

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS  
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

**JÉSSICA APARECIDA PAULINO**

**CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE AMIDO DE PINHÃO COM  
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**PONTA GROSSA  
2016**

**JÉSSICA APARECIDA PAULINO**

**CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE AMIDO DE PINHÃO COM  
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos, do Departamento de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientadora: Prof. Dr<sup>a</sup>. Denise Milléo Almeida

**PONTA GROSSA**

**2016**



---

## TERMO DE APROVAÇÃO

### CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE AMIDO DE PINHÃO COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Por

JÉSSICA APARECIDA PAULINO

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado dia sete de Novembro de dois mil e dezesseis como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. O(s) (A) (s) candidat(o)(a)(s) fo(i)(RAM) argüida(s) pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Profª Drª. Denise Milléo Almeida  
Prof. Orientador.

---

Profª Drª. Giovana de Arruda Moura Pietrowski  
Membro titular.

---

Profª Drª. Sabrina Ávila Rodrigues  
Membro titular.

A minha mãe, Jolinda, que me educou e me ensinou a ser quem eu sou; Ao meu esposo, Sedeney que esteve presente ao meu lado em todos os momentos, me ajudando e apoiando, com imensa paciência, nas horas mais difíceis e nas mais felizes; A minha filha, Yasmin, luz e essência da minha vida, por fazer-me mais feliz e realizada.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus por ter me dado sabedoria e saúde.

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Denise Milléo Almeida, por se disponibilizar em me orientar contribuindo para o meu aprendizado com seus valiosos ensinamentos que levarei para toda a vida e por sua compreensão em todos os momentos difíceis.

À UTFPR e aos professores do curso de graduação de Tecnologia em Alimentos pelo conhecimento adquirido ao longo desta trajetória.

À colega da UTFPR, Campus Ponta Grossa: Kathlyn Schafranski, pelas sugestões, contribuições e auxílio.

Aos estagiários Murilo Has e Daiane de Oliveira pela colaboração e auxílio na execução deste trabalho.

Ao meu esposo, Sedeney, pelo amor, dedicação, paciência, imenso apoio ao longo destes 3 anos e por garantir o funcionamento de nossa casa no dia a dia na minha ausência.

Aos colegas de curso, pela amizade e convivência ao longo destes 3 anos.

À minha amada mãe, Jolinda, por todo apoio e auxílio, cuidando de minha filha durante a execução deste trabalho, participando dos meus sonhos, angústias e conquistas.

Às professoras Giovana Arruda e Sabrina Avila por aceitarem fazer parte da banca examinadora

Meus sinceros agradecimentos!

“O sucesso nasce do querer, da determinação, da persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

(José de Alencar)

## RESUMO

PAULINO, Jéssica Aparecida **Caracterização de filmes de amido de pinhão com atividade antimicrobiana**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2016.

O presente trabalho tem por objetivo a produção e caracterização de filmes de amido de pinhão com atividade antimicrobiana. Os filmes foram produzidos segundo técnica de *casting*, conforme planejamento fatorial  $2^3$ , tendo como matriz o amido de pinhão (semente *Araucaria angustifolia*), glicerol e óleo essencial de alecrim em todos os tratamentos. Os filmes foram caracterizados quanto a atividade antimicrobiana, espessura, densidade, gramatura, luminosidade, croma  $b^*$ , isoterma de adsorção, TPVA e PVA. Os filmes de amido de pinhão impregnado com óleo essencial de alecrim mostraram efeito antimicrobiano sobre a *Salmonella sp.* e *Bacillus cereus*. Filmes com maior concentração de amido apresentaram aumento da espessura, densidade e gramatura. O maior teor de glicerol e óleo essencial de alecrim aumentaram a luminosidade e o croma  $b^*$  dos filmes. A maior absorção de umidade foi verificado em filmes com alta concentração de glicerol. Todos os filmes demonstraram alta TPVA e PVA, sendo estas influenciadas pela concentração de amido e pelo óleo essencial de alecrim. Os filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim demonstraram potencial de produção e com atividade antimicrobiana, mas se caracterizaram altamente hidrofílicos, o que dificulta uma aplicação como embalagem para alimentos.

Palavras- chave: Semente de *Araucaria angustifolia*. Óleo essencial de alecrim. Glicerol. Isoterma de sorção. TPVA. PVA.

## ABSTRACT

PAULINO, Jéssica Aparecida. **Characterization of pinhão starch films with antimicrobial activity**. 2016. Completion of course paper (Food Technology) – Federal Technological University of Parana. Ponta Grossa, 2016.

