

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
MESTRADO PROFISSIONAL EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

GEANE CRISTIANE BALAN

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES EXTRUSADOS COM MICROPARTÍCULAS DE
ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO E APLICAÇÃO NA CONSERVAÇÃO DE
MASSA FRESCA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

LONDRINA
2020

GEANE CRISTIANE BALAN

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES EXTRUSADOS COM MICROPARTÍCULAS DE
ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO E APLICAÇÃO NA CONSERVAÇÃO DE
MASSA FRESCA**

Dissertação de mestrado, apresentado ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, câmpus Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Profa. Dra. Marianne Ayumi Shirai

Coorientador: Profa. Dra. Lyssa Setsuko Sakanaka

LONDRINA

2020

TERMO DE LICENCIAMENTO

Esta Dissertação está licenciada sob uma Licença Creative Commons *atribuição uso não-comercial/compartilhamento sob a mesma licença 4.0 Brasil*. Para ver uma cópia desta licença, visite o endereço <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/> ou envie uma carta para Creative Commons, 171 Second Street, Suite 300, San Francisco, Califórnia 94105, USA.



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca UTFPR - Câmpus Londrina

B171d Balan, Geane Cristiane

Desenvolvimento de filmes extrusados com micropartículas de óleo essencial de orégano e aplicação na conservação de massa fresca / Geane Cristiane Balan. - Londrina, 2020.

81 f. : il.; 30 cm.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Marianne Ayumi Shirai.

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

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Londrina, 2020.

Bibliografia: 72-81

1. Biopolímeros. 2. Filmes finos - Extrusão. 3. Compostos bioativos. 4. Farinha de trigo. 5. Spray drying. 6. Antioxidantes. I. Shirai, Marianne Ayumi, orient. II. Sakanaka, Lyssa Setsuko, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. IV. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. V. Título.

CDD: 664

FOLHA DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação n. _____

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES EXTRUSADOS COM
MICROPARTÍCULAS DE ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO E
APLICAÇÃO NA CONSERVAÇÃO DE MASSA FRESCA**

por

GEANE CRISTIANE BALAN

Esta dissertação foi apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de **MESTRE EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS – Área de Concentração: Tecnologia de Alimentos**, pelo Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos – PPGTAL – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR – Câmpus Londrina às 14 h do dia quatro de março de 2020. O trabalho foi aprovado pela Banca Examinadora, composta por:

Profa. Dra. Marianne Ayumi Shirai
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Orientador

Prof. Dr. Fabio Yamashita
Universidade Estadual de Londrina
Membro Examinador Titular

Profa. Dra. Isabel Craveiro Moreira Andrei
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Membro Examinador Titular

Profa. Dra. Margarida Masami Yamaguchi
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Membro Examinador Suplente

Visto da coordenação:

Prof. Dr. Alexandre Rodrigo Coelho
(Coordenador do PPGTAL)

A folha de aprovação assinada encontra-se arquivada na secretaria do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela realização desse sonho, e por sua presença constante em minha vida.

À professora Dra. Marianne Ayumi Shirai, pela excelente orientação, incentivo e amizade, e por contribuir com seus conhecimentos para minha formação.

À professora Dra. Lyssa Setsuko Sakanaka, pela co-orientação, me auxiliando em todos os momentos e pela amizade.

Ao professor Dr. Fábio Yamashita, pela parceria e disponibilização dos laboratórios da UEL.

Ao amigo Nelson Heitor Fuzinato, pela disponibilidade em compartilhar seus conhecimentos, cuja participação foi de extrema importância no desenvolvimento deste trabalho.

À professora Dra. Margarida Masami Yamaguchi, pela colaboração, incentivo e amizade.

Aos professores Dr. Alexandre Rodrigo Coelho e Dr. Claudio Ueno, pela colaboração nas análises microbiológicas.

À Dra. Izabela Dutra Alvim do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) pela realização da análise de distribuição de tamanhos das partículas.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos pelo conhecimento repassado.

Às técnicas de laboratório, Roberta e Sumaya, pelo apoio e à Universidade Tecnológica Federal do Paraná pela estrutura e disponibilidade de uso dos laboratórios.

A turma do mestrado, que durante esses dois anos foram companheiros e estiveram ao meu lado em todos os momentos, em especial, Fabiana, Darjani, Ana Flávia, e aos colegas de laboratório, Guilherme, Bruna, Luana e Laura, por toda a ajuda durante as análises e conhecimentos compartilhados.

Aos professores Carlos Raimundo Ferreira Grosso e Isabel Craveiro Moreira Andrei pelas correções e sugestões apresentadas durante a qualificação deste trabalho.

Ao Laboratório Multiusuário do Câmpus Londrina da Universidade Tecnológica Federal do Paraná pelas análises realizadas, em especial à Talita pela disponibilidade e toda ajuda.

À UTFPR Câmpus Medianeira, pela realização das análises de TGA.

Ao CNPQ pelo apoio financeiro.

À empresa Vilma Alimentos pelo fornecimento do trigo para o estudo de elaboração dos filmes biodegradáveis, aos colegas de trabalho, em especial Danielle, por todo apoio, incentivo e amizade.

Aos meus pais, Mario e Leonilda e a minha irmã Jéssica pelo apoio e todo amor, à todos meus amigos, que estiveram ao meu lado durante esse período.

À todos que, de certa forma, contribuíram para realização deste trabalho e torceram por mim.

Muito obrigada!

RESUMO

BALAN, G. C. **DESENVOLVIMENTO DE FILMES EXTRUSADOS COM MICROPARTÍCULAS DE ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO E APLICAÇÃO NA CONSERVAÇÃO DE MASSA FRESCA.** 81 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2020.

O impacto ambiental causado pelas embalagens plásticas convencionais tem aumentado o interesse pelo uso de materiais biodegradáveis. Os filmes biodegradáveis podem ser produzidos a partir de biopolímeros, tais como polissacarídeos, proteínas e lipídeos, formando matrizes contínuas que permitem a incorporação de compostos bioativos. A farinha de trigo pode ser uma alternativa para realização de blends com outros biopolímeros, como o poli(adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT), para produção de filmes por extrusão sopro em balão. Alguns aditivos, como óleo essencial de orégano, podem ser adicionados nas embalagens como agente antimicrobiano e antioxidante para a elaboração de embalagens ativas. Porém, durante o processo de extrusão termoplástica, os óleos essenciais podem se volatilizar e até mesmo se degradarem e uma alternativa para preservar a bioatividade dos óleos é realizar a sua microencapsulação. O objetivo deste trabalho foi produzir filmes de farinha de trigo e PBAT adicionados de óleo de orégano livre e microencapsulado por extrusão termoplástica e avaliar a sua aplicabilidade como embalagem ativa na conservação de massa fresca de pastel. As micropartículas de óleo essencial de orégano (OEO) foram produzidas por spray drying e caracterizadas quanto à morfologia, eficiência de encapsulação, diâmetro médio e distribuição de tamanho. Os filmes foram elaborados por extrusão sopro em balão e foram caracterizados em relação às propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água (PVA), solubilidade, cor, opacidade, análise termogravimétrica, morfologia e capacidade antioxidante. As partículas obtidas apresentaram diâmetro médio de 8 μm e eficiência de encapsulação de 65,73 %. A incorporação do OEO microencapsulado e livre interferiram significativamente nas características e propriedades do filme. Verificou-se que os filmes com óleo essencial de orégano microencapsulado (FOM) apresentaram menor resistência à tração (T) e Módulo de Young (MY), maior alongação (ϵ), solubilidade e capacidade antioxidante quando comparado aos demais. Durante 28 dias de armazenamento refrigerado, a massa de pastel embalada com filme FOM foi o que apresentou menor contagem de bolores e leveduras, quando comparado com as massas armazenadas com os outros filmes. Porém, o mesmo efeito não foi verificado para a contagem de microrganismos psicrotróficos. Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que a microencapsulação protegeu o OEO, permitindo a obtenção de filmes ativos biodegradáveis para aplicação em alimentos onde a contaminação por fungos e leveduras seja predominante.

Palavras-chave: Farinha de trigo. Spray drying. Composto bioativo. Extrusão sopro. Antioxidante.

ABSTRACT

BALAN, G. C. **DEVELOPMENT OF EXTRUDED FILMS WITH OREGANO ESSENTIAL OIL MICROPARTICLES AND APPLICATION IN THE CONSERVATION OF FRESH PASTRY.** 81 f. Dissertation (Master in Food Technology) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2020.

The environmental impact caused by synthetic packaging has increased interest in the use of biodegradable materials. Biodegradable films can be produced using biopolymers, such as polysaccharides, proteins and lipids, forming continuous matrices that allow the incorporation of bioactive compounds. Wheat flour may be an alternative for blending with other biopolymers, such as poly (butylene adipate co-terephthalate) (PBAT), for the production of films by blown extrusion. Some additives, such as oregano essential oil, may be added to packaging as an antimicrobial and antioxidant agent to obtain active packaging. However, during the thermoplastic extrusion process, essential oils can be volatilized and even degrade and an alternative to preserve the bioactivity of these oils is to perform their microencapsulation. The objective of this work was to produce films of wheat flour and PBAT added with free and microencapsulated oregano essential oil by thermoplastic extrusion and to evaluate its applicability as an active packaging in the preservation of a brazilian fresh pastry, known as Pastel. The oregano essential oil (OEO) microparticles were produced by spray drying and characterized in terms of morphology, encapsulation efficiency, mean diameter and size distribution. The films were produced by blown extrusion process and were characterized in relation to mechanical properties, water vapor permeability (WVP), solubility, color, opacity, thermal stability, morphology and antioxidant capacity. The particles obtained showed an average diameter of 8 μm and encapsulation efficiency of 65.73%. The incorporation of microencapsulated and free OEO significantly interfered in the characteristics and properties of the film. It was found that films with microencapsulated oregano essential oil (FOM) showed lower tensile strength (T) and Young's Modulus (MY), higher elongation (ϵ), solubility and antioxidant capacity when compared to the others. During 28 days of refrigerated storage, Brazilian fresh pastry with FOM film presented less count of molds and yeasts, compared to pastries packed with other films. However, the same effect was not verified for the count of psychrotrophic microorganisms. The results obtained in this work suggest that microencapsulation protected OEO, allowing the development of biodegradable active films for application in foods where the contamination by fungi and yeasts is predominant.

Key-word: Wheat flour. Spray drying. Bioactive compound. Blown Extrusion. Antioxidant.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Classificação dos polímeros biodegradáveis.....	19
Figura 2 -	Imagem esquemática da estrutura das três principais partes do grão de trigo	21
Figura 3 -	Estrutura molecular da unidade monomérica do PBAT.....	23
Figura 4 -	Estrutura química do glicerol.....	24
Figura 5 -	Estrutura das micropartículas.....	26
Figura 6 -	Modelo de spray dryer de bancada.....	27
Figura 7 -	Esquema de uma extrusora monorosca.....	28
Figura 8 -	Formação do balão e extrusora monorosca utilizada para fabricação de filmes por extrusão – sopro em balão.....	29
Figura 9 -	Fluxograma das atividades realizadas no trabalho.....	32
Figura 10 -	A - Spray dryer utilizado para produção das micropartículas. B - coletor das micropartículas (ampliado).....	33
Figura 11 -	Alveógrafo Chopin utilizado para análise de alveografia.....	37
Figura 12 -	Etapas do processo de elaboração dos filmes. A - Perfis cilíndricos. B - Pelletes. C - Balão formado durante o processo de extrusão-sopro.....	38
Figura 13 -	Análise de permeabilidade de vapor de água. A - Vista superior da capsula de permeabilidade. B - Vista dessecador contendo as capsulas de PVA.....	42
Figura 14 -	Massas frescas de pastel embalados (A) intercaladas com os filmes controle, (B) intercaladas com filmes com micropartículas de OEO e (C) intercaladas com filmes com OEO livre	46
Figura 15 -	Microscopia eletrônica de varredura das micropartículas de óleo essencial de orégano.	51
Figura 16 -	Aparência dos com filmes controle (FC), filme contendo óleo essencial de orégano microencapsulado (FOM) e filme contendo óleo essencial de orégano livre (FOL).....	55
Figura 17 -	Microscopia eletrônica de varredura da superfície (800 x de magnitude A, B e C) e fratura (1600 x de magnitude D, E e F) dos filmes. A e D (FC), B e E (FOM) e C e E (FOL).....	57
Figura 18 -	Curvas de TGA e DTG dos filmes de farinha de trigo e PBAT contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre.....	62
Figura 19 -	Aparência das massas alimentícias frescas intercaladas com os filmes de farinha de trigo e PBAT contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre após 28 dias de armazenamento.....	65
Figura 20 -	Contagem de bolores e leveduras na massa de pastel em contato com os filmes de farinha de trigo e PBAT contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre.....	67

Figura 21 -	Contagem total de psicrotróficos na massa de pastel em contato com os filmes filmes de farinha de trigo e PBAT contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre.....	70
-------------	---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Filmes biodegradáveis contendo óleo essencial de orégano.....	25
Tabela 2 -	Composições químicas dos filmes elaborados por extrusão.....	38
Tabela 3 -	Teor de umidade, cinzas, proteína, cor e alveografia da farinha de trigo.....	53
Tabela 4 -	Cor e opacidade aparente de filmes de farinha de trigo contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre.....	56
Tabela 5 -	Propriedades mecânicas de filmes de farinha de trigo contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre.....	58
Tabela 6 -	PVA e solubilidade de filmes de farinha de trigo contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre.....	60
Tabela 7 -	Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante de filmes de farinha de trigo e PBAT contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre.....	61
Tabela 8 -	Temperaturas de degradação térmica dos filmes FC, FOM e FOL e perda de massa associada ao pico de degradação da farinha e do PBAT.....	63
Tabela 9 -	Atividade de água (Aw) das massas de pastel intercaladas com os filmes de farinha de trigo e PBAT contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre após 28 dias de armazenamento.....	64
Tabela 10 -	Parâmetros de cor das massas de pastel intercaladas com os filmes de farinha de trigo e PBAT contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre após 28 dias de armazenamento.....	66

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS	Ácido 2,2'-azinobis-3 etilbenzotiazolina-6-sulfônico
CPS	Concentrado protéico de soja
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EAG	Equivalente de ácido gálico
EE	Eficiência de encapsulação
FC	Filme controle
FOL	Filme com óleo essencial de orégano livre
FOM	Filme com óleo essencial de orégano microencapsulado
GRAS	Geralmente Reconhecido com seguro
OEO	Óleo essencial de orégano
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MPa	Megapascal
PBAT	Poli (adipato co-tereftalato de butileno)
PBSA	Poli (butileno succinato co-adipato)
PCL	Policaprolactona
PEA	Poliesteramida
PEAD	Polietileno de alta densidade
PEBD	Polietileno de baixa densidade
PET	Politereftalato de etileno
PHAs	Poli-hidroxicarboxilatos
PLA	Poli (ácido láctico)
PP	Polipropileno
PS	Poliestireno
PVA	Permeabilidade ao vapor de água
PVC	Policloreto de vinila
URE	Umidade relativa de equilíbrio
PVA	Taxa de permeabilidade ao vapor de água

LISTA DE ACRÔNIMOS

ITAL	Instituto de Tecnologia de Alimentos
AACC	American Association Cereal Chemistry
ABIPLAST	Associação Brasileira da Indústria de Plástico
ABITRIGO	Associação Brasileira da Indústria Do Trigo
ASTM	American Society for Testing and Material

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVO	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3 REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1 EMBALAGENS PLÁSTICAS.....	18
3.2 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS PARA PRODUÇÃO DE EMBALAGENS.....	19
3.2.1 Farinha de trigo.....	20
3.2.2 Poli (adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT).....	22
3.2.3 Plastificantes.....	23
3.3 UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM FILMES.....	24
3.4 MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL POR SPRAY DRYING	25
3.5 PRODUÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS.....	27
3.6 MASSA ALIMENTÍCIA FRESCA.....	29
4. MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1 MATERIAL.....	31
4.2 MÉTODOS.....	31
4.2.1 Microencapsulação por spray drying.....	32
4.2.2 Caracterização das micropartículas de óleo essencial de orégano.....	34
4.2.2.1 Morfologia da partícula.....	34
4.2.2.2 Eficiência de encapsulação.....	34
4.2.2.3 Determinação do diâmetro médio e distribuição de tamanho.....	35
4.2.3 Obtenção da farinha de trigo.....	35
4.2.3.1 Caracterização da farinha de trigo.....	36
4.2.4 Produção dos filmes por extrusão sopro.....	37
4.2.5 Caracterização dos filmes	39

4.2.5.1 Cor e opacidade aparente.....	39
4.2.5.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	40
4.2.5.3 Propriedades mecânicas.....	40
4.2.5.4 Permeabilidade aos vapores de água (PVA).....	41
4.2.5.5 Solubilidade em água.....	42
4.2.5.6. Extração dos compostos fenólicos e antioxidantes.....	43
4.2.5.6.1 Teor de compostos fenólicos totais.....	43
4.2.5.6.2 Determinação da atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro FRAP.....	44
4.2.5.6.3 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH.....	44
4.2.5.6.4 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do Radical livre ABTS.....	45
4.2.5.7 Análise termogravimétrica (TGA)	45
4.2.6 Armazenamento da massa alimentícia fresca.....	45
4.2.6.1 Análises físico-químicas.....	47
4.2.6.1.1 Determinação da atividade de água (Aw)	47
4.2.6.1.2 Determinação de cor.....	47
4.2.6.2 Avaliação microbiológica.....	48
4.2.6.2.1 Coliformes totais e termotolerantes (45°C)	48
4.2.6.2.2 <i>Salmonella sp.</i>	49
4.2.6.2.3 Estafilococos coagulase positiva.....	49
4.2.6.2.4 <i>Bacillus cereus</i>	49
4.2.6.2.5 Contagem bolores e leveduras.....	50
4.2.6.2.6 Contagem total de psicrotróficos	50
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	50
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
5.1 MORFOLOGIA, EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DAS MICROPARTÍCULAS DE OEO.....	51
5.2 CARACTERIZAÇÃO DA FARINHA DE TRIGO.....	53
5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES PRODUZIDOS POR EXTRUSÃO SOPRO.....	54
5.3.1 Aspecto visual.....	54

5.3.2 Cor e opacidade aparente.....	55
5.3.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	56
5.3.4 Propriedades mecânicas.....	57
5.3.5 PVA e solubilidade.....	59
5.3.6 Determinação dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante.....	60
5.3.7 Análise termogravimétrica (TGA).....	61
5.4 APLICAÇÃO DA MASSA ALIMENTÍCIA FRESCA.....	63
5.4.1 Análise físico-química.....	63
5.4.1.1 Determinação da atividade de água (Aw).....	63
5.4.1.2 Determinação de cor.....	64
5.4.2 Avaliação microbiológica.....	67
6 CONCLUSÕES.....	71
REFERENCIAS.....	72

1 INTRODUÇÃO

Os filmes biodegradáveis podem ser produzidos a partir de biopolímeros, tais como polissacarídeos, proteínas e lipídeos, formando matrizes contínuas que permitem a incorporação de compostos bioativos. Ao desenvolver filmes, outra alternativa é utilizar farinhas, que são misturas complexas de amido, proteína, lipídeos e fibras. Alguns estudos relatam a potencial aplicação de farinhas obtidas de diferentes fontes como amaranto, banana, aveia e trigo (ANDRADE-MAHECHA; TAPIA-BLÁCIDO, MENEGALLI, 2012; PELISSARI et al., 2013; BENINCASA et al., 2017). As boas características dos filmes decorrem de interações moleculares entre os carboidratos, proteínas e lipídeos presentes na farinha.

