7)$$

Onde: S = solubilidade em água (%); m_i = massa seca inicial da amostra (g); m_f = massa seca final da amostra (g).

3.2.9 Resistência à tração (RT)

A resistência à tração foi determinada em triplicata usando o Analisador de Textura TA-XT2 (SMS, Surrey, UK), operado de acordo com o método padrão ASTM D 882-83 (ASTM, 2000b), com modificações de Tanada-Palmu *et al.* (2000), pelo Laboratório de Análise de Produtos Agropecuários, da Faculdade de Ciências Agrárias – UFGD. Os filmes foram cortados em retângulos (8,0 cm de comprimento por 2,5 cm de largura) e fixados em garras com distância inicial até a separação de 5,0 cm. A velocidade dos filmes foi fixada em 0,8 mm/s. A resistência à tração foi calculada dividindo a força máxima para a ruptura do filme pela área da seção transversal do filme, Equação (3.8).

$$RT = \frac{F_m}{A} \quad (3.8)$$

Onde: RT = resistência à tração (MPa); Fm = força máxima no momento da ruptura (N); A = área da secção transversal do filme (m²).

3.2.10 Elongação

A elongação na ruptura foi determinada usando o Analisador de Textura TA-XT2 (SMS, Surrey, UK) pelo Laboratório de Análise de Produtos Agropecuários, da Faculdade de Ciências Agrárias – UFGD. Calculando a diferença entre a distância final percorrida até a ruptura e a distância inicial de separação, dividindo-as pela distância inicial de separação, analisando sua porcentagem, conforme Equação (3.9)

$$E(\%) = \frac{(dr-do)}{do} \times 100 \quad (3.9)$$

Onde: E = elongação (%); do = separação inicial entre as garras (cm); dr = separação entre as garras no momento da ruptura (cm).

3.2.11 Biodegradação em solo

A metodologia de biodegradação no solo foi realizada de acordo com Fernandes *et al.*, (2019), Gomes e Borges (2022), e pela norma G160-98 da ASMT, com adaptações. O solo utilizado foi o argilossolo, típico da região de Dourados, retirado no dia 02/02/2023 e disposto em bandeja de plástico 0,32x0,32m. Foram adicionadas 5cm de terra, em seguida, os filmes foram acomodados e então complementados mais 5cm de terra, sendo identificados conforme Figura 3.



Figura 3. Teste de biodegradação das películas de fécula de mandioca. Fonte: (a autora).

As localidades de cada filme foram sinalizadas. As películas foram pesadas a cada cinco dias, removendo o excesso de terra com auxílio de um pincel. Analisando seus aspectos visuais, perda de massa e com isso calculando a biodegradação total das amostras.

Para calcular o tempo de biodegradação, utilizou-se o método de Tendência Linear, pelos cálculos de Regressão por Mínimos Quadrados, Equação (3.10). Este método aproxima um padrão linear de uso, durante um período, para atributos selecionados com base em seus valores.

$$y = mx + k \quad (3.10)$$

Onde: y é o valor previsto de um atributo, m é a matriz da linha, x é um ponto no tempo, e k é a interceptação de y . Quanto mais próximo o coeficiente de correlação R^2 está de 1, maior a correlação linear entre x e y .

3.2.12 Ângulo de Contato

Para indicar o grau de hidrofobicidade ou hidrofiliicidade de superfície de uma amostra foi realizada a análise de ângulo de contato, no Instituto de Física de São Carlos (IFSC/USP), pelo Grupo de Polímeros (Prof. Bernhard Gross).

Quando uma gota de líquido é colocada sobre uma superfície sólida (Figura 4) forma-se uma interface tripla entre o sólido, o líquido e o vapor, cuja posição de equilíbrio depende das forças associadas às três tensões interfaciais. O ângulo de contato (θ) é designado entre a superfície sólida e a tangente à superfície do líquido num ponto da linha de contato com o sólido (PASCH *et al.*, 2005; SU *et al.*, 2010).



Figura 4. Ângulo de contato entre o líquido e a superfície. γ_S é a energia de superfície do sólido; γ_{LV} tensão superficial do líquido em equilíbrio com o vapor; e γ_{SL} é a energia da interface sólido-líquido. Fonte: (PEROVAL *et al.*, 2002).

A determinação do ângulo de contato (AC) é dada por meio da deposição de uma gota de água, variando de 4 a 10 microlitros, com uso de uma microseringa, sob o filme, onde se avalia a reta tangente à intersecção da relação água-sólido (filme), de modo a obter-se o ângulo de contato (θ) (PASCH *et al.*, 2005; SU *et al.*, 2010). O momento de colisão entre gota e superfície do biofilme é capturado por meio de uma câmera de precisão (KSV CAM 200®), a qual foi configurada para disparar quando a gota se aproximou do sólido, registrando 6 (seis) fotos por segundo, em um período de 10 (dez) segundos. O tempo de 5 (cinco) segundos foi definido para ilustrar as magnitudes de AC, para todos os filmes, tempo esse comumente utilizado para descrever as magnitudes de AC. Os resultados dos ângulos de contato dependem da constituição de cada material, do solvente, da rugosidade do filme, e outras características (SILVA *et al.*, 2007). Por meio das imagens adquiridas, o software do próprio equipamento efetua os cálculos de AC.

3.2.13 Microscopia Eletrônica de Varredura

A análise mais utilizada para avaliar a microestrutura de filmes biodegradáveis é a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A morfologia da superfície dos filmes foi observada utilizando um Microscópio Eletrônico de Varredura (JEOL, JSM-6060, Japão), operado a 10 kV e 50 mA, no Laboratório Multiusuário de Análises de Materiais - MULTILAM, do departamento de Física da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

(UFMS). Antes da análise, as amostras foram colocadas em um suporte de alumínio e cobertas com uma fina camada de ouro (Sputter Coater, SCDO50) para melhorar a condução térmica. Imagens foram capturadas com ampliação de 500x; 2000x e 5000x.

3.2.14 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier

A técnica de espectroscopia na região do infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), foi realizada no Laboratório de Caracterização- CLF, pelo departamento de Física – UFGD. A análise ocorreu segundo metodologia de Sueiro *et al.* (2016), com modificações, pelo espectrofotômetro (Prestige 21, 210045, Japão), sem preparação de revestimento, por transmitância, na região espectral de 4000-400 cm^{-1} , com acúmulo de 32 varreduras, utilizada para avaliação da presença de grupos químicos das matrizes poliméricas dos filmes de fécula de mandioca e óleos essenciais.

3.2.15 Espectroscopia na Região Ultravioleta – Visível (UV-Vis)

A análise foi realizada no laboratório de síntese e caracterização molecular - LSCM, no Instituto de Química – UFMS, Campo Grande/MS. Os espectros eletrônicos de absorção molecular nas regiões do ultravioleta e visível (UV-Vis) foram obtidos em um espectrofotômetro (Lambda 60S–PerkinElmer). Seguindo a metodologia de Falção *et al.* (2021), com adaptações, as análises espectroscópicas no estado sólido foram realizadas através da técnica de reflectância difusa, na região espectral de 800-200nm, com amostras de diâmetros de 3cm. Os espectros obtidos foram utilizados após a transformação da porcentagem de reflectância em absorbância [$\log_{10}(1/\text{reflectância})$] no espectrofotômetro Lambda 60S–PerkinElmer com esfera integradora.

3.2.16 Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial e Termogravimetria (TG)

A transição vítrea de temperaturas e as variações de entalpia de fusão dos filmes foram realizadas no Laboratório MULTILAM do Instituto de Física- UFMS, utilizando um calorímetro diferencial de varredura (Netzsch, Modelo: STA 449 F3 Jupiter, Selb, Alemanha) com o módulo de resfriamento por nitrogênio líquido. Amostras com cerca de 6-8 mg foram hermeticamente seladas em cápsulas de alumínio e pré-condicionadas a 25 °C e 50% de umidade relativa. As medições foram realizadas em atmosfera inerte de grau cromatográfico ultra seco a gás nitrogênio, para a mesma vazão de alimentação e arrasto de 50 ml min^{-1} . Os filmes foram iniciados a 40 °C e depois as amostras foram aquecidas a uma taxa de 10 °C min^{-1} até atingir 200 °C.

3.2.17 Difração de Raio X (DRX)

As análises de difração de raios-X foram realizadas usando um difratômetro D8 Advance Bruker com radiação de cobre (Cu), cedido pelo laboratório de Química – Instituto de Química - UFMS. A metodologia abordada foi a de Andrade *et al.* (2016), seguindo as condições de análise foram: (i) tensão e corrente a 40 kV e 40 mA, respectivamente; (ii) faixa de varredura 2θ de 5 a 30°; (iii) passo: 0,1 ° e (iv) velocidade 1° min⁻¹, fornecido com grafite monocromador de feixe secundário. A variação dos tamanhos dos cristais foi determinada usando o software PC - APD Diffraction.

3.2.18 Análise estatística

O software Minitab19® foi usado para calcular a análise de variância (ANOVA). O teste de Tukey foi usado para determinar as diferenças entre as propriedades dos filmes na faixa de confiança de 95% usando o software Minitab19®. As avaliações foram realizadas a partir de dados obtidos em triplicatas e os resultados foram apresentados pela média $\pm$ desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.3.1. Análise qualitativa dos filmes

Os filmes foram avaliados de maneira subjetiva, considerando sua homogeneidade, visual e manuseio. Os aspectos iniciais das películas estão descritos pela Tabela 4.

Tabela 4 Dados da análise qualitativa dos filmes

Teste	Homogeneidade	Visual	Manuseio
T0	**	**	***
TC1	**	**	*
TC05	**	**	**
TH1	**	**	*
TH05	**	**	**
TO1	**	**	*
TO05	**	**	**

Nota: *** atende com excelência, ** atende de modo satisfatório, * atende para aplicação.

Os filmes apresentaram dados qualitativos relevantes, apresentaram homogeneidade, dada a dissolução da fécula de mandioca no soluto. O T0, apresentou superior qualidade em quanto ao manuseio, em comparação com TH1, TH05, TC1, TC05, TO1 e TO05, devido a não adição de óleos essenciais. Os outros tratamentos demonstraram fragilidade à manipulação, devido à quebra com facilidade, por tanto a manipulação era cuidadosamente para evitar rupturas.

Visualmente, os tratamentos TC1 e TO1 apresentaram formação de pequenas bolhas, provavelmente devido a temperatura. Os filmes com adição de OEs, principalmente em maior proporção apresentaram pegajosidades e aderência com a superfície, dificultando sua separação após armazenamento.

3.3.2. Atividade Antimicrobiana

Os filmes apresentaram inibição contra a bactéria Gram positiva *Staphylococcus aureus*, em conformidade a Figura 5.

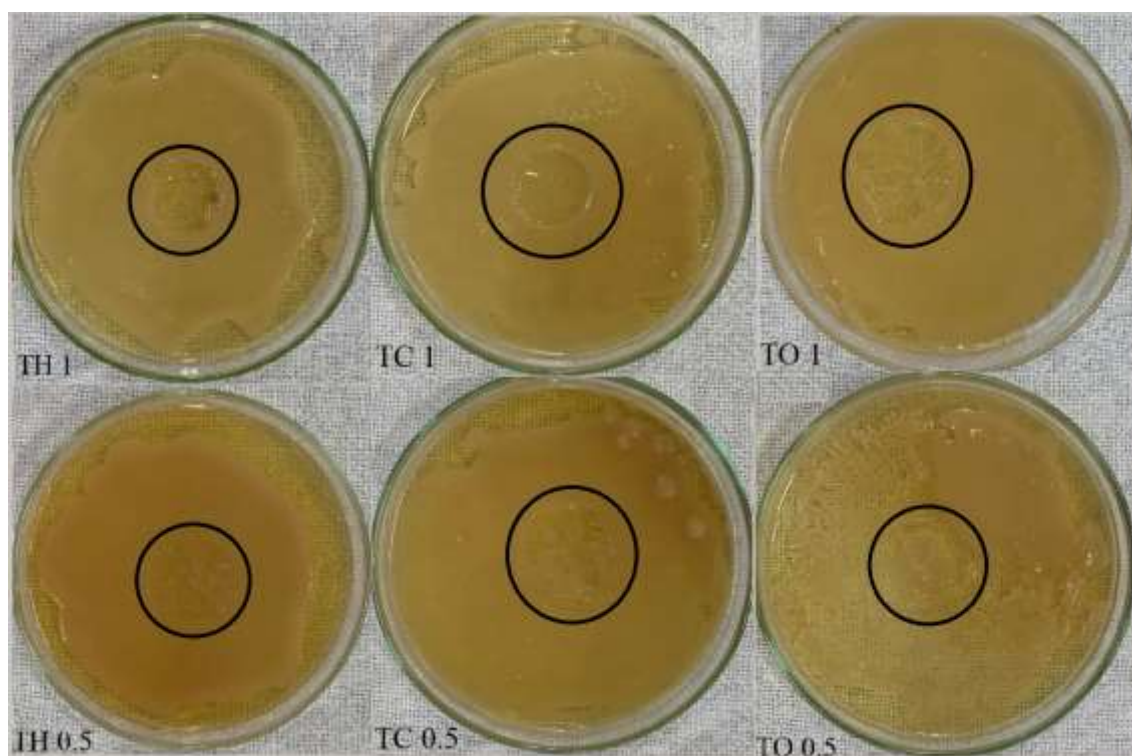


Figura 5. Resultado do teste de ágar pela bactéria *Staphylococcus aureus* nos filmes. Fonte: (a autora).

As membranas foram eficazes para *Staphylococcus aureus* já que ele não apresentara proliferação nos filmes desenvolvidos, porém não apresentaram halo de inibição. Acredita-se que os OEs por serem polares não tenham se fundido com os componentes dos filmes. O que

pode ter ocasionado a não formação de halo durante o período analisado. Conforme citado por Pankey e Sabath (2013) e Freitas *et al.* (2021) a ação bacteriostática dos OEs impediram o crescimento das bactérias sobre os filmes, mantendo o mesmo na fase estacionária.

Os dados apresentados na Figura 5. são coerentes aos dados analisados por Baj *et al.* (2018) que obteve êxito em sua aplicação de OEH em meio de cultura, visando analisar a ação antimicrobiana contra bactérias (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Proteus mirabilis* ATCC 12453), Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, entre outros).

Não houve proliferação das bactérias gram negativas *Klebsiella aerogenes* e *Bacillus cereus*, mas não apresentaram halo de inibição.

3.3.3. Cor

As características de cor são propriedades importantes de filmes, principalmente para o consumidor (ZHOU *et al.*, 2021). Os resultados dos parâmetros são demonstrados pela Tabela 5.

Tabela 5. Dados de cor nos filmes de fécula de mandioca e OEs

Teste	Parâmetros						
	L*	a*	b*	Op (%)	C*	H°	ΔE
T0	94,06±0,24 ^a	-0,34±0,11 ^a	4,88±0,22 ^a	44,00±1,04 ^a	4,89±0,22 ^a	93,21±0,27 ^b	nd
TC1	92,82±1,19 ^a	-0,29±0,02 ^a	5,05±0,58 ^a	44,42±1,30 ^a	5,05±0,58 ^a	93,33±0,60 ^b	1,55±1,19 ^a
TC05	93,99±0,21 ^a	-0,32±0,005 ^{ab}	4,88±0,13 ^a	44,63±0,72 ^a	4,89±0,12 ^a	93,82±0,16 ^b	0,18±0,10 ^{ab}
TH1	94,56±0,82 ^a	-0,34±0,02 ^b	4,11±0,19 ^a	40,56±2,33 ^a	4,32±0,19 ^a	94,82±0,17 ^a	1,31±0,09 ^{ab}
TH05	93,87±0,27 ^a	-0,33±0,02 ^{ab}	4,70±0,14 ^a	37,53±1,02 ^a	4,66±0,13 ^a	93,97±0,32 ^{ab}	1,03±0,09 ^{ab}
TO1	94,06±0,81 ^a	-0,28±0,02 ^a	4,69±0,03 ^a	41,13±6,78 ^a	4,51±0,25 ^a	93,57±0,37 ^b	0,48±0,07 ^{ab}
TO05	93,89±0,30 ^a	-0,29±0,02 ^a	4,63±0,03 ^a	42,12±3,02 ^a	4,63±0,03 ^a	93,51±0,27 ^b	0,75±0,09 ^b

Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem ao nível de $p \leq 0,05$; L*=luminosidade; a*=Chroma (vermelho-verde); b*=Chroma (amarelo-azul); Op= Opacidade; C*= saturação; H° = ângulo hue; ΔE= variação da coloração. Sem adição de OEs (T0); 0,5% de OEH (TH05); 1% de OEH (TH1); 0,5% de OEC (TC05); 1% de OEC (TC1); 0,5% de OEO (TO05) e 1% de OEO (TO1).

Em conformidade com a Tabela 5 as membranas apresentaram valores de L* próximos de 100, significam que suas luminosidades eram altas, de tonalidades clara. Não havendo diferença estatística significativa. Nas coordenadas cromatográficas a*, todos os valores

foram negativos, indicando cor nos tons de verde e nas coordenadas b^* valores positivos e menores que 10, sinalizando tonalidades no amarelo.

As tonalidades encontradas podem-se dar devido a cor dos componentes mais relevantes dos OEs, como por exemplo, o eugenol (constituente do OEC) apresenta cor amarelo claro. E também são dadas nas descrições comerciais do produto onde o OEH possui cor âmbar.

A opacidade, equacionada pela Equação 3.4 retrata valores entre 37,53% encontrado no teste TH05 a 44,63% em TC05, resultados que demonstram filmes de baixa opacidade e sem diferença estatística significativa. Percebe-se que a adição do OEH resultou em filmes menos opacos que o T0, onde provavelmente os compostos fenólicos do OEH colaborou na dissolução das partículas da fécula de mandioca, possibilitando a passagem dos feixes de luz do equipamento.

O fator C^* , que calcula a intensidade de cor ou saturação das amostras, apresentou valores próximos aos de coordenada b^* . E o ângulo de Hue apresentou valores maiores que 90° , em que todas as películas se encontram no Chroma em tons de verde, informação confirmada pelos valores de a^* e b^* .

Ordoñez *et al.* (2021) obteve filmes de fécula de mandioca homogêneos e transparentes, porém, com valores abaixo para H° (72,0 a 79,4) e acima para C^* (10,2 a 16,4) aos comparados pela Tabela 5.

A variação da coloração (ΔE), retratou que conforme a adição dos OEs maior a diferença de cor, para os filmes TC1 e TH1. A mesma afirmação foi dita por Zhou *et al.*, (2021), conforme eram aumentadas as concentrações de OE. de canela nas membranas de fécula de mandioca, maiores eram os dados de ΔE .

3.3.4. Espessura

Os valores de espessura, variando entre 0,06 a 0,10 mm, entre as membranas não apresentaram diferença de níveis de $p < 0,05$. Mesmo com a adição dos OEs em diferentes concentrações, a natureza do polímero formador das membranas, não afetou a característica de suas espessuras. Resultados semelhantes foram constatados por Menezes *et al.* (2021), em seu trabalho sobre Filmes de fécula de mandioca, reafirmando os dados da Tabela 6.

Tabela 6. Dados das caracterizações dos filmes de fécula de mandioca e OEs.

Teste	Espessura	Densidade (g/cm ³)	PVA	Solubilidade (%)
-------	-----------	--------------------------------	-----	------------------

	(mm)	(g.mm/KPa.dia.m ²)		
T0	0,07±0,02 ^a	0,47±0,01 ^e	7,03±0,02 ^{ab}	28,63±6,10 ^{ab}
TC1	0,08±0,04 ^a	1,28±0,02 ^b	5,81±0,16 ^b	18,92±6,15 ^b
TC05	0,07±0,01 ^a	1,02±0,01 ^{cd}	8,60±0,16 ^a	21,76±1,31 ^b
TH1	0,06±0,02 ^a	1,81±0,05 ^a	7,90±0,23 ^{ab}	32,36±9,13 ^{ab}
TH05	0,08±0,02 ^a	1,29±0,04 ^b	7,36±1,78 ^{ab}	41,78±10,91 ^a
TO1	0,09±0,05 ^a	1,03±0,01 ^c	5,76±0,48 ^b	34,91±4,90 ^{ab}
TO05	0,10±0,01 ^a	0,80±0,01 ^d	9,20±0,81 ^a	21,78±1,68 ^b

Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem ao nível de $p \leq 0,05$. Sem adição de OEs (T0); 0,5% de OEH (TH05); 1% de OEH (TH1); 0,5% de OEC (TC05); 1% de OEC (TC1); 0,5% de OEO (TO05) e 1% de OEO (TO1).

3.3.5. Densidade

Os valores de densidade das películas indicaram que conforme adição dos OEs, maior sua densidade. A análise, calculada pela equação (3.5), é dada pela massa das películas e sua espessura. Indagando tais resultados, denota-se que a variação da massa dos filmes, pode ter ocasionado a diferença estatística entre as amostras. A variação dos resultados obtidos de densidade, podem ser relacionados pela quantidade de solução filmogênicas com os OEs e/ou a maior retenção de umidade por essa biomassa ou a ligação dos compostos fenólicos com a glicerina.

Molina (2013) aponta dependência direta da densidade com o aumento do agente plastificante em filmes biodegradáveis. A quantidade e a viscosidade (consistência) da solução filmogênicas são fatores que contribuem para obtenção de filmes plásticos com maior ou menor gramatura, densidade e resistência mecânica (OLIVEIRA *et al.*, 1996).

3.3.6. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Apesar de os OEs serem hidrofóbicos, os filmes TC05 (8,60g.mm/KPa.dia.m²) e TO05 (9,20g.mm/KPa.dia.m²) apresentaram um aumento de PVA ao compará-los com o T0 (7,03g.mm/KPa.dia.m²). Essa característica pode-se dar pela formação de bolhas e leves rachaduras na estrutura do filme, causando maior passagem de vapor de água.

Os valores entre TH1, TH05 e T0 não variaram estatisticamente, indicando que mesmo com as diferentes proporções do OEH, não interferiu na permeabilidade dessas membranas.

ZHOU *et al.*, (2021), retratou situação parecida em sua pesquisa, onde houve um aumento de PVA, com acréscimo de óleo essencial de canela em seus filmes de fécula de mandioca, que pode ser devido ao impacto negativo do óleo essencial de canela na microestrutura dos filmes.

As películas TC1 e TO1 exibiram valores de permeabilidade de 5,81 g.mm/KPa.dia.m² e 5,76 g.mm/KPa.dia.m² respectivamente, demonstrando eficiência na permeabilidade, visto que menos permitiram a passagem de água no estado gasoso para dentro das células de permeação. Valencia-Sullca *et al.*, (2017) obtiveram resultados próximos em seu trabalho sobre filmes de quitosana e fécula de mandioca, (5,34 g.mm/KPa.dia.m² para quitosana e fécula de mandioca e 5,9 g.mm/KPa.dia.m² para quitosana, fécula de mandioca e óleo essencial de folha de canela).

3.3.7. Solubilidade em Água

Durante a imersão em água, todos os filmes apresentaram eficiência na manutenção de sua estrutura, ou seja, se mantiveram inteiros, flexíveis, porém opacos. Com exceção de TC1, que apresentou dificuldades em sua remoção, ocasionando sua ruptura. A análise demonstrou que os filmes com OEH são os mais solúveis em água, ou seja, possuem mais habilidade em se dissolverem em um solvente. Tais resultados podem-se dar devido à similaridade dos componentes do OEH com o plastificante glicerol que com sua natureza higroscópica deve ter intensificado a característica solúvel dos filmes. De Lima *et al.* (2022) obtiveram valores de 35% o que indica baixa solubilidade em água, que se justificam pela presença do agente plastificante glicerina. Este fato também foi observado por Mohajer *et al.* (2017), eles associaram a glicerina como matriz polimérica tornando ao filme mais vulnerável a higroscopicidade o que facilitou a solubilidade em água (MOHAJER *et al.*, 2017).

Os filmes com OEC e OEH retrataram que quanto maior a adição do OE, menor é a solubilidade, pois entre os dois casos, os filmes com 0,5% de OE obtiveram maior valor ao compará-los com a proporção de 1%. Hernandez *et al.*, (2023) também registrou tais referenciais, já que em seu estudo sobre películas de quitosana, ácido cítrico e OEO, quanto maior a quantidade de OE nas películas, menos solúveis eles são em água.

A película TC1 apresentou menor valor de solubilidade e ao analisar com os valores encontrados de PVA que obteve menor resultado também, indicando que o OEC apresentou propriedades hidrofóbicas o que conforme Carissimi (2017), de uma forma geral é um resultado atrativo, uma vez que a solubilidade dever ser tão baixa quanto possível para reduzir

a transferência de umidade entre o alimento e o meio externo mantendo a integridade do alimento.

3.3.8. Resistencia a Tração (RT)

Os resultados da análise de RT não apresentaram significância estatística e foram apresentados no gráfico a seguir.

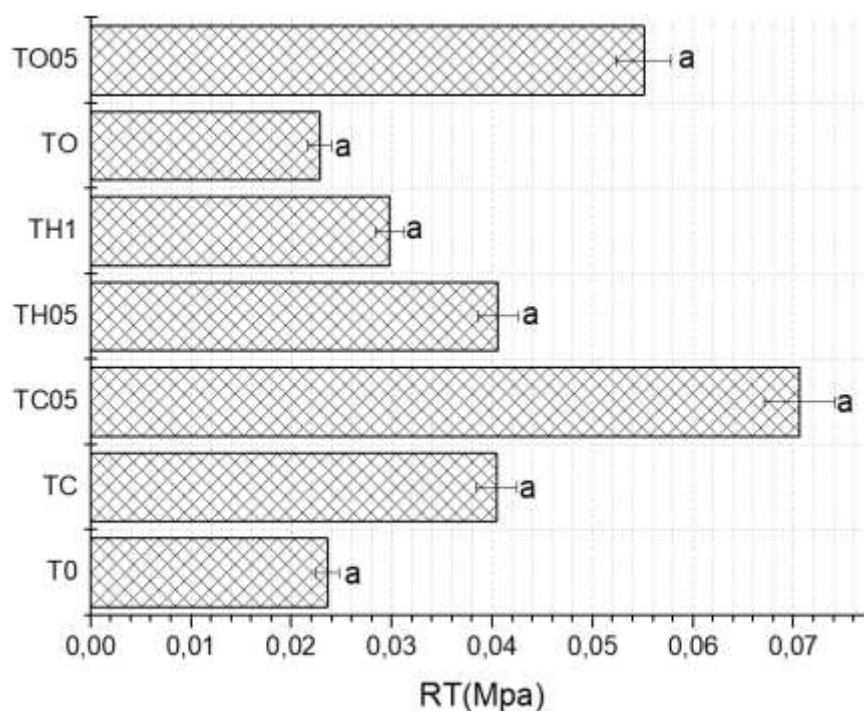


Figura 6. Resistencia a Tração das películas de fécula de mandioca e OEs. Fonte: (a autora).

