

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

GEANE CRISTIANE BALAN

**ELABORAÇÃO E APLICAÇÃO DE FILME A BASE DE AMIDO NA
CONSERVAÇÃO DE QUEIJO TIPO MUSSARELA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LONDRINA

2013

GEANE CRISTIANE BALAN

ELABORAÇÃO E APLICAÇÃO DE FILME A BASE DE AMIDO NA CONSERVAÇÃO DE QUEIJO TIPO MUSSARELA

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina Trabalho de Conclusão de Curso 2 do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, câmpus Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lyssa Setsuko Sakanaka.

LONDRINA

2013

TERMO DE APROVAÇÃO

ELABORAÇÃO E APLICAÇÃO DE FILME A BASE DE AMIDO NA CONSERVAÇÃO DE QUEIJO TIPO MUSSARELA.

GEANE CRISTIANE BALAN

Este(a) Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado(a) em 05 de setembro de 2013 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. O(a) candidato(a) foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof^a. Dr^a. Lyssa Setsuko Sakanaka.
Orientadora

Prof^a. Dr^a. Caroline Maria Calliari
Membro

Prof^a. Dr^a. Margarida Masami Yamaguchi
Membro

DEDICATÓRIA

*À minha família, sempre prestativa em
todos os momentos, pelo amor,
dedicação, compreensão e incentivo...*

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Lyssa Setsuko Sakanaka pela oportunidade e todo conhecimento transmitido, pela ótima orientação, pela paciência, amizade, compreensão e estímulo. Muito Obrigada!

Ao Prof. Dr. Claudio Takeo Ueno, pela ajuda em todas análises microbiológicas.

Ao Prof. Dr. Fabio Yamashita, da Universidade Estadual de Londrina, pela parceria e oportunidade de trabalhar com biofilmes.

Ao Nelson Heitor Fuzinato, da Universidade Estadual de Londrina, pelo apoio técnico e amizade.

Ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, por disponibilizar os laboratórios e equipamentos para o desenvolvimento de parte deste trabalho.

Ao grupo do projeto de iniciação científica, Rafael Mizubuti Brito, Anna Laura Alcântara, Amanda Giazzi pela ajuda, conhecimentos compartilhados e companheirismo.

À todos professores da graduação de Tecnologia em Alimentos, que contribuíram para minha formação.

Aos meus pais, Mario e Leonilda, pelo esforço e dedicação à minha educação.

À todos, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!

RESUMO

BALAN, Geane C. **Elaboração e aplicação de filme a base de amido na conservação de queijo tipo mussarela**. 2013 49f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia de Alimentos)-. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina. 2013.

O impacto ambiental causado pelas embalagens tem aumentado o interesse pelo uso de materiais biodegradáveis em substituição aos materiais plásticos convencionais. A utilização do amido sugere várias aplicações, por ser de uma fonte renovável e biodegradável. A mandioca é uma raiz que possui um baixo custo de produção e de fácil cultivo. O objetivo deste trabalho foi produzir filmes biodegradáveis por extrusão a partir de blendas de amido de mandioca, glicerol, poli (butileno adipado co-tereftalato) (PBAT), butil hidroxitolueno (BHT) e/ou óleo essencial de orégano e aplicá-lo como embalagem para a conservação de queijo mussarela. Foram realizados análises tais como, teste de tração, perfuração, permeabilidade ao vapor de água (PVA), opacidade, isoterma de sorção dos filmes biodegradáveis. As fatias de queijo mussarela foram embaladas em três formulações (F1, F2 e F3) e armazenadas em B.O.D a $8\pm 1^{\circ}\text{C}$ e URE de 55%. Foram avaliadas as características físico-químicas (umidade, proteínas, cinzas) e microbiológicas do produto alimentício durante o seu armazenamento (10 dias). O óleo essencial incorporado no filme contribuiu para a redução da tensão na ruptura e aumentou a alongação, filmes de apenas amido e PBAT apresentaram uma alongação de 56,7% enquanto que os adicionados de óleo essencial apresentaram 74,4%. O aditivo BHT contribuiu para a redução da PVA. A adição de 1% dos aditivos nos filmes não apresentou efeito para a solubilidade. Os filmes apresentaram uma opacidade média de 55%, sendo considerados opaco, propriedade que contribui como uma barreira à luz. Durante o armazenamento houve perdas de umidade, devido à alta PVA. As análises de presença de *Escherichia coli* e *Salmonella spp.* deram ausentes, porém para micro-organismos mesófilos, bolores e leveduras houve um crescimento considerado baixo. O óleo essencial de orégano pode ter volatilizado durante o processamento, pois não foi efetivo como agente antimicrobiano. Os filmes biodegradáveis podem ser uma alternativa para armazenamento de queijo tipo mussarela, no entanto, mais estudos devem ser realizados para aprimorar técnicas e garantir a atividade das propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais de modo a permitir o seu uso nas embalagens, e estes serem considerados embalagens ativas, e ainda melhorando as propriedades de barreira do bioplástico.

Palavras-chave: Embalagens biodegradáveis. Amido. Óleo essencial. Análise microbiológica.

ABSTRACT

BALAN, Geane C. **Production and application of films based on starch on the conservation of mozzarella type cheese.** 2013 49f. Final Course Report (Food Technology). Federal Technical University of Paraná – Londrina. 2013.

The environmental impact caused by packaging has increased interest in the use of biodegradable materials to replace conventional plastics. The use of starch suggests many applications because it is a renewable and biodegradable. Cassava is a root that has a low production cost and is easy to grow. The aim of this work was to produce biodegradable films by extrusion from blends of cassava starch, glycerol, poly (butylene adipate co-terephthalate) (PBAT), butylated hydroxytoluene (BHT) and/or oregano essential oil and apply it as packing for the conservation of mozzarella type cheese. Analyses were performed on films: tensile and perforation tests, water vapor permeability (WVP), opacity and sorption isotherm. The mozzarella type cheese slices were packed in three formulations (F1, F2, and F3) and stored in a chamber at $8\pm 1^{\circ}\text{C}$ and 55% relative humidity (RH). The physicochemical characteristics (moisture, protein, ash) and microbiology of the food product were analyzed during storage (10 days). The essential oil incorporated in the film contributed to the reduction of tensile strength and increased elongation, films of starch and PBAT blends showed an elongation of 56.7%, while those added with essential oil showed 74.4% of elongation. The additive BHT contributed to reduce the the WVP. The addition of 1% of additives in the films showed no effect on solubility. The films showed an opacity average of 55%, being considered opaque which contribute as a light barrier. During storage there were moisture losses due to high WVP of films. *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. were absent in food product, but for mesophylic microorganisms, yeasts and molds it was observed a growth. The oregano essential oil could have been volatilized during processing, which explains why it didn't work as antimicrobial agent. The biodegradable films can be an alternative for packaging of mozzarella type cheese, however, further studies must be performed to ensure and enhance the activity of antimicrobial essential oils to allow its use in packaging, so they can be considered active packaging. Also, further studies are necessary to improve the barrier properties of bioplastics.

Keywords: Biodegradable films. Starch. Essential oil. Microbiology analysis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Classificação dos polímeros biodegradáveis.....	15
Figura 2 – Estrutura química e representação esquemática da amilose e amilopectina.....	17
Figura 3 – Estrutura molecular da unidade manomérica do PBAT.....	18
Figura 4 – Estrutura molecular do glicerol.....	19
Figura 5 – Etapas do processo de elaboração dos filmes. A- Pelletes. B- Pelletes triturados. C- Balão formado durante o processo de extrusão-sopro.....	25
Figura 6 – Esquema do sistema de determinação da força da deformação em teste de ruptura.....	27
Figura 7– Análise de permeabilidade de vapor de água. A- Vista superior da capsula de permeabilidade. B- Vista dessecador contendo as capsulas de PVA.....	29
Figura 8– Fotografias das embalagens. A- Embalagem de PVC. B- Embalagem de filme biodegradável.....	31
Figura 9– Gráfico dos valores das médias da PVA (g/Pa.m.s) dos tratamentos conduzidos em três condições de diferença de pressão de vapor de água de ΔP (0-75%), ΔP (33-64%) e ΔP (64-100%).....	36
Figura 10– Isoterma de sorção dos filmes ajustados pelo modelo de GAB.....	40
Figura 11– Gráfico dos valores das médias da perda de massa durante o armazenamento.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tratamentos e composições dos filmes elaborados por extrusão.....	24
Tabela 2 – Teste de comparação de médias de Tukey para os ensaios de tração e perfuração.....	34
Tabela 3 – Média dos valores de solubilidade nas duas condições de temperatura testadas.....	37
Tabela 4 – Teste de comparação de médias de Tukey para os ensaios de opacidade.....	38
Tabela 5 – Parâmetros dos modelos de GAB ^a para os filmes desenvolvidos.....	39
Tabela 6 – Médias das análises físico-químicas do queijo mussarela.....	41
Tabela 7 – Contagem em <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella ssp.</i> , micro-organismos mesófilos e bolores e leveduras em queijo mussarela armazenado durante 10 dias.....	43

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
2.1	OBJETIVO GERAL	13
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3	REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1	EMBALAGENS PLÁSTICAS	14
3.2	EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS.....	14
3.3	POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS	15
3.3.1	Amido	16
3.3.2	PBAT (poli (butileno adipato cotereftalato)).....	18
3.4	ADITIVOS	19
3.5	PRODUÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS.....	20
3.6	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS.....	21
3.7	APLICAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS COMO EMBALAGEM	22
3.8	QUEIJO TIPO MUSSARELA	22
4	MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1	MATERIAL EM ESTUDO	24
4.2	MÉTODOS	24
4.2.1	Elaboração dos filmes por extrusão	24
4.2.2	Caracterização dos filmes	25
4.2.4	Armazenamento do Queijo Mussarela	31
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES.....	34
5.1.1	Propriedades mecânicas	34
5.1.2	Permeabilidade aos vapores d'água	35
5.1.3	Teste de solubilidade.....	37
5.1.4	Teste de opacidade	38
5.1.5	Isotermas de sorção	38
5.2	ANÁLISES DO QUEIJO ARMAZENADO	40
5.2.1	Perda de massa	40
5.2.2	Análises físico-químicas	41

5.2.3 Análises microbiológicas	42
6 CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS.....	45

1 INTRODUÇÃO

Em decorrência da contaminação ambiental oriunda do descarte incontrolável de materiais derivados de petróleo, conhecidos como plásticos, tem aumentado o interesse em materiais biodegradáveis, em substituição aos materiais plásticos convencionais. Nas últimas décadas, os estudos relacionados aos filmes a base de biopolímeros tem sido intensa, uma vez que eles têm o potencial de reduzir o número de embalagens tradicionais e, portanto, a contaminação (ZAMUDIO-FLORES et al., 2009).