Neste contexto, destaca-se o uso da farinha de trigo na formulação de filmes, visto que o trigo é de grande importância para a economia brasileira, devido ao elevado consumo de seus derivados. Além disso, grande quantidade de grãos são perdidos ou colhidos com qualidade de produção inferior devido ao ataque de pragas, germinação na espiga e redução de matéria seca que ocorrem pelo retardo na colheita (CARNEIRO et al., 2005). Desta forma, a farinha de trigo extraída de grãos de qualidade inferior para alimentação pode ser uma alternativa para realização de blendas com outros biopolímeros, como o poli(adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT), para produção de filmes por extrusão sopro em balão.

Estudos sobre a produção de filmes biodegradáveis por extrusão sopro a partir de blendas de amido de mandioca e PBAT já estão sendo desenvolvidos com sucesso e os materiais obtidos possuem boas propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água e podem ser utilizadas como matriz para incorporação de compostos bioativos, visando a obtenção de embalagens ativas (ANDRADE-MOLINA et al., 2013; CAMPOS et al., 2019; GARCIA et al., 2014; OLIVATO et al., 2013; SILVA et al., 2019). As embalagens ativas são embalagens capazes de alterar as condições do alimento embalado de modo a estender sua vida de prateleira, melhorando propriedades sensoriais, ou mesmo, inibindo o crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes (BYUN; KIM; WHITESIDE, 2010).

Estudos envolvendo a incorporação de óleos essenciais e extratos naturais com propriedades antimicrobianas e antioxidantes em filmes biodegradáveis já estão sendo realizados, porém, poucos trabalhos relatam a produção de filmes ativos por extrusão termoplástica. Pelissari et al. (2009) desenvolveram filmes a base de amido e quitosana incorporados de óleo essencial de orégano por extrusão sopro. Os filmes tornaram-se mais flexíveis e menos permeáveis ao vapor de água, além de apresentarem atividade antimicrobiana. Extrato de pinhão e curcumina foram adicionados na formulação de filmes de amido de mandioca e PBAT produzidos por extrusão sopro e proporcionou significativa capacidade antioxidante (CAMPOS et al., 2019; SILVA et al., 2019).

Durante o processo de extrusão termoplástica, altas temperaturas, pressão e cisalhamento são necessários para fundir o polímero. Como consequência, os óleos essenciais incorporados podem se volatilizar e até mesmo se degradarem. Uma alternativa para preservar a bioatividade dos óleos essenciais e permitir a sua incorporação em filme extrusado é realizar a sua microencapsulação, formando uma barreira de proteção. Medeiros et al. (2019) desenvolveram filmes a base de amido de mandioca e PBAT incorporados de micropartículas de óleo essencial de orégano pelo processo de gelificação iônica e apresentaram atividade antimicrobiana. No entanto, utilizou-se amido que necessita de etapas de purificação com água que gera efluente, diferente do trabalho proposto, que é a utilização da farinha de trigo, que passa apenas por processos de moagem e peneiramento para sua obtenção. Além disso, as micropartículas obtidas por gelificação iônica possuem em média 98% de umidade, sendo necessário uma etapa de secagem para incorporá-las no filme extrusado, diferentemente das partículas produzidas por spray drying, na qual o produto final está na forma de pó.

As massas frescas, devido à sua composição e, principalmente, pelo alto teor de umidade, são produtos que estão sujeitos ao desenvolvimento de uma ampla variedade de microrganismos, podendo se deteriorar e mesmo constituir risco à saúde pública. Exigem-se cuidados especiais com relação à comercialização da massa fresca, a qual contamina-se facilmente, o que pode ocorrer por diversas causas: presença de contaminantes nas matérias-primas, exposição a um ambiente contaminado, contato com equipamentos e utensílios

inadequadamente sanificados e falta de uma higiene rigorosa dos manipuladores (SILVEIRA et al., 2007).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi produzir filmes biodegradáveis a partir de blendas de farinha de trigo e poli (adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT) por extrusão a sopro com incorporação de micropartículas de óleo essencial de orégano obtidas por spray drying. Adicionalmente, aplicou-se os filmes na conservação de massa fresca, e avaliou-se as alterações físico-químicas e microbiológicas do produto armazenado sob refrigeração.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral foi desenvolver filmes biodegradáveis a partir de blendas de farinha de trigo e poli (adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT) por extrusão e sopro com incorporação de micropartículas de óleo essencial de orégano obtidas por spray drying.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Microencapsular o óleo essencial de orégano por spray drying utilizando goma arábica e maltodextrina como materiais de parede;
- Caracterizar as microcápsulas quanto à eficiência de encapsulação, distribuição de tamanho e morfologia;
- Elaborar filmes de farinha de trigo e PBAT pelo processo de extrusão a sopro com incorporação de óleo de orégano livre e encapsulado;
- Determinar as propriedades mecânicas, a permeabilidade ao vapor de água, cor, opacidade aparente, solubilidade em água, as propriedades térmicas, a morfologia, a concentração de fenólicos totais e capacidade antioxidante dos filmes;
- Aplicar os filmes em massa fresca para pastel e avaliar a vida útil a partir de análises físico-químicas e microbiológicas.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 EMBALAGENS PLÁSTICAS

A utilização de plásticos sintéticos provenientes de polímeros petroquímicos na produção de embalagens possui como principais características o baixo custo, facilidade de processamento, elevada aplicabilidade, versatilidade e durabilidade, sendo esta última característica a principal desvantagem da sua utilização (LUCHESE, 2018).

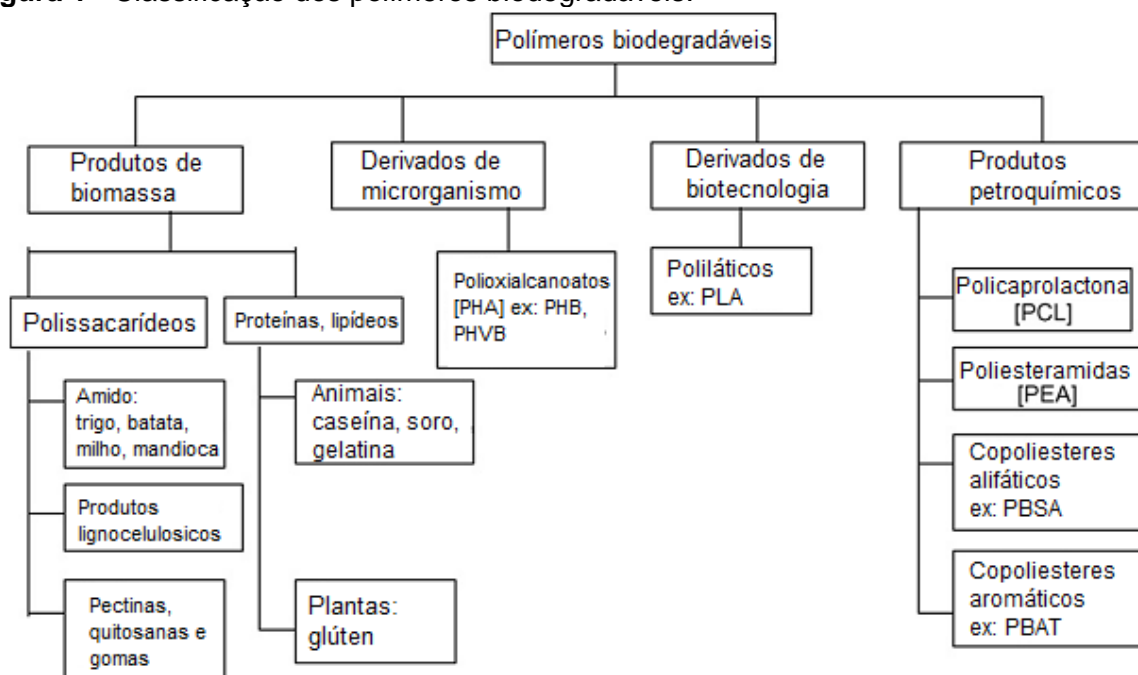
Os plásticos comuns são polímeros sintetizados a partir de fontes petrolíferas, não renováveis e podem levar até cerca de quatro séculos para se degradarem no meio ambiente. São seis os tipos de plásticos mais utilizados: o politereftalato de etileno (PET), o polietileno de alta densidade (PEAD), o policloreto de vinila (PVC), o polietileno de baixa densidade (PEBD), o polipropileno (PP) e o poliestireno (PS). A versatilidade destes plásticos e sua boa performance permitem as mais diversas aplicações, que vão desde filmes plásticos para embalar alimentos no supermercado até robustas peças de aeronaves (CAMPOS, 2017).

De acordo com a Associação Brasileira da Indústria de Plástico (ABIPLAST, 2019) a partir de informações do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), foram consumidos 6,5 milhões de toneladas de materiais plásticos no Brasil em 2017, com um índice de reciclagem de 25,8 %. Além disso, sabe-se que apenas 15% das cidades brasileiras possuem coleta seletiva; desta forma, pode-se concluir que a maior parte do resíduo plástico gerado não é reciclada. Isto aumenta ainda mais o interesse na produção de embalagens a partir de polímeros que possam ser facilmente degradados no ambiente sob condições específicas. Uma alternativa para esses problemas, é a produção de embalagens biodegradáveis provenientes de fontes renováveis em substituição aos plásticos convencionais provenientes de fontes fósseis.

3.2 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS PARA PRODUÇÃO DE EMBALAGENS

De acordo com Avérous e Boquillon (2004), os polímeros biodegradáveis são divididos em 4 grupos de acordo com a forma de obtenção do polímero (Figura 1).

Figura 1 - Classificação dos polímeros biodegradáveis.



Fonte: Avérous e Boquillon (2004).

Os agro-polímeros são obtidos a partir de agro-produtos, geralmente com o fracionamento da biomassa. Estes são divididos em polissacarídeos, proteínas e lipídeos. No segundo grupo estão os poliésteres sintetizados por microrganismos a partir de fontes renováveis, por exemplo, os polihidroxialcanoatos (PHAs). O terceiro grupo é formado por polímeros sintetizados quimicamente a partir de monômeros derivados de processos biotecnológicos, como é o caso do poli (ácido láctico) (PLA) que pode ser obtido pela polimerização do ácido láctico, proveniente da fermentação de açúcares por microrganismos. O último grupo contempla os polímeros biodegradáveis provenientes de fontes não renováveis totalmente sintetizados em processos

petroquímicos, neste grupo, destacam-se a policaprolactona (PCL), as poliésteramidas (PEA), co-poliésteres alifáticos, como por exemplo, o poli (butileno succinato-co-adipato) (PBSA) e co-poliésteres aromáticos como o poli (adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT) (AVÉROUS; BOQUILLON, 2004).

3.2.1 Farinha de trigo

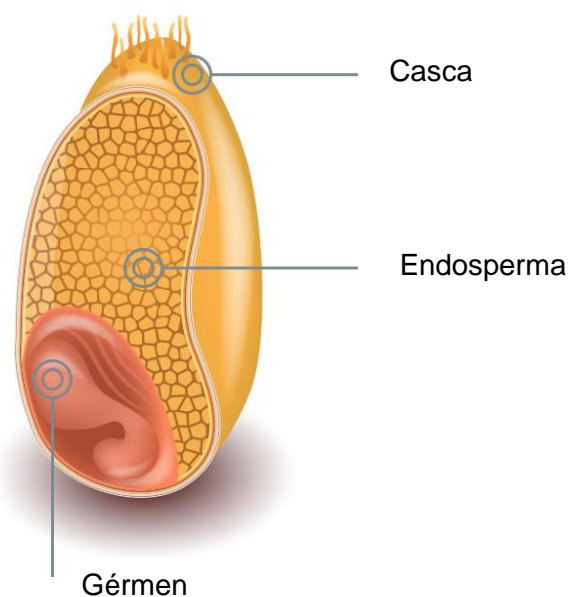
A Instrução Normativa nº8 de 2005 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelece que a farinha de trigo deve ser obtida a partir do trigo do gênero *Triticum aestivum* L. ou outras espécies de gênero *Triticum* (BRASIL, 2005).

Por ser uma cultura predominantemente de inverno, o trigo é mais cultivado na região sul do Brasil, principalmente nos Estados do Paraná e do Rio Grande do Sul, embora também seja cultivado em outros estados como São Paulo, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul. Muitas vezes, o trigo é utilizado como cultura de rotação, principalmente com a soja, devido ao fato da soja ser uma cultura de verão e o trigo uma cultura de inverno (CONAB, 2017).

De acordo com a Associação Brasileira da Indústria do Trigo (ABITRIGO, 2014), é por meio da moagem do trigo que obtêm-se a farinha, ou seja, pela separação das três principais camadas diferentes que cada semente de trigo contém, sendo elas: casca, endosperma e gérmen.

O endosperma constitui cerca de 83% da massa do grão de trigo, é a fonte de farinha branca de trigo, contém a maior parte da proteína do grão inteiro, carboidratos, ferro, como também algumas vitaminas do complexo B (riboflavina, niacina e a tiamina). Na casca representando cerca de 14,5% da massa do grão, estão presentes vitaminas do complexo B, traços de minerais e material celulósico (fibra alimentar). O gérmen representa cerca de 2,5% do grão, é o embrião da semente, usualmente retirado devido à quantidade limite de lipídeos que interfere na qualidade da farinha (ABITRIGO, 2014).

Figura 2 – Imagem esquemática da estrutura das três principais partes do grão de trigo.



Fonte: ABRITRIGO, 2019

A composição da farinha de trigo, em geral, é de aproximadamente 70% a 75% de amido, 12% a 14% de água, 8% a 16% de proteínas, 2% de lipídeos e 1% de minerais (MORITA et al., 2002).

O amido é formado por principalmente dois polímeros, a amilose e a amilopectina. 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 (FRANCO et al., 2001b).

Os principais tipos de proteínas presentes na farinha de trigo são divididos em dois grupos, as não formadoras de glúten, que representam 15% das proteínas totais, que são: as albuminas (solúveis em água) e as globulinas (solúveis em soluções salinas), e as formadoras de glúten, que compreendem os 85% das proteínas do grão, são: as gliadinas (solúveis em água e álcool) e as gluteninas (parcialmente solúveis em água e soluções de ácidos diluídos) (BOBBIO; BOBBIO, 2001; NASCIMENTO, 2008). Em presença de água, as gliadinas, proteínas de cadeia simples, são responsáveis pela consistência e viscosidade, e apresentam pouca resistência a extensão, as gluteninas, proteínas de cadeias ramificadas, são responsáveis pela extensibilidade.

O uso de farinhas de trigo para obter filmes biodegradáveis foi proposto por Leblanc et al. (2008) como uma alternativa econômica e eficiente ao amido

purificado, proporcionando propriedades físicas semelhantes à fabricação, exceto por uma menor tensão de ruptura.

O amido é o principal componente do grão e seu conteúdo percentual é relevante, juntamente com a forma e o tamanho dos grânulos de amido, pois isso afeta a interação com o plastificante. No que diz respeito ao glúten, representa uma matéria-prima ideal para produção de bioplásticos devido à presença de muitos aminoácidos polares e não polares, fornecendo um amplo espectro de propriedades funcionais e estruturais (GUILBERT; CUQ, 2005).

Grande parte dos estudos relatam a produção de filmes a partir do amido de trigo pela técnica de casting (BASIAK; GALUS; LENART, 2015; BONILLA et al., 2013) e poucos trabalhos relatam a produção de filmes de farinha de trigo por extrusão termoplástica. Benincasa et al. (2017) e Puglia et al. (2016) buscaram correlacionar os parâmetros de alveografia (P, L, W e P/L) e o teor de proteína com as propriedades mecânicas de filmes extrusados de farinha de trigo. No geral, os autores concluíram que os parâmetros alveográficos da farinha interferem nas propriedades mecânicas dos filmes. Entretanto, os autores ressaltam a importância de considerar outros fatores como o ano de cultivo, a cultivar e a forma de processamento do trigo.

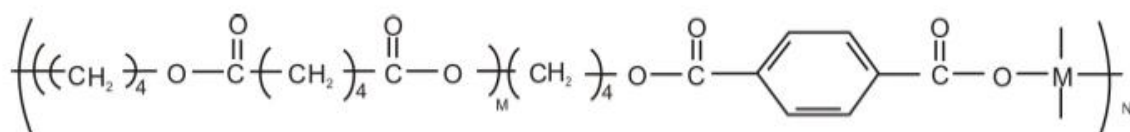
3.2.2 Poli (adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT)

A grande tendência na pesquisa e desenvolvimento das embalagens biodegradáveis está voltada para a combinação de amido, farinhas e poliésteres biodegradáveis, produzidas através da tecnologia de 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 de escala industrial (MALI et al., 2010).

O PBAT (Figura 3), um poliéster aromático-alifático biodegradável de nome comercial Ecoflex, produzido pela empresa BASF, pode ser degradado dentro de poucas semanas e tem sua utilização viabilizada pelo processo de

extrusão, formando filmes com elevada resistência mecânica (OLIVATO, 2010). O PBAT é a combinação de um polímero sintético biodegradável (poliéster alifático) com um polímero sintético não biodegradável (poliéster aromático) formado a partir da reação entre 1,4 butanodiol, ácido adípico e ácido tereftálico. O PBAT supera as desvantagens de muitos materiais alifáticos, pois possui maior resistência à tensão, maior taxa de alongação e menor permeabilidade ao oxigênio, aliando à biodegradabilidade (ANDRADE – MOLINA, 2012).

Figura 3 - Estrutura molecular da unidade monomérica do PBAT.

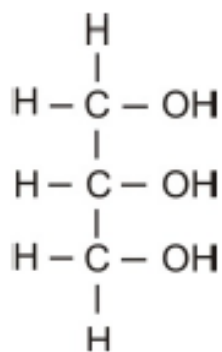


Fonte: Olivato (2010).

3.2.3 Plastificantes

Para a confecção de filmes é necessário a introdução de aditivos às matrizes poliméricas, pois geralmente são pouco flexíveis, quebradiços e apresentam baixa maquinabilidade. Os plastificantes atuam diminuindo as forças intermoleculares entre as cadeias dos polímeros, provocando uma redução da temperatura de transição vítrea da solução e, de modo geral, a resistência mecânica diminui e a flexibilidade aumenta com o incremento da concentração do plastificante. Contudo, vale ressaltar que os plastificantes influenciam todas as propriedades funcionais dos filmes, não somente as propriedades mecânicas (SHIMAZU; MALI; GROSSMANN, 2007; MALI et al., 2010). A permeabilidade ao vapor de água tende a aumentar com o incremento do teor de plastificantes hidrofílicos, como é o caso dos polióis, em especial o glicerol. Na Figura 4, segue a estrutura molecular do glicerol, o plastificante mais utilizado na produção das embalagens a base de amido, farinhas e PBAT (DIAS, 2014; CAMISA, 2015).

Figura 4. Estrutura química do glicerol.



Fonte: Olivato (2010).

3.3 UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM FILMES

Óleos essenciais são líquidos oleosos aromáticos, extraídos de diferentes partes de plantas. Quimicamente, são constituídos de diferentes componentes como terpenos e seus derivados (carvacrol, timol, eugenol, terpineno, linalol e carvona), aldeídos, cetonas, álcoois e fenóis, e se destacam por apresentarem amplo espectro de atividade biológica (antibacteriano, antifúngico, antiviral, controle de pragas e repelentes de insetos) e antioxidante (EL ASBAHANI et al., 2015; BURT, 2004; RUIZ-NAVAJAS et al., 2013; VIUDA-MARTOS et al., 2010). Além disso, são classificados como GRAS (Generally Regarded As Safe - Geralmente Considerado Como Seguro), o que os torna atrativos para a indústria de alimentos.