Conforme os dados, percebe-se que ao aumentar a aplicação de OEs, diminuía-se a resistência dos filmes. A adição de OEs podem interferir na matriz principal das macromoléculas de fécula de mandioca, alterando sua flexibilidade e reduzindo sua força de coesão. Oliveira da Silva (2020) confirma a informação retratada, pois em seu trabalho, a adição de OEs diminuiu a resistência de rompimento das películas.

Benavides (2012) em seu experimento com películas de alginato e OEO também apresentou uma queda em seus resultados, conforme eram adicionadas as proporções dos óleos. A mesma decorrência foi obtida por Moalla *et al.* (2021) em seus filmes ao adicionar OE de *Artemesia campestris* e por Scudeler (2020) em membranas com OEC.

Outra característica a ser considerada é a quantidade adicionada de plastificante na produção das membranas, visto que o glicerol é um aditivo que possui características de flexibilidade, o que ocasiona diminuição na sua resistência de força (BERTUZZI *et al.*, 2012).

Em conformidade com a informação obtida e comentada na seção anterior, por Oliveira *et al.* (1996) sobre a densidade dos filmes, nota-se que os filmes com maiores densidades indicaram menor resistência. Tais trabalhos de pesquisa esclarecem os baixos resultados atingidos.

3.3.9. Elongação

A figura 7 retrata o comportamento dos filmes referente a sua elongação. Ressalta-se o filme TH05 que apresentou considerável elasticidade (25,6%) ao compará-lo aos demais filmes.

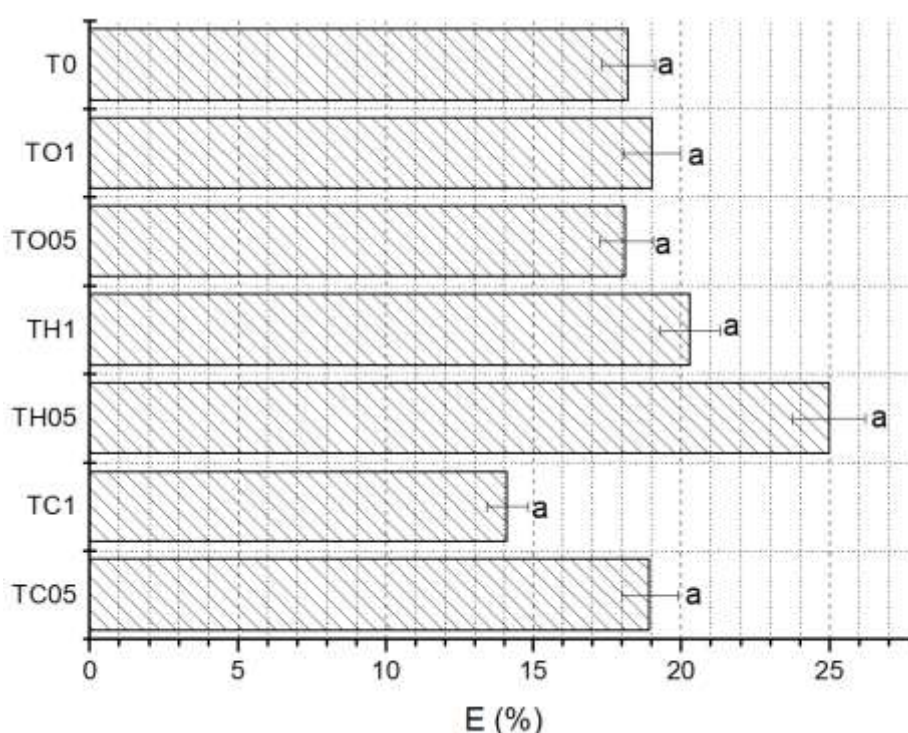


Figura 7. Elongação das membranas de fécula de mandioca e OEs. Fonte: (a autora).

Como a elongação está associada com a microestrutura da rede dos filmes e suas forças intermoleculares, percebe-se que o conteúdo fenólico dos OEs não apresentou interação suficiente entre os constituintes da fécula de mandioca e glicerol que pudesse gerar membranas com significativa extensibilidade.

Pelos cálculos realizados, percebe-se que os filmes obtiveram características semelhantes da resistência a tração em que a maior adição de OE ocasionou menor elongação. Priyadarshi *et al.* (2018) descreveu uma situação onde suas membranas demonstraram menor elasticidade conforme eram adicionadas as proporções de OE de semente de damasco (*Prunus armeniaca*). Isso foi obtido por Zhao *et al.* (2022) em suas membranas com OE de canela, em

que o acréscimo do óleo ocasionou uma diferença com cerca de 33% com a película sem o aditivo.

Monteiro *et al.* (2017) afirma que filmes com fécula de mandioca e glicerol, possui uma estrutura de biopolímeros desorganizadas, devido ao fato de a fécula de mandioca ter uma estrutura entrelaçada entre a amilose e a amilopectina que possuem moléculas por pontes de hidrogênio formando áreas cristalinas. Entre essas áreas cristalinas existem regiões amorfas, nas quais as moléculas não têm orientação e é nessas áreas cristalinas que o plastificante se agrega e se torna responsável por reduzir as forças intermoleculares e aumentando a mobilidade da cadeia do biopolímeros (CHIU e LINN 2012).

3.3.10. Biodegradação

As amostras foram pesadas a cada cinco dias, durante 30 dias. Durante o monitoramento os filmes se mostravam com aspectos mais secos e rígidos. No 21º dia, apesar de todo cuidado, algumas amostras se rompiam ao serem limpas com pincel.

Pela Equação 10 calculou-se o tempo de degradação dos filmes, em conformidade com o gráfico da Figura 8.

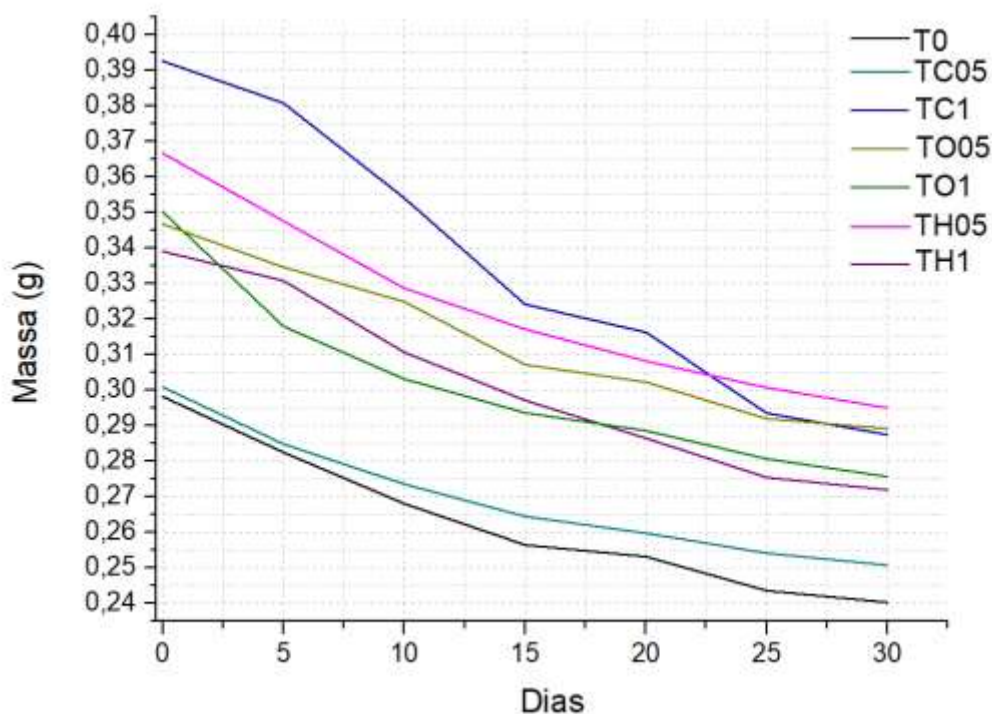


Figura 8. Gráfico de biodegradação dos filmes de fécula de mandioca e OEs. Fonte: (a autora).

De acordo com a Figura 8, é possível analisar que os filmes sofreram degradação parcial, durante o período de análise, diante deste fato conforme foram passando os dias, os

filmes apresentaram perda de massa. A Tabela 7 apresenta o tempo de degradação (dias) dos filmes.

Tabela 7 . Tempo de degradação dos filmes biopoliméricos

Filmes	Equação de Regressão Linear	Tempo de degradação (dias)
T0	$y = -0,0015x + 0,2876$	191,73
TC1	$y = -0,0031x + 0,3845$	124,02
TC05	$y = -0,0013x + 0,294$	226,15
TH1	$y = -0,0019x + 0,3328$	175,15
TH05	$y = -0,0019x + 0,3536$	186,10
TO1	$y = -0,0018x + 0,3297$	183,16
TO05	$y = -0,0016x + 0,3397$	212,31

Os filmes TC1, TH1 e TO1 apresentaram menores dias de degradação, caso interessante, pois demonstra que os filmes com maior porcentagem de óleos essenciais, se degradam com maior facilidade.

Camissiri (2017) e Gomes e Borges (2022), constataram em seus estudos que a biodegradabilidade dos filmes está diretamente relacionada a solubilidade dos mesmos, pois quanto mais solúvel for o filme maior será a sua degradação em contato com a água e com os microrganismos contidos no solo, que inclui bactérias, fungos e protozoários. Tais resultados correlacionam os dados obtidos pela Tabela 7 visto que os filmes TH1, TH05 e TO1 evidenciaram maiores dados de solubilidade, confirmando a informação dos autores.

3.3.11. Análise de ângulo de contato

A hidrofobicidade de uma amostra pode ser medida através do depósito de uma gota de água, com o auxílio de uma seringa, sobre a superfície do material que se deseja estudar. Um ângulo de contato tende a 0° quando há afinidade química entre a superfície e o líquido, ocorrendo o espalhamento completo do líquido no sólido. Quando o ângulo de contato tende a 180° o líquido não apresenta qualquer interação com a superfície (WANG *et al.*, 2017). O teste de ângulo de contato foi tratado com água destilada, com intuito de mensurar as propriedades hidrofóbicas e hidrofílicas das membranas biodegradáveis e retratados na Figura 9.

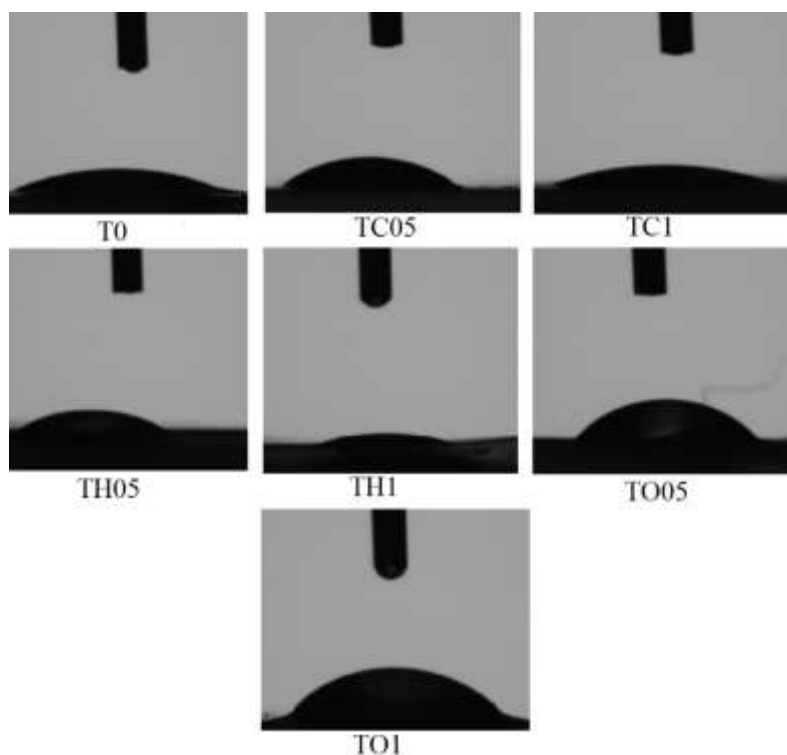


Figura 9. Teste de ângulo de contato com água destilada. Fonte: (Autora).

As imagens demonstram que conforme a adição de OEs as membranas TC1 e TH1 tornam-se mais hidrofílicas, ressaltando o TH1 em que a água destilada foi absorvida/esparramada, não formando um AC. A membrana TH1 apresentou PVA e S (%) consideráveis, que podem explicar a característica obtida do AC.

As membranas TC05, TH05 e THO05 exibem ângulos mais significativos que o T0, possivelmente considerados hidrofóbicos. A película TO1 mostrou significativo AC, demonstrando maior tendência hidrofóbica. Tal propriedade pode estar relacionada com o baixo teor de PVA encontrado neste trabalho.

Acredita-se que a inserção dos OEs com a fécula de mandioca e glicerina, tenham interagido de modo que a característica polar dos óleos tenha se modificado, desenvolvendo membranas hidrofílicas. Alguns estudos salientam que a hidrofobicidade do OE pode afetar a hidrofiliabilidade ou hidrofobicidade do filme (Boyaci *et al.*, 2019).

3.3.12. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O microscópio eletrônico de varredura é o mais versátil instrumento para avaliação, exame e análise das características microestruturais de amostras biológicas e não-biológicas. Com ele foram avaliadas as características superficiais dos tratamentos (homogeneidade, porosidade, estrutura e rachaduras), demonstrados pela Figura 10.

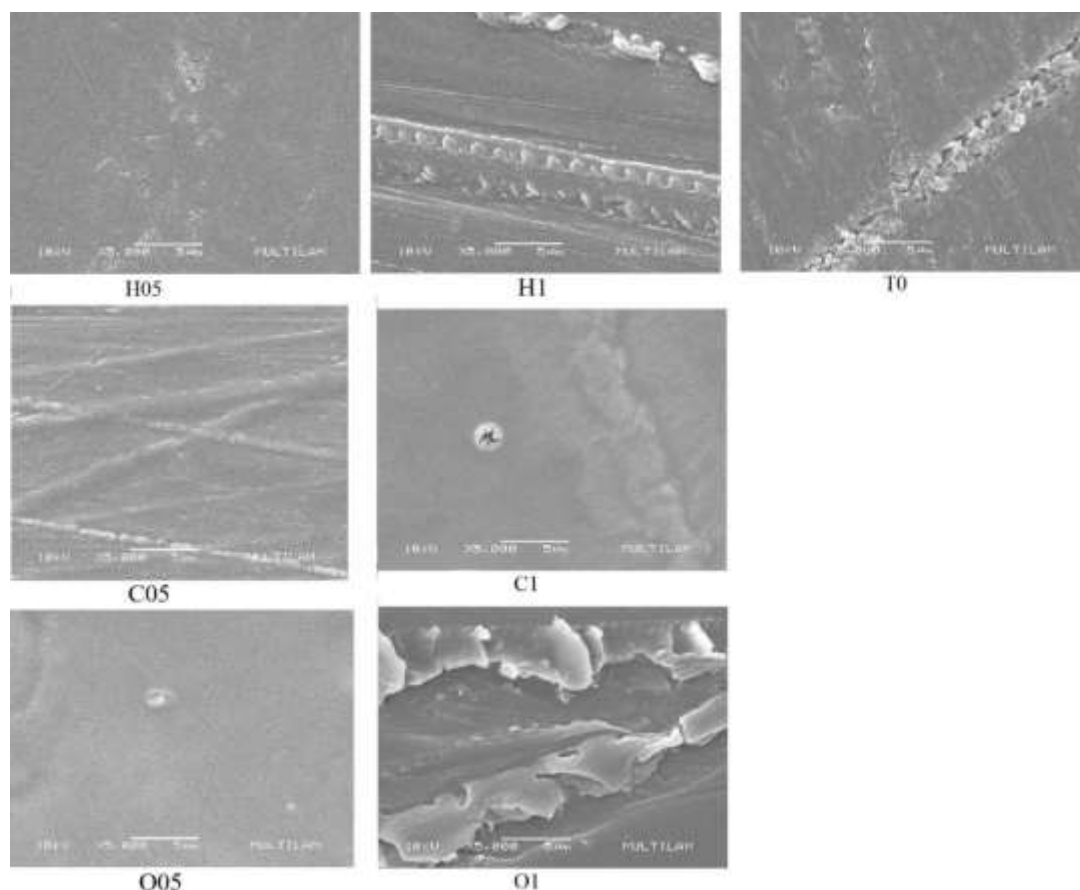


Figura 10. Imagens do MEV dos filmes de fécula de mandioca e OEs.

As amostras foram analisadas em ampliação 5.000X e demonstraram superfícies com bolhas, rachaduras e porosidades nos filmes TH1, T0, TC1 e TO1. Tais características podem estar associadas ao processo de homogeneização na preparação das películas e na emulsificação dos OEs, indicando a possibilidade de que os OEs ficaram depositados na superfície do filme afetando sua secagem e ocasionando bolhas/rupturas. A membrana TO05 apresentou superfície mais homogênea, com pouca porosidade, demonstrando propriedade associada na facilidade ao vapor de água nas cadeias poliméricas. Nota-se que as imagens obtidas do MEV contribuem para os valores de resistência e PVA.

Zhou *et al.* (2021) e Song *et al.* (2018) obtiveram resultados semelhantes que indicam a alta volatilidade dos OEs na superfície dos filmes resultando em películas com rachaduras e bolhas nas superfícies. Informações parecidas foram encontradas no estudo de (DA SILVA *et al.*, 2020).

3.3.13. Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier

O espectro infravermelho de um composto químico é considerado uma de suas propriedades físico-químicas mais características e, por conta disto, a espectroscopia na região

do infravermelho tem extensa aplicação na identificação dos compostos. Quase todos os componentes que tenham ligações covalentes, sejam orgânicos ou inorgânicos, absorvem várias frequências de radiação eletromagnética na região do infravermelho (IV) do espectro eletromagnético (PAVIA *et al.*, 2015)

Conforme os dados adquiridos pelo espectrofotômetro, foi obtido o gráfico da Figura 11 demonstrado abaixo. Em que se denota que os espectros apresentaram semelhança entre eles.

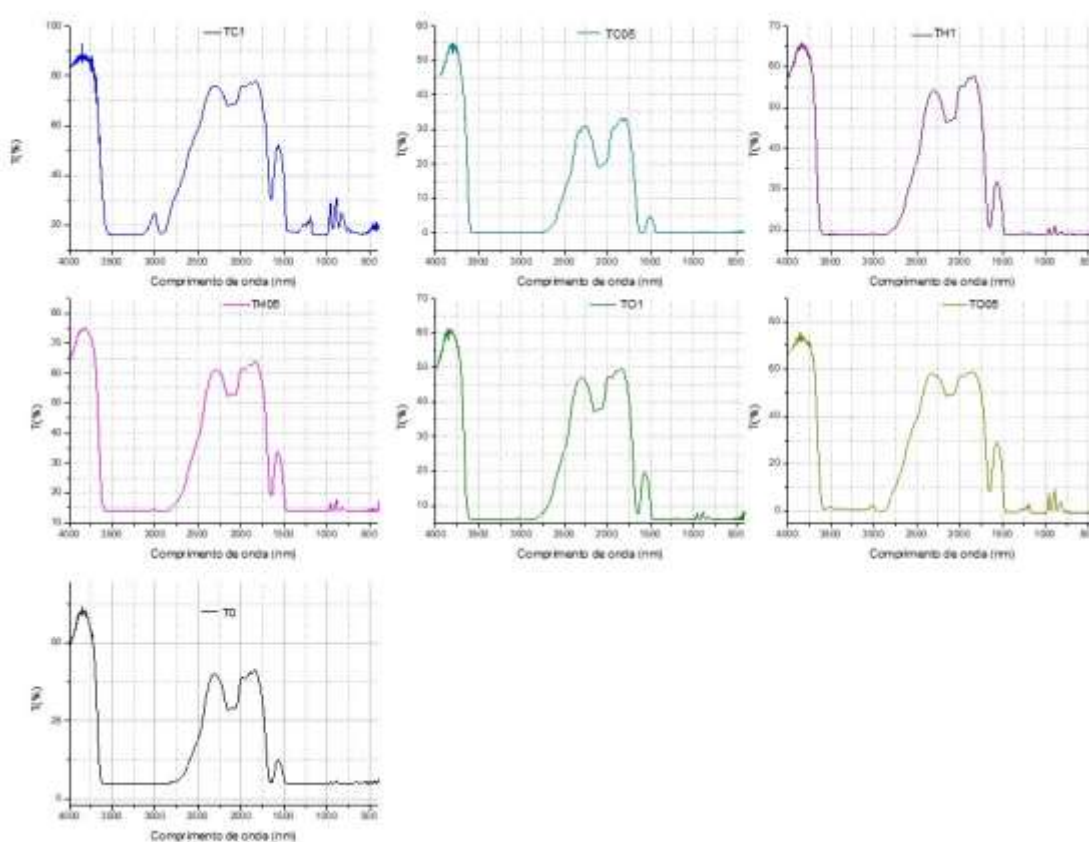


Figura 11. Espectro na região do Infravermelho dos filmes de fécula de mandioca e OEs. Fonte: (a autora).

Os filmes TO05 e TC1 obtiveram leves sinais de transmitância na região de 3000cm^{-1} que podem indicar C-H de aromáticos. Os tratamentos apresentaram bandas na região de $1800 - 1660\text{ cm}^{-1}$, que indicam grupo carbonila, C=O, pois demonstram o pico mais forte e largura média. Pavia *et al.* (2015) explica que se há presença de carbonila, pode haver bandas largas entre ($3400-2400\text{cm}^{-1}$) que indicam a presença de ácidos (O-H), que normalmente se sobrepõe ao estiramento C-H. No gráfico, verifica-se que a existência de O-H na região de 2400 cm^{-1} . Apesar de pouca taxa de transmissão, nota-se bandas na região de 1.600 cm^{-1} , Sueiro *et al.* (2016) e Seligra *et al.* (2016) afirmam que as formulações que apresentam bandas em torno de

1654-1645 cm^{-1} estão associadas à flexão angular do O-H nas moléculas de água, indicando a formação de interação da água com os componentes das formulações (fécula de mandioca, e glicerol).

As amostras TC1, TH05 e TO05, atingiram baixa taxa de transmitância nas regiões de 1200 cm^{-1} e 900-800 cm^{-1} , que compõe os grupos funcionais dos anéis aromáticos, C-O, C-C e vibrações C-O-H (MARQUES *et al.*, 2006). Percebe-se que o teste T0, cujo teste é sem adição de OEs não apresentou transmitância nessas regiões.

Todos os componentes dos filmes obtidos são polissacarídeos, e o que diferencia estes polímeros são os tipos de OEs envolvidos para a formação das cadeias do polímero, portanto, os espectros obtidos são bastante semelhantes entre si, mas comparando os espectros, podem ser observadas pequenas diferenças na forma e intensidade de algumas bandas. Almeida *et al.* (2022) afirma que a semelhança entre os espectros indica que não houve mudanças substanciais na estrutura da matriz de fécula de mandioca.

3.3.14. Espectroscopia na Região Ultravioleta-Visível (Uv-Vis)

Os raios UV têm o potencial de encurtar a vida útil dos produtos agrícolas e alimentícios. Portanto, os pesquisadores estão trabalhando para criar materiais sustentáveis com proteção UV e embalagens biodegradáveis para resolver esse problema crescente (EZATI *et al.*, 2023). A oxidação dos alimentos induzida por UV é um importante fator responsável pela deterioração dos alimentos. Portanto, a proteção UV e o contato direto com os ingredientes alimentícios são importantes nas embalagens (EZATI e RHIM, 2022).

Quando há radiação atravessando um material, um pouco dela é absorvida pelo material e com isso as moléculas passam de um estado de energia mais baixa (estado fundamental) para um estado de energia maior (estado excitado) (PAVIA *et al.*, 2015). No espectro UV-VIS, a absorção da radiação nessa região do espectro ocorre entre níveis de energia eletrônicos, conforme descrito no livro de Pavia *et al.* (2015) quanto maior for o número de moléculas capazes de absorver luz de um certo comprimento de onda, maior será a extensão dessa absorção, fato conhecido como Lei de Beer-Lambert.

Essa Lei, ao ser relacionada com os gráficos dos filmes na Figura 12, demonstra que houve poucas moléculas capazes de absorver luz, expondo que não houve passagem de estado de energia, devido à baixa intensidade de absorção, dadas no eixo y.

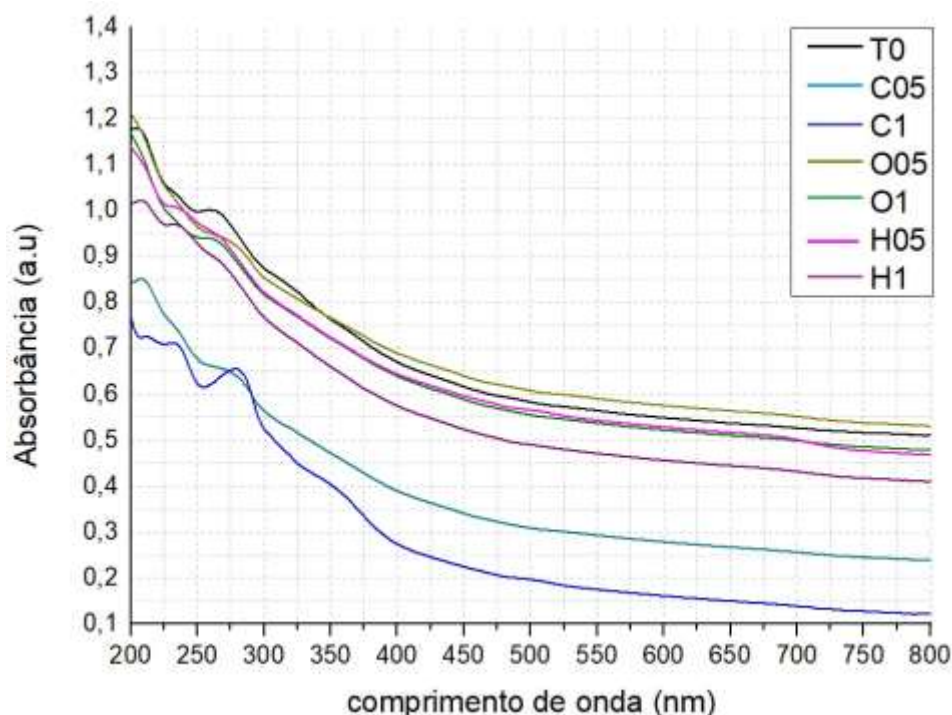


Figura 12. Espectro na região do UV-Vis dos filmes de fécula de mandioca e OEs. Fonte: (a autora).