O amido de mandioca, polissacarídeo biodegradável, renovável e atóxico, é um dos biopolímeros mais estudados para a elaboração de filmes biodegradáveis devido à abundância e baixo custo.

Para a produção do bioplástico, além do amido é necessária a presença de plastificantes, sendo os mais indicados os polióis, como o sorbitol ou glicerol, que vão proporcionar a estes materiais uma melhoria nas suas propriedades mecânicas permitindo um aumento da flexibilidade e uma diminuição da resistência do material. Outros tipos de aditivos geralmente utilizados são os agentes antimicrobianos, vitaminas, antioxidantes, aromatizantes e pigmentos (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010; GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1993), muito empregados para a elaboração de embalagens ativas ou inteligentes visando sua aplicação como embalagem para conservação de alimentos frescos ou processados.

Segundo Mali, Grossmann e Yamashita (2010) a grande tendência na pesquisa e desenvolvimento das embalagens de amido está voltada para a combinação de amido e poliésteres biodegradáveis, produzidas através da tecnologia de co-extrusão e sopro; esta combinação permite a obtenção de materiais com estabilidade às condições ambientais e, mesmo que os poliésteres empregados apresentem valores comerciais acima dos polímeros convencionais, podem ser considerados como uma alternativa viável, já que podem ser usados em processos que permitem a escala industrial. Dentre os polímeros sintéticos biodegradáveis mais promissores e estudados em interações com o amido está o PBAT (poli(butileno adipato cotereftalato)), um poliéster oriundo de reações químicas de monômeros de origem petrolífera.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi produzir filmes biodegradáveis a partir de blendas de amido de mandioca nativo, glicerol, poli (butileno adipado co-tereftalato) (PBAT), butil hidroxitolueno (BHT) e óleo essencial de orégano por extrusão e aplicá-lo como embalagem para a conservação de queijo mussarela, avaliando as características físico-químicas e microbiológicas do produto alimentício durante o seu armazenamento.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Produzir filmes biodegradáveis por meio de extrusão, utilizando blendas de amido de mandioca, glicerol, poli (butileno adipato co-tereftalato) (PBAT), butil hidroxitolueno (BHT) e óleo essencial de orégano como matéria prima, e aplicá-lo como embalagem de queijo mussarela.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elaborar filmes biodegradáveis com amido de mandioca, PBAT, BHT e óleo essencial de orégano, por meio do processo de extrusão;
- Determinar as propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade, isotermas de sorção dos filmes e opacidade dos filmes;
- Aplicar o filme de amido como embalagem de queijo mussarela durante 10 dias;
- Determinar características físico-químicas e microbiológicas do queijo durante armazenamento.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 EMBALAGENS PLÁSTICAS

Na indústria de alimentos, os plásticos são amplamente empregados em embalagens, devido às suas vantagens em relação aos outros materiais, por possuírem maior durabilidade, custo na maioria das vezes acessível, baixo peso, rigidez ou flexibilidade, transparência e boas propriedades de barreira. Além disso, podem ser termossoldados ou impressos, o que se torna um diferencial. Apesar das características positivas relacionadas à utilização de embalagens plásticas, deve se destacar o fato de que apresentam desvantagens significativas, por provirem de fontes não renováveis e se acumularem no meio ambiente, contrariando as atuais expectativas de minimização dos impactos ambientais (PELISSARI, 2009).

Segundo Vilpoux (2004), cerca de 240 mil toneladas de lixo são produzidos no Brasil por dia, sendo que grande parte deste lixo, é composto por materiais plásticos sintéticos, a maioria do lixo vai para lixões a céu aberto, e apenas uma pequena porcentagem é descartada em locais apropriados. Quando não é tratado, gera problemas sanitários desencadeando doenças e contaminando o solo e as águas. Dentre as soluções para este problema, estão a criação de aterros sanitários em locais adequados, adoção de programas de coleta seletiva e reciclagem, bem como a conscientização da sociedade. Outra alternativa possível é a produção de materiais biodegradáveis que oferece solução interessante para os materiais plásticos.

3.2 EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS

Os bioplásticos, de origem renovável, fazem parte de uma nova geração de plásticos com o potencial de reduzir, em grandes proporções, o impacto ambiental em termos de consumo energético, e de volume de resíduos produzidos, ou seja, estes se comportam como plásticos tradicionais, porém com o diferencial de serem

totalmente biodegradáveis, dentro de um ciclo de compostagem (CASTRO; POUZADA, 1990).

Segundo Castro e Pouzada (1990), os materiais a base de amido possuem 85-90% do mercado total de materiais biodegradáveis. As suas propriedades termoplásticas sugerem grande potencial em várias aplicações, além do forte incentivo a projetos de investigação e a políticas que promovem o uso do amido para fim não alimentício. Os autores ressaltam que os bioplásticos de origem renovável ou não, ainda requerem fortes investimentos nas áreas de desenvolvimento e aplicação destes novos materiais.

3.3 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS

De acordo com Avèrous e Boquillon (2004), a maioria dos biopolímeros possui disponibilidade comercial e podem ser adicionados com outros polímeros não biodegradáveis em diferentes áreas industriais como a de embalagens, sendo classificadas em: produtos de biomassa; derivados de micro-organismos; derivados de biotecnologia e de produtos petroquímicos, conforme pode ser observado no esquema apresentado na Figura 1.

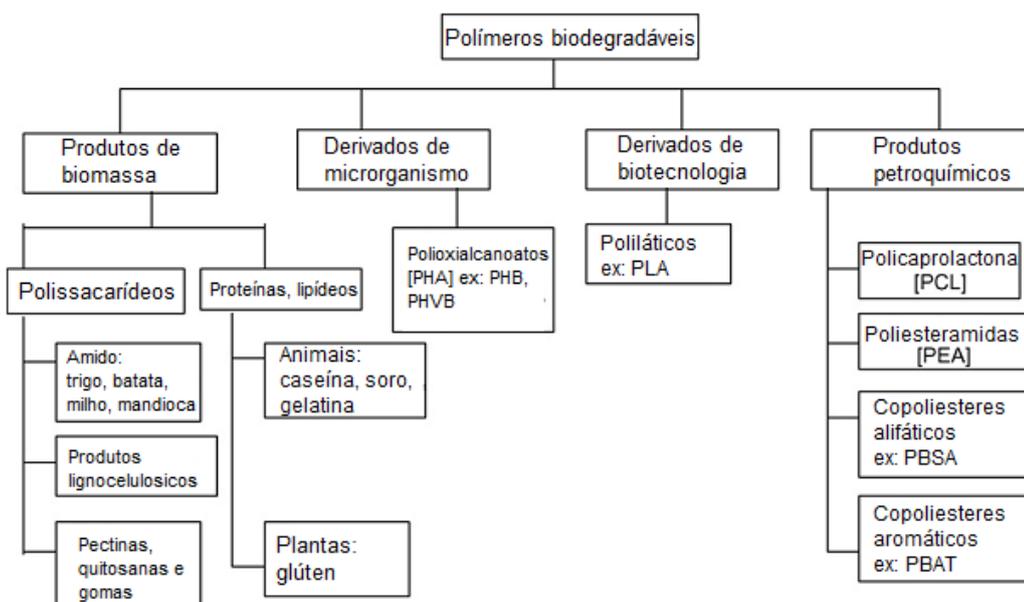


Figura 1. Classificação dos polímeros biodegradáveis
 Fonte: Averous e Boquillon, (2004)

3.3.1 Amido

O amido é um polissacarídeo biodegradável, renovável e atóxico. Além de ser uma matéria-prima disponível em quantidade suficiente, os processos industriais permitem que o mesmo seja extraído com elevada pureza. É encontrado em grãos de cereais como arroz, milho, trigo, centeio e cevada, e em tubérculos ou raízes de batata, mandioca, batata doce, entre outros (FRANCO *et al.*, 2001a).

Quanto à sua estrutura química, o grânulo de amido é formado, principalmente, por dois polímeros, a amilose e a amilopectina (Figura 2). Os teores variam em função da fonte botânica do amido. A fécula de mandioca apresenta teores em torno de 17-20% de amilose (SARMENTO, 1999).

A amilose é um polissacarídeo composto de unidades de α (1-4) D-glicose unidas em longas cadeias predominantemente lineares. A amilopectina, por sua vez, é formada por ligações α (1-4) nas porções retilíneas e ligações α (1-6) nas ramificações. De cada 20 a 30 moléculas de glicose ocorre um ponto de ramificação. Essa característica a torna menos suscetível à ação de certas enzimas do que a amilose, o que é um fator importante para explicar a ação de enzimas sobre o amido, e sua aplicação em processos industriais (FRANCO *et al.*, 2001b).

O amido tem sido utilizado de diversas formas nas indústrias agroalimentares como ingrediente, componente básico dos produtos ou aditivos adicionados em baixas quantidades para melhorar a fabricação, apresentação ou conservação dos alimentos. Além do consumo em alimentos, grande quantidade do amido é destinado a empresas não alimentares, tais como indústrias papeleiras, têxteis, farmacêuticas e químicas (FRANCO *et al.*, 2001a).