Pesquisas têm comprovado que, dentre os diversos óleos essenciais, o de orégano (*Origanum vulgare* L.) encontra-se em evidência devido ao seu alto teor de compostos fenólicos, principalmente carvacrol, timol, c-terpineno e p-cimeno (BURT, 2004; OLMEDO et al., 2013; DAMBOLENA et al., 2010). Por apresentar sabor e aroma intensos, a adição direta em alimentos deve ser cautelosa para não afetar as propriedades sensoriais. Desta forma, seu uso é de grande interesse na produção de filmes biodegradáveis, visando a obtenção de uma embalagem ativa que auxilia na melhoria na qualidade sensorial, nutricional e microbiológica dos alimentos (GALINDO et al., 2019).

A utilização de filmes com óleos essenciais tem se tornado um grande atrativo para a indústria alimentícia, mas ainda requer avanços tecnológicos e maiores detalhamentos quanto a forma de adição, perfil de liberação e aplicação em matriz alimentícia. Na Tabela 1 estão listados exemplos de estudos que envolveram a produção de filmes com óleo essencial de orégano.

Tabela 1 – Filmes biodegradáveis contendo óleo essencial de orégano.

Biopolímero	Técnica de produção	Referência
Proteína do soro de leite	Casting	SEYDIM; SARIKUS (2006)
Amido de mandioca e quitosana	Extrusão	PELLISSARI et al. (2009)
Proteína de tritcale	Casting	AGUIRRE; BORNEO; LEÓN (2013)
Gelatina e quitosana	Casting	HOSSEINI et al. (2015)
Concentrado proteico de soja	Casting	PAGLIONE et al. (2019)
Amido de mandioca e PBAT	Extrusão	MEDEIROS et al. (2019)

Fonte: Autoria própria.

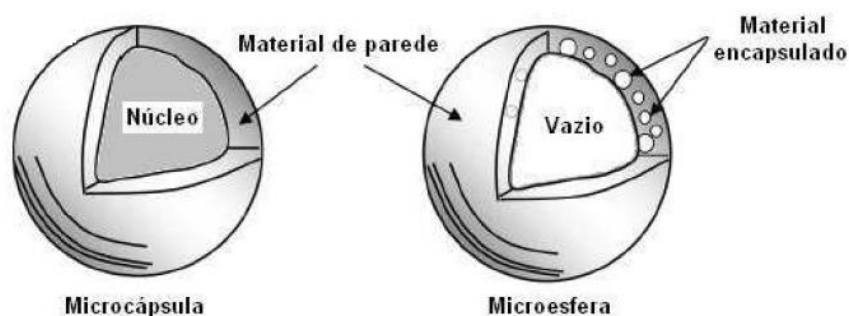
3.4 MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL POR SPRAY DRYING

A microencapsulação foi muito utilizada para mascarar sabores desagradáveis de ingredientes e também para recobrir líquidos com sólidos. No entanto, atualmente, estudos sobre liberação controlada do ingrediente encapsulado na hora e no lugar certos tem sido cada vez mais discutido, pois pode melhorar a eficácia dos aditivos alimentares, ampliam a aplicabilidade e asseguram a dosagem ideal (LAURENTI, 2011). Segundo Fávaro-Trindade, Pinho e Rocha (2008), a definição de microencapsulação consiste em um processo de empacotamento de materiais sólidos, líquidos ou gasosos em cápsulas extremamente pequenas, as quais podem liberar o conteúdo de forma controlada e sob condições específicas. Uma cápsula pode ter seu tamanho variando de alguns micrômetros até 1 mm, sendo classificada em nano (< 0,2 µm), micro (0,2 a 500 µm) ou macropartículas (> 500 µm) (RÉ, 1998).

Em relação à estrutura física, as micropartículas podem ser classificadas como microcápsulas ou microesferas, como mostrado na Figura 5.

As microcápsulas consistem em micropartículas, onde o núcleo está envolvido por uma camada ou filme polimérico formando um sistema do tipo reservatório, e são tipicamente produzidas por coacervação complexa, secagem em leito fluidizado, co-extrusão e inclusão molecular. Já as microesferas, produzidas principalmente por spray drying, constituem um sistema matricial, no qual o polímero forma uma rede tridimensional onde o material a ser microencapsulado pode estar adsorvido, incorporado ou ligado covalentemente à matriz polimérica, formando sistemas de dissolução, dispersão ou sistemas porosos. Nestes sistemas, a área central consiste em um vazio resultante da expansão das partículas durante os estágios finais da secagem (JAFARI et al., 2008).

Figura 5 - Estrutura das micropartículas.



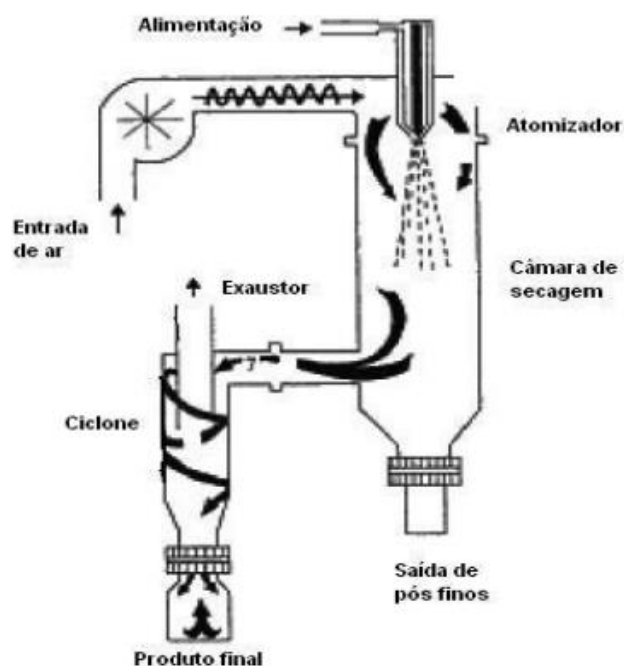
Fonte: (adaptado de JAFARI et al., 2008).

A microencapsulação tem várias aplicações no setor alimentício e uma delas está na encapsulação de óleos essenciais com o intuito de prevenir a oxidação e a perda de substâncias voláteis e controlar a liberação do aroma (RÉ, 2000). Já foram realizados estudos de microencapsulação de diferentes óleos, tais como capim limão (LEIMANN, 2008), orégano (ALMEIDA et al., 2013; HIJO et al., 2015), laranja (MÁRQUEZ-GÓMEZ et al., 2017), canela (FELIX et al., 2016) e limão (CORTÉS-CAMARGO et al., 2017).

A secagem por atomização ou *spray drying* é uma técnica considerada barata, e a mais utilizada pela indústria de alimentos (JAFARI et al., 2008). Essa técnica utiliza um secador denominado atomizador ou *spray dryer* (AZEREDO et al., 2012; SILVA, 2000). O líquido (solução, emulsão ou dispersão) é atomizado e pulverizado por um bico atomizador em um meio quente e seco e ao entrar em contato com o ar quente na câmara de secagem, a água das gotículas é

evaporada e as pequenas partículas sólidas são formadas e recolhidas (AMERI; MAA, 2006). O ar utilizado no *spray dryer* encontra-se sob temperaturas que variam de 160 a 230°C (Figura 6). No entanto, a construção da câmara de secagem e as condições de trabalho são planejadas de forma que o produto permaneça o menor tempo possível no secador, com o objetivo de evitar que o alimento sofra a influência de altas temperaturas (SILVA, 2000).

Figura 6 – Modelo de spray dryer de bancada.



Fonte: AMERI e MAA (2006).

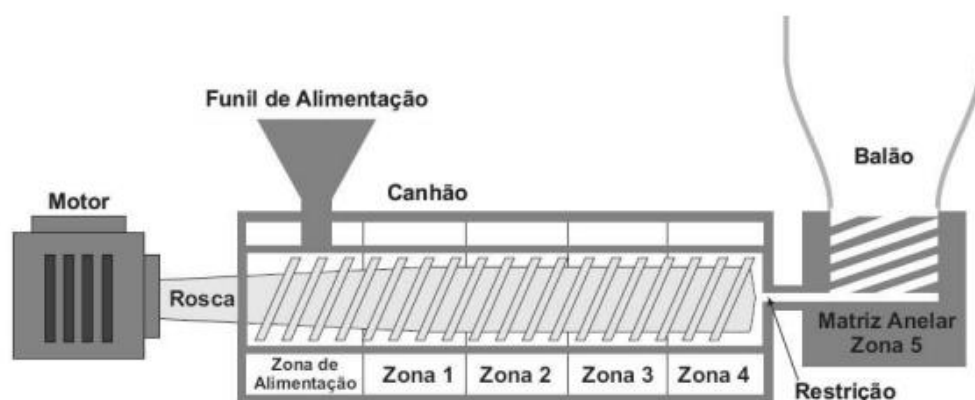
3.5 PRODUÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

A tecnologia de extrusão termoplástica é um processo de tratamento térmico, que por uma combinação de calor, umidade e trabalho mecânico, modifica as matérias-primas, dando-lhes novas formas, estruturas e características funcionais. A extrusora é um equipamento constituído de um alimentador, um pré-condicionador, uma rosca sem-fim, um cilindro encamisado, uma matriz de saída do material e um sistema de corte (Figura 7). O alimentador deve ser equipado com um agitador ou rosca, a fim de manter um fluxo contínuo

de alimentação e permitir um bom funcionamento, evitando flutuações de temperatura no produto extrudado. A rosca é a parte central e principal do equipamento sendo que sua geometria influencia diretamente no processo (MULLER, 2016). No processo de extrusão, o ingrediente é introduzido em um cilindro aquecido, e o material amolecido é forçado por um parafuso rotativo a entrar através de uma abertura em uma matriz, para a obtenção de formas contínuas. A extrusora se comporta como um trocador de calor devido às trocas envolvendo as paredes do cilindro, a rosca e o material (PAULI et al., 2011).

Durante o processo de extrusão há a abertura das estruturas terciárias e quaternárias das proteínas presentes na farinha, resultando na quebra e rearranjo das pontes de hidrogênio, permitindo a plastificação e a formação de texturas desejáveis. O amido granular é progressivamente comprimido, ocorrendo destruição de sua estrutura organizada e cristalina, sendo transformado em um material homogêneo essencialmente amorfo. Trata-se de processo no qual o amido é submetido a temperaturas superiores ao seu ponto de gelatinização, mas com umidade insuficiente para gelatinizar o mesmo (LIU et al., 2009; SAKANAKA, 2007).

Figura 7 – Esquema de uma extrusora monorosca.



Fonte: Santos (2010).

O processamento do filme tubular apresenta características singulares se comparado à maioria das linhas de extrusão, devido à formação de um “balão” de filme. Os filmes soprados são produzidos pela extrusão do biopolímero fundido, na forma de um tubo, através de uma matriz anelar, no centro da qual o

ar é injetado, inflando o tubo até este atingir um diâmetro maior. Um “balão” então é formado, cujas paredes são estiradas na circunferência (pelo ar injetado) e na vertical, por rolos puxadores, ao mesmo tempo em que são resfriadas, conferindo então ao filme soprado uma orientação biaxial. A Figura 8 demonstra esquematicamente o processo de filmes extrusão – sopro em balão (GUERRINI et al., 2004).

Figura 8 – Formação do balão e extrusora monorosca utilizada para fabricação de filmes por extrusão – sopro em balão.



Fonte: Andrade-Molina (2012).

3.6 MASSA ALIMENTÍCIA FRESCA

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), massas alimentícias são definidas como produtos obtidos de farinha de trigo (*Triticum aestivum* L.) e/ou outras espécies do gênero *Triticum* e/ou derivados de trigo durum (*Triticum durum* L.) e/ou derivados de outros cereais, leguminosas, raízes e/ou tubérculos resultantes do processo de empasto e amassamento mecânico sem fermentação. Massa fresca ou úmida refere-se ao fato de ser ou não o produto submetido à secagem parcial (BRASIL, 2005).

De acordo com a Resolução RDC nº 12, da ANVISA (BRASIL, 2001), as massas alimentícias frescas devem obedecer ao seguinte padrão

microbiológico: Coliformes termotolerantes (45°C) de até $1,0 \times 10^2$ NMP.g⁻¹, ausência de *Salmonella* sp. em 25 g de amostra, estafilococos coagulase positiva e *Bacillus cereus* de, no máximo, $5,0 \times 10^3$ UFC.g⁻¹. A Portaria n° 451 (BRASIL, 1997), revogada pela RDC n° 12, previa a contagem de fungos filamentosos e leveduras. Hoje, a verificação do crescimento desses microrganismos não é obrigatória no Brasil.

As massas frescas, devido à sua composição e, principalmente, pelo alto teor de umidade, são produtos que estão sujeitos ao desenvolvimento de uma ampla variedade de microrganismos, podendo se deteriorar e mesmo constituir risco à saúde pública. Os conservantes químicos, principalmente os ácidos orgânicos e seus sais (sorbatos, benzoatos e propionatos), são utilizados para inibir o crescimento microbiano e aumentar o prazo de validade da massa fresca juntamente com o resfriamento, pois esses produtos são embalados sem tratamento térmico (SILVEIRA, 2007). Atualmente, há uma tendência em consumir menos aditivos alimentares sintéticos em busca de um produto mais saudável. Portanto, uma alternativa para tornar os alimentos mais seguros é utilizar óleos essenciais em substituição dos conservantes químicos, como o óleo essencial de orégano.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Para a produção das micropartículas foram utilizados óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) (Quinari, Brasil), goma arábica (Nexira, Brasil), maltodextrina (Cargill, Brasil) e óleo resina de páprica (Citromax, Brasil). Para a confecção dos filmes foram empregados o polímero biodegradável poli (adipato co-tereftalato de butileno) (PBAT) de nome comercial Ecoflex® (BASF, Brasil), farinha de trigo, adquirido da empresa Vilma Alimentos (Cambé, PR) e glicerol (Dinâmica, Brasil).

4.2 MÉTODOS

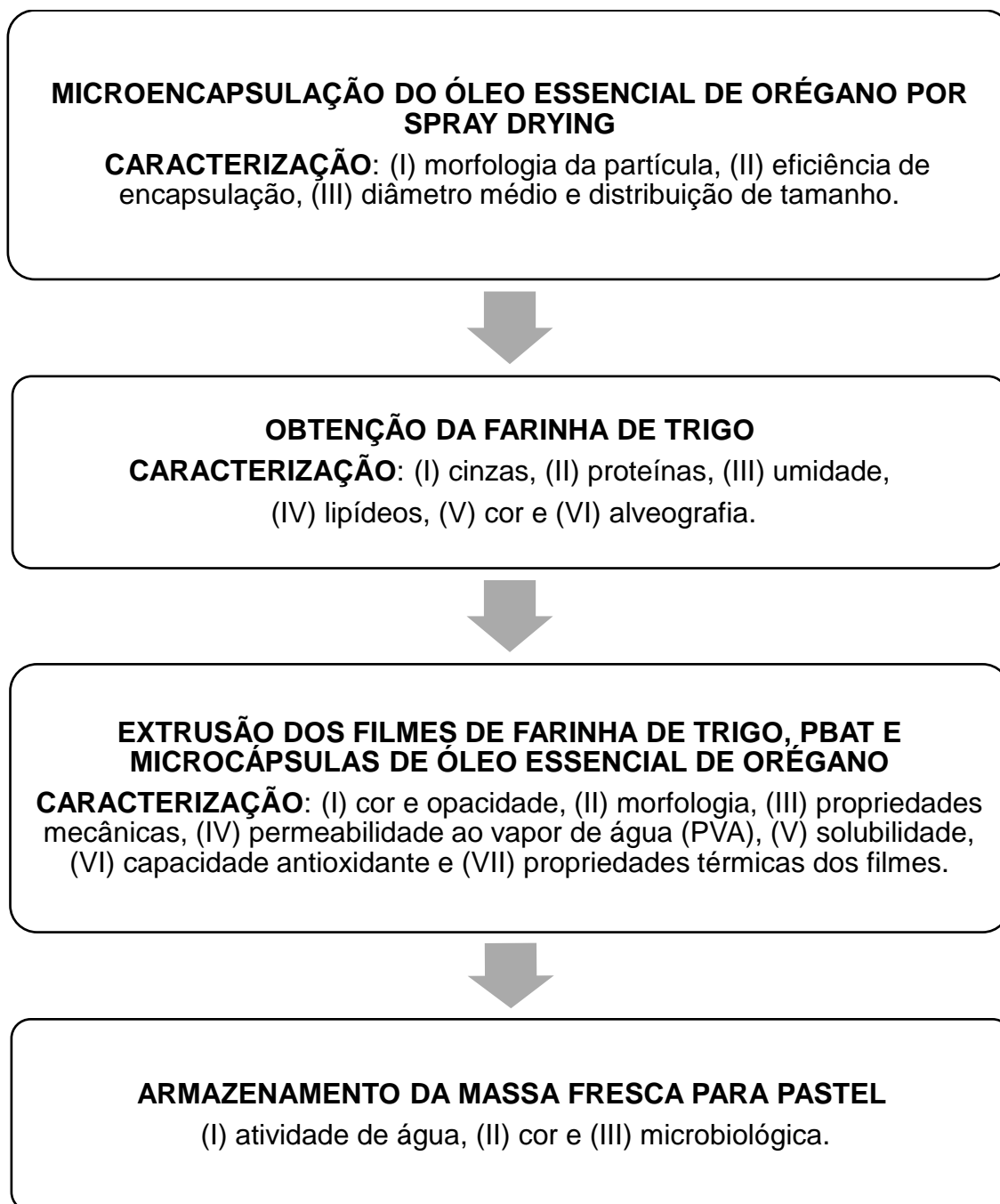
O fluxograma (Figura 9) apresenta a ordem no qual foram realizadas todas as etapas do presente trabalho. Inicialmente, foi realizada a microencapsulação do óleo essencial de orégano por spray drying e caracterização através da determinação de: (I) morfologia da partícula, (II) eficiência de encapsulação, (III) diâmetro médio e distribuição de tamanho.

Paralelamente foi obtida a farinha de trigo e caracterizada quanto: (I) umidade, (II) cinzas, (III) proteínas, (IV) lipídeos (V) alveografia e (VI) cor.

Em uma segunda etapa, foram elaborados os filmes de farinha de trigo, PBAT, com microcápsulas de óleo essencial de orégano (OEO) e também com OEO livre por processo de extrusão sopra. Estes filmes foram caracterizados em relação à: (I) propriedades mecânicas, (II) permeabilidade ao vapor de água (PVA), (III) solubilidade, (IV) cor e opacidade, (V) propriedades térmicas, (VI) morfologia e (VII) capacidade antioxidante.

Por fim, foi aplicado o filme como embalagem ativa em massa fresca de pastel e armazenados em BOD à 7°C no período de 28 dias para verificar a vida útil a partir de análises de: (I) atividade de água, (II) cor e (III) microbiológica.

Figura 9 - Fluxograma das atividades realizadas no trabalho.



Fonte: Autoria própria.