No eixo y, a absorvância atingiu seu maior valor de 1,26 a.u. no TO1 e menor valor de 0,77 a.u. em TC1. Percebe-se pelos valores de absorvância que houve absorção na região UV do espectro eletromagnético, mas devem ser considerados como baixo bloqueio contra o espectro UV. Os OEs conforme descrito nos resultados da tabela 5 apresentam cores que poderiam auxiliar na absorção da raios UV, porém seu processo de homogeneização e produção com os outros componentes das películas pode ter sido afetado, ocasionando os valores encontrados.

Peighambardoust *et al.* (2019) relata que em seus filmes não houve pico de absorção nos espectros UV-Vis dos filmes de fécula de mandioca puro e fécula de mandioca com adições.

Na região do Visível (400nm) não se identificou bandas de absorção, concluindo que não houve excitação dos elétrons para um nível energético mais alto. Ou seja, a energia ao atingir as amostras dos filmes não foi absorvida por eles então a luz atravessou as amostras.

Ahmad *et al.* (2012) encontraram na faixa visível, que filmes de gelatina sem adição de OEs mostraram maior transmissão de luz, em comparação com as membranas de gelatina e OE de Bergamota e OE de Limão, em que, a transmissão de luz provavelmente dependia da distribuição do óleo essencial na matriz do filme, bem como a interação entre óleo essencial e gelatina.

3.3.15. Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial e Termogravimétrica (Tg)

A análise de calorimetria, segundo Scudeler *et al.* (2020) e Sarpietro *et al.* (2014), mede as temperaturas e o fluxo de calor associado às transições do material, fornecendo informações sobre propriedades físicas e químicas, mudanças envolvendo processos endotérmicos como transições de fase, desidratações, alguma decomposição e reações exotérmicas incluindo cristalização, oxidação, reações de decomposição ou mudanças na capacidade calorífica que são consideradas transições de primeira ordem. As transições de segunda ordem, caracterizam-se pela variação de capacidade calorífica, porém sem variações de entalpia. Assim, estas transições não geram picos nas curvas de calorimetria, apresentando-se como um deslocamento da linha base em forma de “S”. Exemplos característicos são a transição vítrea e relaxações de tensões térmicas da cadeia polimérica (CANEVAROLO JUNIOR, 2007).

De acordo com a Figura 13(a), a temperatura de reação inicial das películas foi de 20°C e apresentaram picos exotérmicos em torno de 60°C-80°C, para TO1, TC1, TH1, TC05 e TO05, que pode significar uma possível decomposição ou perda de massa. A película TH05 obteve pico exotérmico a 40°C, ou seja, a quantidade de OEH influenciou nas propriedades térmicas, visto que o pico apresentado foi de temperatura abaixo que o filme TH1. T0 não apresentou pico considerável. Entre 170°C-180°C, TH05 e TO05 indicaram um leve pico exotérmico. Os filmes liberaram energia térmica conforme aumento de temperatura. TO1 apresentou resultado consideravelmente satisfatório indicando que o OEO apresentou melhor propriedade térmica.

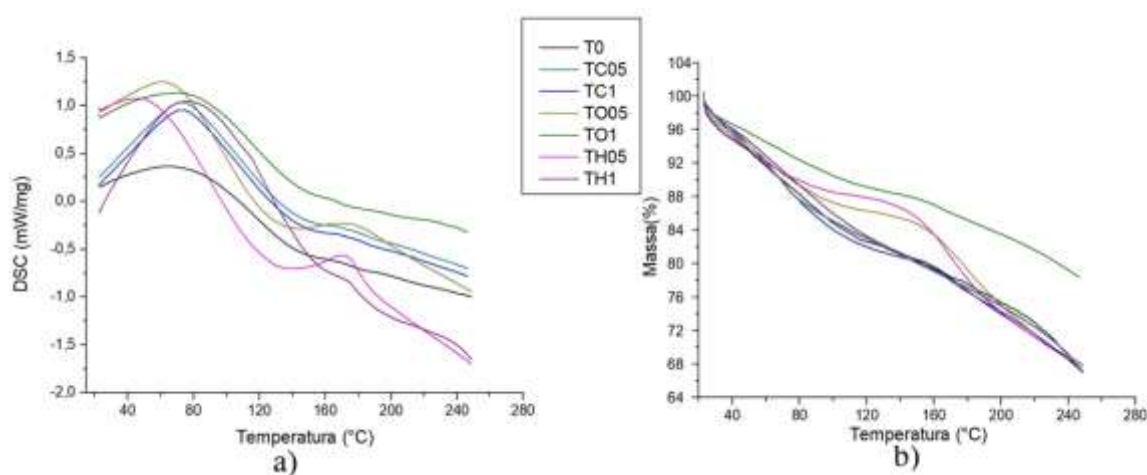


Figura 13 (a) Dados de calorimetria exploratória e (b) Dados termogravimétricos dos filmes de fécula de mandioca e OEs. Fonte: (a autora).

A TG, representada pela Figura 13(b) mede a massa de uma amostra enquanto ela é aquecida em uma atmosfera definida. Seu principal uso é caracterizar materiais em relação à sua composição. No primeiro evento térmico, entre 40°C-80°C, a perda de massa nas temperaturas iniciais, deve-se a evaporação de água, resultando em uma maior perda de massa pelo T0.

O gráfico TG indica que o filme TO1 obteve menor variação de massa conforme o aumento de temperatura, perdendo cerca de 20% de massa. As membranas TH05 e TO05 estabilizaram a perda de massa durante as temperaturas de 80°C a 160°C, onde TH05 apresentou maior porcentagem de massa ao comparado com TO05. Com o aumento dos OEs nas membranas com Cravo e Hissopo, houve maior degradação da massa. Em geral, os filmes incorporados com óleos essenciais tiveram maior estabilidade térmica em comparação com o filme controle.

Ahmad *et al.* (2012), e Pelissari *et al.* (2009) afirmam que a adição de OEs aumentam a estabilidade térmica das películas, pois a quantidade de compostos fenólicos dos OEs produz filmes mais resistentes ao calor.

3.3.16. Difração de Raio X

As propriedades estruturais dos filmes de fécula de mandioca com OEs foram determinadas por análise de difração de raios X, demonstradas na difratometria da Figura 14.

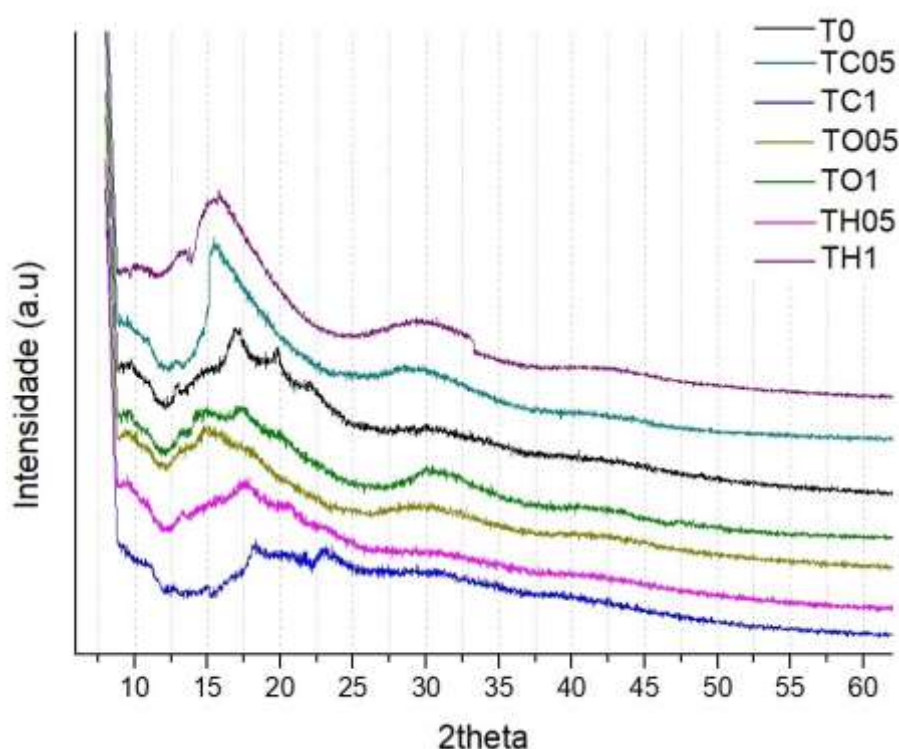


Figura 14. Difratometria de raios X dos filmes de fécula de mandioca e OEs.

Denota-se que as películas TC05 e TH1 apresentaram leve pico na região $2\theta=16^\circ$. Os outros filmes não apresentaram picos relevantes. E após a região de $2\theta=25^\circ$, as membranas não demonstraram variação. Os resultados da figura 14, indicam filmes com características amorfas que podem se dar devido a presença da amilopectina da fécula de mandioca ou/e pelo processo térmico na produção dessas membranas.

Segundo Nascimento (2016) o aparecimento de picos simples de forma bem expandida são características das estruturas amorfas. Bidusk *et al.* (2017) em seus estudos com filmes de biocompostos de amido de trigo fosforilados e reticulados na presença de oxido de polietileno verificaram que os filmes apresentaram uma estrutura semicristalina, com uma maior região amorfa, característica de materiais de amido submetidos ao processamento térmico.

Conforme Ferreira e Almeida (2022) quando grânulos de amido em excesso de água são aquecidos a uma temperatura específica ocorre o intumescimento granular além do inchaço reversível. Neste caso, ocorre o rompimento das ligações de hidrogênio nas regiões amorfas e a ruptura da ordem molecular no interior dos grânulos acarretando a perda da birrefringência. Essa transição térmica, denominada gelatinização é uma característica exclusiva dos amidos e consiste em um processo irreversível, isto é, a secagem do amido gelatinizado resultará em grânulos amorfos, diferente da estrutura inicial (semicristalina) (SINGH *et al.*, 2003; BEMILLER e HUBER, 2010)

CONCLUSÃO

Os filmes com a fécula de mandioca, glicerina e OEs de cravo, hissopo e orégano foram produzidos apresentando características satisfatórias. Todos os filmes apresentaram propriedade biodegradável, fator importante para a substituição de filmes de origem sintética para biopolímeros.

As diferentes concentrações dos OEs, apesar de mostrarem-se hidrofílicos e com pouca resistência a tração, obtiveram relevantes resultados de coloração, com pouca opacidade, em que podem ser considerados como películas semitransparentes. As estruturas químicas da fécula de mandioca e amilose, juntamente com as cadeias dos OEs que são consideradas alineares, ilustraram pelo MEV, calorimetria exploratória, TG e DRX supostos filmes porosos e amorfos. Que podem fundamentar as características de permeabilidade e hidrofiliabilidade.

As análises de determinação de componentes realizada na região do Infravermelho, comprovou que a adição dos OEs, não influenciou na estrutura da fécula de mandioca. E no

espectro UV-Vis, os filmes não absorveram raios UV e que a luz na região do Visível atravessa os filmes.

A inovação do uso de OEH apresentou resultados significantes de alongação, atividade antimicrobiana, solubilidade e propriedades térmicas, características interessantes que o torna viável para aplicação em alimentos, por exemplo.

REFERÊNCIAS

- ACEVEDO-FANI, A.; SALVIA-TRUJILLO, L.; ROJAS-GRAU, M.A.; MARTÍN-BELLOSO, O. Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. **Food Hydrocolloids**, 47 (2015) 168e177. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.01.032>
- AHMAD, M. BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; AGUSTINI, T.W. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. **Food Hydrocolloids**. (2012) Doi: 10.1016/j.foodhyd.2011.12.003
- ALMEIDA, T.; KARAMYSHEVA, A.; VALENTE, B.F.A; SILVA, J.M.; BRAZ, M.; ALMEIDA, A.; SILVESTRE, A.J.D.; VILELA, C.; FREIRE, C.S.R. Biobased ternary films of thermoplastic starch, bacterial nanocellulose and gallic acid for active food packaging. **Food Hydrocolloids** (2023) <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108934>
- ANDRADE, C. S. DE et al. Development and characterization of multilayer films based on polyhydroxyalkanoates and hydrocolloids - de Andrade - 2017 - **Journal of Applied Polymer Science** - Wiley Online Library. Journal of Applied Polymer Science, v. 134, n. 6, 2016.
- BAJ, T.; KORONA-GŁOWNIAK, I; KOWALSKI, R.; MALM, A. Chemical composition and microbiological evaluation of essential oil from *Hyssopus officinalis* L. with white and pink flowers. **Open Chemistry**. April 2018. <https://doi.org/10.1515/chem-2018-0032>
- BENAVIDES, S., VILLALOBOS-CARVAJAL, R., e REYES, J. E. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. **Journal of Food Engineering**, 110, 232–239(2012).
- BERTUZZI, M.A.; GOTTIFREDI, J.C.; ARMADA, M. Mechanical properties of a high amylose content corn starch-based film, gelatinized at low temperature, Braz. J. Food Technol. 15 (2012) 219–227. <https://doi.org/10.1590/S1981-67232012005000015>
- BEMILLER JN, HUBER KC. Carboidratos. In: Damodaran S, Parkin KL, Fennema OR, editors. Química de Alimentos de Fennema. 4th ed. Porto Alegre: Artmed; 2010. p. 75–130.

- BIDUSK, B.; EVANGELIO, J. A.; SILVA, F. T.; HALAL, S. L. M.; TAKIMI, A. S.; CARRENO, N. L. V.; DIAS, A. R. G.; ZAVARESE, E. R. Physicochemical properties of nanocomposite films made from sorghum-oxidized starch and nanoclay. *Starch Journal*, 69, 1700079, 2017. <https://doi.org/10.1002/star.201700079>
- BOYACI, D., IORIO, G., SOZBILEN, G. S., ALKAN, D., TRABATTONI, S., PUCILLO, F.; FARRIS, S.; YEMENICIOĞLU, A. Development of flexible antimicrobial zein coatings with essential oils for the inhibition of critical pathogens on the surface of whole fruits: Test of coatings on inoculated melons. **Food Packaging and Shelf Life**, 20. (2019). <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100316>
- BRAGA, S.D.P.; MAGNANI, M.; MADRUGA, M.S.; GALVÃO, M.D.S.; DE MEDEIROS, L.L.; BATISTA, A.U.D.; DIAS, R.T.A.; FERNANDES, L.R.; DE MEDEIROS, E.S.; DE SOUZA, E.L. Characterization of edible coatings formulated with chitosan and Mentha essential oils and their use to preserve papaya (*Carica papaya* L.). **Innovative Food Science e Emerging Technologies**. Volume 65, October 2020, 102472, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102472>
- CANEVAROLO JUNIOR, S. V. **Técnicas de caracterização de polímeros**. São Paulo: ArtLiber, 2007, p.448.
- CARISSIMI, M. Desenvolvimento e aplicação de filmes biodegradáveis a partir de fécula de mandioca e microalga verde. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Porto Alegre, RS. 2017.
- CHIU CW, LIN JJ. Self-assembly behavior of polymer-assisted clays. **Progress in Polymer Science**. 2012; 37(3):406-444. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.07.007>
- CONCEIÇÃO, M.M.; CONCEIÇÃO, J.T.P.; DALMAS, F.B.; ROSINI, A.M. The plastic as a villain of the environment. *Revista Geociências UNG-Ser*, Guarulhos-SP, v. 18, n. 1, 2019. DOI: 10.33947/1981-7428-v18n1-4024.
- DA SILVA, A.O.; CORTEZ-VEJA, W.R.; PRENTICE, C.; FONSECA, G.G. Development and characterization of biopolymer films based on bocaiuva (*Acromonia aculeata*) flour. **International Journal of Biological Macromolecules** 155 (2020) 1157–1168. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.083>
- DE LIMA, D.A.; MEIRELES, B.R.L.A.; RAPOZO, L.S.S.; DA ROCHA, N.M.; DA FONSECA, S.B.; SILVA, R.E.S. Elaboração E Caracterização De Filme Biodegradável E Ativo Com Extrato De Beterraba (*Beta Vulgaris* L.). *Inovações em ciência e tecnologia de*

alimentos. Jardim do seridó – RN, Editora: **Agron Food Academy**, 2022. Doi: <https://doi.org/10.53934/9786585062046>

EZATI, P.; KHAN, A.; PRIYADARSHI, R.; BHATTACHARYA, T.; KUMAR TAMMINA, S.; RHIM, J.W.; Biopolymer-based UV protection functional films for food packaging. **Food Hydrocolloids**. v.142, Sep 2023, 108771. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108771>.

EZATI, P.; RHIM, J.W. Pectin/carbon quantum dots fluorescent film with ultraviolet blocking property through light conversion. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. V.219, Nov 2022, 112804. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112804>

FALCAO, E. A.; AGUIAR, L. W., GUO, R.; e BHALLA, A. S. Optical absorption of Nd2O3-Doped polyvinylidene fluoride films. *Materials Chemistry and Physics*, 258, 123904, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2020.123904>

FARJANA, A.; ZERIN, N.; KABIR, M. S. Antimicrobial activity of medicinal plant leaf extracts against pathogenic bacteria. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, Supplement 2, p. S920-S923, 2014.

FERNANDES, ADRIANA, JOCIELLE CARDOSO, JACQUELINE GOMES, E DIEGO ASCHERI. “Elaboração E Caracterização De Filmes Biodegradáveis De Fécula de mandioca De Solanum Lycocarpum St. Hill E Glicerol”. **Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science** 8 (1), 362-78. 2019. [https://doi.org/https://doi.org/10.21664/2238-8869.2019v8i1.p362-378](https://doi.org/10.21664/2238-8869.2019v8i1.p362-378).

FERREIRA, P.S.; ALMEIDA, E.L. AMIDO – Uma abordagem acerca da composição, estrutura, propriedades, modificação e aplicação. In: ALMEIDA, E.L. II Congresso Brasileiro de Produção Animal e Vegetal. **Produção Animal e Vegetal: Inovações e Atualidades**, 1ed, Jardim do Seridó, RN, 2022. Agron Food Academy V. 2, Cap 79, pag 892-908. DOI: <https://doi.org/10.53934/9786585062039-79>

FREITAS, G. D.; LIMA, C. P. de.; COELHO, D. F. S.; MORAES, M. O.; LIMA, G. L.; ALVES, W. R. Use of different methods to control the development of *Staphylococcus aureus*: a literature review. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. e40310212546, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i2.12546.

GOMES, C.J.V. e BORGES, N.S. DEVELOPMENT OF CASSAVA STARCH-BASED BIOFILMS FOR FOOD PACKAGING. **Revista Técnico-Científica** do CREA-PR- ISSN 2358-5420–Edição Especial– Set de 2022.

GONTARD, N., DUCHEZ, C., CUQ, JL E GUILBERT, S. Filmes Compostos Comestíveis de Glúten e Lipídios de Trigo: Permeabilidade ao Vapor de Água e Outras Propriedades

- Físicas. **Jornal Internacional de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 29, 39-50. (1994)
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb02045.x>
- HERNANDEZ, M.S.; LADUEÑA, L.N.; FLORES, S.K. Citric acid, chitosan and oregano essential oil impact on physical and antimicrobial properties of cassava starch films. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**. V. 5 (2023) 100307.
<https://doi.org/10.1016/j.carpta.2023.100307>
- HOLSBACH, F.M.S, PIZATO,S., FONTELES, N.T., SOUZA, P.D. DE, PINEDO, R.A. E CORTEZ-VEGA, W.R. Avaliação da vida útil de mamão formosa (*Carica papaya* L.) minimamente processado utilizando coberturas de fécula de mandioca e óleo essencial de cravo. *Journal of bioenergy and food science*, 6(4) (2019). 78-96. doi: 10.18067/jbfs.v6i4.269
- HUNTERLAB. The color management company. Universal software, version 3.2. Reston, 1997.
- JAHANTIGH, O.; NAJAFI, F.; NAGHDI, H; BADI, R.A. KHAVARI-NEJAD, F. Sanjarian,Essential oil composition of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) under salt stressat flowering stage, *J. Essent. Oil Res.* 28 (2016) 458–464.
<https://doi.org/10.1080/10412905.2016.1153001>
- KAZAZI, H.; REZAEI, K. Effect of various parameters on the selective extraction ofmain components from hyssop using supercritical fluid extraction (SFE), **FoodSci. Technol. Res.** 15 (2009) 645–652. <https://doi.org/10.3136/fstr.15.645>.
- MAGERA, Marcio. Os caminhos do lixo. 2. ed. Campinas, SP: Editora. **Átomo** Alinea, 2015.
- MARQUES, P. T.; LIMA, A. M. F.; BIANCO, G.; LAURINDO, J. B.; BORSALI, R.; DE MEINS, J.; Soldi, V.; Thermal properties and stability of cassava starch films cross-linked with tetraethylene glycol diacrylate. **Polymer Degradation and Stability**, 91 (2006) 726-732. doi:10.1016/j.polymdegradstab.2005.05.020
- MEDINA, A. L. HASS, L.I.R; CHAVES, F.C.; SALVADOR, M.; ZAMBIAZI, R.C.; DA SILVA, W.P.; NORA, L.; ROMBALDI, C.V. Araçá (*Psidium cattleianum*Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**,v. 128, n. 4, p. 916-922, 2011.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.119>
- MENEZES, F.L.G.; LEITE, R.H.L.; DOS SANTOS, F.K.G.; ARIA, A.I.; AROUCHA, E.M.M. TiO₂-enhanced chitosan/cassava starch biofilms for sustainable food packaging, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Volume 630, 2021, 127661, ISSN 0927-7757, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.127661>

- MOALA, S.; AMMAR, I.; FAUCONNIER, M.L.; DANTHINE, S.; BLECKER, C. Development and characterization of chitosan films carrying *Artemisia campestris* antioxidants for potential use as active food packaging materials. *International Journal of Biological Macromolecules* 183 2021 254–266. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.113>.
- MOHAJER, SETAREH; REZAEI, MASOUD; HOSSEINI, SEYED FAKHREDDIN. Physico-chemical and microstructural properties of fish gelatin/agar bio-based blend films. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 157, p. 784-793, fev. 2017. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.061>
- MOLINA, F. M. P. Produção e caracterização de filmes biodegradáveis de fécula de mandioca e farinha de banana reforçados com nanofibras de celulose. 2013. 247p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2013.
- NASCIMENTO, L. Reação no estado sólido na amorfização da liga amorfa $\text{Co}_{66}\text{Nb}_{22}\text{B}_{15}$. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas, Londrina*, v. 37, n. 2, p. 73-80, jul./dez. 2016. DOI: 10.5433/1679-0375.2016v37n2p73
- OLIVEIRA, D. A. *et al.*, Antimicrobial activity and composition profile of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts obtained by supercritical fluids. **Journal of Biotechnology**, v. 164, n. 3, p. 423-432, 2013.
- OLIVEIRA, L. M.; ALVES, R. M. V.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; PADULA, M.; GARCIA, E. E. C.; COLTRO, L. Ensaios para avaliação de embalagens plásticas flexíveis. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem, **CETEA**, 1996. 219p.
- ORIANI, V. B., MOLINA, G., CHIUMARELLI, M., PASTORE, G. M., e HUBINGER, M. D. Properties of cassava starch-based edible coating containing essential oils. **Journal of Food Science**, 79(2), 189-194. (2014).
- ORDOÑEZ, R.; ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Physicochemical and antimicrobial properties of cassava starch films with ferulic or cinnamic acid. **LWT - Food Science and Technology** 144 (2021) 111242. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111242>
- PANKEY, G., SABATH, L. Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal mechanisms of action in the treatment of Gram positives bacterial infections. **Oxford Journals**, 38, 864-865 (2013). <http://dx.doi.org/10.1086/381972>
- PASCHE, S.; TEXTOR, M.; MEAGHER, L.; SPENCER, N.D.; GRIESSER, H.J. Relationship between interfacial forces measured by colloid-probe atomic force microscopy

- and protein resistance of poly (ethylene glycol)-grafted poly (L-lysine) adlayers on niobia surfaces. **Langmuir**, v.21, n.14, p.6508-6520, 2005. <https://doi.org/10.1021/la050386x>
- PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R..Introdução à Espectroscopia. Tradução da 4ª edição norte-americana. Cengage Learning, 2015.
- Peighambardoust, S. J., Peighambardoust, S. H., Pournasir, N., e Mohammadzadeh Pakdel, P. Properties of active starch-based films incorporating a combination of Ag, ZnO and CuO nanoparticles for potential use in food packaging applications. **Food Packaging and Shelf Life**, 22, Article 100420. (2019). <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100420>
- PELISSARI, F. M., GROSSMANN, M. V. E., YAMASHITA, F., e PINEDA, E. A. G. Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch-chitosan films incorporated with oregano essential oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 57(16), 7499-7504. (2009). <https://doi.org/10.1021/jf9002363>
- PÉROVAL, C.; DEBEAUFORT, F.; DESPRÉ, D.; VOILLEY, A. Edible arabinoxylan-based films. 1. Effects of lipid type on water vapor permeability, film structure, and other physical characteristics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3977–3983, 2002.
- PRIYADARSHIA, R.; SAURAJA, BIJENDER KUMARA, FARHA DEEBAA, ANURAG KULSHRESHTHAB, YUVRAJ SINGH NEGIA. Chitosan films incorporated with Apricot (*Prunus armeniaca*) kernel essential oil as active food packaging material. **Food Hydrocolloids** 85 (2018) 158–166. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.003>
- REHMAN, A.; QUNYI, T.; SHARIF, H.R.; KORMA, S.A.; KARIM, A.; MANZOOR, M.F.; MEHMOOD, A.; IQBAL, M.W.; RAZA, H.; ALI, A.; MEHMOOD, T. Biopolymer based nanoemulsion delivery system: An effective approach to boost the antioxidant potential of essential oil in food products. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications** 2 (2021) 100082. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2021.100082>
- RASHED, M. M.; GHALEB, A. D.; LI, J.; AL-HASHEDI, S. A.; REHMAN, A. Functional-characteristics of *Zanthoxylum schinifolium* (Siebold e Zucc.) essential oil nanoparticles. **Industrial Crops and Products**, 161, Article 113192. (2021). DOI:10.1016/j.indcrop.2020.113192
- RUIZ-NAVAJAS, Y.; VIUDA-MARTOS, M.; PEREZ-ALVAREZ, J. A.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. **Food Control**, v. 30, p. 386–392, 2013.