A aplicação do amido na produção de filmes se baseia nas propriedades químicas, físicas e funcionais da amilose para formar géis e na sua capacidade para formar filmes. As moléculas de amilose em solução, devido à sua linearidade, tendem a se orientar paralelamente, aproximando-se o suficiente para que se formem ligações de hidrogênio entre hidroxilas de polímeros adjacentes (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

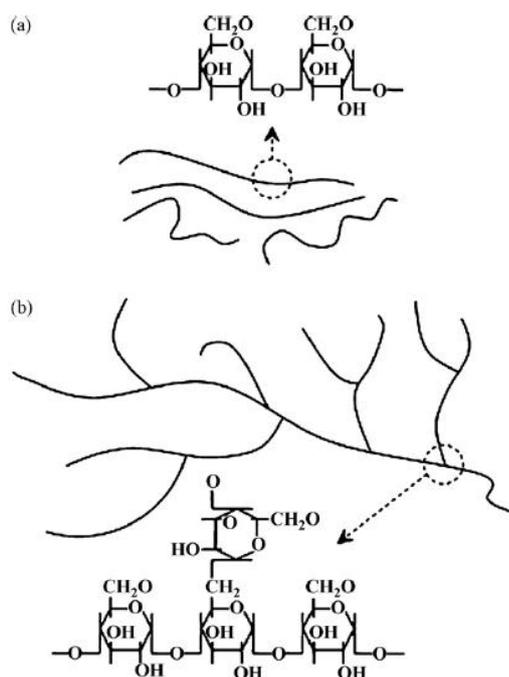


Figura 2. Estrutura química e representação esquemática da (a) amilose e (b) amilopectina
 Fonte: ¹Liu et al., (2009) apud Brito (2012)

Para a obtenção de um material termoplástico a base de amido, sua estrutura granular semicristalina precisa ser destruída para dar origem a uma matriz polimérica homogênea e essencialmente amorfa (²VAN SOEST; VLIEGENTHART, 1997; ³SOUZA; ANDRADE, 2000; ⁴LIU, 2005 apud Mali, Grossmann e Yamashita (2010).

Os fenômenos que possibilitam a destruição da organização dos grânulos de amido são a gelatinização e a fusão. A gelatinização é a transformação irreversível do amido granular em uma pasta viscoelástica, fenômeno que acontece na presença de excesso de água ou um plastificante e leva à destruição da cristalinidade e da ordem molecular do grânulo através do rompimento das ligações de hidrogênio entre as moléculas. Quando pequenas quantidades de água são usadas no aquecimento do amido, o fenômeno que indica o rompimento dos seus

¹ LIU, H.; XIE, F.; YU, L.; CHEN, L.; LI, L. Thermal processing of starch-based polymers. **Progress in polymer science**. 2009. Article in press

² VAN SOEST, J. J. G; VLIEGENTHART, J. F. G. Crystallinity in starch plastics: consequences for material properties. *Trends in Biotechnology*, Kidlington Oxford, v. 15, n. 6, p. 208- 213, 1997.

³ SOUZA, R. C. R; ANDRADE, C. T. Investigação dos processos de gelatinização e extrusão de amido de milho. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, São Paulo, v. 10, n. 1, p. 24-30, 2000.

⁴ LIU, Z. Edible films and coatings from starches. In: HAN, J. H. (Ed.). *Innovations in food packagings*, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2005. p. 318-336.

grânulos é conhecido como fusão, e, para que isso ocorra, são exigidas temperaturas bem maiores.

A grande tendência na pesquisa e desenvolvimento das embalagens de amido está voltada para a combinação de amido e poliésteres biodegradáveis, produzidas através da tecnologia de co-extrusão e sopro; esta combinação permite a obtenção de materiais com estabilidade às condições ambientais e, mesmo que os poliésteres empregados apresentem valores comerciais acima dos polímeros convencionais, podem ser considerados como uma alternativa viável, já que podem ser usados em processos que permitem a escala industrial (MALI et al., 2010).

3.3.2 PBAT (poli (butileno adipato cotereftalato))

O PBAT (Figura 3) um poliéster aromático-alifático biodegradável de nome comercial Ecoflex, é degradado dentro de poucas semanas e tem sua utilização viabilizada pelo processo de extrusão, formando filmes com elevada resistência mecânica (⁵GU et al., 2008 apud Olivato, 2010). É produzido pela empresa BASF pela condensação do ácido 1,4 - benzenodicarboxílico (tereftálico) e o ácido hexanodióico (adípico). O PBAT é biodegradável e dentre as diversas aplicações, foi objeto de investigação quando misturado com amido e fibras naturais vegetais (ALVES, 2007).

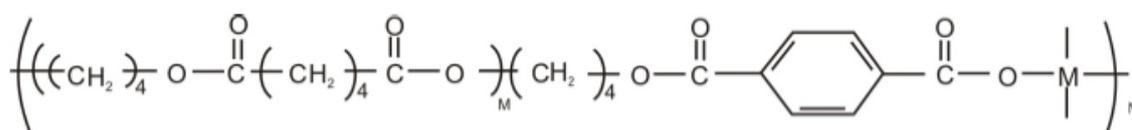


Figura 3. Estrutura molecular da unidade monomérica do PBAT.

Fonte. Olivato, (2010).

⁵ GU, S. Y; ZHANG, K; REN, J; ZHAN, H. Melt rheology of polylactide/poly(butylenes adipate-co-terephthalate) blends. Carbohydrate Polymers, v.74, p. 79-85, 2008.

3.4 ADITIVOS

Para a elaboração de filmes poliméricos há a necessidade de incorporação de plastificantes na mistura. Os plastificantes são substâncias que são incorporadas aos plásticos rígidos, a fim de aumentar sua flexibilidade, maquinabilidade e extensibilidade. Os plastificantes reduzem a temperatura de transição vítrea e aumentam a lubrificação das cadeias, de modo que melhoram o processamento e as características de extrusão, reduzem a temperatura de processamento e a rigidez, além de melhorar a flexibilidade do material (SARANTÓPOULOS, 2002). No caso dos filmes a base de amido de mandioca, o plastificante mais utilizado é o glicerol (FIGURA 4).

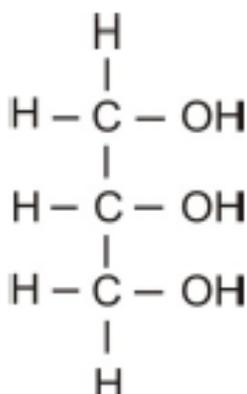


Figura 4. Estrutura molecular do glicerol
Fonte: Olivato, (2010).

Uma tendência mundial é a elaboração de embalagens ativas e/ou inteligentes, os quais contêm componentes que, de alguma forma, interagem com os componentes contidos nos alimentos dependendo das condições do ambiente em que estes alimentos são armazenados.

O Butil-hidroxitolueno (BHT) é um anti-oxidante lipossolúvel, e funciona sinergisticamente com o BHA, TBHQ e ácido cítrico, melhorando assim suas propriedades de efeito *carry-through* (ARAÚJO, 2004), sendo por isso muito utilizado pela indústria alimentícia.

O BTH foi desenvolvido para a indústria petroquímica, porém, hoje em dia, também é utilizado na indústria alimentícia. É bastante efetivo como antioxidante,

porém é relativamente volátil em altas temperaturas. Nos EUA é responsável por aproximadamente 25% das vendas, por causa do seu baixo preço. É utilizado como antioxidante em borracha, gasolina, óleo lubrificante e outros produtos industriais (GAVA, 1998).

Segundo Dias (2011), o BHT é comumente usado em materias plásticos para melhor conservação dos produtos armazenados, tanto na indústria de alimentos como a farmacêutica. O meio de atuação desse antioxidante é por interrupção das reações de radicais livres em cadeia, doando átomos de hidrogênio para produzir radicais livres compostos mais estáveis (ARAÚJO, 2004).

Os óleos essenciais, por sua vez, são substancias naturais de origem vegetal classificado como GRAS (Generally Regarded As Safe – Geralmente Considerado Como Seguro), o que os torna atrativos ao consumidor por não apresentarem efeito tóxico, mesmo quando empregados em concentrações relativamente elevadas (PEREIRA et al., 2006). Os autores verificaram um ótimo desempenho do óleo essencial de orégano sobre os fungos testados confirmando a sua eficiência fungicida e/ou fungistática.

Pesquisas tem comprovado que, dentre os diversos óleos essenciais de plantas, o de orégano encontra-se em evidência por demonstrar maior eficácia quando comparado aos demais antimicrobianos (PELLISSARI, 2009).

Ainda segundo Pelissari (2009), a utilização de filmes antimicrobianos tem se tornado um grande atrativo para a indústria alimentícia, por sua diversidade de aplicação e pelos êxitos nos resultados obtidos, porém, esta área ainda requer avanços tecnológicos e maiores detalhamentos.

3.5 PRODUÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS

Segundo Sebio (1996) a extrusão é um processo de tratamento térmico do tipo H.T.S.T. (do inglês, High Temperature In Short Time), ou seja, de alta temperatura e curto tempo, que por uma combinação de calor, umidade e trabalho mecânico modifica profundamente as matérias primas concedendo novas formas e estruturas com novas características funcionais. O processo promove a gelatinização do amido, a desnaturação e re-orientação das proteínas, a inativação

enzimática, a destruição de substâncias tóxicas tais como os inibidores das proteases e a diminuição da contagem microbiana para formar um produto de características físicas e geométricas pré-determinadas. Além disso, proporciona a hidratação de amidos e proteínas, homogeneização, desestruturação do grânulo de amido, fusão de gorduras, plastificação e expansão da estrutura alimentar (FELLOWS, 2006).

O processo de extrusão é a operação mais utilizada para elaboração de filmes flexíveis plásticos, podendo ser aplicado para obtenção de filmes biodegradáveis (SAKANAKA, 2007).

3.6 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

Segundo Sobral (2000), o uso de materiais biodegradáveis em embalagens para alimentos vai depender além de parâmetros como custo e disponibilidade, de suas propriedades funcionais: propriedades mecânicas (resistência e flexibilidade), propriedades de barreira (permeabilidades ao vapor de água), solubilidade em água, propriedades ópticas (opacidade). Essas propriedades dependem do biopolímero usado, das condições de fabricação e das condições ambientais, importantes por causa da natureza higroscópica dos biopolímeros e do plastificante usados

As propriedades mecânicas dos filmes flexíveis estão associadas ao desempenho mecânico destes materiais nos equipamentos, pois são propriedades importantes a serem verificadas a fim de garantia de qualidade. A resistência à perfuração é de grande utilidade quando se precisa dificultar a violação da embalagem (SARANTÓPOULOS *et al.*, 2002).

As propriedades de tração expressam a resistência do material à deformação por alongamento quando submetido à tração, solicitação característica das máquinas de acondicionamento, dos processos de conversão e do manuseio de embalagens (SARANTÓPOULOS *et al.*, 2002).