4.2.1 Microencapsulação por spray drying

A microencapsulação do óleo essencial de orégano foi realizada em um spray dryer (Labmaq, modelo MSDi 1.0, Brasil) em escala piloto (Figura 10),

utilizando uma emulsão de óleo essencial de orégano, óleo resina de páprica, goma arábica e maltodextrina. Segundo a literatura e testes preliminares, a concentração dos sólidos foram fixadas em 30% (m/m). Inicialmente, a goma arábica e a maltodextrina (1:1) foram adicionadas em água destilada e agitadas até completa dissolução, em seguida foi adicionado óleo essencial de orégano OEO (3%, m/m em relação aos sólidos) e óleo resina de páprica (2% em relação a massa do OEO), cuja função foi corar as micropartículas para facilitar a visualização, e foram emulsionados por 3 minutos a 15.000 rpm em Ultraturrax (IKA, modelo T18, EUA). A emulsão preparada foi atomizada em câmara de secagem, através de um bico atomizador duplo fluido com diâmetro de 0,7 mm, com a temperatura do ar de entrada de 130°C, temperatura de saída de 100°C, vazão de alimentação de 600 mL/h, fluxo de ar de 1,65 m³/min e pressão do ar comprimido de 35 L/min.

Figura 10 – A - Spray dryer utilizado para produção das micropartículas. B – coletor das micropartículas (ampliado).



Fonte: Autoria própria

4.2.2 Caracterização das micropartículas de óleo essencial de orégano

4.2.2.1 Morfologia da partícula

A morfologia das micropartículas foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A amostra foi recoberta com ouro em um Sputter Coater (BAL-TEC, modelo SCD-050, Balzers, Liechtenstein) e em seguida visualizadas no MEV (Philips, modelo FEI Quanta 200 Japão), com potência de aceleração de 20 kV. A magnitude de observação foi de 5.000 vezes.

4.2.2.2 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação foi realizada em triplicata por método de destilação por arraste a vapor com auxílio de um Clevenger (MEDEIROS et al., 2019; PAGLIONE, 2018). Pesou-se 20 g das cápsulas e diluiu-as em 80 mL de água destilada. Homogeneizou-se e transferiu-se para um balão volumétrico que continha 2 g de sabão anti-espumante. Encaixou-se uma das extremidades do balão volumétrico no clevenger e a outra no condensador, vedando ambas as extremidades com graxa de silicone. Vedou-se também, com parafilme e filme de PVC, a outra extremidade do condensador. Durante todo o procedimento álcool gelado, a aproximadamente -2°C, foi passado no condensador com auxílio de uma bomba de aquário (Sarlo better b500, Brasil) e mangueiras de silicone com diâmetro externo de 1 cm. A manta do condensador então foi ligada e procedeu-se a extração do óleo de orégano. O volume do OEO obtido foi utilizado no cálculo da eficiência de encapsulação, conforme Equação 1.

$$EE(\%) = \frac{V_f \rho_{or} m_{ST}}{m_{cap} m_{or}} \times 100 \quad \text{Equação (1)}$$

V_f = volume final medido na bureta do clevenger;

ρ_{or} = densidade do óleo de orégano ($0,939 \text{ g.mL}^{-1}$) (BUDAVARI, 1996);

m_{cap} = massa de cápsulas pesada para a realização da análise;

m_{or} = massa de óleo de orégano adicionada na emulsão;

m_{ST} = massa de sólidos totais (massa material de parede + massa óleo de orégano) na emulsão.

4.2.2.3 Determinação do diâmetro médio e distribuição de tamanho

O diâmetro médio e a distribuição de tamanho das micropartículas foram determinados no laboratório do Centro de Tecnologia de Cereais e Chocolates do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), Campinas – SP, através de espalhamento de luz (Horiba, modelo LV950, Japão) com água destilada como meio dispersante. O diâmetro médio da partícula foi expresso em termos de volume médio (D_{50}) e a polidispersidade foi dada pelo índice span, calculado com a Equação 2:

$$\text{Span} = \frac{D_{90}-D_{10}}{D_{50}} \quad \text{Equação (2)}$$

Onde:

D_{10} = diâmetros de 10 % da distribuição acumulada.

D_{50} = diâmetros de 50 % da distribuição acumulada.

D_{90} = diâmetros de 90 % da distribuição acumulada.

4.2.3 Obtenção da farinha de trigo

A amostra de trigo escolhida para obtenção da farinha foi selecionada a partir do número de queda ou falling number, pois o objetivo foi selecionar trigo com falling number inferior a 200 segundos, ou seja, um trigo com valor

considerado fora de classificação e que não é de interesse para a indústria de panificação.

A amostra de trigo foi previamente selecionada, limpa e realizou-se a análise de umidade do grão de trigo no determinador GAC 2100 Dickey-John. Seguiu-se com o processo de umidificação, adicionando-se água até atingir a umidade ideal (15,5%) para moagem e condicionou-se o trigo em recipiente fechado no período de 24 horas para garantir a sua hidratação. Logo em seguida, foi realizado o processo de moagem do trigo em moinho experimental Choppin, modelo CD 1, disponível no laboratório da empresa Vilma Alimentos, e a farinha foi obtida.

4.2.3.1 Caracterização da farinha de trigo

Os teores de cinza, proteína e umidade foram determinados em triplicata, em aparelho espectrômetro FT – NIR (Near Infra Red) modelo MPA na empresa Vilma Alimentos. Com o emprego de metodologias recomendadas pela AACC (1995): métodos 08-12, 46-13, 44-15A para cinza, proteína e umidade, respectivamente. A análise de lipídeos foi realizada em equipamento Soxtec 2055, marca FOSS.

As análises de cor da farinha foram realizadas utilizando um colorímetro Konica Minolta, com iluminante D₆₅, obtendo-se os parâmetros L* (branco-preto), a* (vermelho-verde) e b* (amarelo-azul).

As propriedades viscoelásticas foram determinadas em Alveógrafo Chopin (Figura 11) de acordo com o método nº 54-30 da AACC (1995). Os parâmetros avaliados foram tenacidade (P), extensibilidade (L), relação tenacidade/ extensibilidade (P/L) e força geral do glúten ($W \times 10^{-4}$ J).

Figura 11 - Alveógrafo Chopin utilizado para análise de alveografia.



Fonte: Autoria própria

4.2.4 Produção dos filmes por extrusão sopra

Todas as formulações do filme foram processadas no Laboratório de Tecnologia da Universidade Estadual de Londrina em uma extrusora monorosca piloto, marca BGM (modelo EL-25, Brasil), composta de rosca de 25 mm de diâmetro ($L/D = 30$). Os filmes foram preparados em duas etapas. Na primeira etapa, todos os ingredientes da formulação foram pesados (Tabela 2) e manualmente misturados. A mistura foi alimentada na extrusora acoplada a uma matriz com seis orifícios de 2 mm de diâmetro e perfil de temperatura nas 4 zonas de aquecimento foi de 90/120/120/100°C e a velocidade do parafuso foi de 35 rpm. Os perfis cilíndricos (Figura 12 - A) foram peletizados (Figura 12 - B) e novamente alimentados à extrusora para a produção dos filmes à sopra. Nesta etapa, o perfil de aquecimento foi de 90/120/120/120/120, rotação do parafuso de 40 rpm e foi acoplada uma matriz anelar de 50 mm de diâmetro, com um sistema de sopra interno e externo (diâmetro 150 e 300 mm), sendo que o sopra interno é utilizado para formação do balão e o ar externo para resfriamento (Figura 12 - C). Através de estudos prévio, foi determinado a adição de 10 % de micropartículas na formulação. Em função da análise de eficiência de

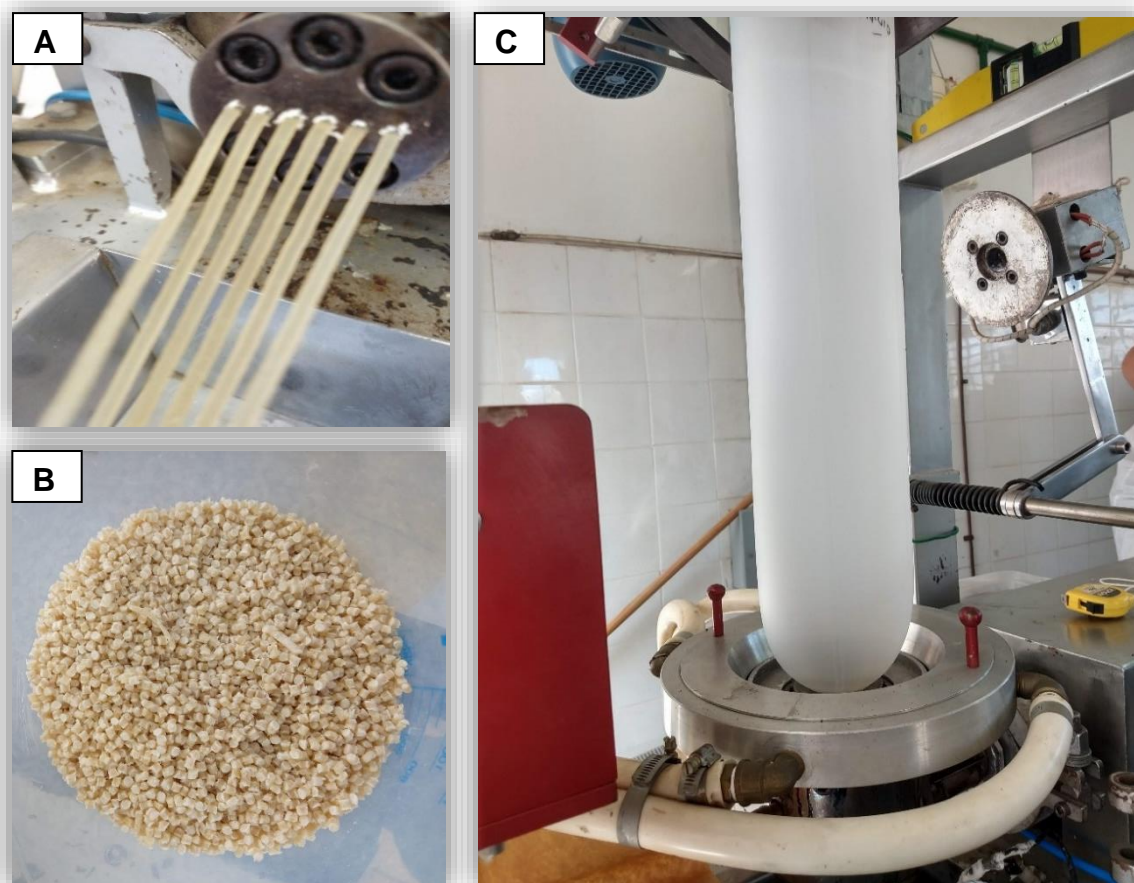
encapsulação, concluiu-se que em 50 g de micropartículas haviam aproximadamente 3,2865 g de óleo essencial de orégano.

Tabela 2 - Composições químicas dos filmes elaborados por extrusão.

Formulação	Farinha de trigo (g)	Glicerol (g)	PBAT (g)	Ácido cítrico (g)	Partículas (g)	OEO livre (g)
FC	230	70	200	0,1	-	-
FOM	207	63	180	0,09	50	-
FOL	207	63	180	0,09	-	3,2865

Fonte: Autoria própria.

Figura 12 - Etapas do processo de elaboração dos filmes. A - Perfis cilíndricos. B – Pelletes. C - Balão formado durante o processo de extrusão-sopro.



Fonte: Autoria própria.

4.2.5 Caracterização dos filmes

Os filmes foram avaliados quanto 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 foram determinadas utilizando um micrômetro digital e a média aritmética de três pontos medidos aleatoriamente sobre a superfície do filme para a determinação das propriedades mecânicas e de barreira. Antes das análises de caracterização, os filmes foram condicionados em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) e 53% de umidade relativa (URE) por no mínimo três dias.

4.2.5.1 Cor e Opacidade aparente

A cor dos filmes foi medida em colorímetro Konica Minolta modelo CR-410 na empresa Vilma Alimentos, com iluminante D_{65} (luz do dia) e os padrões Cie Lab no qual L^* varia de 0 (preto) a 100 (branco), a^* varia do verde (-) ao vermelho (+) e b^* varia do azul (-) ao amarelo (+). Foram realizadas cinco leituras subsequentes para cada amostra.

A opacidade aparente dos filmes foi determinada pela utilização de um colorímetro (BYK Gardner, Alemanha) empregando-se iluminante D_{65} e ângulo visual 10° , do Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina. Segundo a metodologia descrita por Sobral (2000) a opacidade foi calculada a partir da relação sobre leituras feitas sobre fundo branco e preto, conforme a Equação 3. As análises foram realizadas em triplicata.

$$Y(\%) = \frac{Y_p}{Y_b} \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Onde:

Y: Opacidade

Yp: Opacidade sobre o fundo preto;

Yb: Opacidade sobre fundo branco.

4.2.5.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras foram previamente secas em dessecador contendo sílica gel por 14 dias e após este período foram fraturadas em nitrogênio líquido e fixadas sobre stubs com fitas de carbono. As amostras foram recobertas com ouro em um Sputter Coater (BAL-TEC, modelo SCD-050, Balzers, Liechtenstein) e em seguida foram visualizadas em microscópio eletrônico de varredura (Philips, modelo FEI Quanta 200, Japão), com potência de aceleração de 20 kV, para análise da superfície e da área de fratura. A magnitude de observação foi de 1600x para área de fratura e de 400x para superfície.

4.2.5.3 Propriedades mecânicas

Para os testes de tração foi utilizado texturômetro, marca Stable Micro Systmes, modelo TA-TX2, disponível no laboratório do Programa de Pós-graduação em Ciência de alimentos da Universidade Estadual de Londrina. Foram determinadas as propriedades de resistência máxima de tração (MPa) alongamento na ruptura (%), modulo de elasticidade ou de Young (MPa) de acordo com as normas da American Society for Testing and Material (ASTM D882-12, 2012).

4.2.5.4 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

As análises de permeabilidade de vapor d'água foram feitas segundo norma E 96-00 da ASTM (2000). Cada filme foi fixado na abertura circular de 60 mm de diâmetro da cápsula de alumínio, vedados com graxa de silicone de modo a garantir que a migração de umidade ocorresse exclusivamente através do filme. O interior das cápsulas foi previamente preenchido com sílica (~ 0% UR) e o sistema foi condicionado em dessecador contendo solução de cloreto de sódio saturado (NaCl - 75% UR). Periodicamente, foram feitas pesagens da cápsula com o filme em balança semi analítica até a obtenção de uma taxa constante de ganho de massa. O ganho de massa (g) foi plotado em função do tempo (h) e, a partir de 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 4.

$$PVA = \frac{g}{t} \cdot \frac{\varepsilon}{A \cdot \Delta P} \quad (\text{Equação 4})$$

Onde:

g/t = coeficiente angular (g/h)

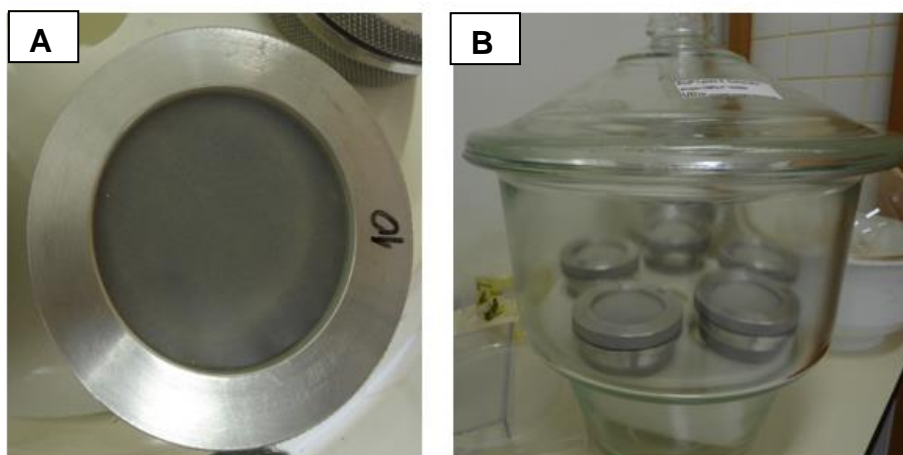
A = área de permeação (m²)

ε = espessura média dos filmes (m)

ΔP = diferença de pressão de vapor de água (kPa) entre as superfícies do corpo de prova.

O esquema do teste está mostrado na Figura 13.

Figura 13 – Análise de permeabilidade de vapor de água. A- Vista superior da cápsula de permeabilidade. B- Vista dessecador contendo as cápsulas de PVA.



Fonte: Autoria própria.

4.2.5.5 Solubilidade em água

Nesta análise, foi obtida a porcentagem de material seco do filme solubilizado em água após 24 horas de imersão (CARVALHO, 1997). Os filmes foram cortados no tamanho de 2,0 x 2,0 cm e secos a 105°C por 24 horas em estufa, para a obtenção da porcentagem de material seco. Posteriormente as amostras foram imersas em 200 mL de água destilada e o sistema foi mantido durante 24 horas à temperatura de 25°C, sob agitação (100 rpm), utilizando uma mesa agitadora orbital (*shaker*). Após este período as amostras foram secas durante 24 h, a 105°C, em uma estufa com circulação e renovação de ar para determinar a massa seca final da amostra não solubilizada. A solubilidade foi realizada em triplicata e expressa de acordo com a equação 5:

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100 \quad (\text{Equação 5})$$

Onde:

M_i = massa seca inicial do filme (g);

M_f = massa seca final do filme (g);

4.2.5.6 Extração dos compostos fenólicos e antioxidantes

Para a extração dos compostos fenólicos dos filmes, 20 mL de etanol 80% (v/v) foi adicionado a 1 g de filme e a mistura foi homogeneizada em agitador de tubos (Phoenix, Brasil) durante 20 horas a temperatura ambiente. Após, a mistura foi centrifugada e o sobrenadante foi utilizado nas análises de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante.

4.2.5.6.1 Teor de compostos fenólicos totais

O teor de fenólicos totais foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965). Os ácidos fosfotúngstico e fosfomolibdico são reduzidos pelos compostos fenólicos a óxidos de tungstênio e de molibdênio, formando uma solução de cor azul de intensidade correspondente à concentração dos compostos antioxidantes. Em um tubo de ensaio foram misturados 200 µL de extrato, 1000 µL do reagente de Folin-Ciocalteu (10%, v/v), 800 µL de solução de carbonato de sódio (7,5%, m/v). Foi preparado um branco com 200 µL de etanol 80%, usado como solução extratora, 1000 µL do reagente de Folin-Ciocalteu e 800 µL de solução de carbonato de sódio. Esta mistura foi agitada e os tubos mantidos em ambiente escuro a temperatura ambiente por 2 horas. A leitura da absorbância foi realizada a 750 nm usando um espectrômetro UV-VIS (Biochrom, modelo Libra, Cambridge, Inglaterra). Uma curva padrão de ácido gálico ($y = 7,5002x - 0,0421$; $R^2 = 0,9952$) foi utilizada para quantificação dos fenólicos totais, que foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico por gramas de filme (mg EAG/g de filme).

4.2.5.6.2 Determinação da atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro (FRAP)

A capacidade antioxidante dos filmes foi avaliada pelo método de redução do ferro (FRAP) de acordo com o método descrito por Rufino et al. (2006). Em ambiente escuro, uma alíquota de 100 µL do extrato foi transferida para tubos de ensaio, acrescentando-se 300 µL de água destilada e 3.000 µL do reagente FRAP (10 mM TPTZ em 40 mM HCl, mais 20 mM cloreto férrico e 300 mM de tampão acetato, pH 3,6, 1:1:10 v/v/v). Os tubos foram agitados e mantidos em banho-maria a 37°C por 30 minutos para reação. A leitura (595 nm) foi realizada em espectrofotômetro UV-VIS (Biochrom, modelo Libra, Cambridge, Inglaterra) e o reagente FRAP foi empregado como branco para calibrar o equipamento. Uma curva padrão de Trolox ($y = 0,0012x + 0,006$; $R^2 = 0,9976$) foi previamente construída e os resultados expressos µmol Trolox equivalente/ g filme.