- SAID-AL AHL, H. A., ABBAS, Z. K., SABRA, A. S., e TKACHENKO, K. G. Essential oil composition of *Hyssopus officinalis* L. cultivated in Egypt. **International Journal of Plant Science and Ecology**, 1(2), 49–53. (2015).
- SCUDELER, C.G.S.; COSTA, T.L.; CORTEZ-VEJA, W.R.; PRENTICE, C.; FONSECA, G.G. Development, and characterization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein isolate-based biopolymer films incorporated with essential oils and nanoclay. **Food Packaging and Shelf Life** 25 (2020) 100542. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100542>
- SELIGRA, P. G.; JARAMILLO, C. M.; FAMÁ, L.; GOYANES, S.; Biodegradable and non-retrogradable eco-films based on starch–glycerol with citric acid as crosslinking agent. **Carbohydrate Polymers**. 2016, 138, 66. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.041>
- SILVA, M. L. T., BRINQUES, G. B., e GURAK, P. D. Development and characterization of corn starch bioplastics containing dry sprout by-product flour. **Brazilian Journal of Food Technology**, 23, e2018326. (2020). <https://doi.org/10.1590/1981-6723.32618>
- SILVA, W. A.; PEREIRA, J.; CARVALHO, C. W. P.; FERRUA, F. Q. Determinação da cor, imagem superficial topográfica e ângulo de contato de filmes de diferentes fontes de fécula de mandioca. **Ciência Agrotécnica**, v. 31, p. 154-163, 2007. 10.1590/S1413-70542007000100023.
- SINGH N, SINGH J, KAUR L, SODHI NS, GILL BS. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chem**. 2003;81:219–31.
- SONG X, ZUO G, CHEN F. Effect of essential oil and surfactant on the physical and antimicrobial properties of corn and wheat starch films. **International Journal of Biological Macromolecules**. 2018 Feb;107(Pt A):1302-1309. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.09.114. Epub 2017 Sep 29. PMID: 28970166.
- SU, J-F.; HUANG, Z.; YUAN, X-Y.; LI, M. Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions. **Carbohydrate Polymers**, v.79, p. 145-153, 2010.
- SUEIRO, A.C.; FARIA-TISCHER, P.C.S.; LONNI, A.S.G.; MALI, S. Filmes Biodegradáveis De Fécula de mandioca, Pululana e Celulose Bacteriana. **Química Nova**, Vol. 39, No. 9, 1059-1064, 2016. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20160118>
- TANADA-PALMU, P. S.; HÉLEN, H.; HYVÖNEN, L. Preparation, properties and applications of wheat gluten edible films. **Journal of Agricultural Food Science**, 9, 23-35, 2000. DOI:10.23986/afsci.5650

- VALENCIA-SULLCA, C.; VARGAS, M; ATARÉS, L; CHIRALT, A.. Thermoplastic cassava starch-chitosan bilayer films containing essential oils, **Food Hydrocolloids** (2017), doi: 10.1016/j.foodhyd.2017.09.008
- WANG, S.; ADHIKARI, K.; HUNG, Y.C. Acceptability and preference drivers of freshly roasted peanuts. **Journal of Food Science**, v.82, n. 1, p. 174-184, 2017.
- WWF / Banco Mundial (What a Waste 2.0: A Global Snapshot of Solid Waste Management to 2050
- ZHAO, R.; GUAN, W.; ZHOU, X.; LAO, M.; CAI, L. The physiochemical and preservation properties of anthocyanidin/chitosan nanocomposite-based edible films containing cinnamon-perilla essential oil pickering nanoemulsions. **LWT - Food Science and Technology** 153 (2022) 112506. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112506>
- ZHOU, Y; WU, X.; CHEN, J.; ELE, J. Effects of cinnamon essential oil on the physical, mechanical, structural, and thermal properties of cassava starch-based edible films. **International Journal of Biological Macromolecules** 184 (2021) 574–583. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.067>
- ZHU, L.; LUO, H.; SHI, Z.W.; LIN, C.Q.; CHEN, J. Preparation, characterization, and antibacterial effect of bio-based modified starch films. **Food Chemistry: X** 17 (2023) 100602. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100602>.

4. CAPÍTULO 4

EFEITO DA NANO ARGILA BENTONITA E ÓLEO ESSENCIAL DE HISSOPO NA PRODUÇÃO DE FILMES BIOPOLIMÉRICOS DE FÉCULA DE MANDIOCA

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi desenvolver membranas biodegradáveis oriundas de fécula de mandioca com diferentes concentrações de nano argila e adição de óleo essencial de Hissopo (OEH), analisando a possível melhora das características mecânicas, de barreira, térmicas e antimicrobianas desses filmes. Foram desenvolvidos nove filmes com diferentes proporções de bentonita e adição de OEH, denominados como: T0 (fécula de mandioca + glicerol); B1 (fécula de mandioca+glicerol+0,1g de nano argila); B2 (fécula de mandioca+glicerol+0,2g de nano argila); B3 (fécula de mandioca+glicerol+0,3g de nano argila); B4 (fécula de mandioca+glicerol+0,4g de nano argila); HB1 (fécula de mandioca+glicerol+0,1g de nano argila + OEH); HB2 (fécula de mandioca+glicerol+0,2g de nano argila + OEH); HB3 (fécula de mandioca+glicerol+0,3g de nano argila + OEH) e HB4 (fécula de mandioca+glicerol+0,4g de nano argila + OEH). As películas foram produzidas pelo método de *casting*. Analisou-se as propriedades de cor, opacidade, espessura, Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA), solubilidade em água, resistência a tração, alongação e ação antimicrobiana pelo método de difusão em ágar. As propriedades de microestrutura foram investigadas pelos testes de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier e Espectroscopia na região UV-Vis. As características térmicas foram verificadas pelas análises Termogravimétricas (TG) e por Calorimetria Exploratória Diferencial. Visando a substituição de plásticos de origem sintéticas, foi realizado o teste de biodegradação em solo. A interação da fécula de mandioca e bentonita, resultou melhora nas propriedades mecânicas dos filmes (B1 e HB1). As membranas com adição de OEH, apresentaram atributos de opacidade significantes ($44,06 \pm 0,65$) e menor PVA ($4,45 \pm 0,82$), as películas com OEH também demonstraram ação antimicrobiana. Os filmes de microestruturas mostraram películas porosas e com resistência na dissolução da nano argila. Os filmes se degradaram em solo, exibindo perda de massa considerável, destacando-se as membranas com OEH. A adição da bentonita e OEH mostrou-se satisfatória, apresentando potencial para produção de membranas, sua utilização possivelmente será vantajosa para as indústrias, reduzindo os impactos ambientais.

Palavras-chave: Argila; Biodegradáveis; *Hissopus officianallis*; Membranas;

INTRODUÇÃO

Aproximadamente 300 toneladas de plásticos de origem sintética são produzidas globalmente a cada ano, das quais cerca de 10 a 20 toneladas se acumulam no oceano (SHARMA *et al.*, 2022), causando danos significativos aos recursos terrestres, aéreos e hídricos. Como alternativa de substituição de plásticos oriundos de fontes não renováveis, surge os filmes e revestimentos de matérias prima renováveis (PÉREZ-CÓRDOBA *et al.*, 2018).

Entre as fontes renováveis, a fécula de mandioca é uma matriz de biopolímero termoplástico de baixo custo e fácil obtenção, porém é composta por amilose (16-24%) e amilopectina (84-76%) constituintes responsáveis pela baixa barreira ao vapor de água, resistência mecânica e propriedades térmica (OLIVEIRA *et al.*, 2016). A misturas de fécula com plastificantes, principalmente glicerol, quando submetidas ao aquecimento, levam à fusão da fração cristalina e à formação de amido termoplástico (TPS) (ST-PIERRE *et al.*, 1997). No entanto, a natureza altamente hidrofílica das redes amorfas de TPS limita as suas aplicações em embalagens de alimentos devido à instabilidade durante o processamento de plastificação e utilização final. Visando uma melhora nas características mecânicas e de barreira, pesquisadores vêm aplicando nano argilas para aprimorar esses biopolímeros, como por exemplo, a Bentonita.

A bentonita consiste principalmente de montmorilonita ($\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 4(\text{SiO}_2) \cdot \text{H}_2\text{O}$), uma argila de filo-silicato composta de folhas e camadas (MAINA, WANYIKA e GACANJA, 2016). As argilas esmectíticas, bentoníticas ou montmoriloníticas possuem mais usos industriais que todos os outros tipos de argilas industriais reunidas, sendo um material extremamente versátil e de perfil adequado para obtenção de produtos ou insumos de elevado valor agregado (SILVA e FERREIRA, 2008). Com alta capacidade de retenção de água, capacidade de expansão e higroscopicidade, essa nano argila tem se demonstrado como componente interessante para produção de filmes biopoliméricos (LIU, XIE e QIN, 2017).

Segundo Scuedeler *et al.* (2020), a incorporação de substâncias antioxidantes e antimicrobianas, como óleos essenciais (OEs), na preparação de filmes renováveis tem sido feita nos últimos anos. Os óleos essenciais são líquidos de substâncias aromáticas e voláteis extraídos de componentes de plantas, sendo composto principalmente, por monoterpenos, sesquiterpenos e seus derivados oxigenados (álcoois, aldeídos, ésteres, cetonas, fenóis e óxidos) (MENEZES *et al.*, 2019; SAID-AL AHL *et al.*, 2015). O óleo essencial de hissopo

(OEH), possui aroma específico, usado em cosméticos, na indústria alimentícia e apresentam atividades relaxantes musculares, antibacterianas e antifúngicas (SAID-AL AHL *et al.*, 2015).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar e determinar a melhoria das propriedades de barreira ao vapor de água, mecânicas e térmicas de filmes de fécula de mandioca devido à presença da argila bentonita e a adição de OEH.

MATERIAL E MÉTODOS

A fécula de mandioca, glicerina, água destilada e bentonita, utilizados no experimento, foram cedidos pelo laboratório de Bioengenharia da UFGD. O OEH (marca: Now Essential Oils, Illinois, EUA) foi obtido comercialmente. A cromatografia gasosa do OEH encontra-se no Anexo.

4.2.1 Desenvolvidos dos filmes

O experimento foi realizado no laboratório de Bioengenharia-CLF, UFGD. A metodologia foi realizada segundo Holsbach *et al.* (2019) e Chevalier *et al.* (2020) com adaptações. Foram preparadas nove soluções de filmes de fécula de mandioca (T0), com diferentes concentrações da nano argila e adição de OEH em concentração 1% (g/ml), todas hidratadas em 100 ml de água destilada, representados pela Tabela 8. A fécula de mandioca e as diferentes concentrações da bentonita, foram aquecidos e agitados por um agitador mecânico eletrônico (modelo Q235-1), à 350 rpm, até alcançar o processo de intumescimento, a temperatura de 60°C. Subsequentemente foi adicionada glicerina à solução, em proporção 30% (g/ml), em agitação por mais 20 min. Após o resfriamento da solução até 35°C aproximadamente, foi adicionada a concentração de 1% (g/ml) de OEH.

As membranas foram desenvolvidas pela técnica de *casting* que consiste no espalhamento de 20ml em placas acrílicas de 0,09m de diâmetro. Consecutivamente, as placas foram depositadas em estufa com circulação de ar (Marconi, modelo MA035, São Paulo, Brasil) por 18h para completa ebulição do solvente. Posteriormente, as películas foram armazenadas por 24h em dessecadores de vidro com vacuômetro em uma temperatura de 20°C e umidade relativa de 75%. A umidade relativa foi controlada usando solução saturada de cloreto de sódio. As películas prontas foram acondicionadas em caixa térmica para proteção de intempéries até o início das análises.

Tabela 8. Concentrações de nano argila Bentonita e OE

Filmes	Bentonita (g)	OEH (%OEH/3g de fécula de
--------	---------------	---------------------------

		mandioca)
T0	--	--
B1	0,1	--
B2	0,2	--
B3	0,3	--
B4	0,4	--
HB1	0,1	1
HB2	0,2	1
HB3	0,3	1
HB4	0,4	1

T0 (fécula de mandioca + glicerol); B1 (fécula de mandioca+glicerol+0,1g de nano argila); B2 (fécula de mandioca+glicerol+0,2g de nano argila); B3 (fécula de mandioca+glicerol+0,3g de nano argila); B4 (fécula de mandioca+glicerol+0,4g de nano argila); HB1 (fécula de mandioca+glicerol+0,1g de nano argila + OEH); HB2 (fécula de mandioca+glicerol+0,2g de nano argila + OEH); HB3 (fécula de mandioca+glicerol+0,3g de nano argila + OEH) e HB4 (fécula de mandioca+glicerol+0,4g de nano argila + OEH)

4.2.2 Cor e Opacidade

A cor instrumental foi determinada através do colorímetro CR-400 (Konica Minolta, Chroma Meter, Japão). As medidas foram realizadas em três partes do filme, sendo: uma no centro e as outras duas nas laterais (distância da borda). Os filmes foram colocados em um quadro branco definido como padrão (Gennadios *et al.*,1996). As escalas, CIE-Lab, foram utilizadas para medir parâmetros L* (Luminosidade variando de 0 (preto) a 100 (branco)); a* e b* (variando de vermelho a amarelo), H* ângulo hue (vermelho-roxo, em 0°, amarelo em 90°, verde-azul em 180° e azul em 270°) e ΔE como a diferença de coloração (HUNTERLAB, 1997). Valores quais foram calculados pelas seguintes equações:

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (4.2.1)$$

$$H^*(^\circ) = \arctan \frac{b^*}{a^*} \times \frac{180}{\pi} \quad (4.2.2)$$

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (4.2.3)$$

Em que: ΔE*= diferença de cor; ΔL = diferença em mais claro e escuro (+ = claro, - = escuro); Δa = diferença em vermelho e verde (+ = vermelho, - = verde); Δb = diferença em amarelo e azul (+ = amarelo, - = azul)

A opacidade também foi determinada através do colorímetro CR-400 (Konica Minolta, Chroma Meter, Japão). Foi realizado a calibração do colorímetro com um fundo de coloração branca e preta. As medições foram realizadas em triplicata. Os valores de opacidade foram calculados de acordo com a Equação (4.2) (HUNTERLAB, 1997):

$$Op(\%) = \frac{P_{preto}}{P_{branco}} \times 100 \quad (4.2.4)$$

Em que: Op = opacidade (%), Pp = superfície preto e Pb = padrão superfície branco.

4.2.3 Espessura

As medidas das espessuras dos filmes foram realizadas utilizando um paquímetro digital (Digemess 100.174B) com precisão de 0,001mm. Foram coletadas cinco medidas de cada amostra em diferente área das amostras dos filmes.

4.2.4 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água indica o quão permeável o filme é às moléculas de água, ou seja, é a taxa de transmissão de vapor de água por unidade de área do material (ASTM, 1980). A amostra de filme foi selada na abertura circular de uma célula de permeação contendo cloreto de cálcio anidro (0% de UR). Estas células de permeação foram colocadas em dessecadores de vidro com uma solução saturada de cloreto de sódio e mantidas a 25°C. O ganho de massa através do filme foi analisado a cada 24h, por sete dias. A permeabilidade ao vapor de água foi calculada pela equação (4.2.5):

$$PVA = \frac{\Delta W}{t} \times \frac{x}{A \Delta P} \quad (4.2.5)$$

Em que: PVA = Permeabilidade ao vapor de água (g mm KPa⁻¹ dia⁻¹ m⁻²); ΔW= Ganho de massa pelo dessecante (g); e= Espessura do filme (mm); t= Tempo de incubação (dias); A= Área da superfície do filme exposto (m²); ΔP= Diferença de pressão parcial (KPa)

4.2.5 Solubilidade em água (S%)

A solubilidade foi determinada de acordo com o método proposto por Gontard *et al.* (1994). As amostras, em triplicata, foram preparadas com círculos de 0,015m de diâmetro, extraídos das películas. A matéria inicial seca das amostras foi obtida por meio da secagem em estufa com circulação e renovação de ar a 105°C durante 24h. Após a primeira pesagem, as amostras foram imersas em um recipiente contendo 30ml de água destilada e mantidas sob agitação lenta e constante a 150 rpm em um agitador orbital a 25°C, também por um período

de 24 h (Cientec, CT-712RNT). As amostras solubilizadas foram então removidas levadas a secagem em uma estufa de circulação e renovação de ar a 105°C por mais 24h para obter a matéria seca final. A solubilidade do filme foi representada pelo material solúvel total dissolvido em água, calculado de acordo com a Equação (4.2.6)

$$S(\%) = \frac{(m_i - m_f)}{m_f} \times 100 \quad (4.2.6)$$

Em que: S = solubilidade em água (%); m_i = massa seca inicial da amostra (g); m_f = massa seca final da amostra (g).

4.2.6 Resistência a Tração (RT)

A resistência à tração foi determinada, em triplicata, por meio da utilização de um analisador de textura TA-XT2 (SMS, Surrey, Reino Unido), operado de acordo com o método padrão ASTM D 882-83 (ASTM, 1995), conforme modificado por (TANADA-PALMU *et al.*, 2000). Os filmes foram cortados em retângulos com área total de 0,105m² e fixados em garras com distância inicial até a separação de 0,05m. A velocidade dos filmes foi fixada em 0,8 mm/s. A resistência à tração foi calculada dividindo a força máxima necessária para a ruptura do filme pela área de seção transversal do filme, pela equação (4.2.7):

$$RT = \frac{F_m}{A} \quad (4.2.7)$$

Em que: RT: resistência a tração (Mpa); F_m : força média (N); e A: área do filme (m²).

4.2.7 Elongação (E%)

Com uso do equipamento TA-XT2 e baseando-se na metodologia de Tanada-Palmu *et al.* (2000), pode-se determinar também a elongação (E%) das películas em porcentagem, mediante diferença entre a distância final percorrida até a ruptura e a distância inicial de separação, dividindo-as pela distância inicial de separação, Equação (4.2.8):

$$E = \frac{(d_r - d_o)}{d_o} \times 100 \quad (4.2.8)$$

Em que: d_o : separação inicial entre as garras (cm); d_r = separação entre as garras no momento da ruptura (cm).

4.2.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise mais utilizada para avaliar a microestrutura de filmes biodegradáveis é a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A morfologia da superfície dos filmes foi observada utilizando um Microscópio Eletrônico de Varredura (JEOL, JSM-6060, Japão),

operado a 10 kV e 50 mA, no Laboratório Multiusuário de Análises de Materiais - MULTILAM, do departamento de Física da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Antes da realização do teste MEV, as amostras foram colocadas em um suporte de alumínio e cobertas com uma fina camada de ouro (Sputter Coater, SCDO50) para melhorar a condução térmica de acordo com Chevalier *et al.* (2020). Imagens foram capturadas com ampliação de 500x; 2000x e 5000x.

4.2.9 Espectroscopia Na Região Do Infravermelho Por Transformada De Fourier

A técnica de espectroscopia na região do infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), foi realizada no Laboratório de Caracterização- CLF, pelo departamento de Física – UFGD. A análise ocorreu pelo espectrofotômetro (Prestige 21, 210045, Japão), sem aplicação de aditivos, por transmitância, na região espectral de 4000-400 cm^{-1} , com acúmulo de 32 varreduras, utilizada para avaliação da presença de grupos químicos das matrizes poliméricas dos filmes de fécula de mandioca e óleos essenciais.

4.2.10 Espectroscopia na Região UV-Vis

Os espectros eletrônicos de absorção molecular nas regiões do ultravioleta e visível (UV-Vis) foram obtidos em um espectrofotômetro (Lambda 60S–PerkinElmer). As análises espectroscópicas no estado sólido foram realizadas através da técnica de reflectância difusa. Os espectros obtidos foram utilizados após a transformação da porcentagem de reflectância em absorbância [$\log_{10}(1/\text{reflectância})$] no espectrofotômetro Lambda 60S–PerkinElmer com esfera integradora. Os dados foram obtidos no laboratório de síntese e caracterização molecular - LSCM, no Instituto de Química – UFMS, Campo Grande/MS.

4.2.11 Calorimetria exploratória e Termogravimetria (TG)

As temperaturas de transição do vidro e as variações de entalpia de fusão dos filmes foram determinadas usando calorímetro de varredura diferencial (Netzsch, Modelo: STA 449 F3 Jupiter, Selb, Alemanha) com o módulo de resfriamento por nitrogênio líquido. Amostras com cerca de 6 a 8 mg das películas foram hermeticamente seladas em cápsulas de alumínio e pré-condicionadas a 25°C e 50% de umidade relativa. As medidas foram realizadas em atmosfera inerte de grau cromatográfico a gás nitrogênio ultra seco, com a mesma vazão e o empuxo de 50 ml min^{-1} . Os filmes foram iniciados a 40°C e em seguida foram aquecidas a uma taxa de 10°C min^{-1} até atingir 200°C. O material de referência para esta análise foi o ar atmosférico (ANDRADE *et al.*, 2017).

4.2.12 Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi aferida por meio do teste de difusão em ágar. A produção de meio de cultura, por ágar muller-hinton (KASVI, MODELO: K25-620033) foi realizada conforme proporções descritas pelo fabricante.

Os filmes biopoliméricos foram cortados em formato de discos com diâmetro de 0,015m. Seguidamente foram colocados sob uma placa de ágar muller-hinton contendo a bactéria *Bacillus cereus* ATCC 14579 e *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, cultivadas em placas de petri preenchidas com ± 10 ml de ágar mueller-hinton. As placas de Petri foram colocadas em incubadora durante 36h a 37°C para formação dos halos de inibição bacteriana, aferidos, posteriormente, por meio de um paquímetro os diâmetros da zona de inibição em torno do halo (MEDINA *et al.*, 2011; FARJANA; ZERIN; KABIR, 2014). As zonas com diâmetro maior ou igual a 0,09 m foram consideradas como de inibição (OLIVEIRA *et al.*, 2013; ZHAO; SHAH, 2015). Os filmes utilizados nesta análise foram os com adição de OEH, para investigar e comprovar características antimicrobianas do OE adicionado.

4.2.13 Biodegradação

Os ensaios de biodegradação foram realizados de com adaptações da metodologia proposta pela norma G160-98 da ASTM (1998), Fernandes *et al.* (2019), Gomes e Borges (2022). O material de solo utilizado foi o argilosolo vermelho, típico da região de Dourados-MS, retirado no dia 15/07/2023 e disposto em bandejas de plástico 0,32x0,32m. Foram adicionadas 5cm de terra, em seguida, os filmes foram acomodados e então complementados mais 5cm de terra. visando a simulação de condições naturais, as bandejas foram mantidas a temperatura de 25°C, durante período de 42 dias.

4.2.14 Análise Estatística

Os resultados dos filmes desenvolvidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a comparação de médias pelo teste de Tukey ($\alpha = 5\%$), utilizando o software Minitab19®.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.3.1 Cor

Pode-se observar a variação dos filmes sob os parâmetros cromáticos de L^* , a^* e b^* na Tabela 9. Ao relacionar as respectivas concentrações de bentonita com os aditivos do OEH, constata-se que os filmes HB1, HB2, HB3 e HB4, apresentaram maiores valores de luminosidade, em que provavelmente os compostos fenólicos do OEH auxiliam na dispersão da bentonita deixando filmes mais luminosos. A coordenada a^* , apresentou valores negativos, exceto na formulação B4. Segundo Chevalier *et al.* (2020) no Chroma a^* , (-a) e próximos de 0, implicam em filmes com pouca tendência a cor esverdeada, pois quanto maior o valor negativo do parâmetro mais tende ao verde e (+a) tendem a coloração vermelha. A coordenada b^* indica tons de amarelo (+b) a azul (-b) (LEÓN *et al.*, 2006). O parâmetro b^* obteve valores positivos, chegando à coordenada de $10,85 \pm 0,07$, referente a B4.

Tabela 9. Dados de Cor e Opacidade dos filmes de fécula de mandioca, bentonita e OEH.

Filmes	L^*	a^*	b^*	Op (%)	C^*	H°	ΔE
T0	$94,06 \pm 0,24^a$	$-0,27 \pm 0,01^d$	$4,88 \pm 0,22^f$	$44,03 \pm 0,71^b$	$4,89 \pm 0,22^f$	$93,210 \pm 0,274^a$	nd
B1	$91,55 \pm 0,21^b$	$-0,07 \pm 0,02^b$	$7,06 \pm 0,07^{de}$	$45,15 \pm 0,68^b$	$7,06 \pm 0,07^{de}$	$90,010 \pm 0,003^b$	$7,94 \pm 1,01^{de}$
B2	$92,34 \pm 0,81^{ab}$	$-0,22 \pm 0,03^{cd}$	$6,89 \pm 0,66^e$	$44,44 \pm 0,84^b$	$6,90 \pm 0,66^e$	$90,032 \pm 0,007^b$	$6,06 \pm 3,67^{de}$
B3	$91,11 \pm 0,93^{bc}$	$-0,06 \pm 0,05^b$	$8,48 \pm 0,61^{bc}$	$45,45 \pm 0,29^b$	$8,48 \pm 0,60^{bc}$	$90,007 \pm 0,006^b$	$16,16 \pm 5,12^c$
B4	$89,47 \pm 0,02^c$	$-0,34 \pm 0,03^a$	$10,85 \pm 0,07^a$	$47,93 \pm 0,26^a$	$10,86 \pm 0,07^a$	$89,989 \pm 0,036^b$	$40,48 \pm 0,93^a$
HB1	$92,04 \pm 0,33^b$	$-0,01 \pm 0,04^b$	$6,44 \pm 0,26^e$	$44,41 \pm 0,82^b$	$6,44 \pm 0,26^e$	$90,005 \pm 0,002^b$	$4,53 \pm 1,81^e$
HB2	$91,91 \pm 0,25^b$	$-0,23 \pm 0,03^{cd}$	$7,06 \pm 0,24^{de}$	$44,06 \pm 0,65^b$	$7,06 \pm 0,24^{de}$	$90,033 \pm 0,006^b$	$6,97 \pm 0,89^{de}$
HB3	$91,64 \pm 0,15^b$	$-0,11 \pm 0,06^{bc}$	$8,02 \pm 0,39^{cd}$	$44,83 \pm 1,13^b$	$8,02 \pm 0,38^{cd}$	$90,014 \pm 0,009^b$	$12,41 \pm 2,26^{cd}$
HB4	$90,94 \pm 1,21^{bc}$	$-0,22 \pm 0,07^a$	$9,47 \pm 0,28^b$	$44,67 \pm 0,84^b$	$9,47 \pm 0,28^b$	$89,976 \pm 0,006^b$	$24,89 \pm 3,03^b$

Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem ao nível de $p \leq 0,05$

A característica de opacidade obtida pela equação (4.2.4) indica que a adição da bentonita influenciou na cor em todos os tratamentos desenvolvidos, embora os filmes com óleo essencial de hissopo o parâmetro L foi $92,04 \pm 0,33$; $91,91 \pm 0,25$; $91,64 \pm 0,15$ a $90,94 \pm 1,21$ nos tratamentos de HB1, HB2, HB3 e HB4 respectivamente, ou seja houve uma tendência ao branco. Garrido *et al.* (2021) relata situação parecida com a encontrada, onde, a passagem de luz nos filmes de gelatina diminuiu com a presença da argila. Resultados assim, sugerem que a argila não foi completamente dispersa, por formar aglomerações intercaladas

na matriz do biopolímeros, impedindo a passagem de luz através da película (GIANNAKAS *et al.*, 2014).