The production and characterization of pinhão starch films with antimicrobial activity is the purpose of present paper. The films were made according to casting technique and factorial planning 2<sup>3</sup>, using as matrix the pinion starch (*Araucaria angustifolia*), glycerol and rosemary essential oil in all treatments. The films were characterized according to antimicrobial activity, thickness, density, weight, luminosity, chroma b\*, adsorption isotherm, WVPR and WVP. The pinion starch films impregnated with rosemary essential oil showed antimicrobial effect over *Salmonella sp.* and *Bacillus cereus*. Films with higher concentration of starch showed increase in thickness, density and weight. The highest content of glycerol and rosemary essential oil increased luminosity and chroma b\* of films. The higher absorption of humidity was verified in films with high glycerol concentration. All films showed high WVPR and WVP, influenced by starch concentration and rosemary essential oil. The pinhao starch films impregnated with rosemary essential oil showed production potential with antimicrobial activity, however it were highly hydrophilic, hindering the application as food package.

Key-words: Seed of *Araucaria angustifolia*. Rosemary essential oil. Glycerol. Adsorption isotherm. WVPR. WVP.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Espessura dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim.....	24
Figura 2 - Superfície de resposta para espessura dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim: (a) amido de pinhão e glicerol; (b) amido de pinhão e óleo essencial de alecrim; (c) glicerol e óleo essencial de alecrim .....	25
Figura 3 - Densidade dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim.....	26
Figura 4 - Superfície de resposta para densidade dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim: (a) amido de pinhão e glicerol; (b) amido de pinhão e óleo essencial de alecrim; (c) glicerol e óleo essencial de alecrim .....	27
Figura 5 - Gramatura dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim.....	28
Figura 6 - Superfície de resposta para gramatura dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim: (a) amido de pinhão e glicerol; (b) amido de pinhão e óleo essencial de alecrim; (c) glicerol e óleo essencial de alecrim .....	29
Figura 7 - Luminosidade dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim.....	30
Figura 8 - Superfície de resposta para luminosidade dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim: (a) amido de pinhão e glicerol; (b) amido de pinhão e óleo essencial de alecrim; (c) glicerol e óleo essencial de alecrim .....	32
Figure 9 - Cromo $b^*$ dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim.....	32
Figura 10 - Superfície de resposta do cromo $b^*$ nos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim: (a) amido de pinhão e glicerol; (b) amido de pinhão e óleo essencial de alecrim; (c) glicerol e óleo essencial de alecrim .....	33
Figura 11 - Isotermas de adsorção a água em filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim, submetidos a temperatura de 20°C, ajustadas pelo modelo matemático de GAB. ....	35
Figura 12 - Taxa de permeabilidade ao vapor de água dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim.....	37
Figura 13 - Taxa de permeabilidade ao vapor de água dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim.....	37
Figura 14 - Superfície de resposta da TPVA dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim: (a) amido de pinhão e glicerol; (b) amido de pinhão e óleo essencial de alecrim; (c) glicerol e óleo essencial de alecrim .....	39
Figura 15 - Superfície de resposta da PVA dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim: (a) amido de pinhão e glicerol; (b) amido de pinhão e óleo essencial de alecrim; (c) glicerol e óleo essencial de alecrim .....	40

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Planejamento experimental fatorial $2^3$ .....	16
Tabela 2 - Relação entre as atividade de água ( $a_w$ ) em temperatura de 20°C e as concentrações de ácido sulfúrico .....	18
Tabela 3- Atividade antimicrobiana nos filmes impregnados com óleo essencial de alecrim.....	22
Tabela 4 - Parâmetro de ajuste do modelo GAB para as isotermas de adsorção a água dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim, a temperatura de 20°C e o coeficientes de determinação ( $R^2$ ) .....	34

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	14
2.1.1 Objetivos Específicos .....	14
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>15</b>
3.1 PROCESSO DE EXTRAÇÃO DO AMIDO DO PINHÃO .....	15
3.2 PRODUÇÃO DE FILMES DE PINHÃO COM ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM .....	15
3.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES .....	16
3.3.1 Atividade Antimicrobiana dos Filmes .....	17
3.3.2 Espessura, Densidade, Gramatura, Luminosidade e Cromo b* dos Filmes ....	17
3.3.3 Isotermas de adsorção a água dos filmes .....	18
3.3.4 Taxa de Permeabilidade ao Vapor de Água e Permeabilidade ao Vapor de Água dos Filmes .....	19
3.5 ANÁLISE DOS DADOS .....	21
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>22</b>
4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES .....	22
4.1.1 Atividade Antimicrobiana dos Filmes Impregnados com Óleo Essencial de Alecrim .....	22
4.1.2 Espessura dos filmes .....	23
4.1.3 Densidade dos filmes .....	26
4.1.4 Gramatura dos filmes .....	27
4.1.5 Luminosidade e Cromo b* dos Filmes .....	29
4.1.6 Isoterma de Adsorção a Água .....	33
4.1.7 Taxa de Permeabilidade ao Vapor de Água e Permeabilidade ao Vapor de Água .....	36
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	<b>41</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A demanda pela produção de embalagens plásticas sintéticas e de fontes não renováveis, utilizadas pela indústria para conservar alimentos e acondicionar produtos em geral, despertou a necessidade de buscar alternativas para diminuir os impactos ambientais, ocasionados pelo descarte do lixo não biodegradável (SILVA et al., 2007).