4.2.5.6.3 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH

A capacidade antioxidante dos filmes foi avaliada pelo método de ensaio DPPH conforme descrito por Rufino et al. (2007b). Em tubos de ensaio uma alíquota de 0,1 mL do extrato foi misturado com 3,9 mL de solução de DPPH 0,06 mM. Após 40 minutos, a absorbância foi medida em espectrofotômetro UV-VIS (Biochrom, modelo Libra, Cambridge, Inglaterra) a 515 nm. Os resultados foram calculados utilizando-se uma curva padrão de Trolox ($y = 0,0006x + 0,687$; $R^2 = 0,9987$) e expressos em µM de Trolox equivalente por g de filme.

4.2.5.6.4 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre ABTS •⁺

A determinação da capacidade antioxidante pelo método ABTS foi realizada conforme Rufino et al. (2007a), onde inicialmente foi preparada uma solução estoque de ABTS 7mM e persulfato de potássio 140 mM. Para o preparo do radical ABTS (ABTS^{•+}), 5 mL da solução estoque de ABTS foi misturada com 88 µL da solução de persulfato de potássio e mantida em ambiente escuro, a temperatura ambiente, por 16 horas. Em seguida, foi diluída 1 mL desta mistura em álcool etílico até obter uma absorvância de $0,70 \pm 0,05$ a 734 nm. Em tubos de ensaio uma alíquota de 30 µL do extrato do filme foi misturada com 3,0 mL do radical ABTS^{•+} e a leitura da absorvância (734 nm) foi realizada após 6 minutos de reação. Os resultados foram calculados utilizando-se uma curva padrão de Trolox ($y = 0,0003x + 0,7052$; $R^2 = 0,9952$) variando as concentrações e expressos em µM de Trolox equivalente por g de filme.

4.2.5.7 Análise termogravimétrica (TGA)

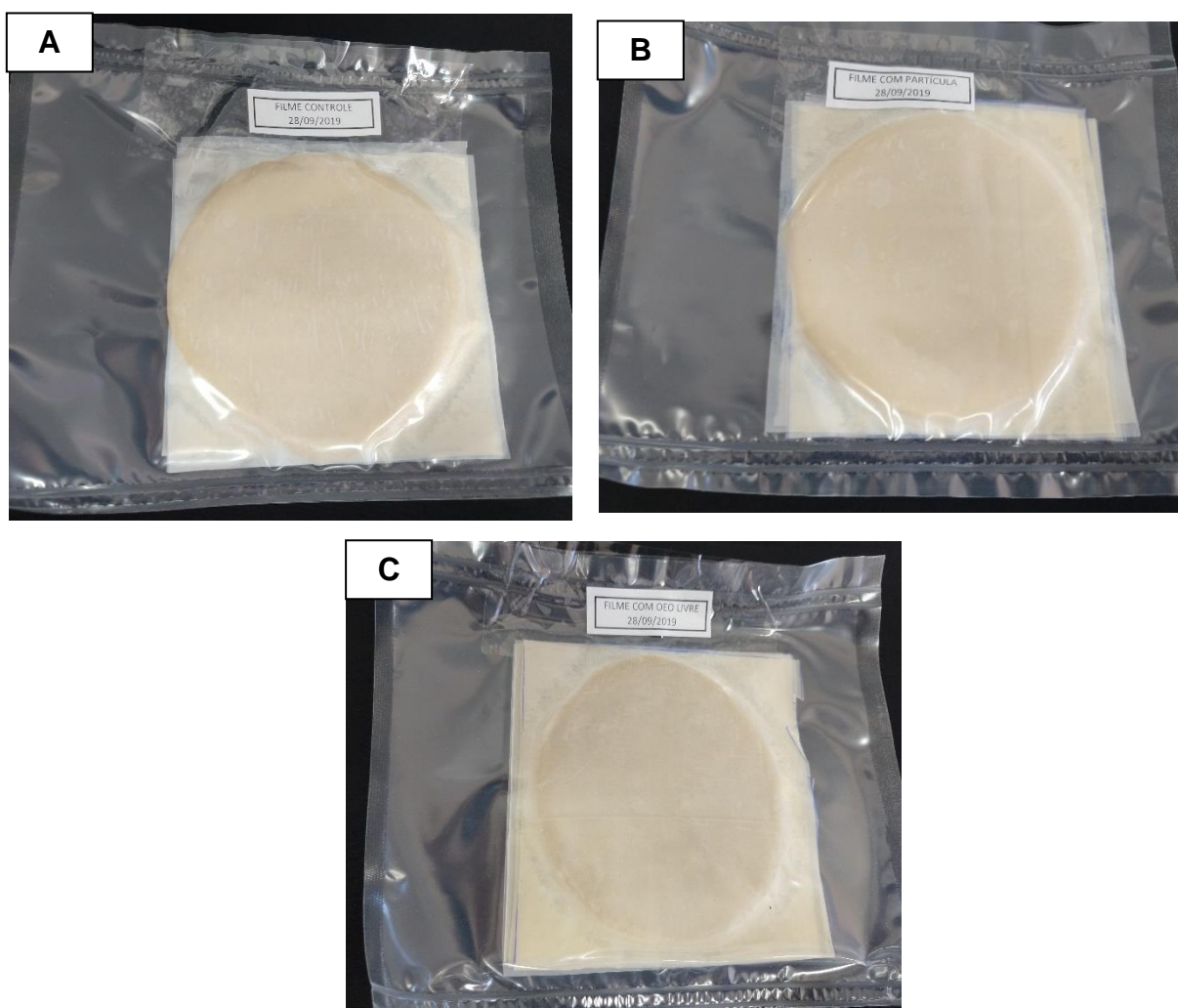
A TGA (PerkinElmer, STA-6000) foi realizada em atmosfera de nitrogênio (20 mL/min), com aquecimento de 25 a 600°C a uma taxa de 10°C/min.

4.2.6 Armazenamento da massa alimentícia fresca

Os filmes produzidos foram aplicados em massa fresca para pastel sem adição de conservantes, produzida em uma pastelaria localizada na cidade de Cambé - PR. Todo o experimento foi conduzido baseando-se nos estudos de Andrade-Molina et al. (2013) e Rivero et al. (2013). Discos de massa com 100 mm de diâmetro e com espessura média de 1,06 mm foram dispostos sobre o

filme e em seguida outro filme foi colocado sobre a massa. Este procedimento de intercalação filme e massa foi repetido 3 vezes e o conjunto foi embalado em sacos de polietileno e selado (Figura 14). A massa de pastel foi armazenada em incubadora BOD a $7 \pm 1^\circ\text{C}$ por 28 dias e análises físico-químicas e microbiológicas foram realizadas a cada 7 dias até o 28º dia de armazenamento.

Figura 14 – Massas frescas de pastel embalados (A) intercaladas com os filmes controle, (B) intercaladas com filmes com micropartículas de OEO e (C) intercaladas com filmes com OEO livre.



Fonte: Autoria própria.

4.2.6.1 Análises físico-químicas

4.2.6.1.1 Determinação da atividade de água (A_w)

A atividade de água (A_w) da massa foi determinada no equipamento Aqualab - CX2T a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, de acordo com o método 978.18 (AOAC, 1990). As análises foram realizadas em triplicata.

4.2.6.1.2 Determinação de cor

Os parâmetros de cor L^* , a^* e b^* (sistema CIELab) da massa foram determinados com um colorímetro Konica Minolta, sob ângulo visual de 10° e iluminante D_{65} (luz do dia). Foram determinados os valores de ΔE (diferença de cor entre duas medidas espectrofotométricas), entre as amostras no início e ao longo da armazenagem com base na mensuração dos parâmetros L^* , a^* e b^* , a partir da equação 6.

$$\Delta E = \sqrt{(L_t^* - L_0^*)^2 + (a_t^* - a_0^*)^2 + (b_t^* - b_0^*)^2} \quad (\text{Equação 6})$$

Onde:

t = cor no tempo de armazenagem t;

0 = cor no início da armazenagem.

4.2.6.2 Avaliação microbiológica

No tempo inicial, foram realizadas análises microbiológicas para detecção de Coliformes termotolerantes (45°C), *Salmonella ssp*, Estafilococos coagulase positiva, *Bacillus cereus*, contagem total de psicotróficos e bolores e leveduras na massa de pastel, de acordo com metodologia descrita por Silva et al. (2017). No decorrer do armazenamento (7, 14, 21 e 28 dias) foram realizadas contagem total de bolores e leveduras e psicotróficos.

4.2.6.2.1 Coliformes totais e termotolerantes (45°C)

Para a contagem de coliformes a 45°C foi realizado o teste presuntivo de coliformes totais. Pesou-se 25 g de amostra que foram homogeneizadas com 225 mL de água peptonada 0,1% (m/v). Foi utilizando Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) e Caldo Verde Brilhante Lactose Bile 2% (VB). Alíquotas de 1,0 mL de cada diluição foram transferidas para séries de três tubos contendo caldo LST com tubos de Durham invertidos. Os tubos foram incubados a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ durante 24 e 48 horas, e 1 mL de cada tubo apresentando crescimento e produção de gás foi semeada em tubos contendo 10 mL de caldo VB com tubos de Durham invertidos. Os tubos contendo caldo VB foram incubados a 35°C por 24 a 48 horas. A formação de gás nos tubos de caldo VB indica a presença de coliformes totais, sendo o resultado expresso em NMP de coliformes totais por grama de alimentos. Para a determinação de coliformes a 45°C foi empregado Caldo EC. A partir dos tubos de caldo LST com formação de gás, transferiu-se 1 mL de amostra para tubos contendo EC e tubos de Durhan invertidos, inoculando-se a 35°C por 24 horas. A formação de gás nos tubos de EC indica a presença de coliformes a 45°C, sendo o resultado expresso em NMP de coliformes a 45°C por grama de alimentos (SILVA et al., 2017).

4.2.6.2.2 *Salmonella* sp

Para a detecção de *Salmonella* sp., 25 g de amostra foram homogeneizadas em 225 mL de caldo lactosado, incubando-os em uma estufa a 37°C por 20 horas (mistura pré-enriquecida). Da mistura pré-enriquecida, transferiu-se 0,1 mL para um tubo contendo 10 mL do caldo Rappaport-Vassiliadis (RV), sendo este mantido em estufa a 42°C por 24 horas. A partir do caldo RV, realizou-se o plaqueamento seletivo diferencial pela técnica de esgotamento em ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), incubando-se em estufa bacteriológica por 24 horas a 37°C (SILVA et al., 2017).

4.2.6.2.3 *Estafilococos* coagulase positiva

Para quantificação de *Estafilococcus* coagulase positiva, 25 g de amostra foram homogeneizadas em 225 mL de água peptonada 0,1%. Foram realizadas diluições até 10^{-5} e alíquotas de 0,1 mL das diluições foram semeadas em ágar Baird-Parker com solução de gema de ovo e telurito de potássio 1%. As placas foram incubadas a 35-37°C por 48 horas. Foi realizada a contagem das colônias típicas e o resultado foi expresso em Log UFC/g de alimento (SILVA et al., 2017)

4.2.6.2.4 *Bacillus cereus*

Para quantificação de *Bacillus cereus*, 25 g de amostra foram homogeneizadas em 225 mL de água peptonada 0,1%. Foram realizadas diluições até 10^{-5} e alíquotas de 0,1 mL das diluições foram semeadas Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP). As placas foram incubadas a 30-32°C por 20-24 horas. Foi realizada a contagem das placas e o resultado foi expresso em Log UFC/g de alimento (SILVA et al., 2017).

4.2.6.2.5 Contagem de bolores e leveduras

Para a quantificação de bolores e leveduras, 25 g de amostra foram homogeneizadas em 225 mL de água peptonada 0,1%. Foram realizadas diluições até 10^{-5} e semeadas em Ágar Batata Dextrose Acidificado (PDA - AC). As placas foram incubadas a 25°C por um período de cinco dias. Foi realizada a contagem das placas e o resultado foi expresso em Log UFC/g de alimento (SILVA et al., 2017).

4.2.6.2.6 Contagem total de psicrotróficos

Para quantificação de psicrotróficos, 25 g de amostra foram homogeneizadas em 225 mL de água peptonada 0,1%. Foram realizadas diluições até 10^{-5} e semeadas em Ágar Padrão para Contagem (PCA). As placas foram incubadas a 7°C por um período de dez dias. Foi realizada a contagem das placas e o resultado foi expresso em Log UFC/g de alimento (SILVA et al., 2017).

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

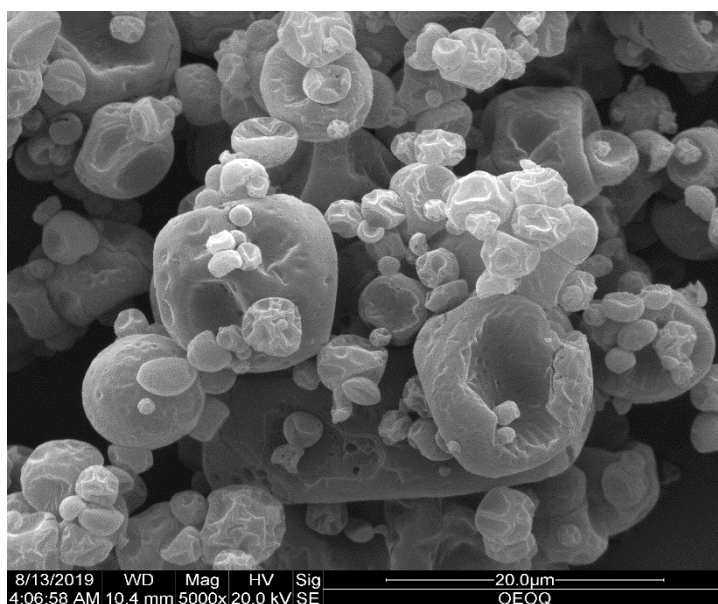
Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as diferenças entre as médias foram avaliadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando-se o programa Statistica® 12.0 (Statsoft, USA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 MORFOLOGIA, EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DAS MICROPARTÍCULAS DE OEO

A morfologia das partículas obtidas por spray drying foi avaliada através da microscopia eletrônica de varredura e a imagem está na Figura 15. As partículas mostraram geometria esférica, característico de partículas obtidas por spray drying, com a superfície externa enrugada devido ao encolhimento das gotas durante as etapas de secagem e resfriamento (ROSENBERG et al., 1990). Além disso, as micropartículas mostraram variação no tamanho e isso ocorreu porque durante a aspersão da emulsão, as gotas não possuem tamanho uniforme (HIJO et al., 2015). Morfologias semelhantes foram verificadas por Silva et al. (2018) em micropartículas de óleo de pequi revestido com goma de cajueiro e quitosana, Boger et al. (2018) em micropartículas de óleo de semente de uva com goma arábica e maltodextrina e por Hijo et al. (2015) em óleo de orégano microencapsulado com amido modificado e goma arábica.

Figura 15 - Microscopia eletrônica de varredura das micropartículas de óleo essencial de orégano.



Fonte: Autoria própria.

Ainda de acordo com o MEV, as micropartículas formaram aglomerados e de acordo com a literatura, este fato é comum em pós obtidos por spray drying. Além disso, os aglomerados podem conter óleo de orégano nos interstícios, auxiliando em sua retenção (TRINDADE; GROSSO, 2000).

A eficiência de encapsulação (EE) das micropartículas contendo OEO foi obtida através de destilação por arraste a vapor e foi de 65,73 %. Valor similar foi obtido (63,47 %) por Boger et al. (2018) ao encapsular óleo de semente de uva. Valor superior (86,2 %) de EE foi obtido por Hijo et al. (2015) possivelmente por terem empregado um material de parede composto de 25% goma arábica e 75% amido modificado com composto lipofílico, pois esses materiais são mais eficientes na retenção de compostos voláteis e também devido as condições do processo.

O diâmetro médio das microcápsulas foi de $8,32 \pm 0,29 \mu\text{m}$, valor próximo foi verificado por Hijo et al. (2015), com um diâmetro médio de $8,82 \mu\text{m}$. Boger et al. (2018) encontrou valores superiores ($26,96 \pm 0,46 \mu\text{m}$) em microcápsulas de óleo de semente de uva obtidas por spray drying utilizando goma arábica e maltodextrina como materiais de parede. A distribuição de tamanho das microesferas consiste de um importante parâmetro físico que pode influenciar a mistura dos componentes diferentes na compactação e segregação da mistura, sendo que as partículas menores permanecem distribuídas sobre a parte inferior, enquanto as partículas maiores tendem a permanecer na parte superior da embalagem (BÖGER, 2016).

Os valores de span caracterizam o quão homogênea é a distribuição do tamanho das partículas, ou seja, quanto maior o valor do span, mais heterogênea ou polidispersa é a sua distribuição (HIJO et al., 2015). O índice de polidispersão ou span das micropartículas foi de $1,58 \pm 0,05$, sendo este valor considerado alto e indica que não houve homogeneidade quanto ao tamanho das amostras. O alto valor de span corrobora com a imagem de MEV que revelou partículas de diferentes tamanhos. Valores semelhantes foram encontrado por Hijo et al (2015) (1,61) em micropartículas de OEO com amido modificado e goma arábica.

A atividade de água da partícula foi de $0,3012 \pm 0,01$ e valor semelhante foi reportado em micropartículas de óleo de semente de uva encapsulado com maltodextrina e goma arábica (BÖGER; GEORGETTI; KUROSZAWA, 2018).

5.2 CARACTERIZAÇÃO DA FARINHA DE TRIGO

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados da caracterização da farinha de trigo utilizada na formulação do filme. O valor de FN foi de 199 segundos, que segundo a Instrução Normativa 7/2001 do MAPA (Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Trigo) classifica como trigo para outros usos. O teor de umidade foi de 16,62 %, acima do valor máximo permitido pela legislação vigente no país. A Instrução Normativa 8/2005 do MAPA, denominada Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Farinha de Trigo estabelece que as farinhas de trigo podem apresentar uma umidade máxima de até 15 %.

Tabela 3 - Teor de umidade, cinzas, proteína, cor e alveografia da farinha de trigo.

Análises		Farinha de trigo*
Falling Number (FN)		199 ± 1,41
Umidade (%)		16,62 ± 0,07
Cinzas (%)		0,65 ± 0,04
Proteína (%)		11,05 ± 0,08
Lipídeos		1,01 ± 0,10
Cor	L*	91,96 ± 0,24
	a*	-0,21 ± 0,07
	b*	9,65 ± 0,06
Alveografia	P (mm)	123 ± 6,66
	L (mm)	83 ± 7,02
	P/L (mm)	1,48 ± 0,05
	W (10 ⁻⁴ J)	391 ± 51,08

*Média e desvio padrão

Na análise de cinzas foi obtido um valor de 0,65 %, teor de cinzas dentro do estabelecido pela legislação brasileira, que estabelece o limite máximo de 0,8 % de cinzas para farinha de trigo. Este parâmetro é importante para identificar ineficiência durante o processo de moagem, ou seja, como os minerais encontram-se em grande quantidade na parte externa do grão do trigo, no farelo, quanto maior quantidade de farelo maior o teor de cinzas.

Para o teor de proteína foi obtido um valor de 11,05 %, segundo a legislação brasileira estabelece um valor mínimo de 7,5 % de proteína para a farinha de trigo. GUTKOSKI et al. (2011) encontrou valores similares para o teor de proteína nas farinhas de trigo avaliadas (11,22 e 12,79%).