As membranas demonstraram aumento de saturação (Chroma C*) conforme o acréscimo de nano argila e leve diminuição ao compará-los com os de inclusão de OEH. Moalla *et al.* (2021) e Yong *et al.* (2019) afirmam que essa alteração na saturação é atribuída à presença de compostos fenólicos e pigmentos existentes nos OEs. A alteração de saturação com os filmes da nano argila, deve-se possivelmente aos seus compostos.

Matiz (H°) é um termo que descreve uma dimensão de cor que experimentamos prontamente quando olhamos para a cor, ou para sua forma mais pura (PREUCIL, 1953). Na Tabela 9 os valores de H° indicam membranas com tonalidades no espectro do amarelo.

A incorporação de bentonita e OEH afetou significativamente ($p < 0,05$) a diferença de cor do filme T0, demonstrando que houve alteração na dispersão de luz na matriz polimérica das membranas.

4.3.2 Espessura

As membranas com bentonita demonstraram maior espessura ao serem comparados com o T0, conforme Tabela 10. A espessura dos filmes não sofreu influência conforme o aumento de massa, mediante as diferentes porcentagens de argila. Pressupõe-se que a alteração da espessura foi obtida diante o processo de secagem dos filmes, em que as placas não estivessem niveladas dentro da estufa de circulação de ar.

Brasil *et al.* (2022) comenta que controle da espessura é difícil, sobretudo, nos processos de produção do tipo “*casting*”. Onde diversos autores ao desenvolverem películas com mesma matéria prima e técnica obtiveram valores diferentes.

Os valores estatísticos de espessura, diferem entre si, indicando possível variação nas médias das películas.

Tabela 10. Dados das caracterizações dos filmes de fécula de mandioca, bentonita e OEH

Filmes	Espessura (mm)	PVA (g.mm/m ² .dia.KPa)	S (%)
T0	0,078±0,005 ^d	7,02±0,01 ^a	28,63±6,10 ^{ab}
B1	0,181±0,030 ^{abc}	7,95±0,51 ^{bc}	23,54±7,78 ^b
B2	0,143±0,008 ^{bcd}	12,95±0,86 ^{abc}	40,97±6,83 ^{ab}
B3	0,226±0,040 ^a	19,56±1,57 ^{abc}	40,71±3,47 ^{ab}
B4	0,171±0,063 ^{abc}	6,30±0,77 ^c	25,57±3,64 ^{ab}

HB1	0,117±0,003 ^{cd}	4,45±0,82 ^c	44,58±5,52 ^a
HB2	0,201±0,012 ^{ab}	19,89±1,77 ^{ab}	39,58±3,80 ^{ab}
HB3	0,128±0,005 ^{bcd}	7,57±6,91 ^{abc}	26,25±1,87 ^{ab}
HB4	0,141±0,021 ^{bcd}	5,04±0,26 ^c	26,74±5,66 ^{ab}

Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem ao nível de $p \leq 0,05$

4.3.3 Solubilidade em água

A solubilidade informada na Tabela 10 em água dos filmes variou entre 23,54% - 44,58%, ambos nos filmes com mesma proporção de nano argila (B1 e HB1). Os filmes HB2 e HB3 apresentaram menores valores aos relacionar com B2 e B3. Presumisse que tal informação se dê mediante a característica hidrofóbica do OEH pois, segundo Caetano *et al.* (2017) compostos hidrofílicos tendem a aumentar os valores de solubilidade enquanto os hidrofóbicos diminuem esses valores. Tais resultados encontrados de B2 e B3 podem indicar a característica solúvel da nano argila.

4.3.4 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade dos filmes é relacionada a espessura dos mesmos, onde percebe-se que quanto maior a espessura das membranas, maiores os valores de PVA, conforme dados da Tabela 10. A membrana HB2 apresentou segundo maior resultado de espessura e maior de PVA indicando que vapor d'água atravessou a película, ocasionando um aumento de massa do Cloreto de Calcio anidro que estava localizado dentro da célula de resina. Diferente dos valores de HB2, a adição de OEH ocasionou menores resultados de PVA, ao relacioná-los aos filmes com mesma porcentagem de bentonita. Destacou-se a membrana HB1, que apresentou valor de 4,45±0,82 e indica a natureza hidrofóbica do OEH e a hidrofílica da bentonita.

Chevalier *et al.* (2020), obtiveram resultado semelhante, em que o tratamento de melhor resultado foi o filme com maior concentração de óleo essencial de cravo, menor concentração do plastificante e de argila. Entretanto, Cortez -Vega *et al.* (2013), relata que a PVA diminuiu quando foram usados maiores teores de argila (Montmorilonita), obtendo valores entre 3,2±0,1 - 5,5±0,2. Shanmathy, Mohanta e Thirugnanam (2021) obtiveram diminuição de PVA em seus filmes de fécula de mandioca de taro reforçados com bentonita quando comparados com de fécula de mandioca de taro puro. O mesmo aconteceu nos filmes B4, HB1 e HB4, ao relacioná-los com T0, além dos três filmes não apresentarem diferença significativa ($p < 0,05$).

Segundo Wu *et al.* (2017), os valores de PVA considerados aceitáveis para uso em embalagem de alimentos são de 0,57 g.mm/m².dia.KPa a 13,27 g.mm/m².dia.KPa. indicando que apenas os filmes B3 e HB2 não se adequam.

4.3.5 Resistência a tração (RT)

Recentes estudos retratam a melhora das propriedades mecânicas, conforme aplicação de nano argilas. Os resultados encontrados de RT, não apresentaram diferença estatística significativa para todos os filmes produzidos. Pela Figura 15, pressupõe-se a aplicabilidade da bentonita na melhora de resistência dos filmes, juntamente com o OEH.

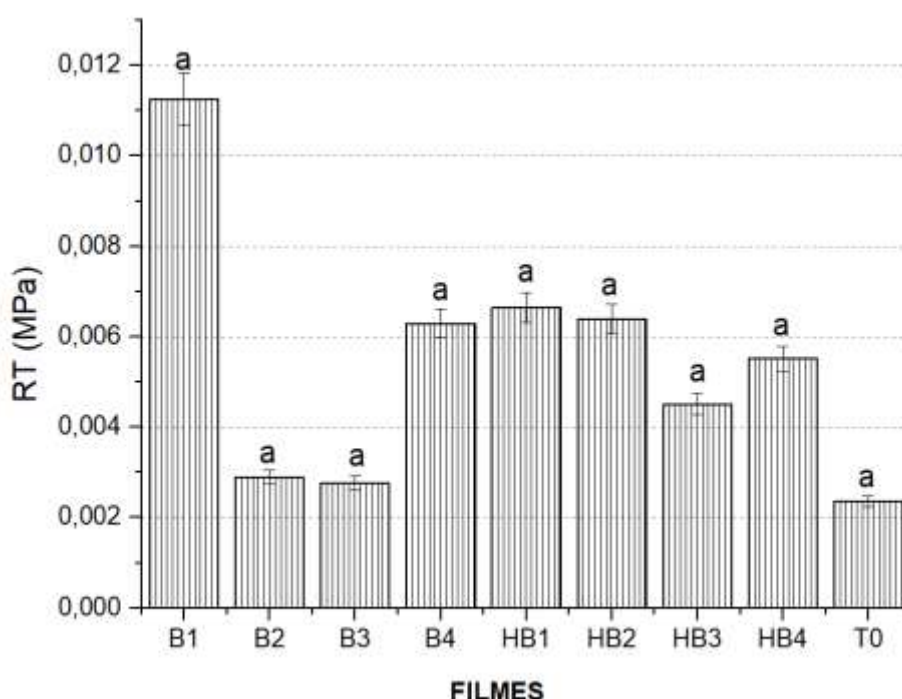


Figura 15. Resistencia a tração dos filmes de fécula de mandioca, diferentes concentrações de bentonita e OEH. Fonte: (a autora).

As películas B1 e HB1 apresentaram significantes resultados. Ao comparar as membranas B1 e HB1, constata-se que as propriedades dos compostos do OEH afetam a matriz da fécula e da bentonita, resultando em uma menor força de coesão. Os filmes T0, B2 e B3 obtiveram valores semelhantes indicando possivelmente que não houve interação entre a fécula de mandioca e a nano argila durante a produção do filme.

Os resultados de Shanmathy, Mohanta e Thirugnaman (2021) demonstraram que as características mecânicas variaram conforme concentrações de Bentonita, diante do fato de que concentrações maior/igual a 3% de nano argila, apresentaram valores inferiores de

resistência. Luckham e Rossi (1999) esclarecem que uma maior adição de 2,5% forma um aglomerado de argila, que não se dissolveriam, causando redução nas propriedades mecânicas.

4.3.6 Elongação

A propriedade de elasticidade até ruptura dos filmes é demonstrada pelo gráfico de Elongação (E%) na Figura 16. Os filmes não apresentaram diferença estatística.

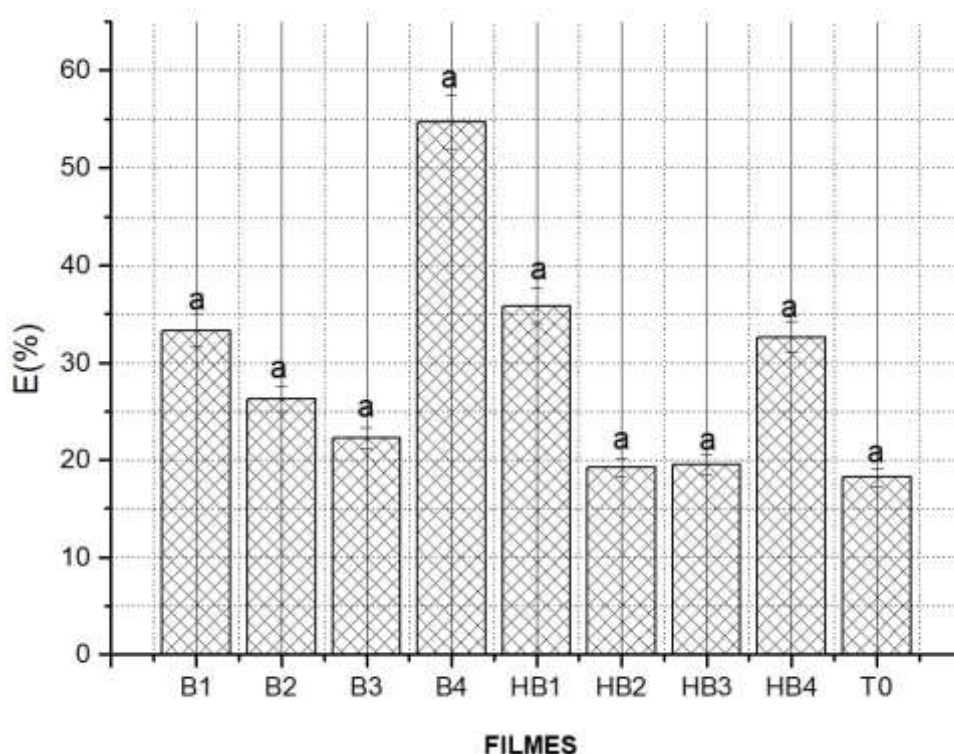


Figura 16. Elongação dos filmes de fécula de mandioca, diferentes concentrações de bentonita e OEH. Fonte: (a autora).

Conforme Figura 16 a elasticidade dos filmes ultrapassou 50%, significando que a adição de bentonita influenciou significativamente. Pois, o teste T0, obteve menor resultado. Tal dado pode ser presumido diante a interação da fécula de mandioca e bentonita com a concentração de glicerina (30%) em sua solução, devido ao fato de que a glicerina possui propriedades plastificantes, que colaboram na elasticidade dos filmes (PEREIRA *et al.*, 2022).

A porcentagem de bentonita na película B4 obteve resultados satisfatórios o que não foi o obtido no teste de RT. Essa particularidade da nano argila como material de preenchimento que colabora na RT e elasticidade dos filmes de fécula de mandioca, foi relatado nas pesquisas de (CYRAS *et al.*, 2008 e MONTEIRO *et al.*, 2017).

O OEH atuou positivamente na característica de alongação dos filmes, conforme dados dos filmes HB1 e HB4. Pelo fato da concentração de 1% de OEH ser a mesma para todos os filmes, considera-se que a alongação das membranas é devida a interação entre a porcentagem de bentonita em relação ao OEH, glicerol e fécula de mandioca.

4.3.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microestrutura dos filmes, em ampliação a 5.000x é demonstrada na Figura 17. As membranas B1 e HB1 apresentaram partículas de nano argila que provavelmente não se dissolveram durante desenvolvimento dos filmes. A mesma característica é observada nos filmes B4 e HB4.

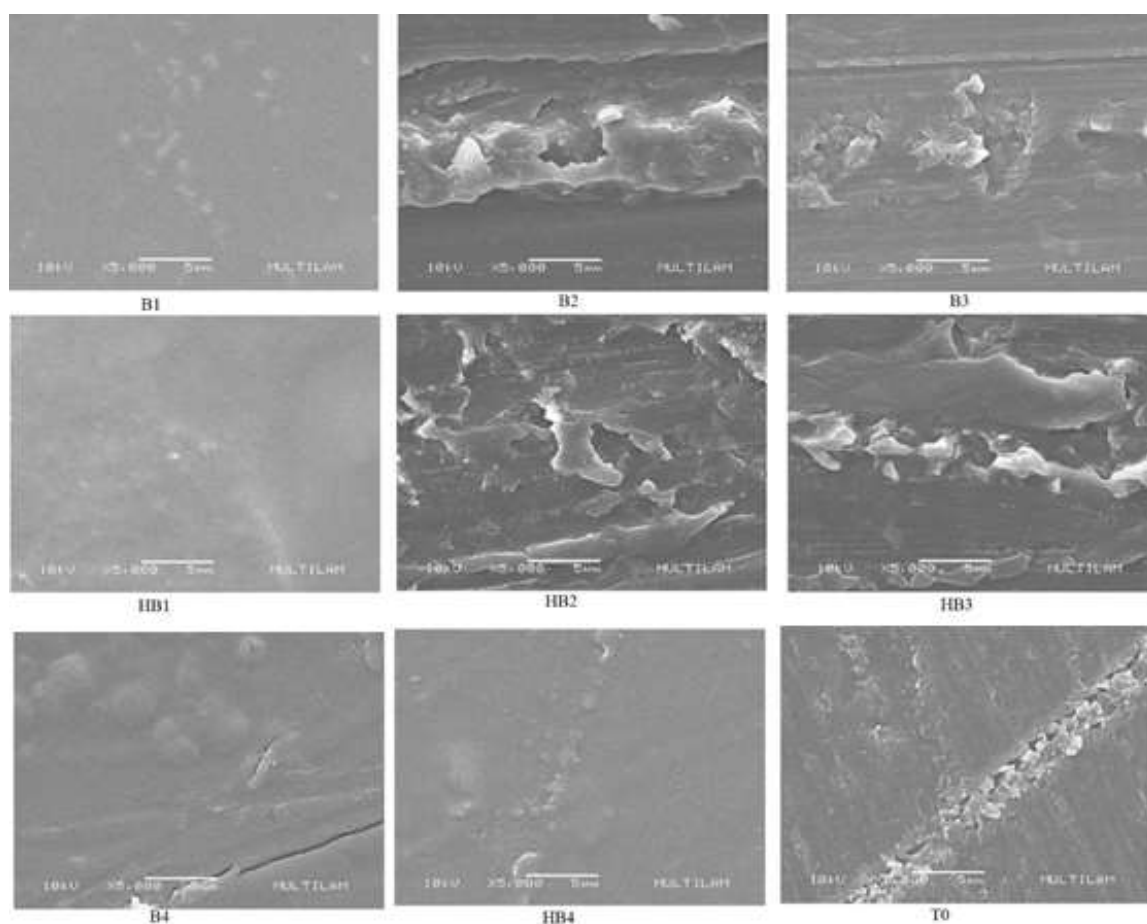


Figura 17. Micrografia dos filmes de fécula de mandioca, com concentrações de bentonita e OEH, imagens superficiais. Fonte: (a autora).

As semelhanças encontradas neste trabalho entre os filmes B1, HB1, B4 e HB4, possivelmente podem ser explicados mediante a similaridade das imagens das microestruturas de sua superfície.

Já os filmes B2, HB2, B3 e HB3 apresentaram estruturas de superfícies porosas e não homogêneas. Esses mesmos filmes exibiram maiores resultados de PVA, pois a porosidade contribui para passagem de vapor de água.

Monteiro *et al.* (2018) afirma que a presença de Bentonita influencia significativamente a homogeneidade da superfície do filme de fécula de mandioca, tornando-o mais uniforme sem a presença de aglomerados ao longo da matriz biopolimérica, pois a presença de aglomerados pode trazer fragilidade nas membranas, tornando suscetível à permeabilidade ao vapor de água (CHIU *et al.*, 2014; KOTAL e BHOWMICK, 2015). Percebe-se então que provavelmente durante a produção das membranas a nano argila não se integrou com os outros componentes, acumulando-se na superfície das películas.

4.3.8 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier

A transmitância na região do Infravermelho, é apresentada na Figura 18, os espectros de T0, B2 e B3 apresentam certa semelhança em seus perfis, possivelmente demonstrando que não houve interação entre os componentes fécula de mandioca-glicerol e fécula de mandioca-glicerol-bentonita. Pois, na região de 2300 cm^{-1} a figura apresenta picos consideráveis, possivelmente indicando a presença de alcinos ($\text{C}\equiv\text{C}$) nos filmes T0, B4 e levemente em B1. E na região de 3800 cm^{-1} , os picos indicam a presença de hidroxilas (OH^-).

Os filmes B2 e B3, possuem um decréscimo nessa região, de 3800 cm^{-1} , indicando a redução do grupo funcional hidroxila. Todavia, ambas as amostras retratam picos em 3500 cm^{-1} , que sugerem a presença de aminas (N-H).

Shanmaty *et al.* (2021) explica que a intensidade do pico de OH pode aumentar após a adição de bentonita. Esta mudança de intensidade significa a excelente dispersão da bentonita na matriz de fécula de mandioca.

Todas as formulações apresentaram bandas em torno de 1600 cm^{-1} que estão associadas à flexão angular do O-H nas moléculas de água, indicando a formação de interação da água com os componentes das formulações (fécula de mandioca e glicerol) (SUEIRO *et al.*, 2016; SELIGRA *et al.*, 2016). E pela ausência de picos na região de 3400 cm^{-1} que indicam os grupos funcionais de O-H, e a presença de bandas na região de $1300\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, pressupõe-se a existência de éteres (C-O).

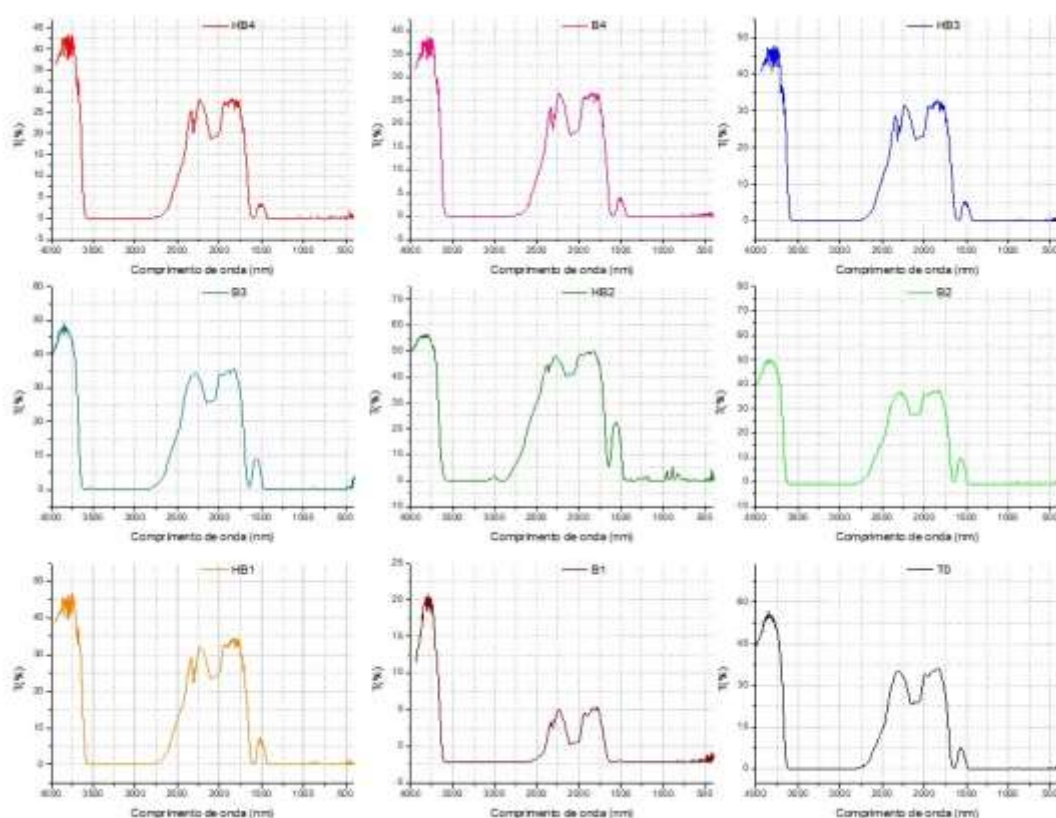


Figura 18. Espectros na região do Infravermelho por Transformada de Fourier, por transmitância. (a) filmes de fécula de mandioca e concentrações de bentonita. (b) filmes com OEH. Fonte: (a autora).

Na Figura 18, a aplicação de OEH no teste B2, apresentou maior transmitância, visto que o teste HB2 apresentou alta transmitância (58%) ao compará-lo com B2 (53%). Esse mesmo teste HB2, mostra um pico considerável na região de 1400 cm^{-1} , que especifica a presença de álcool (C-OH) ou fenol (OH- ligado a um anel de benzeno).

A existência de picos na região de 1550 cm^{-1} , representados em todas as amostras com OEH, pode significar a presença de ligações duplas (C=C) de compostos aromáticos, ressaltando o teste HB2, que apresenta pico relevante. As mesmas características são retratadas na região 1950 cm^{-1} , onde os picos sugerem a existência de (C=C), que podem indicar um indício das características antioxidantes dos filmes.

Picos nas regiões, $1015\text{-}1005\text{ cm}^{-1}$, foram encontrados por Zamrud, Ng e Salleh (2021) e Oliveira, Rocha, Silva e Bertolino (2016), que são atribuídos ao estiramento Si-O-Si devido à presença de bentonita e a interação do grupo alumínio (Al) da bentonita, picos nessa região foram mais evidentes no filme HB2.

4.3.9 Espectroscopia na Região UV-Vis

Quando há radiação atravessando um material, um pouco dessa radiação é absorvida por esse material, produzindo um espectro chamado de “absorção” (PAVIA *et al.*, 2015). A Figura 19, representa os espectros na região UV-Vis.

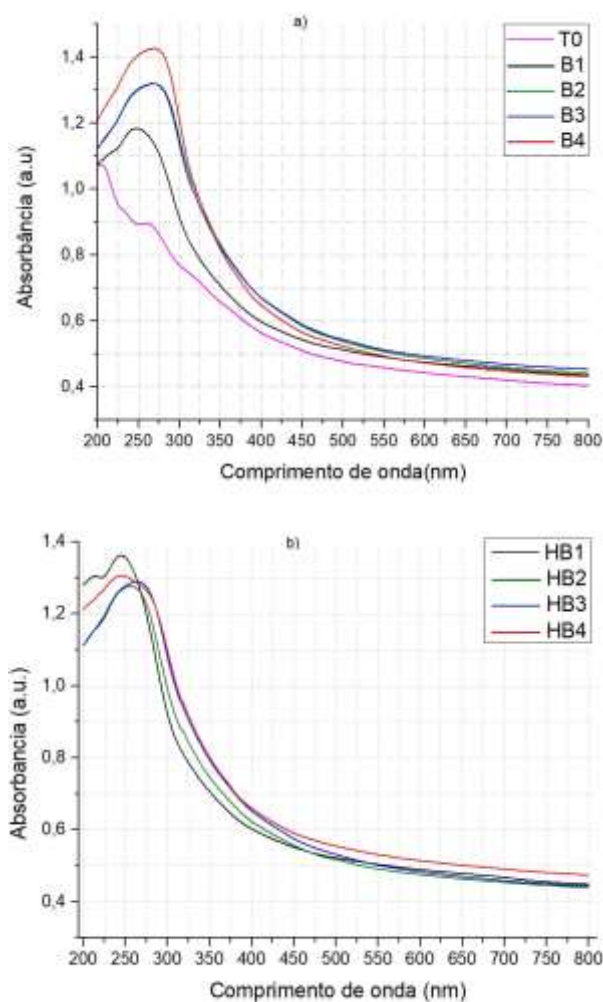


Figura 19. Espectros na região do UV-Vis, por absorbância. (a) filmes de fécula de mandioca e concentrações de bentonita. (b) filmes com OEH. Fonte: (a) autora).

De acordo com a Figura 19 (a), quanto maior a adição da bentonita, melhor a absorbância da radiação no espectro UV. Já T0 não apresentou absorção considerável, significando que a radiação atravessou o filme.

A aplicação de OEH aumentou consideravelmente a intensidade de absorbância das películas para radiação UV, ao se comparar B1 (Figura (a)) com HB1(Figura (b)). Contrariamente, HB4 apresentou absorção relativamente menor, presumindo-se que o OEH possibilitou a transmissão de radiação UV pelo filme, tais resultados se correlacionam aos obtidos na luminosidade dos filmes.

Segundo Pavia *et al.* (2015), a região de comprimento de onda a partir de 400nm é denominada Região do Visível (Vis) e conforme as Figuras 19 (a) e (b), no espectro Vis, a absorbância dos filmes com nano argila, apresenta intensidades maiores que 0,6 (a.u). Zhu *et al.* (2023) em sua investigação obteve resultados onde a transparência da película foi de 600nm em que todas as translúcências estavam entre 70% e 80%, de acordo com o desejo do comprador de ver a substância em seu interior.