Segundo Shimazu, Mali e Grossmann (2007), o amido por ser um polímero facilmente encontrado, oriundo de fontes renováveis e de baixo custo, tem sido objeto de estudos na elaboração de filmes biodegradáveis.

De acordo com Rolland- Sabaté et al. (2012) o amido consiste basicamente de duas frações de homopolímeros a amilose e a amilopectina. Em geral, os amidos possuem 20 a 30% de amilose e 70 a 80% de amilopectina, conforme a fonte botânica, o que confere características específicas ao amido, e essas proporções influenciam na viscosidade e no poder de gelificação (CEREDA et al., 2002). O amido de pinhão apresenta um teor de amilose de aproximadamente 34%, além de possuir baixo teor de lipídeos e proteínas (CORDENUNSI et al., 2004).

O amido possui características promissoras na produção de compostos biodegradáveis, apesar de ser de natureza hidrofílica e apresentar propriedades mecânicas fracas, tendo maior suscetibilidade a alterações de umidade e temperatura, o que estimula o interesse pela adição de agentes que melhorem as propriedades dos filmes (SCHMIDT et al., 2012).

Uma alternativa para melhorar as propriedades físicas dos filmes está na preparação de blendas poliméricas, mediante o uso combinado de polímeros. A mistura frequentemente exibe propriedades superiores quando comparadas às propriedades de cada componente polimérico individualmente (LAURINDO e PELEG, 2007).

Os polímeros usualmente utilizados na fabricação de embalagens, não são antimicrobianos, podendo ser alterados para possuir essa característica. Alterações na superfície dos biomateriais podem mudar as interações específicas e não específicas com os micro-organismos, reduzindo a adesão microbiana (DURAN, 2000). Quando as superfícies de polímeros são impregnadas de compostos antimicrobianos, há indicação de alterações físico-químicas das características da

interface, podendo resultar em diminuição, inibição ou impedimento da capacidade de adesão de micro-organismos (MIRELES, TOGUCHI e HARSHEY, 2001).

A incorporação de antimicrobianos naturais como óleos essenciais em filmes biodegradáveis, visa inibir, reduzir ou retardar o crescimento da microbiota presente, principalmente na superfície do alimento embalado, onde ocorre a maior parte das reações de deterioração (SOARES, 2009). Os antimicrobianos migram lenta e gradualmente da embalagem para a superfície do alimento, onde se mantém na concentração necessária para inibir o desenvolvimento de micro-organismos (SILVEIRA et. al., 2007).

Uma das dificuldades da produção de filmes de amido e polímeros sintéticos está na baixa compatibilidade entre eles, pois o amido apresenta características hidrofílicas e os sintéticos são na maioria hidrofóbicos, resultando em misturas com baixas propriedades mecânicas (LOWDIN, DELLA VALLE e COLONNA, 1995). A incorporação de algum aditivo, como plastificantes ou compatibilizantes, se torna necessária para junção entre os componentes dos filmes (SHAH, BANDOP ADHYAY e BELLARE, 1995).

Considerando as propriedades e características do amido e do óleo essencial de alecrim, o presente trabalho teve como intuito utilizar as melhores vantagens desses aspectos na produção de filmes, com propriedades físico-químicas adequadas para colaborar com a área de biopolímeros, na elucidação do comportamento do filme formado.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Produção e caracterização filmes de amido de pinhão com atividade antimicrobiana.

#### 2.1.1 Objetivos Específicos

- a) Estabelecer o processo de produção dos filmes a base de amido de pinhão;
- b) Avaliar a característica antimicrobiana dos filmes a base de amido de pinhão e óleo essencial de alecrim;
- c) Verificar as características físicas e de barreira dos filmes a base de amido de pinhão e óleo essencial de alecrim.
- d) Avaliar a influência do amido, glicerol e o óleo essencial de alecrim sobre a espessura, densidade, gramatura, luminosidade, croma  $b^*$ , TPVA e PVA dos filmes.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os principais materiais utilizados neste trabalho foram o amido de pinhão (semente de *Araucaria angustifolia*) adquirido na região de Catanduva situada na cidade de Carambeí - PR, o glicerol (Vetec), óleo essencial de alecrim (Quinari).

#### 3.1 PROCESSO DE EXTRAÇÃO DO AMIDO DO PINHÃO

A extração do amido do pinhão foi realizada segundo Costa et al. (2013).