Dentre as funções da embalagem, além de proteger o produto contra danos físicos e mecânicos, precisam protegê-los contra a ação de fatores ambientais como gases, luz, vapor d'água e odores, desta forma a embalagem deve constituir-

se numa barreira que impeça, ou dificulte, o contato entre o ambiente externo e o produto em seu interior (SARANTÓPOULOS *et al.*, 2002).

Segundo os mesmos autores, a estabilidade da embalagem não deve ser confundida com sua resistência química, que está associada à sua capacidade de não ser afetada, quando em contato com algum agente. As características de barreira da embalagem estão relacionadas com a estabilidade química, física, sensorial, microbiológica e biológica dos produtos.

Os parâmetros opacidade e cor são os mais utilizados para caracterização das propriedades ópticas. Em filmes a base de amido, a opacidade é geralmente influenciada pela proporção de amilose e amilopectina presente.

3.7 APLICAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS COMO EMBALAGEM

A aplicação comercial de filmes de amido ou de outras macromoléculas biológicas em alimentos ainda é limitada e depende de alguns fatores como preço, processo de produção e propriedades destes materiais.

O custo deste tipo de embalagem é mais alto que o das embalagens tradicionais, como as de polietileno, no entanto, o consumidor em geral está mais consciente em relação à preservação do meio ambiente, aceitando muitas vezes preços mais elevados em favor desta preservação (MALI, 2002).

Marin (2006) apresenta resultados significativos para selagem de alface americana minimamente processada com filme biodegradável de amido de mandioca. O produto apresentou uma boa qualidade sensorial, baixa contaminação microbiológica e vida útil adequada para o tipo de produto.

3.8 QUEIJO TIPO MUSSARELA

Segundo Ribeiro (2001), a produção de queijos no Brasil iniciou-se com a colonização portuguesa. Na segunda metade do século XVIII, durante a corrida do ouro nas serras mineiras, o leite produzido pelos rebanhos destinados à alimentação

dos pioneiros passou a ser utilizado na fazenda para a produção do queijo Minas. Atualmente, a liderança na produção de queijos no Brasil pertence ao queijo mussarela, seguido pelo prato e minas.

O queijo é um alimento de alto valor nutricional, de fácil conservação, consistindo em uma forma de preservação do leite, um alimento muito perecível, por períodos mais longos (RIBEIRO, 2001). Por outro lado, o queijo ainda apresenta alta atividade de água e, por conter altos teores de proteína e lipídeos, sofre uma série de reações oxidativas e de deterioração, requerendo, portanto, uma embalagem apropriada para manter suas características sensoriais e microbiológicas estáveis durante seu armazenamento.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAL EM ESTUDO

O material utilizado para este estudo foi o amido de mandioca (*Manihot esculenta*), adquirido da empresa Indemil (Paranavaí, PR), o glicerol, da Synth (P.A.) e o polímero biodegradável empregado foi o poli (butileno adipato co-tereftalato) (PBAT), de nome comercial Ecoflex®, produzido pela Basf (Alemanha). Foram adquiridos no comércio local, o butil hidroxitolueno (BHT) e o óleo essencial de orégano *Origanum vulgare* L.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Elaboração dos filmes por extrusão

Os filmes foram produzidos no Laboratório de Tecnologia da Universidade Estadual de Londrina em extrusora de laboratório BGM modelo EL-25 composta por uma rosca de 25 mm de diâmetro (L/D=30), motor 5 cv (70 RPM), bobinadeira automática, 4 zonas de aquecimento e um sistema de sopro interno e externo (diâmetro 150 e 300 mm), sendo que o sopro interno é utilizado para formação do balão e o ar externo para resfriamento.

As diferentes composições dos filmes elaborados se encontram na Tabela 1.

Tabela 1. Formulações dos filmes elaborados por extrusão.

Formulação	PBAT	Amido	Glicerol	Óleo	BHT
F1	140g	420g	140,0g	-	-
F2	140g	420g	135,8g	4,2g	-
F3	140g	420g	135,8g	-	4,2g

Legenda: F1- filme de amido; F2- filme de amido com 1% de óleo essencial de orégano; F3- filme de amido com 1% de BHT.

Os ingredientes foram primeiramente misturados manualmente e peletizados (Figura 5A) na mesma extrusora de elaboração dos filmes. Após peletização, foram triturados (Figura 5B) e reprocessados para a formação dos filmes (Figura 5C). As temperaturas das zonas da extrusora ficaram na faixa de 90 a 120°C e rotação de rosca de 35rpm.



Figura 5. Etapas do processo de elaboração dos filmes. A-Peletes. B- Peletes triturados. C- Balão formado durante o processo de extrusão-sopro.

4.2.2 Caracterização dos filmes

Os filmes foram avaliados verificando a homogeneidade (presença de microbolhas e/ou partículas visíveis a olho nu, cor e/ou zonas de opacidade distintas), manuseabilidade (possibilidade de ser manuseado sem riscos de ruptura) e continuidade. A espessura dos filmes foi determinada utilizando um micrômetro digital (MITUTOYO) e a média aritmética de três pontos medidos aleatoriamente sobre a superfície do filme para a determinação das propriedades

mecânicas e de dez pontos para as propriedades de barreira. Antes das análises de caracterização dos filmes, os mesmos foram condicionados em temperatura ambiente ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) e 57% de umidade relativa (URE) por três dias.

4.2.2.1 Caracterização mecânica

As propriedades mecânicas estão divididas nos ensaios de tração e de perfuração e foram utilizados dez diferentes corpos de prova, os quais representam as repetições nos testes estatísticos do experimento.

4.2.2.1.1 Teste de tração

O filme foi cortado em corpos de prova com dimensão de 50 mm de comprimento por 20 mm de largura e foram submetidos a um teste de tração, sendo determinados a tensão e deformação na ruptura e o módulo de elasticidade ou módulo de Young, de acordo com o método padrão D 882-95 da American Society for Testing and Materials (ASTM, 1995) realizado no equipamento texturômetro TA.TX2 Stable Micro Systems (Surrey – Inglaterra) do Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UEL. A distância inicial entre as garras do equipamento foi ajustada para 30 mm e a velocidade de tração em 0,8 mm/segundos. No teste de tração foram obtidos os valores de resistência mecânica à tração (F - MPa), da alongação (Alongação - %) que representou a deformação máxima do filme até o ponto de ruptura e do módulo de elasticidade (Md. Y. - MPa).

A resistência mecânica à tração é a tensão máxima exercida até o momento de ruptura, em Mega Pascal (MPa), calculada através da relação entre a força e a área da seção transversal inicial do filme. A deformação na ruptura ou alongação foi expressa em porcentagem e determinada diretamente da curva de tensão versus deformação, considerada como deformação linear. O módulo de elasticidade, expresso em MPa, foi calculado como sendo a inclinação da região linear da curva de tensão em função da deformação e representou a rigidez do material analisado.

4.2.2.1.2 Teste de perfuração

Os filmes foram fixados em uma célula com 60 mm de diâmetro de abertura e perfurado por uma sonda de 5 mm de diâmetro deslocando-se a 1 mm/s perpendicularmente à superfície do filme (Figura 1). O filme foi tensionado até sua ruptura, com a finalidade de determinar a quantidade de força necessária para a perfuração do mesmo, utilizando o texturômetro TA.TX2 Stable Micro Systems (Surrey – Inglaterra) do Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UEL. Curvas de força versus deformação foram registradas, sendo que a Força de Perfuração (N), corresponde ao ponto máximo da curva.

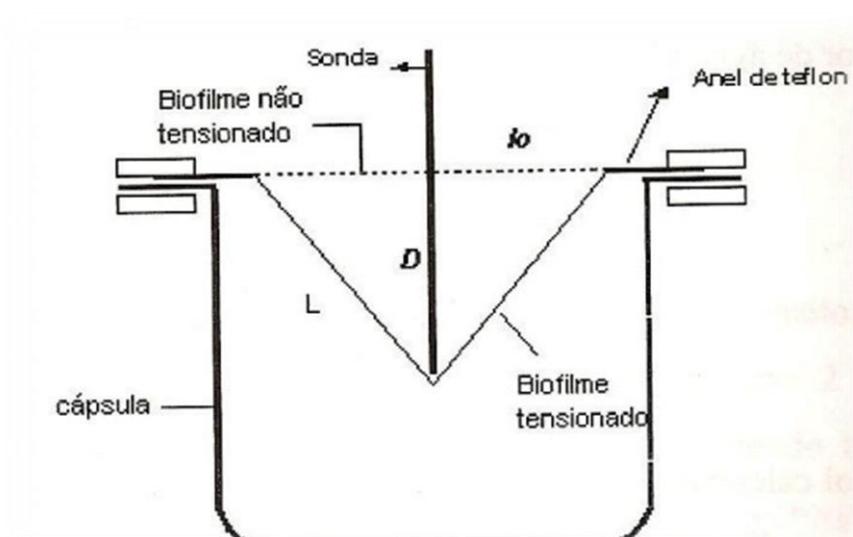


Figura 6. Esquema do sistema de determinação da força da deformação em teste de ruptura.

Fonte: SAKANAKA, 2002.

$$\frac{\Delta L}{L_0} = \frac{(D^2 + L_0^2)^{1/2} - L_0}{L_0} \quad (\text{Equação 1})$$

No teste de perfuração foram obtidos os valores da deformação máxima do filme até o ponto de ruptura causado pela sonda e a força máxima exercida pela mesma.

4.2.2.2 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

As análises de permeabilidade de vapor d'água foram feitas segundo descrito em Sarantópoulos et al. (2002) baseado na norma E 96-95 da ASTM (1996). Cada amostra foi fixada na abertura circular (60 mm) da cápsula de permeabilidade, de modo a garantir que a migração de umidade ocorra exclusivamente através do filme. Periodicamente, foram feitas pesagens da cápsula com o filme em balança analítica até a obtenção de uma taxa constante de ganho de peso. O ganho de peso (g) foi graficado em função do tempo (s) e, da reta obtida por regressão linear no regime constante, foi determinado o coeficiente angular (g/t), e calculada a taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA). A determinação da permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi feita de acordo com a Equação 2:

$$\mathbf{PVA=(g/t).(e/A.\Delta P)} \quad \text{(Equação 2)}$$

onde, g/t é o coeficiente angular (g/dia), A é a área de permeação (m²), e é a espessura média dos filmes (m), ΔP é a diferença de pressão de vapor de água (kPa) entre as superfícies do corpo de prova.