As películas produzidas demonstram possíveis aplicações para alimentos que necessitem de proteção contra raios UV, por exemplo, que evite a oxidação.

4.3.10 Calorimetria exploratória diferencial e Termogravimetria (TG)

A análise de comportamento térmico desempenha um papel vital na determinação do comportamento físico-mecânico de filmes de polissacarídeos ao persuadir a fase amorfa/cristalina (BEHERA, MOHANTA e THIRUGNAMAN, 2022). A partir do termograma de calorimetria exploratória diferencial, demonstrada na Figura 20, é possível prever as propriedades térmicas das películas produzidas.

A Figura 20 (a) representa os filmes com fécula de mandioca e concentrações de bentonita. Os filmes T0, B2 e B3 entre 70-75°C houve liberação de energia, indicando um declínio nas linhas dos gráficos. O filme B1 e B4 apresentaram comportamentos opostos um do outro, em que B1 obteve pico exotérmico e B4 pico endotérmico. Todavia, após 150°C, B1 e B4 absorveram energia apresentando entalpia positiva em suas amostras.

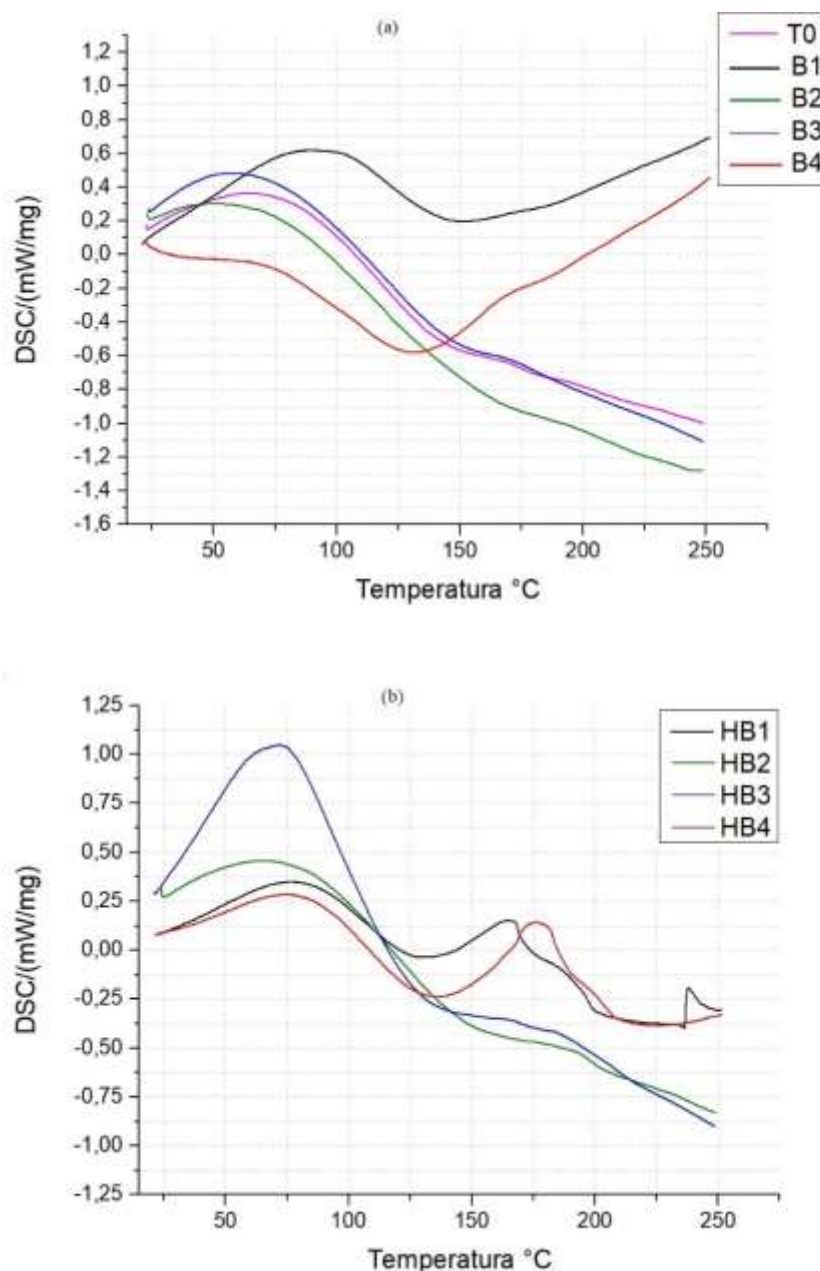


Figura 20. Dados de calorimetria exploratória diferencial (a) filmes de fécula de mandioca com diferentes concentrações de bentonita. (b) filmes com adição de OEH. Fonte: (a autora).

A Figura 20 (b) representa os filmes com fécula de mandioca, bentonita e OEH. A membrana HB3 absorveu energia demonstrando pico exotérmico considerável na figura. Após a chegada da temperatura entre 125°C, os filmes HB2 e HB3 apresentaram entalpia negativa, indicando que houve liberação de calor das amostras. Os filmes HB1 e HB4, obtiveram suave pico endotérmico entre 125-140°C e em seguida, absorveram calor entre 170-180 °C, apresentando leve pico exotérmico. HB1 absorveu energia entre 238°C.

Possivelmente os picos dos filmes B1, B4, HB1 e HB4 representaram a energia necessária capaz de elevar o estado de agitação molecular levando o composto do estado

sólido ao estado líquido. Scudeler *et al.* (2020) afirma que interações intercaladas entre polímero e nanopartícula diminuem a mobilidade rotacional e translacional aumentando a temperatura, ou seja, é necessária mais energia para ocorrer a transição vítrea. A temperatura de transição vítrea é tomada como o valor médio da faixa de temperatura que durante o aquecimento de um material polímero, que está em uma temperatura muito baixa, muda para valores aumentados, permitindo que as cadeias poliméricas que estão na fase amorfa se tornem móveis, alterando a conformação da estrutura (ANDRADE *et al.*, 2017).

Shen e Kandem (2015) em sua investigação com filmes de quitosana e óleos essenciais, associam os picos exotérmicos, obtidos em torno de 270°C, com a decomposição de seus filmes.

Os gráficos de Termogravimetria (TG) são apresentados na Figura 21. A Figura (a), retrata os filmes de fécula de mandioca e diferentes concentrações de bentonita. Percebe-se que houve pouca variação de massa das amostras conforme a temperatura era aumentada, provavelmente indicando a perda de umidade, água ou sorção de gases. A membrana T0 apresentou menor perda de massa e B3 a maior perda.

A Figura 21 (b) retrata o comportamento das membranas adicionadas com OEH. Pelo gráfico denota-se que HB3 apresentou mudança de massa considerável, obtendo 10% a mais ao relacioná-lo com os outros filmes.

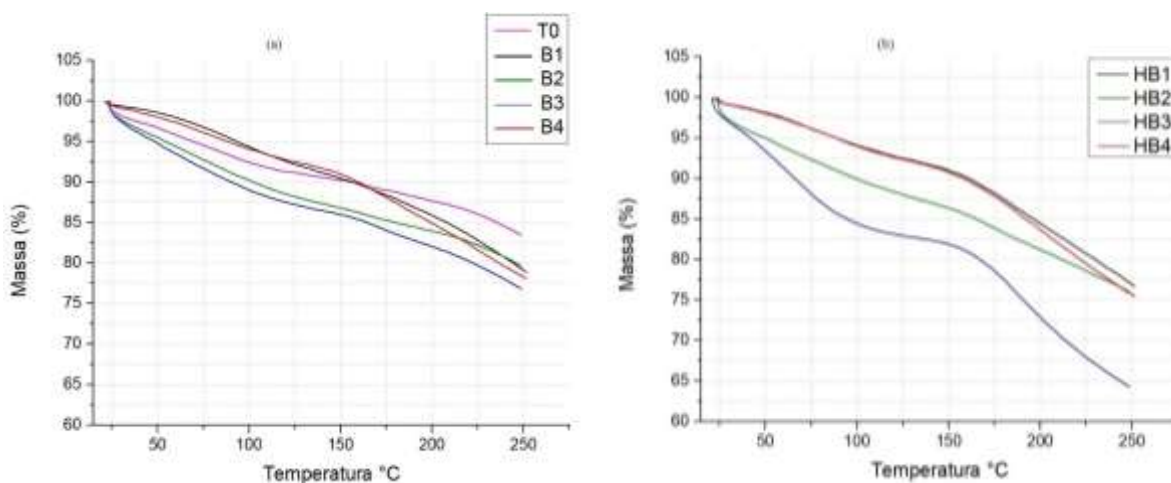


Figura 21. Dados de TG (a) de filmes de fécula de mandioca e diferentes concentrações de bentonita (b) com adição de OEH. Fonte: (a autora).

Silva *et al.* (2019), Ahmad *et al.* (2012), e Pelissari *et al.* (2009) afirmam que a adição de OEs aumentam a estabilidade térmica das películas, pois a quantidade de compostos fenólicos dos OEs, produzem filmes mais resistentes ao calor. Todavia, os gráficos obtidos contradizem essa informação, quando comparados entre Figura 21 (a) e (b).

4.3.11 Atividade antimicrobiana

Os resultados experimentais demonstram que o OEH inibiu a proliferação da bactéria, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 nas formulações HB1 e HB4, retratados na Figura 22.

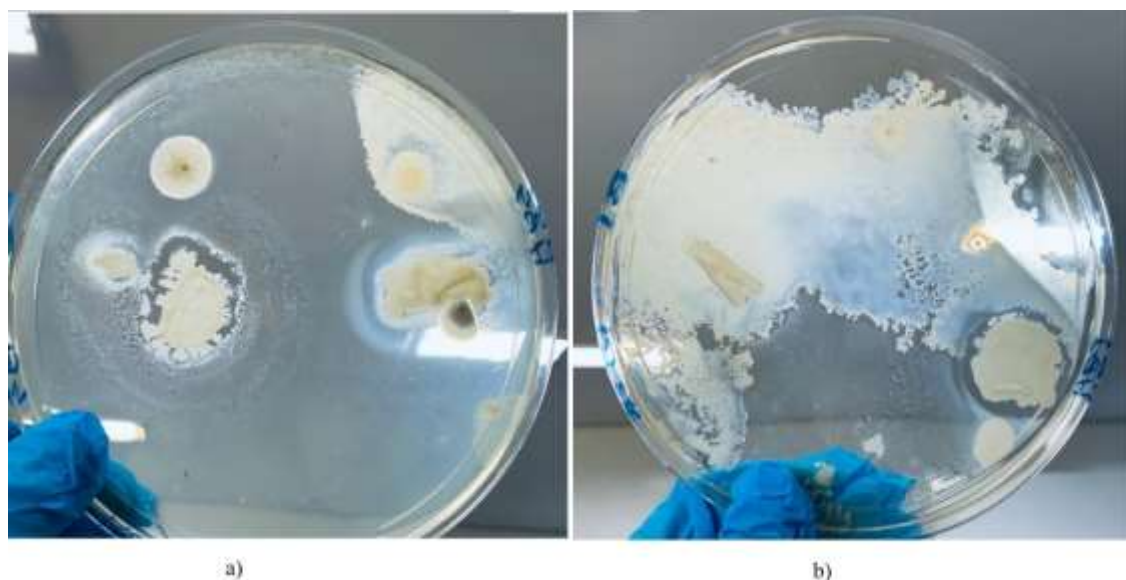


Figura 22. Inibição contra bactéria *Enterobacter aerogenes* (-) nos filmes HB1 e HB4. Fonte: (autora)

Pela figura 22, percebe-se que o OEH apresentou a característica já retratada teoricamente sobre suas propriedades bacteriostática. Sua aplicação indica que o OEH se interligou com a bentonita, causando uma possível proteção na superfície do filme formando halos de inibição, visto que, não houve formação de halo no filme TH1, como demonstrado no trabalho anterior.

Os diâmetros foram medidos, após 36h, 60h e 84h de incubação, verificando um possível aumento de halo ou proliferação da bactéria. A Tabela 11, apresenta os diâmetros do halo de inibição, dos filmes.

Tabela 11. Dados de diâmetro de inibição dos filmes com fécula de mandioca, bentonita e OEH

Teste	Diâmetros de inibição (mm): <i>Enterobacter aerogenes</i> (-)
T0	--
HB1	9,1±0,5
HB2	--
HB3	--
HB4	6,4±0,5

Diâmetros maiores ou iguais a 9mm são considerados de inibição (OLIVEIRA *et al.*, 2013; ZHAO e SHAH, 2015). HB1 obteve halo considerável. Todavia, os filmes HB2 e HB3 não apresentaram dados relevantes. Indicando uma possível falha na interligação entre os componentes dos filmes com o OEH.

Baj *et al.* (2018) afirma que o OEH é ativos contra as bactérias Gram-positivas: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *S. pneumoniae* e *S. mutans*. Além disso, revela atividade excepcional contra *Bacillus subtilis*. E atividade do contra bactérias Gram-negativas. Contudo, neste trabalho, as membranas não apresentaram halo contra gram negativa, *Bacillus cereus*.

4.3.12 Biodegradação

A biodegradação em solo é um indicativo da vulnerabilidade dos diferentes polímeros ao ataque microbiológico, a atividade metabólica existente no solo contribui para a degradação dos materiais sintéticos. Segundo Rosa e Pantano Filho (2003) não existe um método padronizado que se avalie a biodegradação de filmes, isto porque se trata de dois universos complexos, os polímeros e os micro-organismos

A degradação em solo dos filmes foi analisada durante 42 dias, diante a perda de massa das amostras e retratadas na Figura 23.

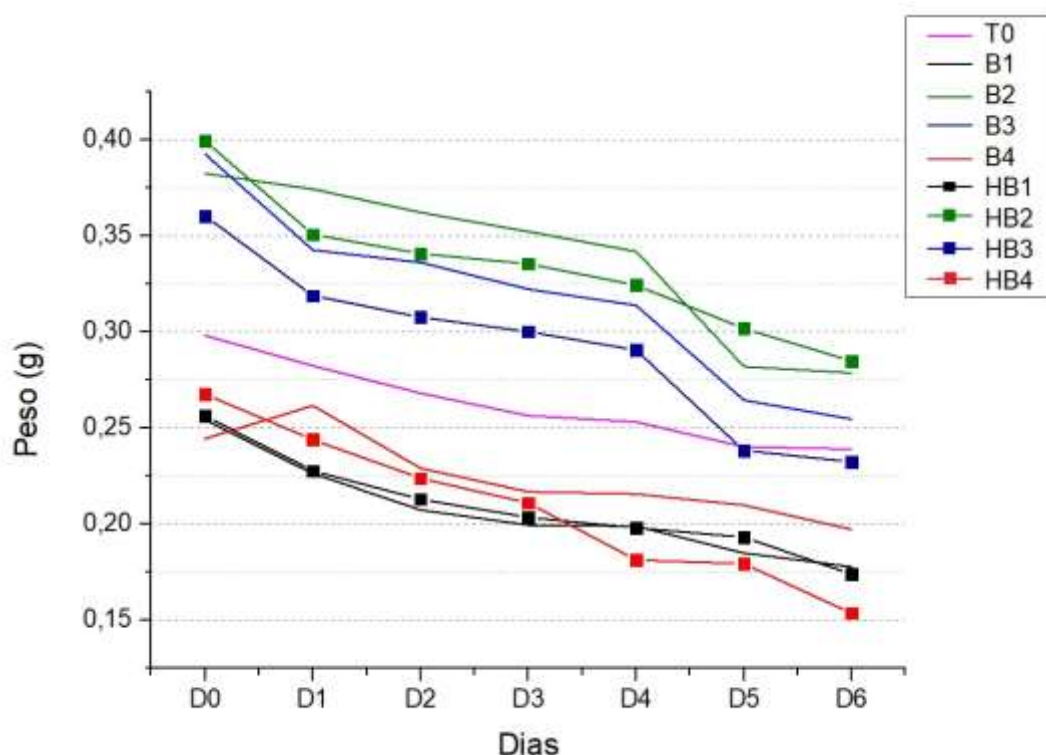


Figura 23. Gráfico de biodegradação dos filmes, mediante a perda de massa das amostras por 42 dias (D0=1º dia, D1=7º dia, D2=14º dia, D3=21º dia, D4=28º dia, D5=35º dia e D6=42º dia).

Os filmes apresentaram mudanças de suas características físicas conforme o correr da análise. Devido ao contato direto com o solo, os filmes apresentaram coloração em tons de marrom. As amostras com bentonita demonstravam certa rigidez após período de 10 dias. Os filmes com adição de OEH no 35º dia, tornaram-se quebradiços, perdendo as características de elasticidade, sendo retratados na Figura 24.

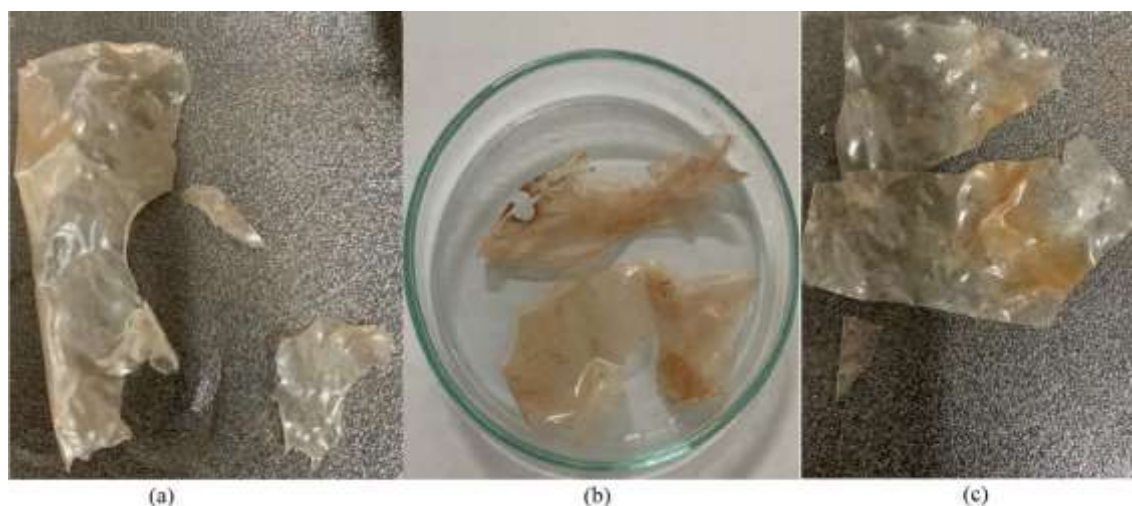


Figura 24. Análise de biodegradação após 35 dias em solo argiloso dos filmes elaborados. (a) HB1, (b) HB2, (c) HB3 e HB4.

À proporção que os filmes eram limpos com um auxílio de pincel de cerdas macias, para remoção de solo que estivessem em contato, as amostras com OEH tornaram-se quebradiças. A membrana HB4, ao ser retirado do solo antes do processo de limpeza, já apresentou fragilidade e consequentemente ruptura. Os filmes que apresentaram significativa perda de massa através da biodegradação foram HB3, HB4 e B3.

Behera, Mohanta e Thirugnanan (2022) observaram que a natureza biodegradável da bentonita aumenta a taxa de degradação de filmes à base de fécula de mandioca, pois, devido aos silicatos em camadas intercaladas de bentonita, que foram dispersos na fécula de mandioca e glicerol, ele desenvolve um bom contato entre a rede e a superfície da bentonita (GUO *et al.*, 2018).

Camissiri (2017), constatou em seus estudos que a biodegradabilidade dos filmes está diretamente relacionada a solubilidade dos mesmos, pois quanto mais solúvel for o filme maior será a sua degradação em contato com a água e com os microrganismos contidos no solo, que inclui bactérias, fungos e protozoários.

CONCLUSÕES

A técnica utilizada para desenvolvimento das películas foi eficaz, produzindo filmes satisfatórios. A adição de diferentes concentrações de nano argila bentonita, influenciaram positivamente no desenvolvimento de filmes oriundos de fécula de mandioca. Ressalta-se que a aplicação de bentonita em membranas de fécula de mandioca, apresentam quantidade limite de 2,5% para não formar aglomerado de argila e acarretarem a redução das propriedades mecânicas.

A aplicação de nano argila, influenciou positivamente na perda de massa por degradação térmica, visto que, houve diminuição de apenas 25% de massa, em uma temperatura de 250°C. Todavia, o melhor resultado encontrado foi do teste T0.

O aditivo natural utilizado, demonstrou-se de grande valia, proporcionando membranas com características de coloração e opacidade agradáveis, assim como a inibição contra a bactéria *Enterobacter aerogenes*. A característica hidrofóbica do OEH proporcionou resultados significativos de PVA, ressaltando os filmes HB1 ($4,45 \pm 0,82$) e HB4 ($5,04 \pm 0,26$). E melhor dados de biodegradação, comprovando a característica valiosa desses filmes.

Pelas análises de MEV, Calorimetria e TG, não foi possível caracterizar as estruturas das películas, ou seja, não foi possível confirmar se os filmes apresentam estrutura cristalina, semicristalina ou amorfa.

Os filmes apresentaram proteção contra raios UV e considerável transparência, sendo propriedades vantajosas na área da embalagem de alimentos.

Destacam-se os filmes B1, B4, HB1 e HB4, cujo quais obtiveram resultados mais significativos encontrados neste trabalho, possibilitando estudos futuros dessas composições em películas como embalagem de embutidos.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, M. BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; AGUSTINI, T.W. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. **Food Hydrocolloids**. 28 (2012), 189-199 DOI:10.1016/j.foodhyd.2011.12.003
- ARORA, G.W. PÁDUA, Review: nanocomposites in food packaging, **Journal Food Science**. 75 (2010) 43–49. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01456.x>
- ANDRADE, C. S., FONSECA, G. G., INNOCENTINI-MEI, L. H., E FAKHOURI, F. M. Development and characterization of multilayer films based on polyhydroxyalkanoates and

hydrocolloids. **Journal of Applied Polymer Science**, 134 (2017). (1-8), 44458. DOI:10.1002/app.44458

BRASIL, G.V. DA S.; RAPOSO, A.K. DA S.; RIBEIRO, G.A.C; SANTOS, D.M.; FIRMO, W. DA C. A.; LOPES, I.A.; DA LUZ, D.A.; PAIXÃO, L.C.; SANTANA, A.A.; COSTA, M.C.P. Incorporação de pólen de abelha Tubi (*Scaptotrigona sp*) em filmes biodegradáveis de alginato, pectina e fécula de mandioca. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, e11711931603, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i9.31603>

BEHERA, L.; MOHANTA, M.; THIRUGNANAM, A. Intensification of yam-starch based biodegradable bioplastic film with bentonite for food packaging application. **Environmental Technology e Innovation** 25 (2022) 102180. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.102180>

CAETANO, K. DOS S., HESSEL, C.T., TONDO, E. C., FLÔRES, S. H. CLADERA-OLIVERA, F. Application of active cassava starch films incorporated with inífer essential oil and pumpkin residue extract on ground beef. *Journal of Muscle Foods*, 37, (2017). E12355. <https://doi.org/10.1111/jfs.12355>.

CARISSIMI, M. Desenvolvimento e aplicação de filmes biodegradáveis a partir de fécula de mandioca e microalga verde. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Porto Alegre, RS. 2017.