Para a análise de lipídeos foi obtido um valor de $1,01 \pm 0,10$ %, teor dentro dos limites estabelecido pela legislação brasileira.

A cor da farinha foi de 91,96 para o parâmetro de luminosidade (L^*), que quanto mais próximo de 100 mais branca a farinha, de -0,21 para o parâmetro a^* , que quanto mais negativo tende uma cor mais verde, e para o parâmetro b^* foi de 9,65, tendendo para cor amarelo. Segundo as características sensoriais das farinhas de trigo, sua cor deve ser branca, com tons leves de amarelo, marrom ou cinza, dependendo do trigo que essa farinha se origina (BRASIL, 1996).

A alveografia é um teste reológico usado para a determinação de características qualitativas da farinha de trigo, por meio da determinação dos parâmetros de relação elasticidade e extensibilidade (P/L) e força geral do glúten ($W \times 10^{-4}$ J). A farinha apresentou valor de P/L de 1,48 podendo ser classificada como de glúten balanceado. A força geral do glúten foi de 391×10^{-4} J a qual classifica o trigo adequado para pão (BRASIL, 2005).

5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES PRODUZIDOS POR EXTRUSÃO SOPRO

5.3.1 Aspecto visual

Os filmes apresentaram coloração branca levemente amarelada, opacos, apresentaram homogeneidade e boa manuseabilidade, não tendo bolhas ou rachaduras na superfície, com a superfície pouco rugosa, conforme pode ser observado na Figura 16.

Figura 16 – Aparência dos com filmes controle (FC), filme contendo óleo essencial de orégano microencapsulado (FOM) e filme contendo óleo de orégano livre (FOL).



Fonte: Autoria própria

A espessura média dos filmes foi de $117 \pm 18 \mu\text{m}$ para o filme controle, de $170 \pm 38 \mu\text{m}$ para o filme contendo FOM e de $175 \pm 26 \mu\text{m}$ para o filme contendo FOL. Pode-se observar que não houve diferença significativa de espessura entre o filme FOM e o FOL, porém entre esses filmes e o filme controle houve diferença significativa, sendo o filme controle mais fino. Esta variação ocorreu em função da adição do óleo essencial tanto na forma microencapsulada e livre, onde foi necessário reduzir a vazão de ar para a formação do balão.

5.3.2 Cor e opacidade aparente

Os resultados de cor e opacidade dos filmes FC, FOM e FOL estão descritos na Tabela 4. De forma geral, os filmes não apresentaram diferença significativa nos parâmetros L^* e b^* . Entretanto, a adição de microcápsulas de OEO contribuiu para um maior valor de a^* ($0,57 \pm 0,06$), diferindo significativamente do FC e FOL, e essa variação de cor se explica por conta de ter adicionado óleo resina de páprica com a finalidade de corar as micropartículas e facilitar a visualização no filme.

O valor de L^* de FC foi menor que o reportado por Silva et al. (2019) em filmes de amido de mandioca e PBAT (70:30) produzidos por extrusão sopro (94,84) e isso está relacionado ao uso de farinha de trigo. A cor mais escura dos filmes deste trabalho evidenciam a ocorrência de reação de Maillard entre as

proteínas e carboidratos presentes na farinha de trigo e o emprego de uma temperatura de processamento elevada (130°C).

Tabela 4 - Cor e opacidade aparente de filmes de farinha de trigo contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre.

Filme	Cor			Opacidade (%)
	L*	a*	b*	
FC	88,61 ± 1,10 ^a	0,29 ± 0,23 ^a	7,48 ± 2,91 ^a	58,27 ± 1,81 ^a
FOM	88,44 ± 1,17 ^a	0,57 ± 0,06 ^b	8,53 ± 3,56 ^a	61,46 ± 0,86 ^{ab}
FOL	88,03 ± 1,01 ^a	0,22 ± 0,09 ^a	9,38 ± 2,89 ^a	64,19 ± 1,50 ^b

Filme controle (FC); Filme com óleo essencial de orégano microencapsulado (FOM); Filme com óleo essencial de orégano livre (FOL); ^{a, b, c} Letras minúsculas iguais na coluna não apresentam diferença significativa ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey.

Com relação à opacidade aparente dos filmes, a adição de OEO livre e microencapsulado aumentou a opacidade. Foi verificado comportamento semelhante em trabalho de Silva et al. (2019), que obteve um aumento na opacidade, em filmes com 0,75% de extrato de pinhão. Filmes mais opacos podem ser vantajosos, pois são capazes de proteger mais efetivamente alimentos contra a luz, auxiliando na redução da oxidação lipídica.

5.3.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

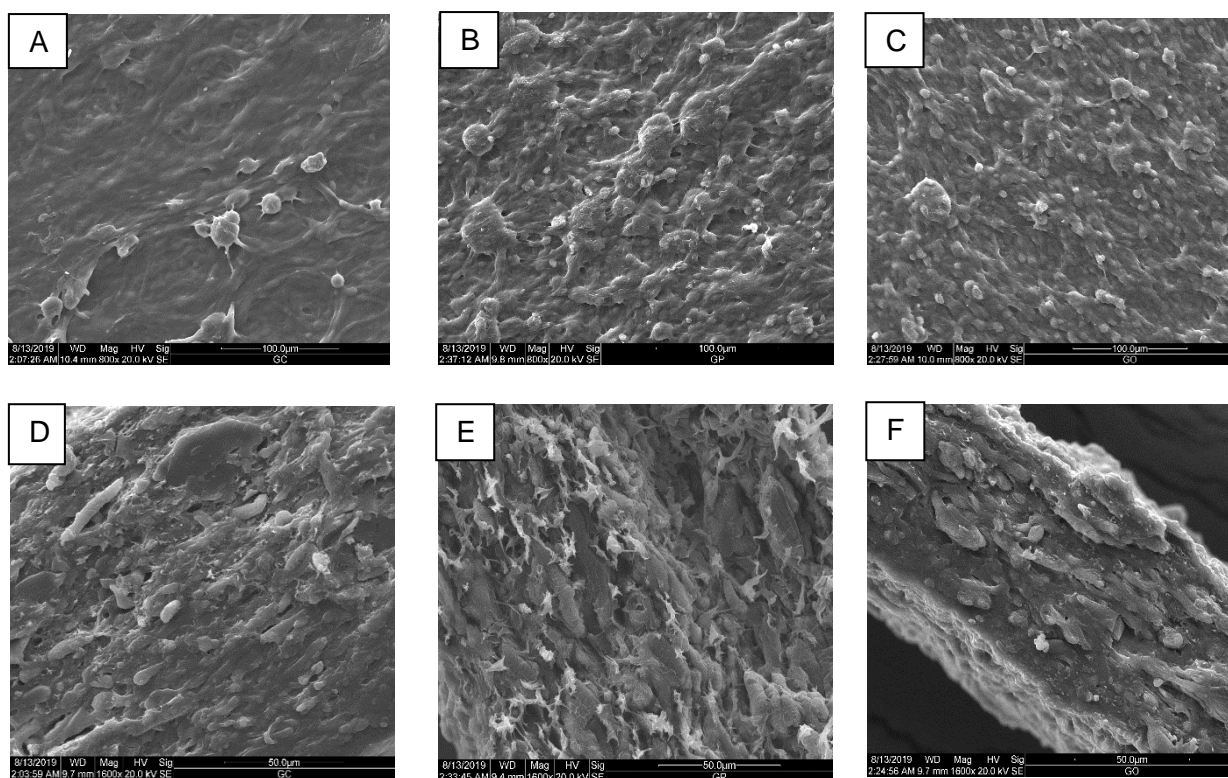
As imagens de MEV da superfície e fratura dos filmes estão apresentados na Figura 17. As características microestruturais dos filmes mostraram que as condições de processamento foram satisfatórias, com boa incorporação dos componentes da farinha de trigo na matriz polimérica, não houve trincas ou poros ao longo da seção transversal, sugerindo uma estrutura compacta, comportamento semelhante identificado em trabalho de Dias (2014), que utilizou farinha de aveia e PBAT para elaboração de filmes.

De forma geral, não foi observada diferença significativa na microestrutura de fratura dos filmes em razão da adição de óleo de orégano livre e microencapsulado. Porém, na imagem de superfície do filme FC (Figura 17-A),

percebe-se uma superfície mais lisa, com menos aglomerados enquanto que nas micrografias dos filmes FOM e FOL (Figuras 17-B e C) observa-se a presença de aglomerados de diferentes tamanhos. Deduz-se que a presença de óleo de orégano, seja na forma livre ou microencapsulada, tenha interferido no grau de mistura dos ingredientes.

Campos et al. (2019) também não verificaram apreciável diferença na morfologia dos filmes de amido de mandioca e PBAT produzidos por extrusão sopro em razão da adição de curcumina.

Figura 17 – Microscopia eletrônica de varredura da superfície (800 x de magnitude A, B e C) e fratura (1600 x de magnitude D, E e F) dos filmes. A e D (FC), B e E (FOM) e C e E (FOL).



Fonte: Autoria própria.

5.3.4 Propriedades mecânicas

Os resultados das propriedades mecânicas de filmes de farinha de trigo e PBAT contendo óleo de orégano livre e encapsulado estão apresentados na Tabela 5. De forma geral, verificou-se que os filmes FOM apresentaram menores

valores de resistência a tração (T) e módulo de Young (MY) e maior valor de alongação na ruptura (ϵ) em relação às demais formulações. É possível que a microencapsulação tenha protegido o óleo de orégano e este pode ter atuado melhor como um plastificante durante o processo de extrusão. O efeito plastificante do óleo de orégano também foi verificado por Paglione et al. (2019) em filmes de concentrado proteico de soja produzidos pela técnica de casting. Além disso, destaca-se a presença da goma arábica (material de parede) em FOM que por sua propriedade espessante pode ter auxiliado na plastificação da mistura, proporcionando maior capacidade de alongação.

Segundo Assis et al. (2017) a adição de aditivos no desenvolvimento de filmes biodegradáveis pode modificar a estrutura da matriz polimérica e neste trabalho as micropartículas podem ter atuado reduzindo a interação polímero-polímero e promoveram a formação de descontinuidades na estrutura, reduzindo a resistência à tração e a elasticidade dos filmes (MARTINS et al., 2012; SHEN; KAMDEM, 2015).

A incorporação de óleos essenciais geralmente reduz a (T) como resultado do desenvolvimento de uma estrutura heterogênea de filme com descontinuidades. Em filmes de alginato incorporados de óleo essencial de orégano, a presença de OEO na formulação dos filmes pode ter interferido nas interações reduzindo as forças intermoleculares ao longo das cadeias poliméricas, melhorando a flexibilidade e a mobilidade das cadeias. Assim, o OEO pode atuar como um plastificante, reduzindo a resistência à tração e aumentando ϵ dos filmes (BENAVIDES et al., 2012)

Tabela 5 - Propriedades mecânicas de filmes de farinha de trigo contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre.

Filme	T (MPa)	ϵ (%)	MY (MPa)
FC	3,87 \pm 0,32 ^b	296,67 \pm 46,50 ^a	19,16 \pm 1,13 ^c
FOM	3,01 \pm 0,12 ^a	351,65 \pm 28,35 ^b	15,20 \pm 0,75 ^a
FOL	3,68 \pm 0,16 ^b	313,67 \pm 52,60 ^{ab}	17,34 \pm 1,04 ^b

Resistência à tração (T); alongação a ruptura (ϵ); modulo de Young (MY). Filme controle (FC); Filme com óleo essencial de orégano microencapsulado (FOM); Filme com óleo essencial de orégano livre (FOL); ^{a, b, c} Letras minúsculas iguais na coluna não apresentam diferença significativa ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey.

Comportamento semelhante ao presente trabalho foi observado por Medeiros et al. (2019), em filmes de amido de mandioca e PBAT incorporados de micropartículas de óleo essencial de orégano obtidas por gelificação iônica, no qual os autores verificaram uma redução de T e MY para filmes adicionados de micropartículas quando comparados com o filme controle. Já em filmes de concentrado proteico de soja (CPS) adicionados de óleo de orégano microencapsulado por gelificação iônica, verificou-se elevação de aproximadamente 2,5 vezes em T e de 3,1 vezes em MY. Este resultado foi relacionado à boa interação entre o CPS e o alginato de sódio da micropartícula que resultou no reforço da matriz polimérica (PAGLIONE et al., 2019).

Os filmes de farinha de trigo e PBAT adicionados de OEO livre e microencapsulado obtidos no presente trabalho apresentaram propriedades mecânicas superiores aos filmes produzidos apenas com farinha de trigo, com valores de T e ϵ aproximadamente três vezes maiores (PUGLIA et al., 2016; BENINCASA et al., 2017). Isso se deve à realização de blenda com o PBAT e à boa interação da farinha com este, como já evidenciado nas imagens de MEV.

5.3.5 PVA e Solubilidade

Na Tabela 6 estão mostrados os valores de PVA e solubilidade em água dos filmes de farinha de trigo e PBAT. A PVA dos filmes variaram de $1,92 \pm 0,07 \times 10^7$ a $2,18 \pm 0,01 \times 10^7 \text{ g.m}^{-1}.\text{h}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$, não apresentando diferença significativa. Este resultado pode estar relacionado com a morfologia do filme apresentada anteriormente (Figura 16), na qual verificou-se que não houve diferença nas imagens de fratura. Medeiros et al. (2019) verificaram que os filmes contendo microcápsulas OEO não diferiram significativamente dos filmes controle, porque o óleo estava concentrado dentro das microcápsulas. Além disso, como a quantidade de partícula adicionada foi de 1% em relação à massa total da formulação, isso não interferiu na fase polimérica contínua, sendo seu comportamento semelhante ao filme controle em termos de PVA. Comportamento diferente foi reportado por Paglione et al. (2019) em que filmes de CPS contendo micropartículas de OEO apresentaram menor PVA em relação

ao filme controle e incorporado de OEO livre e os autores atribuíram este fato à boa interação entre o CPS e o alginato utilizado como material de parede.

Tabela 6- PVA e solubilidade de filmes de farinha de trigo contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre.

Filme	PVA x 10 ⁷ (g.m ⁻¹ .h ⁻¹ .Pa ⁻¹)	Solubilidade (%)
FC	1,92 ± 0,07 ^a	4,25 ± 1,59 ^a
FOM	2,08 ± 0,13 ^a	14,30 ± 0,26 ^b
FOL	2,18 ± 0,01 ^a	3,71 ± 1,25 ^a

Permeabilidade ao vapor de água (PVA); Filme controle (FC); Filme com óleo essencial de orégano microencapsulado (FOM); Filme com óleo essencial de orégano livre (FOL); ^{a, b, c} Letras minúsculas iguais na coluna não apresentam diferença significativa ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey.

A solubilidade em água dos filmes variou de 3,71 ± 1,25 % a 14,30 ± 0,26% e o filme FOL não apresentou diferença significativa quando comparado ao FC. Já o filme com incorporação de micropartículas de OEO apresentou elevação significativa nos valores de solubilidade e isto pode estar relacionado com a presença de goma arábica e maltodextrina (materiais de parede), que por seu caráter hidrofílico possuem boa solubilidade em água. Destaca-se o efeito significativo das micropartículas, visto que estas corresponderam a aproximadamente 10% da formulação do filme. Em trabalho de Paglione et al. (2019) foi verificado uma solubilidade de 41,6 ± 4,2 %, para filmes com OEO microencapsulado, devido ao maior caráter hidrofílico do filme.

5.3.6 Determinação de compostos fenólicos e capacidade antioxidante

Os resultados da determinação de compostos fenólicos e da capacidade antioxidante avaliada pelo método de redução do ferro (FRAP), da atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e ácido 2,2'-azinobis -3 etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS) dos filmes estão dispostos na Tabela 7.

Tabela 7 - Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante de filmes de farinha de trigo e PBAT contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre.

Filme	Fenólicos (mg EAG/g)	FRAP (μ mol Trolox / g)	DPPH (μ mol de Trolox/ g)	ABTS (μ mol Trolox/ g)
FC	1,29 \pm 0,03 ^a	4.508,33 \pm 108,33 ^a	8,61 \pm 0,18 ^a	2.140,00 \pm 260,34 ^a
FOM	6,55 \pm 0,54 ^c	13.244,44 \pm 346,94 ^c	18,94 \pm 0,03 ^c	7.191,11 \pm 379,08 ^c
FOL	4,21 \pm 0,54 ^b	11.066,67 \pm 325,32 ^b	17,52 \pm 0,06 ^b	6.035,56 \pm 538,86 ^b

Filme controle (FC); Filme com óleo essencial de orégano microencapsulado (FOM); Filme com óleo essencial de orégano livre (FOL); ^{a, b, c} Letras minúsculas iguais na coluna não apresentam diferença significativa ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey.

Para o filme FC verificou-se o valor de 1,29 mg EAG/g de filme de compostos fenólicos totais e detectou-se capacidade antioxidante pelos três métodos estudados. Isto pode estar relacionado à presença de ácidos fenólicos como ferúlico, siríngico, p-cumárico, vanílico, e caféico presentes na farinha de trigo e que possuem capacidade antioxidante (LV et al., 2012).

A adição de óleo de orégano livre e microencapsulado elevou significativamente a concentração de compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante dos filmes, sendo em maior proporção no filme FOM, evidenciando a eficácia da microencapsulação, onde foram preservados os compostos bioativos.

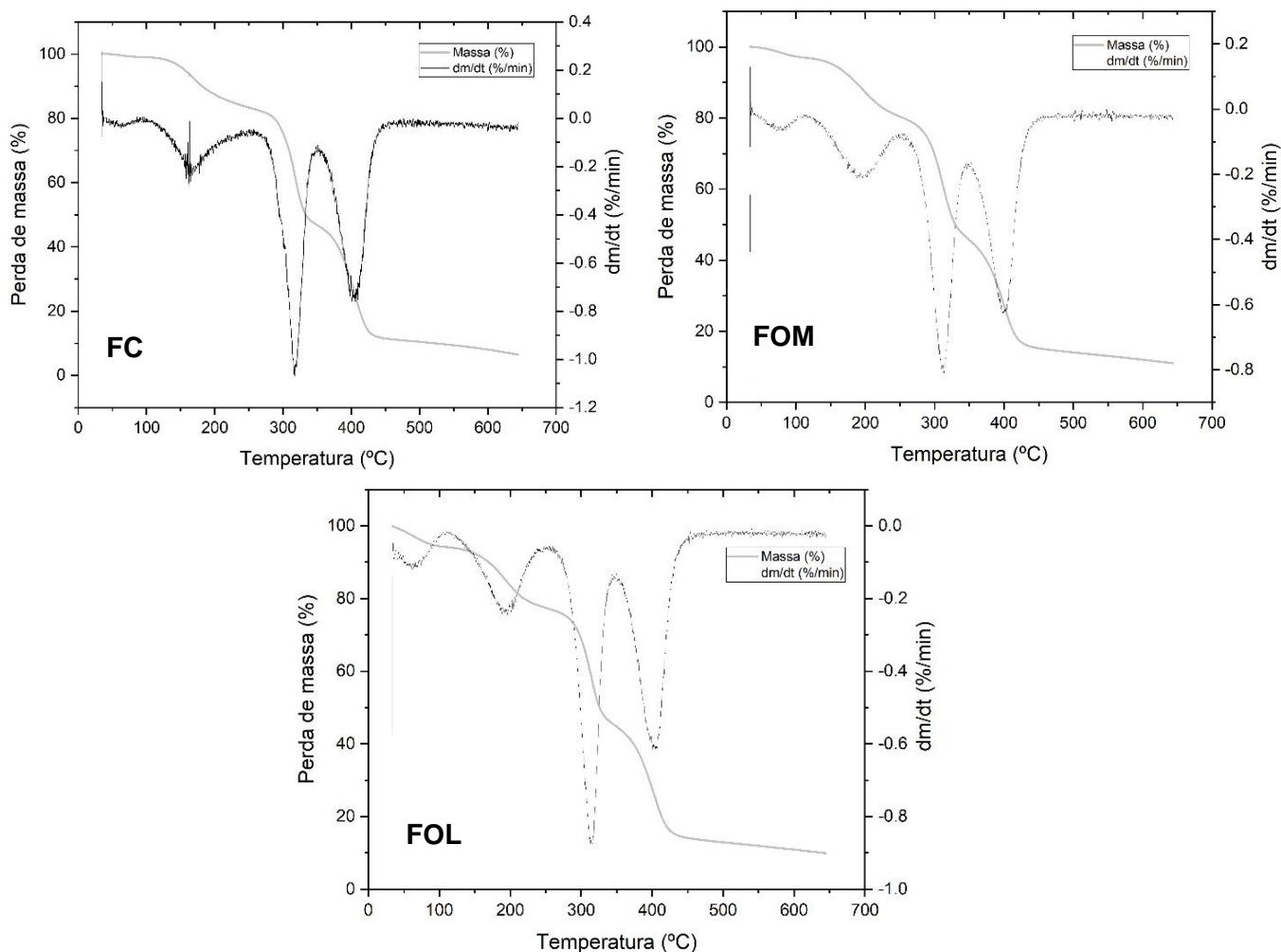
Os principais compostos fenólicos presentes no OEO e responsáveis pela capacidade antioxidante são carvacrol e timol (BOSKABADY; TABATABAEE, 2014; SELZER et al., 2013; SILVA et al., 2010). No trabalho de Paglione et al. (2019) foi demonstrado que a adição de OEO livre e encapsulado nas formulações de filmes de CPS proporcionou capacidade antioxidante.