Os testes de PVA foram realizados nas seguintes condições iniciais de umidade relativa de equilíbrio (URE): 0-75%; 33-64% e 64-100%; proporcionadas com o uso de soluções saturadas - MgCl₂ (33% URE); NaNO₂ (64% URE), NaCl (75% URE), água pura (100% URE) e sílica gel (0%URE). As cápsulas de permeabilidade foram deixadas dentro de dessecadores e pesadas durante 7 dias. A análise foi realizada em triplicata. O esquema do teste esta mostrado na Figura 7.

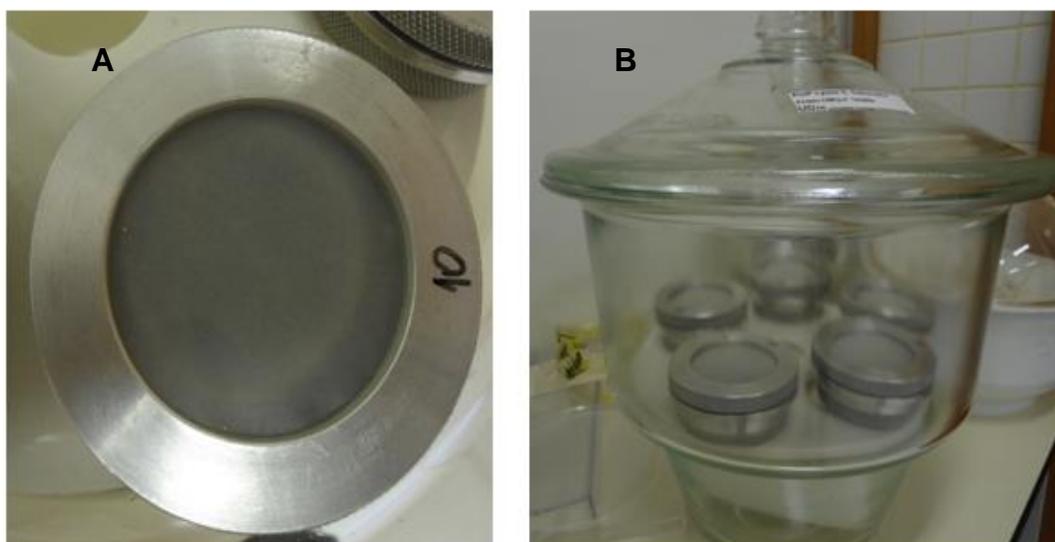


Figura 7. Análise de permeabilidade de vapor de água. A- Vista superior da capsula de permeabilidade. B- Vista dessecador contendo as capsulas de PVA.

4.2.3.3 Solubilidade

A solubilidade dos filmes em água é uma importante propriedade para determinar a aplicabilidade destes como embalagem, na maioria dos casos de alimentos com alta atividade de água. Há o interesse em reduzir a transferência de água entre o produto e o meio externo, e como esta propriedade está relacionada com a solubilidade do filme, filmes com alta solubilidade podem comprometer suas propriedades mecânicas e de barreira. A matéria solúvel em água foi determinada seguindo o método usado por Carvalho (1997). O sistema funciona com agitação lenta e constante de 60 RPM do filme imerso em água, e após esta condição, foi determinado o conteúdo de matéria seca não solubilizada dos filmes, por secagem em estufa, por 24 horas a 105°C. Esta análise foi realizada em duas condições, a 25±2°C/24 horas e a 60±5°C/30 minutos. A análise foi realizada em triplicata. A solubilidade (Solub.) foi calculada de acordo com a Equação 3.

$$\text{Solub. (\%)} = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Onde:

m_i = massa seca inicial do filme (g);

m_f = massa seca final do filme (g);

4.2.3.4 Teste de opacidade

A opacidade dos filmes foi determinada pela utilização de um colorímetro Minolta modelo CRIO, do Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina. A opacidade foi mensurada a partir da relação entre o componente de Luminosidade (L) de leituras feitas sobre fundo branco e preto e o cálculo feito por meio da Equação 4. As análises foram feitas com oito repetições.

$$Y(\%) = L_b/L_p \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

Onde:

L_p : Opacidade sobre o fundo preto;

L_b : Opacidade sobre fundo branco.

4.2.3.5 Isotermas de sorção

As amostras foram cortadas de forma aleatória em pequenos pedaços, e condicionadas por sete dias em dessecador contendo cloreto de cálcio anidro (UR aproximadamente zero). Em seguida, foram pesadas (0,5g) em pesa-filtros previamente tarados, e colocados no equipamento Aqua Sorp Isotherm Generator marca Decagon Devices (EUA). O equipamento registra valores de pesagens sucessivas até atingirem o equilíbrio a uma dada umidade relativa, gerando as curvas de sorção e dessorção. O conteúdo de umidade da amostra no equilíbrio foi calculado através do aumento da massa da amostra seca após equilíbrio a dada umidade relativa e foi expresso em g de água/ g de massa seca. O ensaio foi

realizado em duplicata para cada formulação e as isotermas foram obtidas pela plotagem da umidade atingida pelas amostras no equilíbrio versus a umidade relativa. Para a modelagem dos dados utilizou-se o modelo de Guggenheim-Anderson-deBôer (GAB), conforme Equação 5:

$$X_w = \frac{C \cdot k \cdot m_0 \cdot a_w}{[(1 - k \cdot a_w) \times (1 - k \cdot a_w + C \cdot k \cdot a_w)]} \quad (\text{Equação 5})$$

Onde x_w é o conteúdo de umidade no equilíbrio, a_w , atividade de água; m_0 , o teor de água na monocamada, C , e k constantes.

4.2.4 Armazenamento do Queijo Mussarela

Uma vez confeccionados os filmes, os mesmos foram cortados e selados. O queijo mussarela foi fatiado e adquirido no comércio local de Londrina, embalado em bandejas de poliestireno expandido com filme de PVC (poli- cloreto de vinila) e com os filmes dos tratamentos F1, F2 e F3 contendo 50g de queijo. As embalagens foram armazenadas em uma BOD, a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ e URE de 55% durante 10 dias, tempo de vida de prateleira em supermercados (Figura 8).

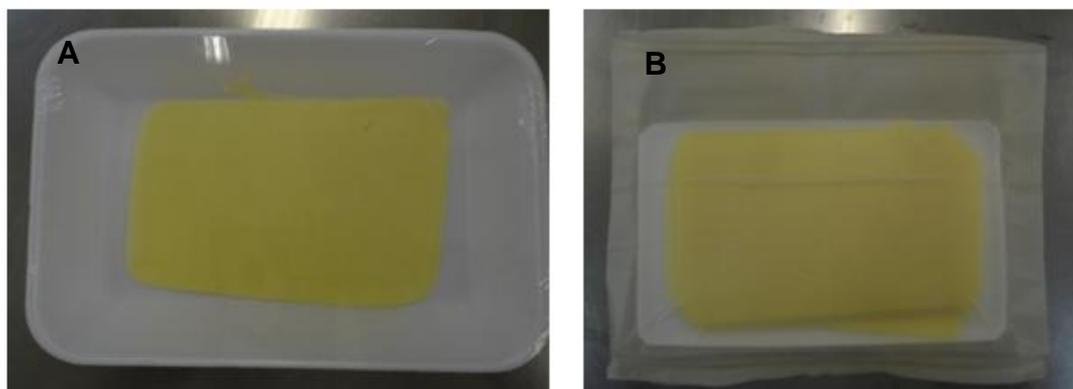


Figura 8. Fotografias das embalagens. A- Embalagem de PVC. B- Embalagem de filme biodegradável.

4.2.4.1 Determinação de perda de massa

A perda de massa durante a armazenagem foi calculada em porcentagem em relação ao peso inicial do queijo, pela Equação 6, em triplicata.

$$\% \text{ perda de massa} = (m_i - m_f) / m_i \times 100 \quad (\text{Equação 6})$$

Onde:

m_i = massa do queijo no início da armazenagem (g);

m_f = massa do queijo após determinado tempo (t) de armazenagem (g).

4.2.4.2 Análises físico-químicas

Foram realizadas análises de proteínas, umidade e cinzas de acordo com metodologia descrita pela AOAC (1995) no início e final do armazenamento refrigerado do produto, em triplicata.

4.2.4.3 Análise Microbiológica

A contagem de micro-organismos mesófilos, as amostras no tempo 0 e após 10 dias de armazenamento, foram inoculadas em Plate Count Agar (PCA), e incubadas a 37°C por 48 horas, segundo Vanderzant e Splittstoesser (1992).

Para a contagem de bolores e leveduras foi feita com inoculação em Ágar Batata Dextrose e incubadas por 3-5 dias a 25°C, segundo Siqueira (1995).

Para análises de *Salmonella sp.* e *Escherichia coli* as amostras foram fracionadas assepticamente em porções de 25g, em placas de Petri estéreis, com o auxílio de facas e espátulas esterilizadas, em seguida, foram colocadas em erlenmeyer, contendo 225 ml de água peptonada estéril, procedido de homogeneização por 3 minutos. Considerou-se esta, a diluição 10^{-1} . Em seguida,

foram realizadas diluições seriadas (SILVA et al., 2007; VANDERZANT & SPLITTTOESSER, 1992). Em seguida, utilizou-se da técnica de tubos múltiplos para *E. coli* e pré-enriquecimento para *Salmonella* spp.

Para de determinação de *E.coli* foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos, com combinação seriada de três tubos contendo caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), caldo Verde Bile Brilhante (VB) e caldo *E.coli* Medium (EC). Como não houve crescimento com formação de gás a análise foi finalizada.