CHEVALIER, R.C.; PIZATO, S.; PINEDO, R.A.; CORTEZ-VEGA, W.R. Obtenção e caracterização de filmes com adição de óleo essencial de cravo-da-india. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos** – Volume 7. Pg 70-73. Organização Editora Poisson-Belo Horizonte – MG, 2020. DOI: 10.36229/978-65-86127-19-5

CORTEZ-VEGA, W.R.; BAGATINI, D.C.; SOUZA, J.T.A. DE; PRENTICE, C. Biofilmes nanocompósitos obtidos de isolado proteico de corvina (*Micropogonias furnieri*) e Montmorilonita: avaliação das propriedades físicas, mecânicas e de barreira. **Brazilian Journal of Food Technology**. 16, 2013. <https://doi.org/10.1590/S1981-67232013005000011>

CYRAS VP, MANFREDI LB, TON-THAT MT, VÁZQUEZ A. Physical and mechanical properties of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**. 2008;73(1):55-63. DOI:10.1016/j.carbpol.2007.11.014

DA SILVA, A.O.; CORTEZ-VEJA, W.R.; PRENTICE, C.; FONSECA, G.G. Development and characterization of biopolymer films based on bocaiuva (*Acromonia aculeata*) flour. **International Journal of Biological Macromolecules** 155 (2020) 1157–1168. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.083>

- GARRIDO, M.A.; LEITE, R.H. DE L.; AROUCHA, E.M.M.; DOS SANTOS, F.K.G. Filmes biodegradáveis de gelatina incorporados com argila bentonita ionicamente modificada. **Revista Verde**. V. 16, n.2, abr.-jun, p.182-188, 2021. DOI:10.18378/rvads.v16i2.7593
- GIANNAKAS, A.; GRIGORIADI, K.; LEONTIOU, A.; BARKOULA, N. M.; LADAVOS, A. Preparation, characterization, mechanical and barrier properties investigation of chitosan-clay nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 108, p. 103-111, 2014. Doi:10.1016/j.carbpol.2014.03.019.
- GUO, N., ZHU, G., CHEN, D., WANG, D., ZHANG, F., ZHANG, Z., Preparation and characterization of gellan gum–guar gum blend films incorporated with nisin. *J. Food Sci.* 85, 2020. 1799–1804. <http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.15143>
- GUO, F., ARYANA, S., HAN, Y., JIAO, Y., A review of the synthesis and applications of polymer–nanoclay composites. **Applied. Science**, 8 2018. <http://dx.doi.org/10.3390/app8091696>.
- HOLSBACH, F.M.S, PIZATO,S., FONTELES, N.T., SOUZA, P.D. DE, PINEDO, R.A.e CORTEZ-VEGA, W.R. Avaliação da vida útil de mamão formosa (Carica papaya L.) minimamente processado utilizando coberturas de fécula de mandioca e óleo essencial de cravo. **Journal of bioenergy and food science**, 6(4) 78-96. (2019). Doi: 10.18067/jbfs.v6i4.269
- HUNTERLAB. The color management company. Universal software, version 3.2. Reston, 1997.
- LEÓN, K.; MERY, D.; PEDRESCHI, F.; LEÓN, J. Color measurement in L*a*b* units from RGB digital images. **Food Research International**, v. 39, p.1084–1091, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.03.006>
- LIU, J.; WANG, Y.; HOU, X.; CUI, Q.; WU, H.; SHEN, G.; LUO, Q.; LI, S.; LIU, X. LI, M.; ZHOU, M.; ZHU, X.; CHEN, A.; ZHANG, Z. Starch-based film functionalized with Zanthoxylum armatum essential oil improved the shelf life of beef sauce, **LWT**, Volume 183, 2023, 114930, ISSN 0023-6438, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114930>.
- LIU, H., XIE, B., e QIN, Y. Effect of bentonite on the pelleting properties of iron concentrate. **Journal of Chemistry**, (2017). 1–6. <https://doi.org/10.1155/2017/7639326>
- LUCKHAM, P. F., E ROSSI, S. The colloidal and rheological properties of bentonite suspensions. **Advances in Colloid and Interface Science**, 82, (1999). 43–92. [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(99\)00005-6](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(99)00005-6)

- MAINA, E., WANYIKA, H., E GACANJA, A. Natural pyrethrum extracts photostabilized with organo clays natural pyrethrum extracts photo-stabilized with Organo clays. **Journal of Scientific Research and Reports**, 9, (2016). 1–22. <https://doi.org/10.9734/JSRR/2016/22433>
- MEDINA, A. L. HASS, L.I.R; CHAVES, F.C.; SALVADOR, M.; ZAMBLIAZI, R.C.; DA SILVA, W.P.; NORA, L.; ROMBALDI, C.V. Araçá (*Psidium cattleianum*Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**,v. 128, n. 4, p. 916-922, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.119>
- MENEZES, M. L. L. R., PIRES, N. R., DA CUNHA, P. L. R., ROSA, M. F., DE SOUZA, B. W. S., FEITOSA, J. P. A.; SOUZA FILHO, M.D.S.S. Effect of tannic acid as crosslinking agent on fish skin gelatin-silver nanocomposite film. **Food Packaging and Shelf Life**, 19, (2019). 7–15. DOI: 10.1016/J.FPSL.2018.11.005
- MOALA, S.; AMMAR, I.; FAUCONNIER, M.L.; DANTHINE, S.; BLECKER, C. Development and characterization of chitosan films carrying *Artemisia campestris* antioxidants for potential use as active food packaging materials. **International Journal of Biological Macromolecules** 183 (2021) 254–266. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.113>.
- MENEZES, F.L.G.; LEITE, R.H.L.; DOS SANTOS, F.K.G.; ARIA, A.I.; AROUCHA, E.M.M. TiO₂-enhanced chitosan/cassava starch biofilms for sustainable food packaging, Colloids and Surfaces A: **Physicochemical and Engineering Aspects**, Volume 630, 2021, 127661, ISSN 0927-7757, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.127661>
- MONTEIRO, M.K.S.; DE OLIVEIRA, V.R.L.; DOS SANTOS, F.K.G.; LEITE, R.H.DE L.; AROUCHA, E.M.M; DA SILVA, R.R.; SILVA, K.N.O. Analysis of Water Barrier, Mechanical and Thermal Properties of Nanocoposites Based on Cassava Starch and Natural Clay or Modified by Anionic Exchange. **Materials Research**. 2017; 20(Suppl. 2): 69-76. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1980-5373-MR-2016-1087>
- MONTEIRO, M.K.S.; DE OLIVEIRA, V.R.L.; DOS SANTOS, F.K.G.; LEITE, R.H.DE L.; AROUCHA, E.M.M; DA SILVA, R.R.; SILVA, K.N.O. Incorporation of bentonite clay in cassava starch films for the reduction of water vapor permeability. **Food Research International** 105 (2018) 637–644. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.030>
- OLIVEIRA, A.A.; REIS, R.C.; VIANA, E.S.; SANTOS, B.J.R.; JESUS, J.L. Determinação dos teores de amilose e amilopectina da fécula de mandioca de bananas e plátanos. In: 10^a JORNADA CIENTÍFICA EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA, 10. Cruz das Almas. 2016. Anais... Cruz das Almas: **EMBRAPA**, 2016.

- OLIVERIA, C. I. R., ROCHA, M. C. G., SILVA, A. L. N., e BERTOLINO, L. C. Characterisation of bentonite clays from Cubati, Paraiba (Northeast of Brazil). **Ceramica**, (2016). 62, 272–277.
- OLIVEIRA D.A, SALVADOR A.A, SMÂNIA A JR, SMÂNIA E.F, MARASCHIN M, FERREIRA S.R. Antimicrobial activity and composition profile of grape (*Vitis inífera*) pomace extracts obtained by supercritical fluids. **J Biotechnol**. 2013 Apr 10;164(3):423-32. Doi: 10.1016/j.jbiotec.2012.09.014. Epub 2012 Oct 1. PMID: 23036924.
- PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. Introdução à Espectroscopia. Tradução da 4ª edição norte-americana. Cengage Learning, 2010.
- PEIGHAMBARDOUST, S. J., PEIGHAMBARDOUST, S. H., POURNASIR, N., e MOHAMMADZADEH PAKDEL, P. Properties of active starch-based films incorporating a combination of Ag, ZnO and CuO nanoparticles for potential use in food packaging applications. **Food Packaging and Shelf Life**, 22, (2019). Article 100420. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100420>
- PELISSARI, F. M., GROSSMANN, M. V. E., YAMASHITA, F., e PINEDA, E. A. G. Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch-chitosan films incorporated with oregano essential oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2009 Aug 26;57(16):7499-504. Doi: 10.1021/jf9002363. PMID: 19627142.
- PEREIRA, A. V.; POSSA, G. D.E O. K.; ANDRADE, R. A; DE FUNAKI, G. Y. U., e CHOPEK, S. Obtenção e caracterização de filmes de quitosana contendo extrato de própolis verde. **Concilium**, 22(3), (2022). 697–708. <https://doi.org/10.53660/CLM-213-226>
- PÉREZ-CÓRDOBA, L.J.; NORTON, I.T.; BATCHELOR, H.K.; GKATZIONIS, K.; SPYROPOULOS, F.; SOBRAL, P.J.A. Physico-chemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-chitosan based films loaded with nanoemulsions encapsulating active compounds. **Food Hydrocolloids**, v. 79, p. 544-559, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.12.012>
- PREUCIL, F. Color Hue and Ink Transfer-Their Relation to Perfect Reproduction, TAGA Proceedings, p 102-110 (1953).
- ROSA, D. dos S.; PANTANO FILHO, R. Biodegradação: um ensaio com polímeros. Bragança Paulista: Universitária São Francisco; Itatiba: Moara, **EMBRAPA INSTRUMENTAÇÃO**, 2003. ISBN85-86965-67-7
- SAID-AL AHL H.A., ABBAS Z.K., SABRA A.S., TKACHENKO K.G., Essential oil composition of *Hyssopus officinalis* L. cultivated in Egypt. **Int. J. Plant Sci. Ecol.**, 2015, 1(2), 49-53.

- SCUDELER, C.G.S.; COSTA, T.L.; CORTEZ-VEJA, W.R.; PRENTICE, C.; FONSECA, G.G. Development and characterization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein isolate-based biopolymer films incorporated with essential oils and nanoclay. **Food Packaging and Shelf Life** 25 (2020) 100542. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100542>
- Shanmathy, M.; Mohanta, M.; Thirugnanam, A. Development of biodegradable bioplastic films from Taro starch reinforced with bentonite. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications* 2 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2021.100173>.
- SELIGRA, P. G.; JARAMILLO, C. M.; FAMÁ, L.; GOYANES, S.; Biodegradable and non-retrogradable eco-films based on starch–glycerol with citric acid as crosslinking agent. *Carbohydrate Polymers*. 2016, 138, 66. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.041>
- SHARMA, P., GAUR, V. K., GUPTA, S., VARJANI, S., PANDEY, A., GNANSOUNOU, E., WONG, J. W. C. Trends in mitigation of industrial waste: Global health hazards, environmental implications and waste derived economy for environmental sustainability. **Science of The Total Environment**, 811, (2022). Article 152357. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152357>
- SHEN, Z. E KANDEM, D.P. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential Oils. **International Journal of Biological Macromolecules** 74 (2015) 289–296. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.11.046>
- ST-PIERRE, N.; FAVIS, B.D.; RAMSAY, B.A.; RAMSAY, J.A.; VERHOOGT, H. Processing and characterization of thermoplastic starch/polyethylene blends. **Polymer**. Volume 38, Issue 3, February (1997), Pages 647-655. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(97\)81176-7](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(97)81176-7)
- SUEIRO, A.C.; FARIA-TISCHER, P.C.S.; LONNI, A.S.G.; MALI, S. Filmes Biodegradáveis De Fécula de mandioca, Pululana e Celulose Bacteriana. *Quimica Nova*, Vol. 39, No. 9, 1059-1064, 2016. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20160118>
- TANADA-PALMU, P. S.; HÉLEN, H.; HYVÖNEN, L. Preparation, properties and applications of wheat gluten edible films. **Journal of Agricultural Food Science**, 9, 23-35, 2000. DOI:10.23986/afsci.5650
- WU HY, LIU TX, HSU CH, CHO YS, XU ZJ, LIAO SC, ZENG BH, JIANG YL, LIEN SY. Thin-Film Coated Plastic Wrap for Food Packaging. **Materials (Basel)**. 2017 Jul 18;10(7):821. Doi: 10.3390/ma10070821. PMID: 28773178; PMCID: PMC5551864.
- YONG, H.; LIU, J.; QIN, Y.; BAI, R.; ZHANG, X.; LIU, J. Antioxidant and pH-sensitive films developed by incorporating purple and black rice extracts into chitosan matrix,

International Journal of Biological Macromolecules. 137 (2019) 307–316.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.009>

ZAMRUD, Z., NG, W. M., e SALLEH, H. M. Effect of bentonite nanoclay filler on the properties of bioplastic based on sago starch. IOP Conference Series: **Earth Environment Science**, 765, (2021). Article 012009. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/765/1/012009>

ZHAO, D.; SHAH, N. P. Tea and soybean extracts in combination with milk fermentation inhibit growth and enterocyte adherence of selected foodborne pathogens. **Food Chemistry**, v. 180, p. 306 316, 2015. Doi: 10.1016/j.foodchem.2015.02.016.

ZHU, L.; LUO, H.; SHI, Z.W.; LIN, C.Q.; CHEN, J. Preparation, characterization, and antibacterial effect of bio-based modified starch films. **Food Chemistry: X** 17 (2023) 100602. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100602>.

5. CAPÍTULO 5

APLICABILIDADE DE BIOEMBALAGENS DE FÉCULA DE MANDIOCA, ÓLEO ESSENCIAL DE HISSOPO E NANOARGILA EM CARNE BOVINA *IN NATURA*.

RESUMO

A embalagem tem papel importante no setor alimentar, desempenhando funções como proteção de intempéries, conservação e valorização dos alimentos. Tendo em vista a diminuição de embalagens que utilizam polímeros de origens fósseis e buscando a sustentabilidade para o setor, esta pesquisa teve como objetivo aplicar membranas biopoliméricas de fontes renováveis, sendo elas a fécula de mandioca, óleo essencial de hissopo e nano argila bentonita, como embalagem em carne bovina *in natura*, visando analisar o seu desempenho durante o tempo de prateleira refrigerado, estabelecido pelo órgão sanitário responsável. Os tratamentos foram nomeados como T0 (fécula + glicerol), H1(fécula + glicerol + 1% de óleo essencial de hissopo), B1 (fécula + glicerol + 0,1g de bentonita), HB1 (fécula + glicerol + 0,1g de bentonita + 1% de óleo essencial de hissopo), B4 (fécula + glicerol + 0,4g de bentonita) e HB4 (fécula + glicerol + 0,4g de bentonita + 1% de óleo essencial de hissopo). As análises de coloração, atividade de água (A_w), perda de massa (%) e textura (kgf) foram desempenhadas para identificar a membrana que obteve resultados significativos. Os resultados encontrados neste trabalho demonstram que a coloração das amostras de carne com e sem os filmes variaram entre si, mas ainda assim foram consideradas atraentes aos olhos do consumidor, principalmente as películas B4, HB4 e HB1. As membranas produzidas causaram perda de quantidade de água (A_w) da carne *in natura*, ocasionando sua perda de massa (%), destacando os tratamentos H1 (67,63%) e HB4 (68,07%). Tais alterações influenciaram na textura da carne, deixando-as secas e rígidas, principalmente aos filmes H1 e HB1. Todas as bioembalagens produzidas influenciaram positivamente na preservação da ação oxidante da carne durante o período observado.

Palavras-chave: Biomembranas, produtos cárneos, sustentabilidade, tecnologia ambiental.

INTRODUÇÃO

Embalagens biopoliméricas geralmente são provenientes de recursos naturais e surgem como uma resposta à crescente atenção à poluição ambiental e à pegada ambiental (OUAHIOUNE *et al.*, 2022). Entre esses recursos naturais, destacam-se as proteínas e polissacarídeos (SILVA, 2020), ressaltando a fécula de mandioca como um polissacarídeo de

baixo custo-benefício e encontrado em grande quantidade nos vegetais (JACOBS *et al.*, 2020).

Filmes de polissacarídeos, como a fécula de mandioca, apresentam características hidrofílicas devido à natureza amórfica de sua rede estrutural, o que resulta em estudos que visam a adição de recursos que auxiliem nas características de barreira e mecânicas, entre esses recursos, destaca-se a nano argila bentonita, que possui como qualidades a alta capacidade de retenção de água, capacidade de expansão e higroscopicidade (LIU, XIE e QIN, 2017).

Para as diversas aplicações de biomembranas, sua aplicabilidade em produtos cárneos ajuda a manter a qualidade de seu armazenamento, devido as suas propriedades de barreira, evitando a desidratação e reduzindo a oxidação de lipídios da carne (BONILLA *et al.*, 2012; BERMÚDEZ-ORIA *et al.*, 2018). Pois, Nielsen *et al.* (1997) e Arokiyaraj *et al.* (2024) afirmam que a oxidação de lipídeos causa deterioração e sabor indesejável da carne *in natura*.

Estudos, como os de Georgantelis *et al.* (2007) indicam que produtos fitoterápicos, extratos naturais e óleos essenciais (OEs) que apresentam ação antioxidante, podem retardar a ação lipídica e prolongar a vida útil de produtos cárneos. Além das propriedades antioxidantes, o óleo essencial de Hissopo (OEH), conforme SAID-AL *et al.* (2015), apresenta características antifúngicas e antimicrobianas, atributos significativos para estender o período de prateleira de carnes bovinas *in natura*.

Nesta pesquisa, o OEH foi incorporado em membranas oriundas de fécula de mandioca e bentonita, com o objetivo de preservação da qualidade da carne bovina embaladas em películas poliméricas durante sete dias de armazenamento refrigerado.

MATERIAIS E MÉTODOS

A fécula de mandioca, glicerina, água destilada e bentonita, utilizados no experimento, foram cedidos pelo laboratório de Bioengenharia da UFGD. O OEH (marca: Now Essential Oils, Illinois, EUA) foi obtido comercialmente. A cromatografia gasosa do OEH encontra-se no Anexo.

5.1.1. Produção e acondicionamento dos filmes

A produção do filme teve como matéria prima a fécula de mandioca (denominado polvilho doce, granulometria de fração fina ($>150\mu\text{m}$), marca: DONANA, DOURADOS-MS), diferentes concentrações da nano argila bentonita (granulometria de fração fina ($>150\mu\text{m}$), disponibilizada pelo laboratório de Engenharia de Alimentos – UFGD) e

adição de OEH em concentração 1% (g/ml). Com adaptação do método de Holsbach *et al.* (2019) a solução de (3,0g) de fécula de mandioca foi adicionada parcialmente em 100 ml de água destilada pré-aquecida por fogareiro elétrico (modelo: XF-FOG-0002, X-FIRE, China) e levadas ao agitador mecânico eletrônico (modelo Q235-1, Quimis, Diadema - SP), a 350 rpm, até completar as dissoluções. Ao chegar à temperatura de 60°C, a fécula de mandioca apresentou processo de intumescimento e então foi adicionada a glicerina em proporção 30% (g/ml), sob agitação por 30 minutos, após o resfriamento da solução a uma temperatura de 35°C, a adição do OEH.

Para a produção dos filmes T0, H1, B1, HB1, B4 e HB4, adaptou-se a metodologia utilizada por Chevalier *et al.* (2020). Utilizou-se o método “*casting*”, em que, 25mL das soluções foram adicionadas em placas de acrílico com 9 cm de diâmetro e foram secados à temperatura de 40°C na estufa de secagem com circulação de ar (Marconi, modelo MA035, São Paulo, Brasil) até total evaporação da água. Os diferentes tratamentos foram especificados e denominados na Tabela 12.

Tabela 12. Concentrações de OEH e Bentonita

Filmes	Bentonita (g)	OEH (%OEH/3g de fécula de mandioca)
T0	--	--
H1	--	1
B1	0,1	--
B4	0,4	--
HB1	0,1	1
HB4	0,4	1

Após esse procedimento, os filmes foram armazenados por 24h, em dessecadores mantidos a 20°C e umidade relativa de 75%. A umidade relativa foi controlada usando solução saturada de cloreto de sódio, posteriormente as amostras foram acondicionadas em caixa térmica para proteção de intempéries até o início das análises.

O processo de embalagem das amostras de carne *in natura* nos diferentes tratamentos foi realizado no Laboratório de Análise de Produtos Agropecuários, da Faculdade de Ciências Agrárias – UFGD. As amostras de carne bovina de corte tipo músculo, foram obtidas em mercado local da cidade de Dourados, MS. E pesadas por meio de balança analítica para fim de padronização e então seladas e embaladas pelas diferentes películas, através do equipamento embaladora a Vácuo (marca: PANVAC, modelo: Seladora PANORAN), em

seguida, os filmes foram depositados em refrigerador CONSUL (modelo: CRA36CBANA) a temperatura de $\pm 4^{\circ}\text{C}$, durante o período de sete (07) dias, seguindo legislação do Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Produtos de Origem Animal, (RTIQ, 2020) de cárneos e seus derivados. Todos os tratamentos foram realizados em duplicada.

5.1.2. Cor

A cor instrumental foi determinada através do colorímetro CR-400 (Konica Minolta, Chroma Meter, Japão). As medidas foram realizadas em três partes do filme, sendo: uma no centro e as outras duas nas laterais (distância da borda). Os filmes foram colocados em um quadro branco definido como padrão (Gennadios et al., 1996). As escalas, CIE-Lab, foram utilizadas para medir parâmetros L^* (Luminosidade variando de 0 (preto) a 100 (branco)); a^* e b^* (variando de vermelho a amarelo) (HUNTERLAB, 1978).

5.1.3. Perda de massa (%)

A perda de massa foi estabelecida conforme metodologia de Basaglia *et al* (2021), calculando-se a diferença entre o peso inicial da carne *in natura* e o peso obtido ao final do tempo de prateleira estabelecido pelo RTIQ (2020), descrito na equação (5.1)

$$\text{Perda de massa (\%)} = \frac{(\text{massa inicial} - \text{massa final})}{(\text{massa inicial})} \times 100 \quad (5.1)$$

5.1.4. Atividade de água (A_w)

A atividade de água (A_w) foi avaliada em um determinador de atividade de água, marca AcquaLab (série 3BV3). O procedimento foi conduzido de acordo como o manual do fabricante, sendo que as amostras foram acondicionadas no recipiente apropriado para a leitura (SILVA *et al.*, 2009; DA COSTA *et al.*, 2023).

5.1.5. Textura (kgf)

A determinação da textura das amostras de carne bovina foi obtida por meio de corte e cisalhamento com o auxílio do texturômetro (Stable Micro Systems, TA-XT2i, Surrey, Inglaterra), equipado com uma sonda de fundo plano cilíndrico de diâmetro de 5 mm. As condições de teste foram: velocidade de pré-teste de 2 mm/s, velocidade de teste de 2 mm/s, pós-teste 10 mm/s e distância de penetração de 5 mm.

5.1.6. Análise estatística

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram apresentados pela média. Os resultados obtidos foram avaliados estatisticamente através de análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey a 5% de significância, utilizando o programa Minitab19®.

RESULTADOS

5.1.7. Acondicionamento dos filmes

Como a carne constitui um excelente meio de cultura, a sua conservação é mais difícil que a maioria dos alimentos (FEITOSA, 1999). A Figura 25(a) apresenta as membranas inicialmente embaladas na empacotadora a vácuo, em que se percebe que os filmes H1 e B1 não obtiveram vácuo e o uma pequena ruptura no filme HB4. A Figura 25(b) retrata as membranas após o processo de refrigeração de sete dias, sendo possível analisar a divergência das amostras.

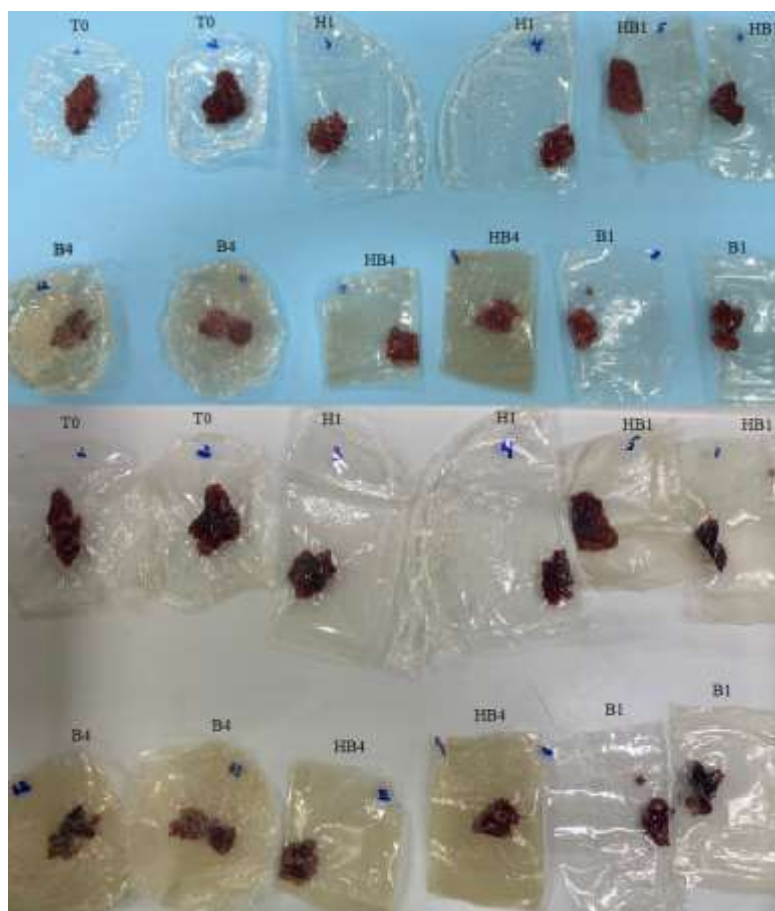


Figura 25.(a) Tratamentos antes do processo de refrigeração (fundo azul). (b) Tratamentos após processo de refrigeração (fundo branco).

Nota-se que as amostras, visualmente, demonstraram alterações de cor, ressaltando os tratamentos, T0, H1, HB1 e B1. As alterações de cor em produtos cárneos em temperaturas baixas se dão devido à produção de compostos voláteis favorecendo a oxidação dos ácidos insaturados conhecida, comumente, como rancidez oxidativa (FORREST *et al.*, 1975; GILL e NEWTON, 1980).

A refrigeração (-1,4°C a 2,2°C) é o método mais utilizado para a conservação da carne e torna-se necessária, por um lado, para minimizar alterações, principalmente a putrefação, e, por outro, para eliminar os riscos produzidos pelo desenvolvimento de microrganismos patogênicos, responsáveis por toxiinfecções, além de controlar a velocidade com que aparecem as características organolépticas *post mortem* da carne (ROSSET, 1994). O acondicionamento refrigerado das embalagens apresentou resultados significativos, pois as amostras de carne bovina não indicaram presença de bolor e não houve alteração de aroma, mesmo com uma refrigeração a temperatura de aproximadamente 4°C. E ao se comparar HB1 e HB4 com T0, B1 e B4, constatou-se que o odor do OEH não influenciou no aroma da carne.

A utilização do vácuo contribui para diminuir a multiplicação dos microrganismos aeróbios, sobretudo, os mofos, reduz a velocidade de multiplicação dos *Staphylococcus* e estimula a multiplicação das bactérias produtoras de ácido lático (FRAZIER, 1993; FEITOSA, 1999). Durante o processo de refrigeração de sete dias, as embalagens não perderam vácuo, colaborando para a não presença de bolores e alterações de aroma, citados acima.

5.1.8. Cor

Os parâmetros de coloração foram realizados em quatro dias distintos, para verificar o comportamento das embalagens durante o tempo de prateleira, apresentados na Tabela 13.

Tabela 13. Parâmetros de cores CIELAB dos filmes durante sete dias

P*	d*	Tratamentos					
		T0	H1	HB1	B1	HB4	B4
L*	1	38,63±5,38 ^a	36,43±0,24 ^a	39,08±3,08 ^a	37,75±3,56 ^a	41,47±1,92 ^a	45,42±4,00 ^a
	2	30,01±3,32 ^a	31,27±0,72 ^a	29,95±7,13 ^a	37,52±6,97 ^a	37,41±0,68 ^a	40,24±4,42 ^a
	4	30,00±1,37 ^c	39,22±0,31 ^a	30,85±1,38 ^c	33,92±1,18 ^{bc}	40,45±0,34 ^a	37,90±2,20 ^{ab}
	7	32,16±2,14 ^a	37,30±2,50 ^a	29,16±2,27 ^a	41,30±8,61 ^a	41,97±3,91 ^a	45,60±0,27 ^a
	1	13,26±0,94 ^a	15,42±0,72 ^a	10,16±5,76 ^a	14,50±1,28 ^a	14,90±0,64 ^a	10,24±0,90 ^a
	2	10,36±4,57 ^a	8,91±2,13 ^a	14,36±7,67 ^a	8,75±5,60 ^a	8,88±0,14 ^a	9,55±5,38 ^a

a*	4	7,64±4,55 ^a	4,68±1,11 ^a	7,06±4,39 ^a	6,19±3,34 ^a	7,87±0,10 ^a	7,20±2,73 ^a
	7	7,95±3,01 ^a	5,61±2,38 ^a	7,06±2,51 ^a	5,57±1,02 ^a	8,81±2,09 ^a	4,60±0,91 ^a
b*	1	1,72±0,50 ^a	2,88±0,23 ^a	0,43±3,75 ^a	3,03±0,18 ^a	4,17±0,70 ^a	4,21±0,12 ^a
	2	-0,35±2,78 ^a	-0,985±0,007 ^a	0,86±4,53 ^a	0,85±0,57 ^a	-0,62±0,61 ^a	0,84±2,94 ^a
	4	-1,78±2,52 ^a	-1,07±0,29 ^a	-2,11±0,62 ^a	-1,88±0,91 ^a	0,495±0,007 ^a	0,27±0,69 ^a
	7	-0,07±1,23 ^a	-0,46±0,62 ^a	-2,17±0,96 ^a	0,43±2,99 ^a	2,55±1,37 ^a	2,66±1,14 ^a

Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem ao nível de $p \leq 0,05$. P*: parâmetros. d*: dias.