O pinhão descascado (1Kg) foi triturado em liquidificador doméstico (Britânia, Eletronic filter) em 2 L de água destilada por 10 minutos, para a formação de uma pasta. A pasta formada foi filtrada com auxílio de um pano do tipo poliéster, onde a suspensão foi coada até a máxima remoção da água. Na sequência, a solução coada seguiu para decantação, em forma de alumínio por 3 horas. O excesso de água foi descartado e o amido precipitado seguiu para secagem em estufa (AmericanLab, Modelo AL100/630) a 40°C, por 24 horas. Após a desidratação, o amido foi moído com o auxílio de um macerador e peneirado em peneiras de 48 mesh.

#### 3.2 PRODUÇÃO DE FILMES DE PINHÃO COM ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM

A produção do filme teve como composição amido de pinhão, glicerol e óleo essencial de alecrim, conforme planejamento experimental fatorial  $2^3$  (Tabela 1), para produção de 100 mL de solução filmogênica, tendo a água como solvente.

A solução filmogênica foi elaborada por meio da técnica de mistura, onde o amido e o glicerol foram aquecidos a 75°C, sob agitação de 50 rpm, durante 30 minutos. Após resfriamento em temperatura ambiente, foi adicionado o óleo essencial de alecrim, conforme planejamento experimental (Tabela 1).

**Tabela 1 - Planejamento experimental fatorial 2<sup>3</sup>**

Tratamentos	Variáveis codificadas			Variáveis decodificadas		
	Amido	Glicerol	Óleo essencial de alecrim	Amido (g)	Glicerol (g)	Óleo essencial de alecrim (g)
1	-1	-1	-1	2,5	0,5	0,5
2	1	-1	-1	3,0	0,5	0,5
3	-1	1	-1	2,5	0,7	0,5
4	1	1	-1	3,0	0,7	0,5
5	-1	-1	1	2,5	0,5	0,8
6	1	-1	1	3,0	0,5	0,8
7	-1	1	1	2,5	0,7	0,8
8	1	1	1	3,0	0,7	0,8

**Fonte: Autoria própria**

Os filmes foram confeccionados pela técnica de *casting* (YANG; PAULSON, 2000), que consiste na desidratação de uma solução filmogênica aplicada sobre um suporte, em placa de vidro com área de 200 x 200 x 30 mm, cobertas com filme de PVC (policloreto de vinila) e delimitadas a uma área de 170 x 170 x 30 mm. A secagem foi realizada em estufa com circulação de ar forçado (QUIMIS) a 37°C ± 2°C por 18 horas.

Os filmes foram mantidos em frascos herméticos contendo solução ácido sulfúrico (Vetec) a 20°C, com 56% de umidade relativa (UR), em estufa de DBO (Thelga-Modelo T34P) até as análises de caracterização dos filmes (Item 3.3).

### 3.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

Os filmes foram caracterizados quanto a atividade antimicrobiana, espessura, densidade, gramatura, cor, isoterma de adsorção, taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) e permeabilidade ao vapor de água (PVA).



### 3.3.1 Atividade Antimicrobiana dos Filmes

Para análise da atividade antimicrobiana foi utilizado o método da difusão em Ágar (MORAES et al., 2007). Os corpos de prova dos filmes foram recortados em 0,5 cm<sup>2</sup> e mantidos em câmara de fluxo laminar, sob luz ultravioleta por 30 minutos.

Os filmes foram colocados na superfície de placas de Petri contendo meios de cultivos específicos, ágar Salmonella-Shigela para *Salmonella sp.* e ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP) para *Bacillus cereus*, onde foram inoculados 0,1 mL dos respectivos micro-organismos, por semeadura em superfície. As placas de Petri contendo *Salmonella sp.* foram incubadas a 37°C por 48h. As placas com *Bacillus cereus* foram incubado a 30°C por 24h. Decorrido o tempo de crescimento de cada micro-organismo, foi observado a formação de halos de inibição ao redor dos filmes. O critério de classificação foi o diâmetro dos halos de inibição de crescimento, sendo considerado sensível (S)  $\geq 3$  mm, moderadamente sensível (MS)  $> 2$  mm e  $< 3$  mm ou resistente (R)  $\leq 2$  mm.

### 3.3.2 Espessura, Densidade, Gramatura, Luminosidade e Cromo b\* dos Filmes

Os filmes foram analisados quanto a espessura, densidade e gramatura segundo Sarantópoulos et. al (2002). A medida da espessura foi obtida com micrômetro (Mitutoyo) com resolução 0,001, em corpos de prova de 4cm<sup>2</sup> e os resultados expressos em milímetros. A densidade foi determinada utilizando corpos de prova de 2cm<sup>2</sup> e os valores foram expressos em g cm<sup>-3</sup>. A gramatura foi determinada pela pesagem de uma área de 2 cm<sup>2</sup> do corpo de prova e os resultados expressos em g m<sup>-2</sup>.