Para análise de *Salmonella* spp. uma porção de 25g de cada amostra de queijo foi inoculada em 225 ml de Caldo Lactose e incubada à 35°C, por 24 horas. Alíquota de 1 ml do caldo foi transferida para um tubo de ensaio contendo 9 ml de caldo tetratonato (TT) e incubado à 37°C por 24 horas, para pré-enriquecimento. A partir dos caldos de enriquecimento, realizou-se o plaqueamento em Agar xilose-lisina desoxicolato (XLD), através da técnica de estriamento, executada em triplicata.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos na caracterização mecânica, a permeabilidade aos vapores de água, as propriedades ópticas, a solubilidade e isotermas de sorção foram submetidos à análise estatística de variância (ANOVA) e as diferenças estatísticas entre as médias foram identificadas pelo teste de comparação de médias de Tukey ($p < 0,05$), utilizando-se o programa Statistica® 7.0 (Statsoft, USA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

5.1.1 Propriedades mecânicas

Os resultados dos contrastes do teste de comparação de médias de Tukey para os ensaios de tração e perfuração estão demonstrados na Tabela 2. Houve diferença significativa a $p \leq 0,05$ entre pelo menos dois tratamentos para todas as respostas do teste de tração e não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre os tratamentos para todas as respostas do teste de perfuração para todas as condições testadas.

Tabela 2. Teste de comparação de médias de Tukey para os ensaios de tração e perfuração.

Formulações	Teste de tração*			Teste de perfuração*	
	T (MPa)	Elongação (%)	Módulo Young (MPa)	F (N)	$\Delta L/L_0$ (%)
F1	3,56 ^a	56,70 ^b	0,60 ^a	16,26 ^a	20,41 ^a
F2	3,08 ^b	74,45 ^a	0,46 ^b	16,59 ^a	21,34 ^a
F3	3,25 ^{ab}	81,34 ^a	0,50 ^{ab}	18,10 ^a	20,64 ^a

*Letras iguais em uma mesma coluna não apresentam diferença significativa a $p \leq 0,05$, entre médias obtidas através do teste de Tukey. Legenda: F1- filme de amido; F2- filme de amido com 1% de óleo essencial de orégano; F3- filme de amido com 1% de BHT; T- tensão na ruptura, F- força na ruptura, $\Delta L/L_0$ - deformação.

Apesar da tensão na ruptura dos filmes apresentar diferenças significativas, em termos de aplicação tecnológica essas diferenças não são consideráveis podendo-se dizer que os filmes apresentaram tensão semelhantes. No trabalho de Dias (2011), filmes a base de amido e PBAT encontrou resultados de tensão na ruptura de 2,99 MPa enquanto que o presente trabalho encontrou 3,56 MPa, essa diferença pode ser devida ao fato de Dias (2011) trabalhar com uma formulação contendo uma proporção amido:PBAT de 60:40, enquanto que neste trabalho a proporção foi de 80:20.

Pelissari (2009) encontrou resultados de tensão na ruptura de 2,54 MPa e com a incorporação de 1% de óleo essencial de orégano essa tensão reduziu para 1,43 MPa, sendo que suas formulações não contem PBAT, apresentando filmes mais frágeis quando comparados com o presente trabalho que apresentou tensão na ruptura de 3,08 MPa com incorporação de 1% de óleo essencial.

Dias (2011) encontrou resultados de tensão na ruptura de 2,98 MPa nos filmes com incorporação de 1% de BHT, enquanto que no presente trabalho apresentou 3,25 MPa, isso se explica devido Dias (2011) trabalhar com uma formulação contendo uma proporção amido:PBAT de 60:40, enquanto que neste trabalho a proporção foi de 80:20. Comportamentos semelhante foi observado com relação aos resultados de força na ruptura em testes de perfuração.

Ao contrario que foi verificado nos valores de tensão na ruptura a medida que incorpora óleo essencial, reduz a tensão e aumenta a elongação, isso é visível nos filmes do presente trabalho filmes contendo somente amido e PBAT (F1) apresentou uma elongação de 56,70% quando incorpora óleo essencial esse valor aumenta para 74,45% (F2), isso também foi observados nos filmes de Pelissari (2009) formulações sem óleo essencial apresentou uma elongação de 23,07% com a incorporação de 1% de óleo essencial essa elongação aumentou para 48,40%.

5.1.2 Permeabilidade aos vapores d'água

Não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre os tratamentos para todas as respostas do teste de permeabilidade aos vapores de água para todas as condições testadas.

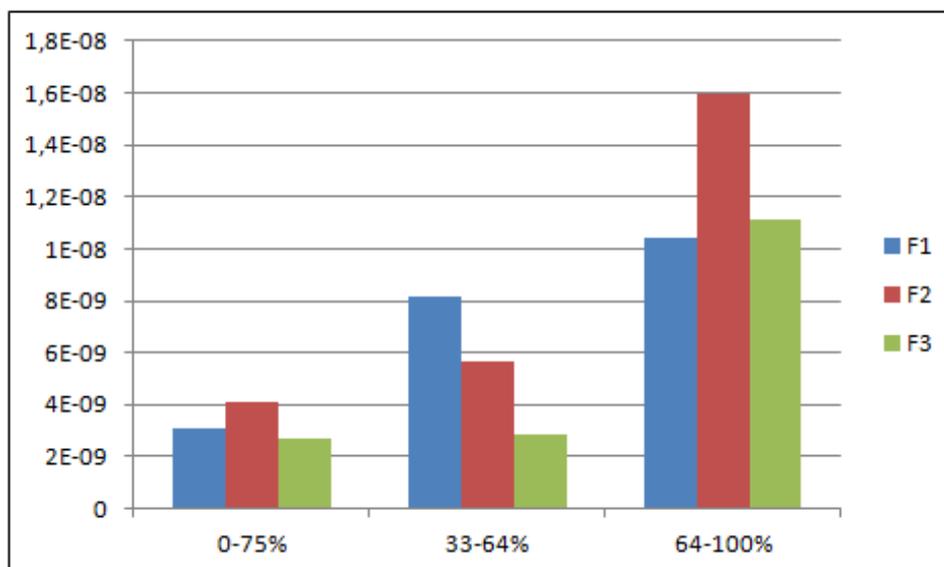


Figura 9. Gráfico dos valores das médias da PVA (g/Pa.m.s) dos tratamentos conduzidos em três condições de diferença de pressão de vapor de água de ΔP (0-75%), ΔP (33-64%) e ΔP (64-100%).

Legenda: F1- filme de amido; F2- filme de amido com 1% de óleo essencial de orégano; F3- filme de amido com 1% de BHT.

De acordo com a Figura 9 que demonstra os resultados da PVA, os filmes que foram conduzidos em condições de diferença de pressão de vapor de água de ΔP (0-75%) apresentaram comportamentos semelhantes. O tratamento F3 apresentou o menor valor para a PVA em condição de diferença de pressão de vapor de água de ΔP (33-64%) e valor de PVA intermediário quando expostos a um ambiente de maior umidade relativa (ΔP 64-100%). Nesta mesma condição, percebe-se na Figura 9 que o tratamento F2 demonstrou o maior valor de PVA e este comportamento sugere que o óleo essencial adicionado pode ter se ligado à matriz em decorrência do processamento térmico, assim como observado por Madsen e Bertelsen (1995), pois pela possível ação plastificante a matriz menos densa aumenta a mobilidade das moléculas de água sorvida na estrutura dos filmes. Conhecer a PVA dos materiais ajuda a definir sua aplicabilidade como, por exemplo, filmes muito permeáveis podem ser utilizados para embalar produtos frescos (MULLER et al.,2008; ASTM, 1996).

O BHT possivelmente interagiu mais com as cadeias de amido e devido a menor presença de grupos hidroxilas livres, há redução da PVA. O comportamento oposto foi observado por Pelissari (2009), em que a PVA diminuiu de 10 para

$6,2 \times 10^{-9}$ g/Pa.m.s. foi obtida em filmes com 1% de óleo essencial de orégano e quitosana, sendo este o menores valor entre os tratamentos.

Como era de se esperar em ambientes com altas umidades relativas observa-se que a presença do amido por ser um componente bastante hidrofílico se sobrepõe ao efeito dos aditivos utilizados (óleo essencial e BHT).

5.1.3 Teste de solubilidade

Não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre os tratamentos para todas as respostas do teste de solubilidade para todas as condições testadas. Os resultados da solubilidade estão mostrados na Tabela 3.

Tabela 3. Média dos valores de solubilidade nas duas condições de temperatura testadas.

Formulações	Solubilidade 25°C (%)	Solubilidade 60°C (%)
F1	31,02 \pm 3,69 ^a	30,33 \pm 1,12 ^a
F2	28,98 \pm 0,72 ^a	29,15 \pm 1,53 ^a
F3	29,67 \pm 0,60 ^a	28,94 \pm 1,83 ^a

*Letras iguais em uma mesma coluna não apresentam diferença significativa a $p \leq 0,05$, entre médias obtidas através do teste de Tukey. Legenda: F1- filme de amido; F2- filme de amido com 1% de óleo essencial de orégano; F3- filme de amido com 1% de BHT.

A incorporação de 1% dos aditivos nos filmes não apresentou efeito sobre a solubilidade dos mesmos. Em trabalho realizado por Olivato (2012) verificou filmes com proporções de amido:PBAT 55:45 com 10,48% de solubilidade, valor menor do que encontrado neste trabalho, isso devido a menor concentração de amido.

5.1.4 Teste de opacidade

Os resultados dos contrastes do teste de comparação de médias de Tukey para o teste de opacidade demonstrados na Tabela 4 houve diferença significativa a $p \leq 0,05$ entre pelo menos dois tratamentos para todas as respostas do teste.

Tabela 4. Teste de comparação de médias de Tukey para os ensaios de opacidade.

Formulações	Opacidade (%)
F1	51,41 ^b
F2	57,27 ^a
F3	56,00 ^a

*Letras iguais em uma mesma coluna não apresentam diferença significativa a $p \leq 0,05$, entre médias obtidas através do teste de Tukey. Legenda: F1- filme de amido; F2- filme de amido com 1% de óleo essencial de orégano; F3- filme de amido com 1% de BHT.

Os tratamentos F2 e F3 correspondentes aos filmes contendo óleo essencial e BHT respectivamente apresentaram maior opacidade do que o tratamento F1, sem aditivo. Esse resultado provavelmente pelo caráter hidrofóbico dos aditivos. Dias (2011) apresentou trabalho com opacidade de 64,27%, maior que do referido trabalho, isso ocorreu devido à maior concentração do polímero PBAT com proporção de 40% e adição de BHT. No trabalho de Brito (2012), encontrou 58,41% de opacidade em filmes com óleo essencial adicionado de gelatina.