5.3.7 Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada para avaliar a estabilidade térmica dos filmes de farinha de trigo e PBAT adicionados de micropartículas de OEO e OEO livre. Na figura 18 são apresentadas as curvas de TGA e suas derivadas (DTG). Observa-se que a degradação do filme ocorre em quatro etapas, sendo os dois primeiros picos relacionados à perda de umidade a $\approx 67^\circ\text{C}$ e a degradação do glicerol a $\approx 185^\circ\text{C}$, o terceiro pico está

relacionado à degradação da farinha a $\approx 314^{\circ}\text{C}$ e o quarto pico indica a degradação do PBAT a $\approx 402^{\circ}\text{C}$, valores semelhantes foram encontrado por Silva et al. (2019) ao produzir embalagens ativas de TPS/PBAT adicionados de extrato de pinhão e por Campos et al. (2019) para filmes de TPS/PBAT adicionados de curcumina. Na Tabela 8 encontra-se os picos das temperaturas de degradação dos componentes do filme e os respectivos resíduos.

Figura 18 – Curvas de TGA e DTG dos filmes de farinha de trigo e PBAT contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre.



Fonte: Autoria própria

Tabela 8 – Picos de temperaturas de degradação térmica dos filmes FC, FOM e FOL e resíduo de massa associada ao pico de degradação da farinha e do PBAT.

Filme	Água (°C)	Glicerol (°C)	Farinha (°C)	PBAT (°C)	Resíduo (%)
FC	61	166	317	405	8,0
FOM	77	195	312	399	12,0
FOL	63	195	314	403	10,9

Filme controle (FC); Filme com óleo essencial de orégano microencapsulado (FOM); Filme com óleo essencial de orégano livre (FOL).

A adição de OEO microencapsulado e livre influenciou a estabilidade térmica dos filmes, com redução na temperatura de degradação da farinha de trigo e PBAT, sendo em maior proporção no filme FOM. Este fato pode estar relacionado à redução proporcional da massa de farinha de trigo e PBAT nas formulações FOL e FOM. O aumento na porcentagem de resíduos no filme FOM (12%) pode ser em virtude da maltodextrina e goma arábica utilizados como material de parede da partícula (ASSIS et al., 2017).

5.4 APLICAÇÃO MASSA FRESCA

5.4.1 Análise físico-químicas

5.4.1.1 Determinação da atividade de água (A_w)

Na Tabela 9 encontram-se os valores de A_w das massas de pastel medidas durante 28 dias de armazenamento a 7°C. A A_w média da massa no tempo inicial foi de 0,9657, valor este que favorece o desenvolvimento de bactérias e fungos e, portanto, o controle microbiológico pelo uso de embalagens ativas é uma alternativa interessante e viável (ANDRADE-MOLINA et al., 2013).

No geral, para todos os filmes, verifica-se redução nos valores de A_w da massa durante o armazenamento em razão da migração de umidade da massa para os filmes. Comportamento similar foi reportado por Andrade-Molina et al. (2013) em massa fresca intercalada com filme de amido, PBAT e sorbato de potássio, no qual foi detectado redução de 0,04 na A_w após 30 dias de armazenamento. No 28º dia de armazenamento um acréscimo na A_w foi observada nas massa intercaladas com FC e FOM e pode estar relacionado com a migração reversa de umidade do filme para massa.

Tabela 9 – Atividade de água (a_w) das massas de pastel intercaladas com os filmes de farinha de trigo e PBAT contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre após 28 dias de armazenamento.

Filme	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	7	14	21	28
FC	0,9657 ± 0,001 ^{aC}	0,9474 ± 0,013 ^{aBC}	0,9378 ± 0,002 ^{bAB}	0,9280 ± 0,002 ^{aA}	0,9586 ± 0,003 ^{cC}
FOM	0,9657 ± 0,001 ^{aC}	0,9324 ± 0,002 ^{aA}	0,9340 ± 0,002 ^{abA}	0,9322 ± 0,001 ^{aA}	0,9474 ± 0,004 ^{bB}
FOL	0,9657 ± 0,001 ^{aB}	0,9305 ± 0,001 ^{aA}	0,9257 ± 0,008 ^{aA}	0,9306 ± 0,002 ^{aA}	0,9249 ± 0,005 ^{aA}

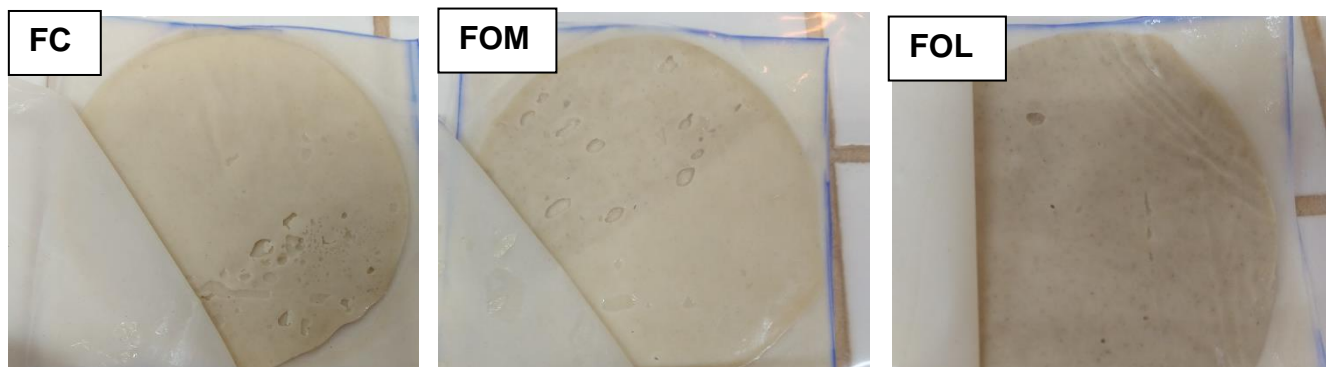
Filme controle (FC); Filme com óleo essencial de orégano microencapsulado (FOM); Filme com óleo essencial de orégano livre (FOL). ^{a, b, c} Letras minúsculas iguais na coluna não apresentam diferença significativa ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey. ^{A, B, C} Letras maiúsculas iguais na linha não apresentam diferença significativa ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey.

5.4.1.2 Determinação de cor

Os resultados dos parâmetros de cor descritos na Tabela 10, mostram que em relação a luminosidade (L^*), observou-se redução significativa em função do tempo de armazenamento para todos os filmes. O L^* inicial da massa foi de $79,62 \pm 1,04$. A partir do 7º dia, as massas alimentícias frescas, intercaladas com FC apresentaram estabilização destes parâmetros, até o final do armazenamento, com L^* final de $75,01 \pm 0,41$, apresentando uma redução de 5,8% entre o início e o fim da armazenagem, enquanto que para as massas embaladas com filme FOM e FOL respectivamente, foram de 3,6% e 13,4% de redução.

O maior escurecimento da massa intercalada com filme FOL pode ser visualizada na Figura 19. Este parâmetro foi afetado ao longo do tempo de estocagem, pois as massas não foram submetidas ao processo de cozimento, que inativa as enzimas polifenoloxidasas, naturalmente presentes na farinha de trigo, evitando seu escurecimento enzimático. Além disso, de acordo com os resultados da Tabela 9, ao final do armazenamento a massa intercalada com este filme apresentou menor A_w , o que pode ter concentrado a coloração da massa.

Figura 19 – Aparência das massas alimentícias frescas intercaladas com os filmes de farinha de trigo e PBAT contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre após 28 dias de armazenamento.



Fonte: autoria própria

Para melhor avaliação do efeito da aplicação dos filmes na massa de pastel, os parâmetro de cor foram avaliados considerando os valores de diferença total de cor (ΔE). Diferente dos demais tratamentos, as massas intercaladas com FC não apresentaram variação significativa de cor em função do armazenamento, sugerindo que o OEO causou variação de cor da massa. A massa intercalada com FOM apresentou maior ΔE até o 14º dia de armazenamento e após este período esse valor foi reduzido. Já para a massa intercalada com FOL observou-se comportamento inverso, no qual o valor de ΔE foi menor até o 14º dia de armazenamento e elevou após este período.

Tabela 10 – Parâmetros de cor das massas de pastel intercaladas com os filmes de farinha de trigo e PBAT contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre após 28 dias de armazenamento.

Parâmetro	Filme	Tempo de armazenamento (dias)				
		0	7	14	21	28
L*	FC	79,62 ± 1,04 ^{aB}	74,48 ± 1,05 ^{cA}	74,54 ± 0,57 ^{cA}	74,60 ± 0,33 ^{cA}	75,01 ± 0,41 ^{bA}
	FOM	79,62 ± 1,04 ^{aE}	68,21 ± 0,24 ^{aA}	69,89 ± 0,37 ^{aB}	73,77 ± 0,56 ^{bC}	76,77 ± 0,09 ^{cD}
	FOL	79,62 ± 1,04 ^{aD}	69,92 ± 0,59 ^{bB}	71,74 ± 0,62 ^{bC}	68,17 ± 0,24 ^{aA}	68,92 ± 0,22 ^{aA}
a*	FC	0,28 ± 0,09 ^{aA}	1,28 ± 0,21 ^{aC}	0,51 ± 0,18 ^{aA}	0,92 ± 0,01 ^{aB}	0,99 ± 0,09 ^{bB}
	FOM	0,28 ± 0,09 ^{aA}	1,53 ± 0,05 ^{bD}	1,12 ± 0,03 ^{bC}	0,81 ± 0,28 ^{aB}	0,23 ± 0,05 ^{aA}
	FOL	0,28 ± 0,09 ^{aA}	0,74 ± 0,15 ^{abC}	0,74 ± 0,15 ^{aB}	1,48 ± 0,08 ^{bC}	1,47 ± 0,02 ^{cC}
b*	FC	15,81 ± 0,48 ^{aC}	16,33 ± 0,05 ^{aC}	13,36 ± 0,07 ^{aA}	14,48 ± 0,13 ^{cB}	12,79 ± 0,74 ^{aA}
	FOM	15,81 ± 0,48 ^{aC}	16,05 ± 0,14 ^{aC}	13,47 ± 0,09 ^{aA}	13,52 ± 0,20 ^{bA}	14,17 ± 0,17 ^{bB}
	FOL	15,81 ± 0,48 ^{aC}	16,39 ± 0,26 ^{aD}	13,72 ± 0,12 ^{bB}	12,89 ± 0,30 ^{aA}	12,78 ± 0,27 ^{aA}
ΔE	FC		5,26 ± 1,06 ^{aA}	5,64 ± 0,51 ^{aA}	5,23 ± 0,30 ^{aA}	5,59 ± 0,45 ^{bA}
	FOM		11,48 ± 0,24 ^{cD}	10,03 ± 0,8 ^{cC}	6,31 ± 0,42 ^{bB}	3,28 ± 0,10 ^{aA}
	FOL		9,79 ± 0,60 ^{bB}	8,16 ± 0,61 ^{bA}	11,87 ± 0,24 ^{cC}	11,17 ± 0,15 ^{cC}

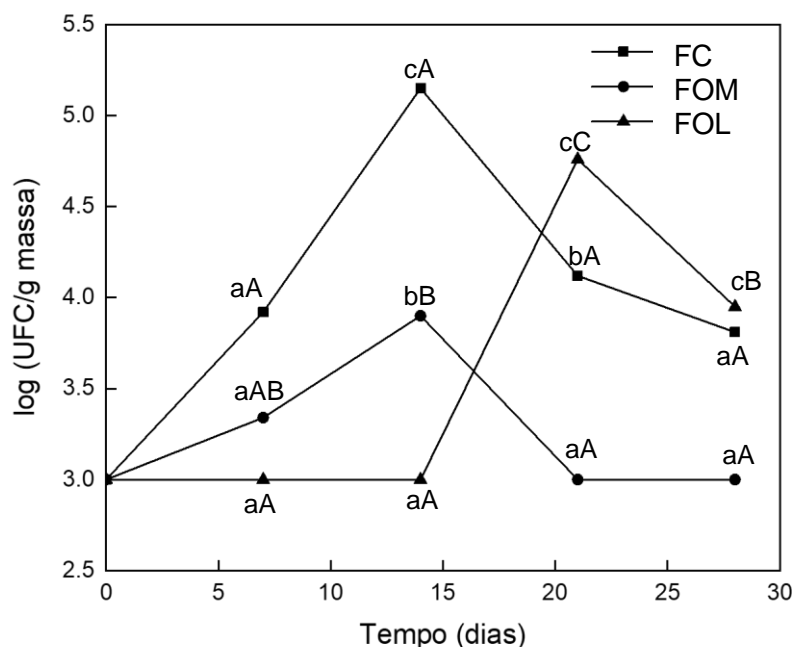
Filme controle (FC); Filme com óleo essencial de orégano microencapsulado (FOM); Filme com óleo essencial de orégano livre (FOL). ^{a, b, c} Letras minúsculas iguais na coluna não apresentam diferença significativa ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey. ^{A, B, C, D, E} Letras maiúsculas iguais na linha não apresentam diferença significativa ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey.

5.4.2 Avaliação microbiológica

Os resultados das análises microbiológicas, obtidos no tempo inicial, indicaram ausência de coliformes termotolerantes, desta forma não apresentaram contaminação, comprovando condições higiênico-sanitárias adequadas de processamento da massa. Para *Salmonella* observou-se ausência em 25 g de massa, estando de acordo com a legislação vigente (BRASIL, 2001). Para a análise de *Estafilococos* coagulase positiva e *Bacillus cereus*, não houve crescimento de microrganismos e, segundo Sousa et al. (2016), isto pode ser atribuído à boa qualidade da farinha de trigo utilizada na produção das massas.

A Figura 20 ilustra a contagem de bolores e leveduras, durante o período de 28 dias, das massas intercaladas com filme FC, FOM e FOL.

Figura 20 - Contagem de bolores e leveduras na massa de pastel em contato com os filmes de farinha de trigo e PBAT contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre.



Filme controle (FC); Filme com óleo essencial de orégano microencapsulado (FOM); Filme com óleo essencial de orégano livre (FOL). ^{a, b, c} Letras minúsculas iguais não apresentam diferença significativa ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey entre os filmes (FC, FOM e FOL). ^{A, B, C} Letras maiúsculas iguais não apresentam diferença significativa ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey para o tempo de armazenamento (dias).

As massas embaladas com filme controle apresentaram uma contagem inicial de 3,00 log UFC/g e final de 3,81 log UFC/g, e as massas não apresentaram um aumento significativo na contagem ao longo do período de 28 dias. As massas embaladas com FOM apresentaram uma contagem inicial de 3,00 log UFC/g, no 14º dia de armazenamento apresentou uma elevação significativa na contagem para 3,90 log UFC/g, contudo no 21º dia de armazenamento foi verificado uma redução significativa na contagem, mantendo-se constante até o final do armazenamento. Segundo Moraes et al. (2011) isso pode ter ocorrido devido à migração lenta e gradual do antimicrobiano da embalagem para a superfície do alimento. Enquanto que as massas embaladas com FOL apresentaram uma contagem inicial de 3,00 log UFC/g e apresentou uma contagem final de 3,95 log UFC/g, evidenciando que o OEO livre não foi eficaz na inibição do crescimento microbiano quando comparado às embalagens com OEO microencapsulado.

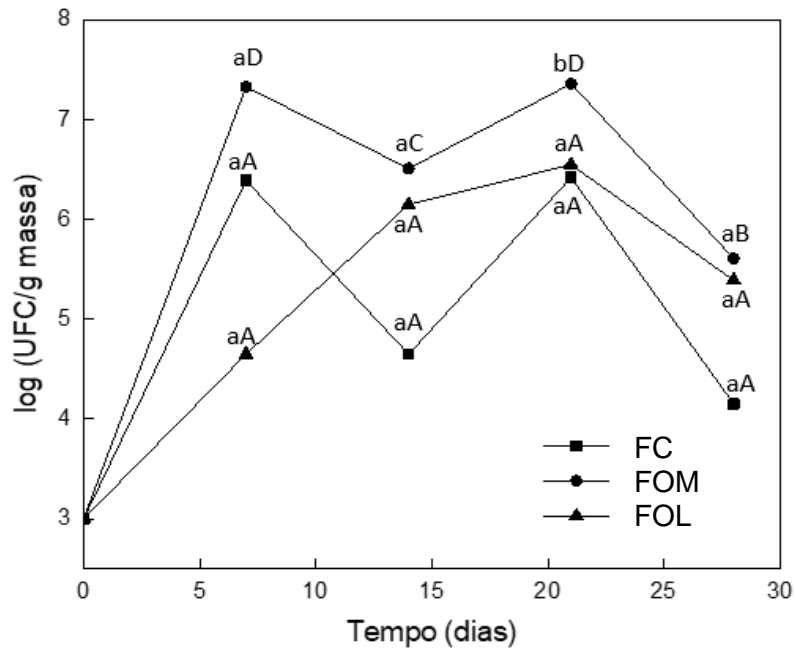
Segundo a RDC nº12 da Anvisa (BRASIL, 2001), esta não apresenta parâmetros limite para contagem de bolores e leveduras em massas. Neste sentido, de acordo com Rivero et al. (2013), a vida útil de massas frescas é definida quando a contagem de bolores e leveduras atingem 10^6 UFC/g e ausência de microrganismos patogênicos. Considerando o exposto pelos autores, as massas de pastel deste trabalho ainda estariam aptas para consumo durante os 28 dias de armazenamento, independente do filme utilizado. Este fato demonstra a aplicabilidade dos filmes biodegradáveis em alimentos deste gênero.