As cores dos filmes foram medidas de acordo com a escala L\*, a\* e b\* ou CIELAB, recomendada pela Comissão Internationale de L' Eclairage (CIE), utilizando um colorímetro Hunterlab (Hunterlab Ultrascan PRO). O sistema tri-axial ("tristimulus") de cores fornece três eixos com as coordenadas L\*, a\* e b\* para determinar a coloração dos filmes. No eixo x a coordenada a\* varia do vermelho (+ a\*) ao verde (- a\*); no

eixo y, a coordenada  $b^*$  do amarelo ( $+b^*$ ) ao azul ( $-b^*$ ) e o eixo z corresponde às cores que vão do branco ( $+L^*$ ) ao preto ( $-L^*$ ).

Foram avaliados os valores de L, que representam a luminosidade e varia de 0 (zero- preto) a 100 (cem - branco) e os valores do croma  $b^*$  representam as cores do azul (- 60) ao amarelo (+ 60).

### 3.3.3 Isotermas de Adsorção a Água dos Filmes

As isotermas de adsorção de água dos filmes foram determinadas em temperatura de  $20^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  pelo método estático (MORTOLA, MEILI e PINTO, 2003). A obtenção de valores de umidade relativa (UR) foi entre 5% e 100%, obtida por diferentes concentrações de solução de ácido sulfúrico P.A. (Tabela 2).

**Tabela 2 - Relação entre as atividade de água ( $a_w$ ) em temperatura de  $20^{\circ}\text{C}$  e as concentrações de ácido sulfúrico**

Concentração de $\text{H}_2\text{SO}_4$ (%)	Atividade de água ( $A_w$ )
	$20^{\circ}\text{C}$
0	1,000
5	0,980
10	0,955
20	0,879
30	0,749
40	0,562
50	0,355
55	0,258
60	0,167
80	0,053

**Fonte: Ditchfield (2000)**

Os filmes foram secos em estufa a  $50^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 2 horas, resfriados em dessecador. Na sequência, foram pesados 0,5 g, obtendo a massa inicial, sendo mantidos em frascos hermeticamente fechados, contendo solução de ácido sulfúrico (20 mL) (Tabela 2), em 10 concentrações diferentes e acondicionados em estufa de DBO (Thelga – modelo T34P) a  $20^{\circ}\text{C}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Foram realizadas pesagens em

balança analítica (Shimadzu AX 200)  $\pm 0,0001$  a cada 24 horas, até a obtenção da umidade de equilíbrio com três massas constantes. Após a obtenção da umidade de equilíbrio, os filmes foram secos em estufa a  $105^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , por 24 horas. Após resfriados foram pesados, para a obtenção do valor da umidade de equilíbrio por meio da equação 1 e, os resultados expressos em g de água.  $100\text{g}^{-1}$  de matéria seca.

$$X_{eq} = \frac{m_{eq} - m_s}{m_s} \quad (\text{Eq.1})$$

Onde,

$x_{eq}$ : umidade de equilíbrio (b. s.) (g de água.  $100\text{g}^{-1}$  de matéria seca)

$m_{eq}$ : massa da amostra no equilíbrio (g)

$m_s$ : massa da amostra seca (g)

Os resultados foram ajustados matematicamente pelo modelo de Guggenheim – Anderson – de Boer (GAB), segundo equação 2.

$$X_{eq} = \frac{KCX_m aw}{(1 - Kaw)(1 - Kaw + CKaw)} \quad (\text{Eq.2})$$

Onde:

$X_{eq}$ : umidade de equilíbrio (g de água.  $100\text{g}^{-1}$  de matéria seca);

K: constante de GAB relacionada à energia de interação das moléculas absorvidas na multicamada;

C: constante relacionada à energia de interação das moléculas absorvidas na monocamada;

$X_m$ : umidade na monocamada (g de água.  $100\text{g}^{-1}$  de matéria seca)

$aw$ : atividade de água (UR/100)

### 3.3.4 Taxa de Permeabilidade ao Vapor de Água e Permeabilidade ao Vapor de Água dos Filmes

A taxa de permeabilidade ao vapor de água foi determinada por gravimetria pelo método padrão da norma da *American Society for testing and materials* – ASTM E96-00 (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Os corpos de prova com área de 0,002551 m<sup>2</sup> foram aplicados em cápsulas de alumínio contendo 5g de CaCl<sub>2</sub> (anidro) secos em estufa a 150°C ± 1°C por 24h, e vedados com silicone. As cápsulas foram acondicionadas em frascos hermeticamente fechados, contendo solução saturada de cloreto de sódio (36g por 100mL de água). Todo o conjunto foi colocado em estufa de DBO (Thelga – Modelo T34P) a 20°C ± 0,5°C, proporcionando uma umidade relativa de 75%.