5.1.5 Isotermas de sorção

Não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre os tratamentos para todas as respostas das isotermas de sorção para todas as condições testadas. A Tabela 5 relaciona os parâmetros obtidos dos modelos de GAB para os filmes produzidos.

Tabela 5. Parâmetros dos modelos de GAB^a para os filmes desenvolvidos.

Formulações	C	k	m ₀	R ²
F1	1,7115 ^a	1,0312 ^a	3,8961 ^a	0,9990 ^a
F2	1,8469 ^a	1,0462 ^a	3,3239 ^a	0,9980 ^a
F3	1,1637 ^a	1,0283 ^a	4,0796 ^a	0,9955 ^a

^a $X_w = ((c-1) k a_w m_0) / (1 + (c-1) k a_w) + (k a_w m_0) / (1 - k a_w)$, onde X_w é o conteúdo de água no equilíbrio a dada atividade de água (a_w), m_0 é o valor de monocamada (g água/ g sólidos) e C e k são constantes.

*Letras iguais em uma mesma coluna não apresentam diferença significativa a $p \leq 0,05$, entre médias obtidas através do teste de Tukey. Legenda: F1- filme de amido; F2- filme de amido com 1% de óleo essencial de orégano; F3- filme de amido com 1% de BHT.

Os parâmetros obtidos dos modelos de GAB para os filmes produzidos estão descritos na Tabela 5 o valor da monocamada (m_0) indica a quantidade máxima de água que pode ser adsorvida em uma camada única por grama de filme seco, sendo uma medida do número de sítios de sorção. Geralmente, os valores para monocamada são maiores nos filmes contendo mais glicerol, pois tem maior afinidade pela água (OLIVATO, 2010).

No trabalho de Olivato (2010), os maiores valores da monocamada foram observados para os filmes contendo anidrido maleico e ácido cítrico 0,0427g de água / g sólidos. No presente trabalho os maiores valores para a monocamada foram observados para o filme contendo BHT 4,0796 g de água / g sólidos.

A constante C esta relacionada ao calor de sorção da monocamada (constante Guggenheim) e k a constante relacionada ao calor de sorção das multicamadas. As constantes C e k , são parâmetros que independem da composição do material e determinam a curvatura das isotermas em elevadas atividades de água (OLIVATO, 2010; COSTA, 2007).

Costa (2007) encontrou um valor para k de 0,974 para formulação de amido:PBAT (80:20%), valor similar quando comparado ao apresentado pelo presente trabalho, em torno de 1,035. Os valores encontrados para a constante C é mais baixo do que os relatados por outros autores (OLIVATO, 2010; PELISSARI, 2009; COSTA, 2007). A curva na Figura 10 representa um exemplo de isoterma de sorção dos filmes.

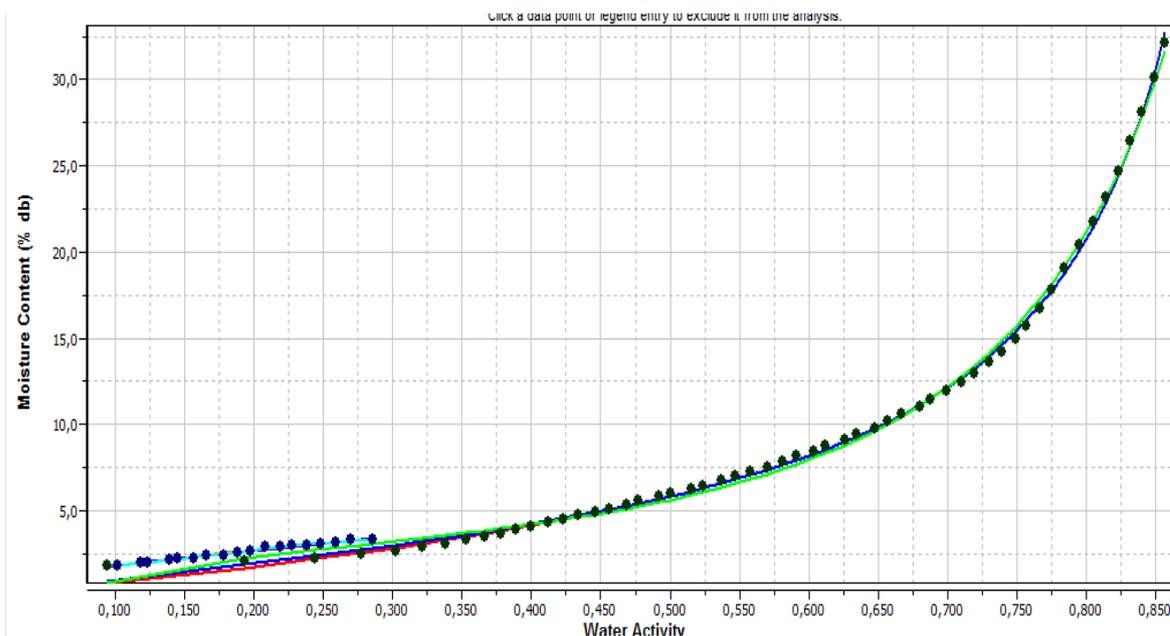


Figura 10. Isoterma de sorção dos filmes ajustados pelo modelo de GAB.

5.2 ANÁLISES DO QUEIJO ARMAZENADO

5.2.1 Perda de massa

A Figura 11 mostra os valores das médias da perda de massa durante o armazenamento do queijo mussarela. O tratamento F1 apresentou a maior perda de massa em torno de 14,8%, isso se explica por ser um filme de apenas amido e PBAT apresentando maior permeabilidade aos vapores de água, permitindo maior interação com o meio. Os tratamentos F2 e F3 se mostraram eficazes, ou seja, apresentaram uma menor perda de massa, enquanto o PVC (poli- cloreto de vinila) apresentou uma perda de massa próximo de 2%, resultado já esperado, pois filmes de PVC apresentam uma baixa permeabilidade.

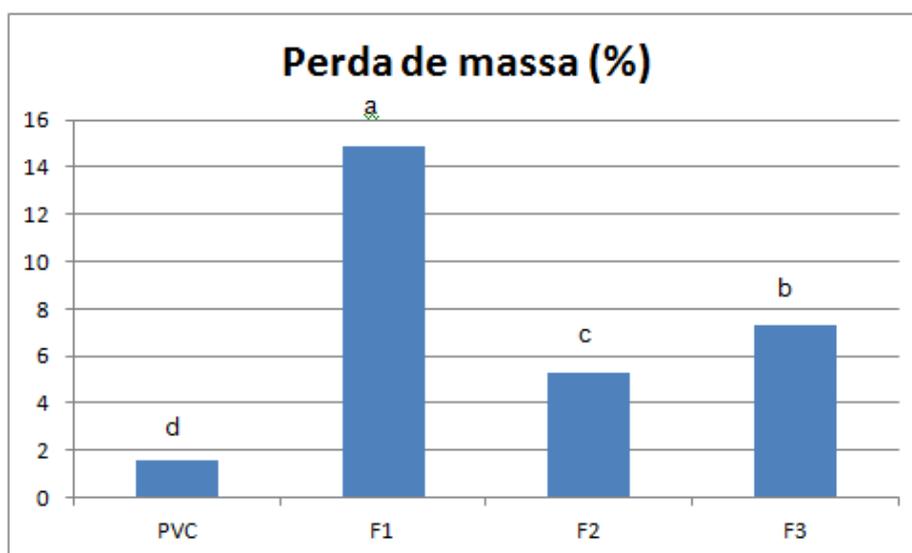


Figura 11. Gráfico dos valores das medias da perda de massa durante o armazenamento.

Legenda: PVC- poli-cloreto de vinila; F1- filme de amido; F2- filme de amido com 1% de óleo essencial de orégano; F3- filme de amido com 1% de BHT.

5.2.2 Análises físico-químicas

Os resultados do teste de comparação de médias de Tukey para a análise de umidade, proteína e cinzas estão descritos na Tabela 6, e observa-se que houve diferença significativa a $p \leq 0,05$ entre pelo menos dois tratamentos para todas as respostas do teste.

Tabela 6. Médias das análises físico-químicas do queijo mussarela.

Formulações	Umidade (%)	Proteína (%)	Cinzas (%)
F ₀	46,4866 ^a	20,8217 ^b	3,1504 ^d
PVC	45,5054 ^a	24,3184 ^{ab}	3,7420 ^b
F1	31,8494 ^c	29,3254 ^a	3,9544 ^a
F2	39,9404 ^b	24,6373 ^{ab}	3,6762 ^b
F3	38,8968 ^b	23,3302 ^{ab}	3,5451 ^c

*Letras iguais em uma mesma coluna não apresentam diferença significativa a $p \leq 0,05$, entre médias obtidas através do teste de Tukey. Legenda: F₀- amostras no tempo zero; PVC- poli-cloreto de vinila; F1- filme de amido; F2- filme de amido com 1% de óleo essencial de orégano; F3- filme de amido com 1% de BHT.

Apesar da análise estatística considerar que as amostras são diferentes entre si, os valores encontrados estão de acordo com os apresentados na tabela TACO (2011), que para queijo mussarela a umidade, proteína e cinzas é de 45,3%, 22,6% e 3,8% respectivamente. As variações observadas nos queijos embalados com filmes biodegradáveis podem ser devidas à perda de umidade do queijo durante o armazenamento.

5.2.3 Análises microbiológicas

Os resultados das análises microbiológicas do queijo mussarela no tempo zero (F_0) e dos quatro tratamentos (Tabela 7) após 10 dias, foi ausente para as análises de *Escherichia coli* e *Salmonella spp.*. Para os micro-organismos mesófilos houve um crescimento de $1,4 \times 10$ UFC/g para o tempo zero, isso pode ser explicado devido a alta umidade do queijo. Houve um crescimento $1,2 \times 10$ UFC/g no uso do filme de PVC, pois as bandejas embaladas com PVC apresentaram a formação de gotículas de água ao longo do armazenamento, devido à sua menor PVA, o que elevou o conteúdo de umidade no interior destas bandejas, favorecendo o crescimento de micro-organismos, mesmo antes da deterioração do queijo. Mali, Grossmann e Yamashita (2003), também observaram a formação de gotículas em bandejas comparando o comportamento de filmes a base de amido de inhame com filmes de PVC. Em relação aos tratamentos F1, F2 e F3 houve um crescimento de micro-organismos mesófilos provavelmente em função da permeabilidade dos filmes, corroborando com os dados de permeabilidade ao vapor de água. A porosidade dos filmes pode ter permitido a passagem de micro-organismos do ambiente para o interior das embalagens.