Diversas pesquisas demonstram a aplicação de filmes ativos em massas frescas, mostram sua eficiência no controle ou inibição do crescimento microbiano. Souza et al. (2016) comprovaram a eficiência de filmes de farinha de arroz e PBAT adicionados de sorbato de potássio como agente antimicrobiano na conservação de massa fresca para lasanha. Andrade-Molina et al. (2013) ao produzirem filmes de amido e PBAT adicionados de sorbato de potássio, conseguiram controlar o desenvolvimento de microrganismos em massa fresca aumentando a vida útil do produto. Em outro trabalho similar, Rivero et al. (2013) demonstraram o efeito positivo na conservação de massa fresca ao aplicar filme de quitosana com ácido propiônico. Conforme citado, grande parte dos trabalhos utiliza ácidos ou sais como conservante e isso reforça

a necessidade de estudos sobre a aplicação de filmes incorporados de óleo essencial na conservação de alimentos.

A Figura 21 ilustra a contagem de microrganismos psicrotróficos, durante o período de 28 dias, das massas intercaladas com filme FC, FOM e FOL. Diferentemente do observado para a contagem de bolores e leveduras, os filmes contendo OEO não foram efetivos no controle de microrganismos psicrotróficos. O mesmo comportamento foi relatado por Botre et al. (2010) na aplicação de filme de resina celulósica incorporada de OEO em pizza pronta refrigerada. No caso do filme FOL, no 7º dia de armazenamento este mostrou-se melhor em comparação ao controle. Possivelmente, o filme liberou todo o OEO no início do armazenamento, não estando mais disponível para o controle de psicrotróficos. Para o filme FOM, durante todo o período de armazenamento, a contagem foi significativamente maior, e deduz-se que o próprio filme, devido à presença de maltodextrina e goma arábica, proveniente das micropartículas adicionadas e outros compostos, pode ter atuado como substrato para as bactérias e permitiu o seu desenvolvimento. Apesar da ação comprovada dos óleos essenciais na inibição antimicrobiana in vitro, são necessários valores muito maiores para alcançar a mesma eficiência quando aplicados em alimentos. A grande disponibilidade de nutrientes em alimentos comparada com os meios de cultura permite às bactérias repararem o dano celular rapidamente (BOTRE et al., 2010).

Figura 21 - Contagem total de psicrotróficos na massa de pastel em contato com os filmes de farinha de trigo e PBAT contendo óleo essencial de orégano microencapsulado e livre.



Filme controle (FC); Filme com óleo essencial de orégano microencapsulado (FOM); Filme com óleo essencial de orégano livre (FOL). ^{a, b, c} Letras minúsculas iguais não apresentam diferença significativa ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey entre os filmes (FC, FOM e FOL). ^{A, B, C, D} Letras maiúsculas iguais não apresentam diferença significativa ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey para o tempo de armazenamento (dias).

6 CONCLUSÕES

Foi possível microencapsular óleo essencial de orégano pela técnica de spray drying com sucesso, obtendo-se partículas esféricas com diâmetro médio de aproximadamente 8 μm .

Destaca-se a possibilidade de produção de filmes de farinha de trigo e PBAT com incorporação de OEO livre e microencapsulado por extrusão sopro em escala piloto, obtendo-se filmes contínuos e homogêneos. Este fato corrobora com as micrografias dos filmes, que mostraram que não houve separação de fases entre a farinha, PBAT e OEO.

De forma geral, verificou-se que os filmes FOM apresentaram-se menos resistentes e mais flexíveis quando comparado com os demais, é possível que a microencapsulação tenha protegido o óleo de orégano e este pode ter atuado melhor como um plastificante durante o processo de extrusão.

A adição de óleo de orégano livre e microencapsulado elevou significativamente a concentração de compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante dos filmes, sendo em maior proporção no filme FOM, evidenciando a eficácia da microencapsulação que preservou os compostos bioativos do OEO.

Os filmes contendo OEO quando aplicados na conservação de massa para pastel mostraram-se efetivos no controle de bolores e leveduras durante 28 dias de armazenamento. Porém, o mesmo efeito não foi verificado para bactérias psicrotróficas sugerindo que os filmes obtidos neste trabalho possuem apenas atividade antifúngica.

Por fim, destaca-se a necessidade de um estudo detalhado sobre o perfil de liberação do óleo essencial de orégano em diferentes simulantes alimentícios e também a quantificação deste na massa de pastel.

REFERENCIAS

ABIPLAST - Associação Brasileira da Indústria do Plástico. 2019. Disponível em: <www.abiplast.org.br/noticias> Acesso em 23 mar. 2020.

ABITRIGO - Associação Brasileira da Indústria do Trigo. 2014. Disponível em: <www.abitrigo.com.br/conhecimento> Acesso 05 nov. 2019.

ABITRIGO - Associação Brasileira da Indústria do Trigo. 2019. Disponível em: <www.abitrigo.com.br> Acesso 08 nov. 2019.

AGUIRRE, A.; BORNEO, R.; LEÓN, A. E. Antimicrobial, mechanical and barrier properties of triticale protein films incorporated with oregano essential oil. **Food Bioscience**, v. 1, p. 2–9, 2013.

ALMEIDA, A. P. et al. Microencapsulation of oregano essential oil in starch-based materials using supercritical fluid technology. **Food Science and Emerging Technology**, v. 20, p. 140- 145, 2013.

AMERI, M.; MAA, Y. Spray-drying of biopharmaceuticals: stability and process considerations. **Drying Technology**, v. 24, n.6, p. 763-768, 2006.

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. 9. ed. Saint Paul:. v. 2. AACC, 1995.

ANDRADE-MOLINA, T. P. C. **Embalagem ativa biodegradável para massa alimentícia fresca**. 2012. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, 2012.

ANDRADE-MOLINA, T. P. C. et al. Active biodegradable packaging for fresh pasta. **LWT – Food Science and Technology**, v. 54, p. 25-29, 2013.

ANDRADE-MAHECHA, M. M.; TAPIA-BLÁCIDO, D. R.; MENEGALLI, F. C. Development and optimization of biodegradable films based on achira flour. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 2 p. 449-458, 2012.

AOAC. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Washington, DC, 1990.

ASSIS, R. Q. et al. Active biodegradable cassava starch films incorporated lycopene nanocapsules. **Industrial Crops and Products**, v. 109, n. September, p. 818–827, 2017.

ASTM - American Society for Testing and Materials. Standard test methods for water vapor transmission of material (E96-00). **Annual Book of ASTM Standards**. Philadelphia: ASTM, 2000.

ASTM - American Society for Testing and Materials. Terminology relating to plastics (D883-12e1). **Annual Book of ASTM Standards**. West Conshohocken: ASTM, 2012.

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

AZEREDO, H. M. C. et al. Princípios dos Métodos de conservação de alimentos. In: AZEREDO, H. M. C. (2ªEd). **Fundamentos de Estabilidade de Alimentos**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, p.153-155. 2012.

BASIAK, E.; GALUS, S.; LENART, A. Characterisation of composite edible films based on wheat starch and whey-protein isolate. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 372–380, 2015.

BENAVIDES, S.; VILLALOBOS-CARVAJAL, R.; 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**, v. 110, n. 2, p. 232–239. 2012.

BENINCASA, P. et al. Relationships between wheat flour baking properties and tensile characteristics of derived thermoplastic films. **Industrial Crops and Products**, v. 100, p. 138–145, 2017.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química de processamento de alimentos**. 3.ed. São Paulo: Varela, cap.10, p.135-142: Material de embalagem. 2001.

BOGER, B. R. **Extração de óleo de sementes de uva por ultrassom e microencapsulação por spray drying**. 2016. 129 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

BÖGER, B. R.; GEORGETTI, S. R.; KUROZAWA, L. E. Microencapsulation of grape seed oil by spray drying. **Food Science and Technology**, v. 38, n. 2, p. 263-270, 2018.

BONILLA, J. et al. Effect of the incorporation of antioxidants on physicochemical and antioxidant properties of wheat starch-chitosan films. **Journal of Food Engineering**, v. 118, n. 3, p. 271–278, 2013.

BOSKABADY, M. H.; TABATABAEE, A.; JALALI, S. Potential effect of the extract of *Zataria multiflora* and its constituent, carvacrol, on lung pathology, total and differential WBC, IgE and eosinophil peroxidase levels in sensitized guinea pigs. **Journal of Functional Foods** v. 11, p. 49–61, 2014.

BOTRE, D. A. et al. Avaliação de filme incorporado com óleo essencial de orégano para conservação de pizza pronta. **Revista Ceres**, v. 57, n. 3, p. 283-291, 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução CNNPA

nº 12, de 1978, foi revogado pela Portaria nº 354, de 18 de julho de 1996. Aprova o regulamento técnico sobre a maneira que a farinha de trigo deve ser produzida. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 jul. 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde – Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria n 451, de 19 de setembro de 1997. Regulamento Técnico Princípios Gerais para o Estabelecimento de Critérios e Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, 1997. Disponível em: <<http://www.oads.org.br/leis/1337.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2020.

BRASIL. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE PADRÕES MICROBIOLÓGICOS PARA ALIMENTOS. **Diário Oficial da União**, 2001a. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/RDC_12_2001.pdf>. Acesso em: 06 jan. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 8 de 2 de Junho de 2005. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Farinha de Trigo, conforme o anexo desta Instrução Normativa. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2 de junho de 2005. Disponível em:<<https://www.normasbrasil.com.br/norma/instrucao-normativa-8-2005>>. Acesso em: 10 out. 2019.

BUDAVARI, S. E. A. **The Merck Index**. 20. ed. Rahway, New Jersey: Merck & Co., 1996.

BURT, S. Essential oils: their antimicrobial properties and potential applications in food – a Review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 223-253, 2004.

BYUN, Y.; KIM, Y. T.; WHITESIDE, S. Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with alfa-tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 239-244, 2010.

CAMISA, J. **Desenvolvimento de materiais biodegradáveis a base de farinha de aveia por extrusão com matriz plana e calandragem**. 88 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

CAMPOS, N. L. **Produção e caracterização de filmes biodegradáveis ativos de amido de semente de jaca**. 94 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

CAMPOS, S. S. et al. TPCS/PBAT blown extruded films added with curcumin as a technological approach for active packaging materials. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 22, p. 100424. 2019.

CARNEIRO, L. M. T. A. et al. Diferentes épocas de colheita, secagem e armazenamento na qualidade de grãos de trigo comum e duro. **Bragantia**, v. 64, n. 1, p. 127-137, 2005.

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

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, v. 1, n.3, Brasília: Conab, 2017.

CORTÉS-CAMARGO, S. et al. Microencapsulation by spray drying of lemon essential oil: Evaluation of mixtures of mesquite gum–nopal mucilage as new wall materials. **Journal of Microencapsulation**, v. 34, n. 4, p. 395–407. 2017.

DAMBOLENA, J. S. et al. Total phenolic content, radical scavenging properties, and essential oil composition of *Origanum* species from different populations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 1115–1120, 2010.

DIAS, A. P. **Desenvolvimento e caracterização de materiais biodegradáveis à base de farinha de aveia e poli (adipato co-tereftalato de butileno)**. 2014. 113 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

EL ASBAHANI A, et al. Essential oils: from extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 483, p. 220-243, 2015.

FÁVARO-TRINDADE, C.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, p. 103–112, 2008.

FELIX, P. H. C. et al. Physicochemical and thermal stability of microcapsules of cinnamon essential oil by spray drying. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 3, p. 12919, 2016.

FRANCO, C. M. L. et al. **Propriedades gerais do amido**. Campinas: Fundação Cargill, 224p, 2001.

GALINDO, M. V. et al. Atividade antimicrobiana e antioxidante de filmes comestíveis de gelatina e quitosana adicionados de óleos essenciais. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 26, p. e019008, 2019.

GARCIA, P. S. et al. Improving action of citric acid as compatibiliser in starch/polyester blown films. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 305–312, 2014.

GUERRINI, L. M. et al. Correlação entre as propriedades reológicas, óticas e a morfologia de filmes soprados de LLDPE/LDPE. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.14, n.1, p.38-45, 2004.

GUILBERT, S.; CUQ, B. Material formed from proteins. In: Bastioli, C. (Ed.), **Handbook of Biodegradable Polymers**. Rapra Technology Limited, United Kingdom. 2005

GUTKOSKI, L. C. et al. Influência do tipo de farinha de trigo na elaboração de bolo tipo inglês. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 4, p. 275–282, 2011.

HIJO, A. A. C. et al. Physical and thermal properties of oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil microparticles. **Journal of Food Process Engineering**, v. 38, n. 1, p. 1–10, 2015.

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

JAFARI, S. M. et al. Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. **Drying Technology**, v. 26, n. 7, p. 816–835, 2008.

LAURENTI, E. **Materiais encapsulantes naturais na obtenção de esferas de *S. cerevisiae* para incorporação em ração extrusada de frangos de corte**. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.

LEBLANC, N. et al. Structural investigation and thermal stability of new extruded wheat flour based polymeric materials. **Carbohydrate Polymers**, v. 73, n. 4, p. 548–557, 2008.

LEIMANN, F. V. **Microencapsulação de óleo essencial de capim limão utilizando o processo de coacervação simples**. 115 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

LUCHESE, C. L. **Desenvolvimento de embalagens biodegradáveis a partir de amido contendo subprodutos provenientes do processamento de alimentos**. 236 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

LIU, L. S.; KOST, J. Biobased materials. In: YAM, K. L. **The Wiley Encyclopedia of Packaging**, 3a ed. Hoboken: John Wiley & Sons, p. 110-115, 2009.

LV, J. et al. Phytochemical Compositions, and Antioxidant Properties, and Antiproliferative Activities of Wheat Flour. **Food chemistry**, v. 135, n. 2 p. 325-331, 2012.

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.

MÁRQUEZ-GÓMEZ, M. et al. Spray-dried microencapsulation of orange essential oil using modified rice starch as wall material. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 42, n. 2, p. 13428, 2017.

MARTINS, J. T.; CERQUEIRA, M.A.; VICENTE, A. A. Influence of α -tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 27, p. 220–227, 2012.

MEDEIROS, J. A. S. et al. Incorporation of Oregano Essential Oil Microcapsules in Starch-Poly (Butylene Adipate Co-Terephthalate) (PBAT) Films. **Macromolecular Symposia**, v. 383, n. 1, p. 1–7, 2019.

MORAES, A. R. F. et al. Desenvolvimento e avaliação de filme antimicrobiano aromatizado para aplicação em massa de pastel. **Ciência Rural**, v. 41, n. 3, p. 537-543, 2011.

MORITA, N. et al. Dough and baking properties of highamylose and waxy wheat flours. **Cereal Chemistry**, v. 79, p. 491-495, 2002.

MULLER, P. **Desenvolvimeto de embalagem ativa biodegradavel de amido de pinhão e de mandioca com antioxidantes e antimicrobianos naturais para conservação de manteiga orgânica**. 178 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

NASCIMENTO, I. S. B. do. **Partição de Glutenina de farinha de trigo especial usando sistemas aquosos bifásicos**. 68 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos de Alimentos) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2008.

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

OLIVATO, J. B. et al. Mixture design applied for the study of the tartaric acid effect on starch/polyester films. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 1705–1710, 2013.

OLMEDO, R. H.; NEPOTE, V.; GROSSO, N. R. Preservation of sensory and chemical properties in flavoured cheese prepared with cream cheese base using oregano and rosemary essential oils. **LWT – Food Science and Technology**, v. 53, p. 409–417. 2013.

PAGLIONE, I. S. **Produção e caracterização de filmes biodegradáveis de isolado proteico de soja contendo micropartículas de óleo essencial de orégano**. 60 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2018.

PAULI, R. B. et al. Production and characterization of oxidized cassava starch (*Manihot esculenta* Crantz) biodegradable films. **Starch/Stärke**, v. 63, p. 595-603, 2011.

PELISSARI, F. M. et al. Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch-chitosan films incorporated with oregano essential oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 16, p. 7499–7504, 2009.

PELISSARI, F. M. et al. Optimization of process conditions for the production of films based on the flour from plantain bananas (*Musa paradisiaca*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 52, n. 1, p. 1-11, 2013.

PUGLIA, D. et al. Tensile behaviour of thermoplastic films from wheat flours as function of raw material baking properties. **Journal of Polymer and Environment**, v. 24, p. 37–47, 2016.

RÉ, M. I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v.16, n.6, p. 1195- 1236, 1998.

RÉ, M. I. Microencapsulação: em busca de produtos inteligentes. **Ciência Hoje**, v.27, n.162, p. 24-29, 2000.

RIVERO, S. et al. Controlled delivery of propionic acid from chitosan films for pastry dough conservation. **Journal of Food Engineering**, v. 116, n. 2, p. 524–531, 2013.

ROSENBERG, M.; KOPPELMAN, I. J.; TALMON, Y. Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 5, p. 1288-1294, 1990.

RUFINO, M. S. M. et al. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). Fortaleza: Embrapa, **Comunicado técnico online** 125, 2006.

RUFINO, M. S. M. et al. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. Fortaleza: Embrapa, **Comunicado técnico online** 128, 2007a.

RUFINO, M. S. M. et al. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Fortaleza: Embrapa, **Comunicado técnico online** 127, 2007b.

RUIZ-NAVAJAS, Y. et al. 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.

SAKANAKA, L. S. **Confecção de filmes biodegradáveis por extrusão de blendas de amido termoplástico e polibutileno succinato co-adipato (PBSA)**. 138 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

SANTOS, R. A. L. **Aplicação de nanoargilas no desenvolvimento de filmes biodegradáveis**. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2010.

SELZER, D. et al. Finite and infinite dosing: difficulties in measurements, evaluations and predictions. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 65, p. 278–294, 2013.

SEYDIM, A. C.; SARIKUS, G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. **Food Research International**, v. 39, p. 639–644, 2006.

SHEN, Z.; KAMDEM, D. P. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 74, p. 289–296, 2015.

SHIMAZU, A. A.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeito plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. **Ciências Agrárias**, v. 28, n.1, p. 79-88, 2007.

SILVA, J. A. **Tópicos da tecnologia de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela. 227p. 2000.

SILVA, J. P. L. et al. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella Enteritidis*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 136–141. 2010.

SILVA, N. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e água**. 5ª. ed. - São Paulo: Blucher. 560 p. 2017.

SILVA, L. C. et al. **Microencapsulamento de óleo de pequi revestido com goma de cajueiro e quitosana por coacervação complexa seguida de secagem por spray drying ou liofilização**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2018.

SILVA, T. B. V. et al. *Araucaria angustifolia (bertol.) kuntze* extract as a source of phenolic compounds in TPS/PBAT active films, **Food & Function**, v. 10, p. 7697-7706, 2019.

SILVEIRA, M. F. A. et al. Active film incorporated with sorbic acid on pastry dough conservation. **Food Control**, v. 18, p. 1063-1067, 2007.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics whif phophomolybdc-phospotungstic acid reagentes. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.

SOBRAL, P. J. A. **Proteínas de origem animal na tecnologia de biofilmes**. Tese de Livre Docência. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de São Paulo, 2000.

SOUSA, G.M.; YAMASHITA, F.; JÚNIOR, M.S.S. Application of biodegradable films made from rice flour, poly (butylene adipate-co-terephthalate), glycerol and potassium sorbate in the preservation of fresh food pastas. **Food Science and Technology**. v. 65, p. 39–45, 2016.

TRINDADE, M. A.; GROSSO, C. R. F. The stability of ascorbic acid microencapsulated in granules of rice starch and in gum arabic. **Journal of Microencapsulation**, v.17, p. 169–176. 2000.

VIUDA-MARTOS, M. et al. Chemical composition and antioxidant and anti-Listeria activities of essential oils obtained from some Egyptian plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 9063–9070, 2010.