A permeabilidade do filme foi calculada por meio de regressão linear entre o ganho de peso (g) e o tempo (h) durante o experimento. O coeficiente angular da reta determinou a quantidade de água ganho pelo tempo (tg α). A TPVA foi calculada segundo a equação 3 e expressa em g H<sub>2</sub>O.m<sup>-2</sup>. dia<sup>-1</sup>.

$$TPVA = \frac{tg\alpha}{A} \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde,

$$TPVA = g \text{ H}_2\text{O m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$$

Tg α = coeficiente angular da reta

A = área em (m<sup>2</sup>)

Com o resultado da TPVA foi calculado a permeabilidade ao vapor de água (PVA) por meio da equação 4, e os resultados expressos em g H<sub>2</sub>O mm m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>.mmHg<sup>-1</sup>.

$$PVA = \frac{100.TPVA.e}{p.URe} \quad (\text{Eq. 4})$$

Onde,

$$PVA = g\text{H}_2\text{O. mm.m}^{-2} \text{ dia}^{-1}.\text{mmHg}^{-1}$$

e= espessura do biofilme (mm)

p = pressão de vapor de água pura na temperatura de 20°C, expressa em mmHg

UR<sub>e</sub> = umidade relativa a 20°C

### 3.5 ANÁLISE DOS DADOS

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 95% de confiança ( $\alpha$  0,05), sendo utilizado o programa SASM-Agri (CANTERI et al., 2001).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

#### 4.1.1 Atividade Antimicrobiana dos Filmes Impregnados com Óleo Essencial de Alecrim

O óleo essencial de alecrim aplicado aos filmes mostraram efeito antimicrobiano sobre os micro-organismos *Salmonella sp.* e *Bacillus cereus*, em todos os tratamentos. De modo geral, foi observado que quanto maior a quantidade de óleo essencial impregnada sobre os filmes maior sua atividade antimicrobiana (Tratamentos 5, 6, 7 e 8), para ambos os micro-organismos analisados (Tabela 3).

**Tabela 3- Atividade antimicrobiana dos filmes impregnados com óleo essencial de alecrim**

Tratamentos	<i>Salmonella sp.</i>		<i>Bacillus cereus</i>	
	Diâmetro (mm)	Sensibilidade	Diâmetro (mm)	Sensibilidade
1	11	S	25	S
2	12	S	25	S
3	15	S	25	S
4	11	S	20	S
5	16	S	40	S
6	16	S	56	S
7	16	S	52	S
8	17	S	57	S

**Fonte: Autoria própria**

Nota: Critério de seleção pelo diâmetro dos halos de inibição: Sensível (S)  $\geq 3$  mm; Moderadamente sensível (MS)  $> 2$  mm e  $< 3$  mm; Resistente (R)  $\leq 2$  mm.

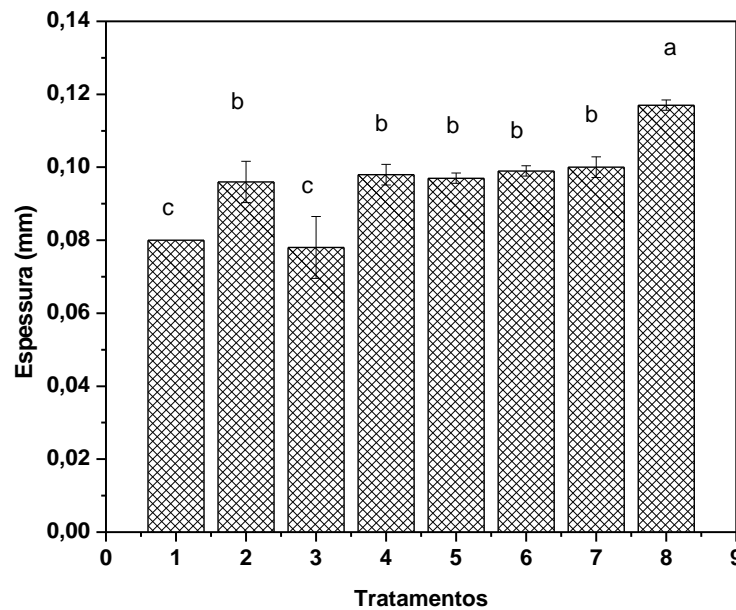
Em outros trabalhos com filmes impregnados com óleos essenciais também foram observados efeitos antimicrobianos. Ugalde (2014) verificou a eficácia de óleo essencial de alecrim frente a bactérias Gram-negativas ao elaborar biofilmes ativos com incorporação do óleo essencial. Busatta et al. (2007) obtiveram halos médios