De acordo com normas estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a Resolução RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001 estabelece ausência para *Salmonella spp.* em 25g de produto e o presente trabalho esta de acordo com as normas estabelecidas pela ANVISA.

Tabela 7. Contagem em *Escherichia coli*, *Salmonella ssp.*, micro-organismos mesófilos e bolores e leveduras em queijo mussarela armazenado durante 10 dias.

Formulações	<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)	<i>Salmonella spp.</i> (ausência/ presença em 25g)	Micro-organismos mesófilos (UFC/g)	Bolores e leveduras (UFC/g)
F ₀	Ausente	Ausente	1,4x10	Ausente
PVC	Ausente	Ausente	1,2x10	Ausente
F1	Ausente	Ausente	2,4x10 ³	1,2x10
F2	Ausente	Ausente	2,7x10 ³	1,2x10
F3	Ausente	Ausente	2,0x10 ³	1,2x10

Legenda: F₀- amostras no tempo zero; PVC- poli-cloreto de vinila; F1- filme de amido; F2- filme de amido com 1% de óleo essencial de orégano; F3- filme de amido com 1% de BHT.

Para bolores e leveduras não houve crescimento no tempo zero e para os filmes com PVC, enquanto que para os tratamentos F1, F2 e F3 houve um crescimento 1,2x10 UFC/g. Marin (2006) ao armazenar alface americana utilizando filmes de amido também observou crescimento de bolores e leveduras (>10³ UFC/g) no final de 9 dias de armazenamento. Em trabalho de Olivato, Mali e Grossmann (2006) que embalou queijo prato em filmes a base de amido de inhame e a partir do 14º dia de armazenamento mostraram contaminação com mesófilos, bolores e leveduras acima de 10³UFC/g de produto, comparando com o presente trabalho, pode-se dizer que o crescimento microbiano foi inferior até o 10º dia de armazenamento.

No presente trabalho, esse crescimento provavelmente se deu por contaminação durante o processo de armazenamento do queijo, mesmo sendo realizada a sanitização e higienização de todo o local e utensílios, porém o ambiente não era totalmente estéril podendo ter ocorrido contaminação pelo ar. Adicionalmente o tratamento térmico utilizado para elaboração dos filmes pode ter volatilizado ou ocorreu inativação de alguns componentes do óleo essencial que possuíam atividade antimicrobiana ou proporcionou sua interação com a matriz polimérica, suprimindo sua atividade inibitória (MADSEN e BERTELSEN, 1995).

6 CONCLUSÃO

As propriedades dos filmes biodegradáveis apresentaram diferenças significativas em algumas delas, devido aos aditivos utilizados. O óleo essencial utilizado na formulação não apresentou efetividade muito provavelmente por perdas ocorridas durante o processamento do filme. Os filmes biodegradáveis pode ser uma alternativa para esse tipo de produto, no entanto, mais estudos devem ser realizados para aprimorar técnicas e garantir a atividade das propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais de modo a permitir o seu uso nas embalagens, e estes serem considerados embalagens ativas, e ainda melhorando as propriedades de barreira do bioplástico.

Uma sugestão para trabalhos futuros é utilizar outras técnicas para incorporação do óleo essencial nos filmes, como a borrifação do mesmo sobre o filme já pronto.

REFERÊNCIAS

ALVES, Maria Manuela; TOMÁS, Rui. Embalagens biodegradáveis. In: CASTRO, A. Gomes POUZADA, A. Sergio. **Embalagens para a indústria alimentar**. Lisboa: Instituto Piaget, 1990. p. 373-380. 2003.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. **Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting (D-882-95a)**. In: _____. Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: ASTM, 1995 (CD-ROM).

AMIDOS: fontes, estruturas e propriedades funcionais. Disponível em: (http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/124.pdf). Acesso em 23 out 2011.

AOAC INTERNATIONAL. Official methods of analysis. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995. v.1-2.

ARAÚJO, Julio M. A. Antioxidantes. In: _____. **Química de alimentos: teoria e prática**. 3 ed. Viçosa: UFV, 2004.p.69-95.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 12, de 02/01/2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2001.

BRITO, R. M. **Elaboração e caracterização de filmes a base de amido, gelatina, glicerol e óleo essencial**, 2013. 39f. Trabalho de conclusão de curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos) Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2013

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. (1992), Carboidratos. In: _____. **Química do processamento de alimentos**. 3 ed. São Paulo: Varela, 1992, p. 47-78.

CARVALHO, Rosimere A. **Desenvolvimento e caracterização de biofilmes a base de gelatina**.128f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Engenharia de alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas-SP. 1997.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F. **Tecnologias, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas**, v.3. São Paulo: Fundação Cargill, 2003, 711p.

CEREDA, M. P. **Agricultura: tuberosas amiláceas Latino Americanas**. v.2. São Paulo: Fundação Cargill, 2002, 539 p.

DIAS, Adriana Passos. **Filmes biodegradáveis a base de amido de mandioca (*Manihot esculenta*), PBAT e BHT**. 2011. 50f. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso superior de Tecnologia em Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2011.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 2a ed., Porto Alegre: Artmed, 2006, 602p.

FRANCO, Célia Maria L. *et al.* Introdução. In:_____. **Propriedades gerais do amido**. v.1. Campinas: Fundação Cargill, 2001a. 221p. (Cultura de Tuberculosas Amiláceas Latino Americanas).

_____. Produção e uso do amido. In: _____. **Propriedades gerais do amido**. v.1. Campinas: Fundação Cargill, 2001b.

GAVA, A. J. **Princípios de tecnologia em alimentos**. São Paulo: Editora Nobel. Ed. 1. 1998, 284 p.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.L. Water and glycerol as plasticizer affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Science**, v 58, n1, p.206-211, 1993.

MADSEN, H. L., BERTELSEN, G. Spices as antioxidants. **Trends in food science and Technology**, v. 6, n.8, p. 271-277, 1995

MALI, Suzana. **Produção caracterização e aplicação de filmes plásticos biodegradáveis a base de amido de cará**. 2002. 150 f. Tese (Doutorado em Ciência Agrária de Alimentos) - Centro de Ciência Agrária, Universidade Estadual de Londrina, 2002.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. **Effects of yam starch films on storability and quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*)**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, 2003. p.7055-7011.

MALI, S. et al. (2005), **Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect**. Carbohydrate Polymers, vol. 60, n.3, p 283-289.

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

MARIN, Tatiana. **Embalagem ativa para alface – americana (lactuca sativa). Minimamente processado**. 2006. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de alimentos) – Centro de Ciência Agrária, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2006.

OLIVATO, J. B; MALI, S; GROSSMANN, M. V.E. **Efeito de embalagem biodegradável de amido no armazenamento de queijo processado**. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 27, n. 1, p. 81-88, jan./mar. 2006

OLIVATO, Juliana Bonametti. **Compatibilizantes na extrusão reativa de blendas amido/poli (butileno adipato co-tereftalato) para produção de filmes biodegradáveis**. 2010. 99f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos)- Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010

OLIVATO, J.B. GROSSMANN, M.V.E. BILCK, A.P. YAMASHITA F. **Effect of organic acids as additives on the performance of thermoplastic starch/polyester blown films**. Carbohydrate Polymers 90 (2012) 159– 164.

PEREIRA, Lúcia. H.G. (2008), **Obtenção e estudo das propriedades físico-químicas de amidos de mandioca (*Manihot esculenta*) oxidados e ácido-modificados**. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação. Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2008.

RIBEIRO, Eliana P. Queijos. In: AQUARONE, Eugênio. **Biotecnologia Industrial**. São Paulo: Edgard Blucher, 2001. p. 225-253.

SAKANAKA, Lyssa S. **Estudo das condições de armazenamento sobre as propriedades mecânicas e de barreira de filmes de gelatina reticulada**. 140 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) –Departamento de Engenharia de alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas-SP. 2002.

SAKANAKA, L.S. **Confecção de filmes biodegradáveis por extrusão de blendas de amido termoplástico e polibutileno succinato co-adipato (PBSA)**. 109p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

SARANTÓPOULOS, Clarie I. G. L. *et al.* Propriedades mecânicas. In: _____. **Embalagens plásticas flexíveis: Principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ITAL: 2002a p.137-177.

_____. Propriedades de barreira. In: _____. **Embalagens plásticas flexíveis: Principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ITAL: 2002b. p.179-221.

SARMENTO, André L.S.C. **Elaboração e caracterização de biofilmes a partir de gelatina reticulada**. 169 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Departamento de Engenharia de alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas-SP. 1999.

SEBIO, Leonardo. **Efeito de alguns Parâmetros Operacionais de Extrusão nas Propriedades Físico-químicas da farinha de inhame (*Dioscorea rotundata*)**. Dissertação (Mestrado) Campinas, SP. 1996. 106p.– Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas., 1996.

SIQUEIRA, R.S. (1995), **Manual de microbiologia de alimentos**. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos, 1995, 159p.

SOBRAL, Paulo J.A. **Proteínas de origem animal na tecnologia de biofilmes**. Tese (Livre-Docência apresentada a Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos) – Universidade de São Paulo. Pirassununga- SP. 2000.

TACO. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. NEPA – UNICAMP.- 4. ed. Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011. 161 p.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. (1992), **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington: American Public Health Association, 1219p.

VICENTIN, Nívea M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita**. Tese (Doutorado em Agronomia Área de concentração em Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônomicas UNESP, Botucatu, 2003.

ZAMUDIO-FLORES, P. B., VARGAS-TORRES, A., PÉREZ-GONZÁLEZ, J., BOSQUEZ-MOLINA, E., BELLO-PÉREZ, L. A. (2006), **Films prepared with oxidized banana starch: mechanical and barrier properties**. Starch/Starke , Vol. 58, pp. 274-282

ZAMUDIO-FLORES, P. B; BAUTISTA-BANOS, S.; SALGADO-DELGADO, R.; BELLO-PÉREZ, L.A. (2009), **Effect of oxidation level on the dual modification of banana starch: the mechanical and barrier**. 2009