Como visto na Tabela 13, o parâmetro de Luminosidade, L^* , foi registrado que o maior valor foi do tratamento B4, seguido das amostras B4>HB4>B1>H1>T0>HB1. O parâmetro a^* que varia de verde (-) a vermelho (+), apresentou valores positivos, ou seja, que apresentam gradiente nos tons de vermelho, o que se deve, provavelmente, da coloração da carne bovina. Já o parâmetro b^* , que especifica tons de azul (-) para amarelo (+), obteve resultado negativo no sétimo dia de prateleira, nos tratamentos T0, H1 e HB1, que significa que esses filmes tenderam ao gradiente azul. Os tratamentos HB4 e B4 que possuem maior concentração de nano argila, visualmente se demonstravam amarelados, tal situação pode ter influenciado nos valores positivos do parâmetro b^* .

O quarto dia de análises apresentou diferença significativa entre os tratamentos para o parâmetro L^* , indicando variação dos valores entre si. O mesmo não ocorreu para os outros parâmetros.

Devido ao fato de os tratamentos apresentarem certa rigidez, visto que se encontravam refrigerados, houve certa dificuldade para utilização do equipamento.

A Tabela 14. expõe os valores de coloração da carne bovina *in natura* antes da aplicação das membranas e após a retirada delas, durante os dias de prateleira. Ao comparar os resultados iniciais dos parâmetros L^* , a^* e b^* das Tabelas 13 e Tabela 14, denota-se que as películas aumentaram os valores de L^* iniciais, mas o oposto ocorreu após sete dias.

Tabela 14. Parâmetros de cores CIELAB da carne *in natura*.

P*	d*	Tratamentos					
		T0	H1	HB1	B1	HB4	B4
L*	1	38,92±5,87 ^a	31,59±1,94 ^a	34,44±3,23 ^a	34,36±0,91 ^a	34,85±0,88 ^a	38,69±5,03 ^a
	7	33,16±2,29 ^c	36,62±4,97 ^{abc}	37,08±2,18 ^{abc}	34,88±2,48 ^{bc}	46,95±1,10 ^{ab}	48,18±4,40 ^a
a*	1	12,73±2,21 ^a	14,71±1,39 ^a	15,18±0,19 ^a	14,60±0,63 ^a	16,99±0,44 ^a	16,86±8,05 ^a
	7	8,82±0,83 ^a	7,06±0,44 ^a	7,36±1,43 ^a	9,59±1,06 ^a	7,65±1,56 ^a	8,53±4,50 ^a
b*	1	3,96±0,28 ^a	2,03±0,02 ^a	2,15±0,45 ^a	2,96±0,84 ^a	3,80±1,38 ^a	5,60±2,79 ^a

7	0,57±0,61 ^a	1,28±1,90 ^a	1,41±0,55 ^a	1,50±0,47 ^a	5,84±0,19 ^a	5,07±4,01 ^a
---	------------------------	------------------------	------------------------	------------------------	------------------------	------------------------

Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem ao nível de $p \leq 0,05$. P*: parâmetros. d*: dias.

A cor é o principal fator indicador da qualidade da carne e vísceras frescas, e o primeiro a ser avaliado por parte do consumidor (ALBERTI *et al.*, 2005). E em conformidade a Tabela 14, percebe-se que o contato das películas com OEH e bentonita apresentaram significativo aumento de L* da carne ao compará-las com os dados iniciais. Para o dia sete (07) do experimento, nota-se que os médias variaram entre si, apresentando diferença significativa ($p > 0,05$).

Bonilla e Sobral (2019) envolveram hamburguers de carne bovina em filmes de quitosana, gelatina e extrato de boldo, onde os resultados encontrados de ($L^*=34,4$) indicaram diminuição pouco significativa do valor inicial ($L^*=38,5$).

Os resultados indicaram diminuição nos parâmetros a*e b*, os mesmos ainda se encontram em coordenadas de tons vermelhos, para a*, e tons amarelos para b*. O chroma a*, demonstra que a vermelhidão da carne diminuiu, ou seja, a presença da mioglobina, ocasionando em carnes de menor atrativo, ao comparadas aos dados iniciais. Nos estudos de Vargas *et al.* (2016), a adição de filmes com extrato de alecrim e pitanga em hamburguers influenciou negativamente na cor vermelha da carne.

5.1.9. Perda de massa (%)

A Tabela 15 descreve os valores da perda de massa (%) dos tratamentos com os filmes durante o tempo de prateleira da carne *in natura*. E a perda de massa das amostras antes da aplicação dos filmes e após sua retirada.

Tabela 15. Dados de perda de massa dos tratamentos durante o processo de armazenagem refrigerada por sete dias.

Perda de massa (%)	Tratamentos					
	T0	H1	HB1	B1	HB4	B4
Com filme	34,01±0,92 ^a	23,02±4,19 ^a	33,50±8,05 ^a	29,01±0,68 ^a	27,99±6,29 ^a	22,86±4,54 ^a
Sem filme	67,07±0,67 ^a	67,63±0,94 ^a	66,49±1,84 ^a	67,18±0,54 ^a	68,07±0,39 ^a	57,46±1,54 ^b

Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem ao nível de $p \leq 0,05$.

Os tratamentos com adição do OEH apresentaram valores próximos após a retirada dos filmes, mantendo-se entre H1= 67,63%; HB1= 66,49% e HB4=68,07%. Ao comparar a perda de massa com a aplicação dos filmes, durante os sete dias analisados, percebe-se que os

filmes com nano argila demonstraram menor perda de massa, destacando os filmes B4=27,99% e B4= 22,86%. Já o tratamento H1= 23,02%, obteve um resultado promissor.

Entre os tratamentos, a membrana B4 apresentou dados significativos, onde a perda de massa foi a menor em ambas as comparações (22,86% para perda com filme e 57,46% para perda sem filme).

5.1.10. Atividade de água (Aw)

O teste de Aw foi realizado medindo a quantidade de água inicial da carne *in natura* sem estar envolvido com as membranas e avaliado após os sete dias de refrigeração, em que as amostras foram removidas das películas. A variação da Aw é retratada na Figura 26.

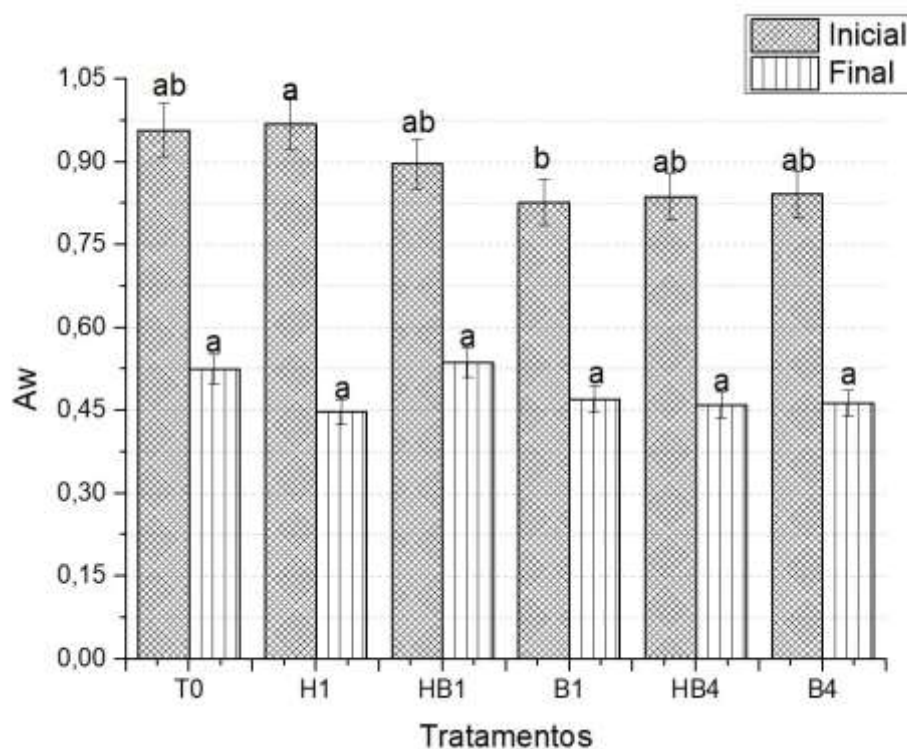


Figura 26. Atividade de água da carne *in natura* envolvidas em películas biodegradáveis.

Pela Figura 26, percebe-se inicialmente que as amostras apresentaram valores acima de 0,800aw, valor aceitável para o tipo de carne em questão, pois segundo Lima *et al.* (2021) o mesmo obteve valores entre 0,881e 0,893 de carne moída *in natura* apresentada em sua pesquisa.

Após o período de acondicionamento da carne pelos filmes, nota-se que a Aw obteve uma diminuição significativa, variando entre 0,447aw para H1 a 0,536aw para HB1. Indicando que as membranas apresentaram característica para perda de água, resultando em

amostras de carne com aspectos secos, de baixa suculência. Os resultados não diferenciaram entre si.

De acordo com Labuza *et al.* (1970), a atividade de água (A_w) é uma medida que permite avaliar a disponibilidade de água nos alimentos que estão passíveis a reações químicas, enzimáticas ou microbiológicas. Os autores afirmam que quanto mais elevada for a A_w , mais rapidamente os microrganismos poderão se proliferar.

Conforme informações apresentadas por Labuza *et al.* (1970) e Lima *et al.* (2021), a elevada A_w é propícia para o desenvolvimento de microrganismos patogênicos, onde A_w acima de 0,85 indica proliferação desses microrganismos (KOBLITZ, 2011). Então, tal informação revela que as membranas produzidas possuem características antimicrobianas.

5.1.11. Textura (kgf)

A textura da carne *in natura* foi observada antes do procedimento de embalagem e depois do processo, as amostras finais foram analisadas sem a envoltura das películas. Após os sete dias de análises, obteve-se valores divergentes entre o dia inicial e final, que estão retratados na Figura 27.

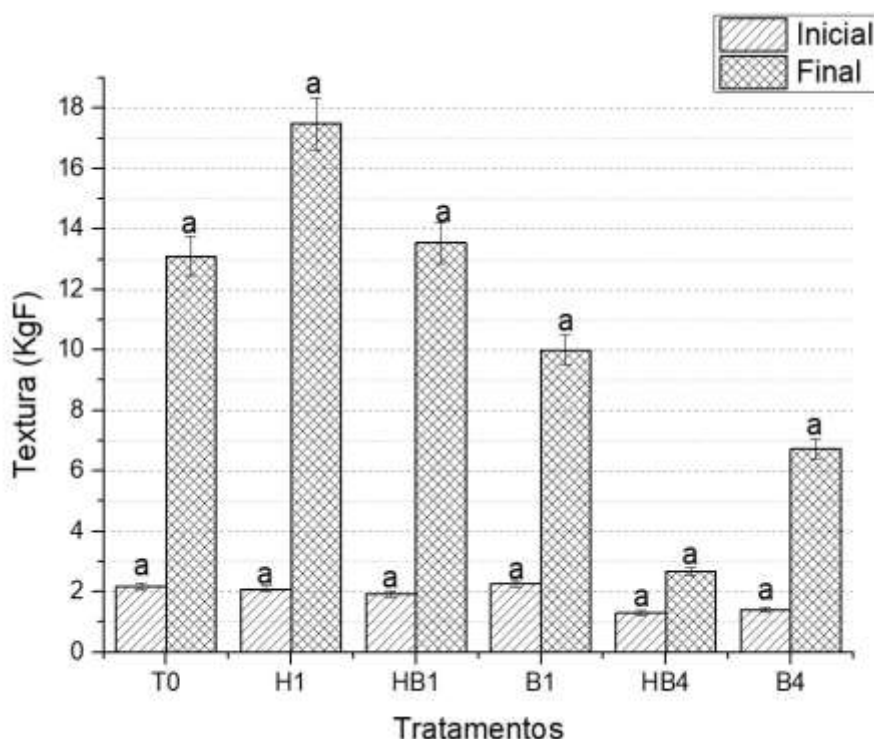


Figura 27. Valores de Textura (kgF) das amostras de carne em distintas películas.

Santos *et al.* (2015) afirma que quanto menor for a força para cortar a carne, mais macio é o corte bovino. E, inicialmente os valores de textura apresentavam resultados condicentes com um tipo de carne macia. Mas, como demonstrado na Figura 27, a aplicação das membranas nas amostras de carne fez com que essa característica de maciez se extinguisse.

O tratamento HB4 obteve resultado significativo ao compará-lo com os outros tratamentos, pois a textura da carne não demonstrou alta variação ($HB4_{inicial}=1,30\text{kgf}$ e $HB4_{final}=2,67\text{kgf}$). Todavia, os tratamentos H1 e HB1 apresentaram os maiores resultados, que demonstram que as amostras após o período de sete dias tiveram características mais rígidas. Tais dados se correlacionam aos valores retratados no teste de atividade de água (A_w) da Figura 26.

Cordeiro *et al.* (2019) aplicaram revestimentos a base de zeína com diversos óleos vegetais, em carne de carneiro embalada a vácuo, por 29 dias, e seus resultados foram inferiores a 2,18kgf, demonstrando que tal revestimento não afetou a maciez da carne avaliada.

CONCLUSÃO

As películas foram produzidas com eficiência e acondicionadas satisfatoriamente nas amostras de carne bovina *in natura*, considerando-as uma abordagem sustentável ao material plástico sintético. Os filmes realizados demonstraram que as bioembalagens influenciaram na coloração das amostras de carne, mas não ocasionaram menor atratividade dos produtos cárneos. E devido as propriedades de barreira dos filmes, as amostras apresentaram perda de massa e de atividade de água, acarretando valores de textura de baixa significância. As bioembalagens ativas desenvolvidas indicam sua ação antioxidante, sendo uma característica agradável para possíveis aplicações em diversos alimentos.

REFERÊNCIAS

AROKIYARAJ, S.; DINAKARKUMAR, Y.; SHIN, H. A comprehensive overview on the preservation techniques and packaging of processed meat products: Emphasis on natural derivatives. **Journal of King Saud University - Science** 36 (2024) 103032. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2023.103032>

- ALBERTI, P, et al, (2005). Medición de color. Estandarización de las metodologías para evaluar la calidade del produto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los ruminantes, p.216-225.
- BERMÚDEZ-ORIA, A.; RODRÍGUEZ-GUTIÉRREZ, G.; RUBIO-SENENT, F.; FERNÁNDEZ-PRIOR, A.; FERNÁNDEZ-BOLAÑOS, J. Effect of edible pectin-fish gelatin films containing the olive antioxidants hydroxytyrosol and 3,4-dihydroxyphenylglycol on beef meat during refrigerated storage. **Meat Science**. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.07.003>
- BONILLA, M. J. L.; SOBRAL, P.J.A. Application of active films with natural extract for beef hamburger preservation. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.49:01, e20180797, 2019. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180797>
- Bonilla, J., Atarés, L., Vargas, M., & Chiralt, A. (2012). Edible films and coatings to prevent the detrimental effect of oxygen on food quality: Possibilities and limitations. **Journal of Food Engineering**, 110(2), 208–213.
- CORDEIRO, C. de S.; FORATO, L. A.; FILHO, R. B.; NASSU, R.T. Utilization of zein-based coatings containing vegetable oils on the physicochemical characteristics of vacuum-packaged lamb meat. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.49:10, e20190310, 2019. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190310>
- COSTA, F. J. O. G. da; GODOY, R. S. B. de; LEIVAS, C. L.; PEREIRA, L. O.; WASZCZYNSKYJ, N. Alterações na composição físico-química de pinhões (*Araucaria angustifolia*) armazenados em diferentes embalagens e ambientes. **Pesquisa florestal brasileira, Brazilian Journal of Forestry Research**, Colombo, v. 43, 202202262, p. 1-11, 2023. <https://doi.org/10.4336/2023.pfb.43e202202262>
- FEITOSA, T. Contaminação, Conservação e Alteração da Carne. Fortaleza: Embrapa-CNPAT, 1999, 24p.
- FRAZIER, W.C. Microbiologia de los alimentos. 4 ed. Zaragoza: Acribia, 1993. 511p.
- GEORGANTELIS, D. AMBROSIADIS I, KATIKOU P, BLEKAS G, GEORGAKIS, SA. Effect of rosemary extract, chitosan and a-tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4°C. **Meat Science**, v.76, p.172– 181, 2007. doi: 10.1016/j.meatsci.2006.10.026.
- GILL, C.O.; NEWTON, K.G. Development of bacterial spoilage at adipose tissue surface of fresh meat. *Applied and Environmental Microbiology*, n.39, p.1076-1077, 1980.

- GUYON, C.; MEYNIER, A.; DE LAMBALLERIE, M. (2016). Protein and lipid oxidation in meat: A review with emphasis on high-pressure treatments. **Trends in Food Science & Technology**, 50, 131–143. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.026>
- HUNTERLAB. The color management company. Universal software, version 3.2. Reston, 1997.
- JACOBS et al., Produção e caracterização de biofilmes de fécula de mandioca incorporados com polpa de acerola. **Revista Iberoamericana de Polímeros**. v.21(3). 2020.
- KOBLITZ, M.G.B. (2011). Matérias-primas Alimentícias: Composição e controle de qualidade. **Guanabara Koogan**, p. 320. ISBN: 9788527718158
- LABUZA, T. P.; TANNEMBAUM, S. R.; KAREL, M. Water content and stability of lowmoisture and intermediate-moisture foods. **Food Technology**. p .543-550, 1970.
- LIMA, J.A.; FELINTO, ACB.; MARÇAL, EJA.; OLIVEIRA, IM de.; SOUSA, JB de.; BÚ, SA do.; MELO, WG de.; CAVALCANTI, M. da S. Análise da qualidade da carne moída comercializada em um município do interior da Paraíba. **Research, Society and Development**, [S.l.], v.4, pág. e27610414148, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i4.14148. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/14148>.
- LIU, H., XIE, B., e QIN, Y. Effect of bentonite on the pelleting properties of iron concentrate. **Journal of Chemistry**, (2017). 1–6. <https://doi.org/10.1155/2017/7639326>
- NIELSEN, J. H., SØRENSEN, B., SKIBSTED, L. H., & BERTELSEN, G. (1997). Oxidation in precooked minced pork as influenced by chill storage of raw muscle. **Meat Science**, 46(2), 191–197.
- OUAHIOUNE, L.A.; WRONA, M.; NERÍN, C.; DJENANE, D. Novel active biopackaging incorporated with macerate of carob (*Ceratonia siliqua* L.) to extend shelf-life of stored Atlantic salmon fillets (*Salmo salar* L.). **LWT - Food Science and Technology**. 156 (2022) 113015. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.113015>
- Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Produtos de Origem Animal. Ministério da Agricultura e Pecuária. **RTIQ** (2020). Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/defesa-agropecuaria/copy_of_suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/rtiq-carneos-e-seus-derivados-1. Acesso em 10/01/2024.
- SAID-AL AHL, H. A., ABBAS, Z. K., SABRA, A. S., e TKACHENKO, K. G. Essential oil composition of *Hyssopus officinalis* L. cultivated in Egypt. **International Journal of Plant Science and Ecology**, 1(2), 49–53. (2015).

- SANTOS, P.R.; DONADO-PESTANO, C.M.; DELGADO, E.F.; TANAKA, F.O.; CONTRERAS-CASTILLO, C.J. Tenderness and oxidative stability of Nellore bulls steaks packaged under vacuum or modified atmosphere during storage at 2 °C. **Food packaging and shelf life**, v.4, p.10-18, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2015.03.002>
- SILVA, A.; OLIVEIRA, M.C.; DEL REY, P.V.; JORGE, N. Utilização de extrato de cogumelo como antioxidante natural em óleo vegetal. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 4, p. 1103-1108, 2009. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542009000400022>
- SILVA, R. S., *et al.*, Analysis of Hybrid sorubim protein films incorporated with glycerol and clove essential oil for packaging applications. **Journal of Polymers and the Environment**, 28, 421–432. 2020.
- VARGAS, F. C. et al. Rosemary and pitanga aqueous leaf extracts on beef patties stability under cold storage. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.59, e16160139, 2016. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2016160139>

CONCLUSÃO GERAL

Com o intuito de analisar as propriedades antimicrobianas do Óleo Essencial de Hissopo (OEH) em películas de fécula de mandioca, os resultados deste trabalho permitiram concluir que:

- O OEH apresenta potencial antimicrobiano para aplicação em filmes biopoliméricos.
- As películas produzidas demonstraram resultados significativos de cor, Permeabilidade ao Vapor de água e solubilidade sendo essas características interessantes para aplicação como embalagens.
- Os filmes apresentaram propriedades estruturais amorfas.
- A adição de nano argila bentonita aprimorou as propriedades mecânicas, estruturais e antimicrobianas das membranas.
- Todos os filmes produzidos indicam biodegradabilidade em solo.
- A aplicação das películas como embalagens em produtos cárneos apresentou propriedades antimicrobianas significativas.
- Os resultados obtidos neste trabalho indicam que pode haver uma continuação em estudos futuros que visem a melhoria das características dos filmes biodegradáveis, assim como a sua aplicação na indústria.

ANEXO



The highest quality natural products at the best possible price

Date: June 29, 2021

CERTIFICATE OF ANALYSIS - GC PROFILING

SAMPLE IDENTIFICATION

Sample Name: Hyssop Oil 57556 3213962 (FID)

Sample Source: Hyssopus officinalis ct . Pinocamphone

ANALYSIS

Method: Essential oil GC profile by GC-FID and MS

Analysis date: June 29, 2021

Analyst: Rima Juskelis

Raquel Davis

Reviewed by: Rima Juskelis

Rima 

Approved by: Louis DeMers

Louis DeMers

06-30-2021

Comment: This oil does comply with the NOW Foods in-house standard for Hyssop essential oil.

Hyssop Oil 57556 3213962 (FID)

1 - 33 / 116

Identification	Area%
Unknown (62,47,45,61,46)	0.01
Isobutyraldehyde	0.02
2-Methyl-1-propanol	0.01
2-Methylbutyral	0.23
2-Methylbutyraldehyde	0.08
Methallyl alcohol	tr
2-Ethylfuran	0.02
Isoamyl alcohol	0.05
2-Methylbutanol	0.03
Methyl 2-methylbutyrate	0.01
Octane	0.01
Trans-3-Hexenol	0.13
2E-Hexen-1-ol	0.01
1-Hexanol	0.03
Butylcyclohexane	tr
Unknown (79,78,77,81,91)	tr
Styrene	tr
Hashishene	0.02
Tricyclene	tr
a-Thujene	0.23
alpha-Pinene	0.54
Camphene	0.11
Thuja-2,4(10)-diene	0.02
Benzaldehyde	0.01
Sabinene	1.15
beta-Pinene	9.89
3-Octanone	0.04
beta-Myrcene	1.98



Unknown (93,79,91,107,121,136)	0.03
alpha-Phellandrene	0.03
Pseudolimonene	0.11
p-Cymene	0.03
beta-Phellandrene+(1.0% Limonene & 0.31% 1,8-Cineole by MSD)	6.05

Hyssop Oil 57556 3213962 (FID)

34 - 66 / 116

Identification	Area%
beta-Ocimene	0.17
Unknown (91,92,120,65,63)	0.04
trans-beta-Ocimene	0.85
g-Terpinene	0.19
cis-Sabinene hydrate	0.03
Terpinolene	0.09
Linalool	0.72
Thujone	0.14
Unknown (57,41,69,56,55)	0.02
b-Thujone	0.15
6-Camphenone?	0.03
Unknown (93,91,136,77,79)	0.03
trans-Pinocarveol	0.07
trans-p-Menth-2-en-1-ol	0.02
Myrtenyl methyl ether	1.78
trans-Pinocamphone+(1.18% Pinocarvone by MSD)	13.60
Unknown (91,79,93,77,105,121,134)	0.01
Isopinocamphone	46.51
Terpinen-4-ol	0.23
Cryptone	0.04
Myrtenal	0.14
Myrtenol+(0.297% a-Terpineol by MSD)	1.68
Estragole (Methylchavicol)	0.10
Carvone	0.02
Unknown (79,91,77,93)	0.02
Unknown (79,91,77,93,134)	0.01
Unknown (67,82,41,91,119)	0.02
Carvotanacetone	0.02



Geraniol	0.04
Geranial	0.04
Unknown (93,69,67,79,81)	0.01
Unknown (69,41,91,119,134)	0.02
Methyl myrtenate	0.09

Hyssop Oil 57556 3213962 (FID)

67 - 99 / 116

Identification	Area%
Myrtenyl acetate	0.30
Eugenol	0.05
Unknown (164,149,91,77,103)	0.05
Neryl acetate	0.03
a-Copaene	0.01
Methyl para-anisate	0.04
Unknown (69,121,91,93,105)	0.01
beta-Bourbonene	0.66
Unknown (81,80,123,79,161)	0.02
b-Elemene	0.05
a-Bourbonene	0.01
Methyleugenol	0.14
a-Gurjunene	0.30
Caryophyllene	0.96
b-Copaene	0.08
Unknown (119,93,91,105,69)	0.01
Unknown (91,105,161,93,107)	0.02
Isogermacrene D	0.06



Aromandendrene	0.10
Humulene	0.14
Alloaromadendrene	1.13
cis-muurolo-4(14),5-diene	0.04
Unknown (161,105,91,81,107)	0.01
(E)-b-Farnesene	0.02
Germacrene D	2.91
allo-Alloaromadendr-9-ene	0.11
Unknown (161,105,107,91,93)	0.02
Bicyclogermacrene	2.60
Unknown (133,105,91,93,159,204)	0.02
b-Bisabolene	0.04
g-Cadinene	0.16
d-Cadinene	0.11
b-Sesquiphellandrene	0.04

Hyssop Oil 57556 3213962 (FID)

100 - 116 / 116

Identification	Area%
a-Cadinene	0.01
a-Elemol	0.68
Unknown (93,81,69,91,79)	0.02
(E)-Nerolidol	0.04
Spathulenol	0.19
Unknown (93,91,79,107,187)	0.05
Guaia-1(10),11-diene	0.05
Unknown (93,105,107,91,161)	0.02
Viridiflorol	0.09



Unknown (119,161,105,93,91)	0.02
10-epi-g-Eudesmol	0.02
g-Eudesmol	0.23
tau-Cadinol	0.11
b-Eudesmol	0.34
Unknown (93,161,107,105,91)	0.02
Phytone	0.02
Total	100.00



Hyssop Oil 57556 3213962 (FID)