de 19,5 mm do óleo essencial de orégano frente a *K. pneumoniae*. Segundo Martino et al., (2009) o óleo essencial de orégano mostrou ação contra as bactérias Gram-positivas, entre as quais *S. epidermidis* com maior inibição e, entre as bactérias Gram-negativas, apenas *E. coli* foi inibida pelo óleo. Mattei et al.(2013) ao avaliar a capacidade de inibição de filmes a base de amido impregnados com o óleo *Rosmarinus officinalis* (óleo essencial de alecrim) observou que houve inibição de diferentes micro-organismos, a *C. albicans* e *E. coli*, com halos de 20 mm e 15 mm, respectivamente, entretanto, a concentração de óleo testada não mostrou atividade antimicrobiana frente aos micro-organismos estudados, o que demonstra que os resultados encontrados neste trabalho foram diferentes dos autores, onde foi observado que houve inibição frente aos micro-organismos *Salmonella sp.* e *B. cereus*, ressaltando o tamanho do diâmetro dos halos encontrados para *B. cereus* (Tabela 3).

#### 4.1.2 Espessura dos Filmes

A espessura pode influenciar as propriedades dos filmes, como a resistência mecânica e as propriedades de barreira a gases e a umidade, sendo definida como distância normal entre duas superfícies principais do material (HENRIQUE; CEREDA, SARMENTO, 2008).

Foram observadas diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) nos valores da espessura entre os tratamentos, confirmada pelo teste de Tukey (Figura 1).



**Figura 1 - Espessura dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim**

**Fonte: Autoria própria**

Nota: Letra minúsculas iguais sobrescritas nas barras não apresentam diferenças significativas em nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

A espessura dos filmes entre os tratamentos mostraram diferença significativa ( $p < 0,05$ ), indicando que a composição influenciou esta propriedade. O filme com maior espessura (0,11 mm) foi verificado no tratamento 8 (3,0g de amido, 0,7g de glicerol, 0,8g de óleo de alecrim), onde mostrou maior teor de amido. A menor espessura (0,07) foi observada no tratamento 3 (2,5g de amido, 0,7g de glicerol, 0,5g de óleo de alecrim), onde apresentava maior quantidade de glicerol.

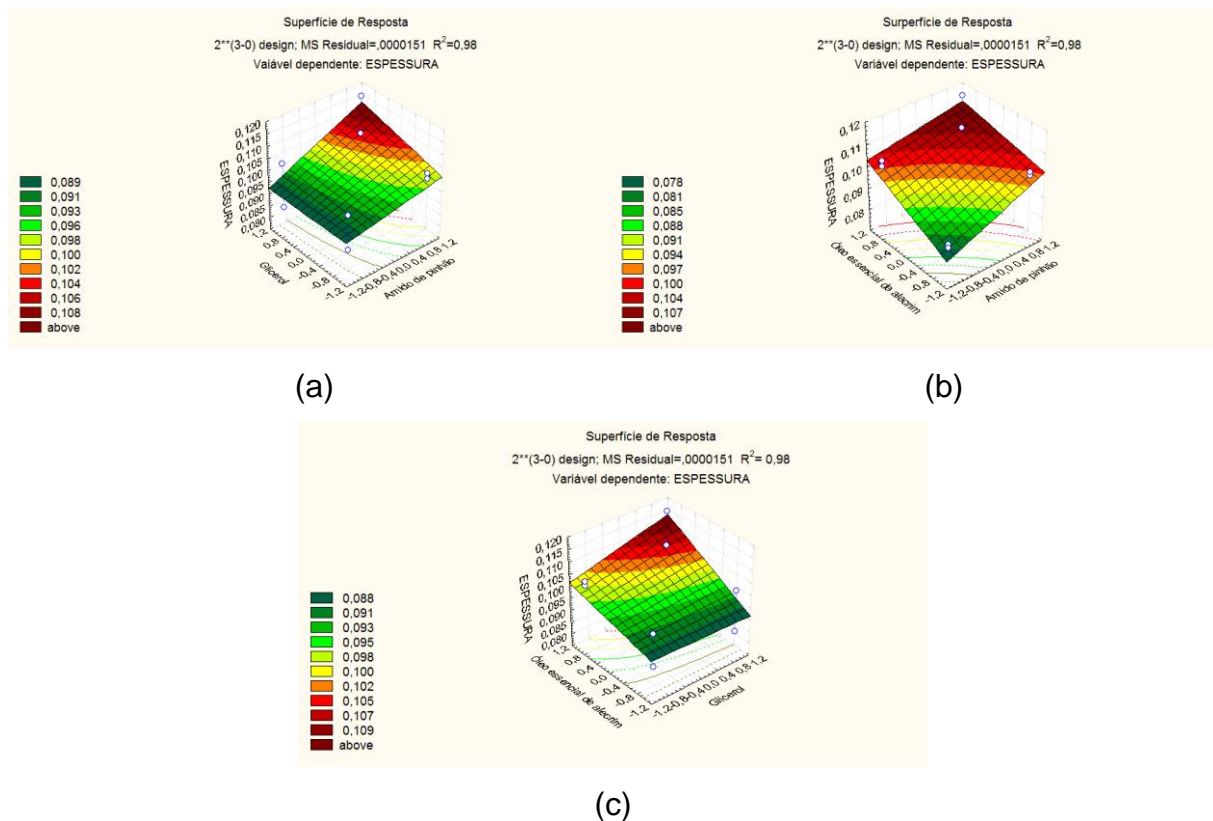
No entanto, segundo o teste de Tukey foi observado homogeneidade na espessura dos tratamentos 2 (3,0g de amido, 0,5g de glicerol, 0,5g de óleo de alecrim), 5 (2,5g de amido, 0,5g de glicerol, 0,8g de óleo de alecrim), 6 (3,0g de amido, 0,5g de glicerol, 0,8g de óleo de alecrim) e 7 (2,5g de amido, 0,7g de glicerol, 0,8g de óleo de alecrim) e, ainda, entre os tratamentos 1 (2,5g de amido, 0,5g de glicerol, 0,5g de óleo de alecrim) e 3 (2,5g de amido, 0,7g de glicerol, 0,5g de óleo de alecrim), o que pode caracterizar filmes com bom desempenho mecânico e de barreira, conforme Sarantópoulos et al. (2002). A técnica de *casting* utilizada na produção dos filmes, permitiu um controle regular da espessura, sendo as diferenças observadas apenas pela composição dos filmes, conforme verificado no teste de Tukey (Figura 1).



Em trabalho desenvolvido por Souza (2010) com biofilmes a base de fécula de mandioca incorporados com polpas de manga e de acerola, o autor encontrou resultados diferentes deste trabalho, onde os filmes produzidos apresentaram espessuras semelhantes, não mostrando influência sobre a espessura.

Segundo análise de superfície de resposta o amido de pinhão e a interação do amido com o óleo essencial de alecrim mostraram efeito significativo sobre a espessura dos filmes (Figura 2 a, b, c).

O aumento da concentração de glicerol pode ter contribuído na redução da espessura dos filmes, conforme verificado na Figura 2c. Segundo Famá et al. (2005) o glicerol tende a diminuir a rigidez da estrutura dos filmes e aumentar a mobilidade entre as cadeias poliméricas.



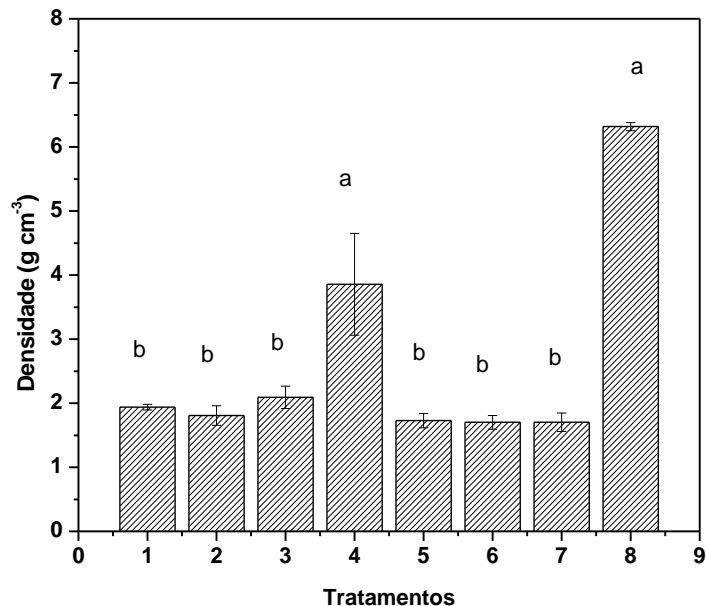
**Figura 2 - Superfície de resposta para espessura dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim: (a) amido de pinhão e glicerol; (b) amido de pinhão e óleo essencial de alecrim; (c) glicerol e óleo essencial de alecrim**

**Fonte: Autoria própria**

#### 4.1.3 Densidade dos Filmes

Foram observadas diferenças significativas entre os filmes ( $p < 0,05$ ) nos valores da densidade, confirmada pelo teste de Tukey (Figura 3).

O tratamento 8 (3,0g de amido, 0,7g de glicerol, 0,8g de óleo de alecrim) mostrou maior densidade, assim como o tratamento 4 (3,0g de amido, 0,7g de glicerol, 0,5g de óleo de alecrim) comparado aos demais tratamentos (1, 2, 3, 5, 6 e 7). Este aumento pode estar relacionado ao acréscimo de amido e glicerol nestes tratamentos.



**Figura 3 - Densidade dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim**

**Fonte: Autoria própria**

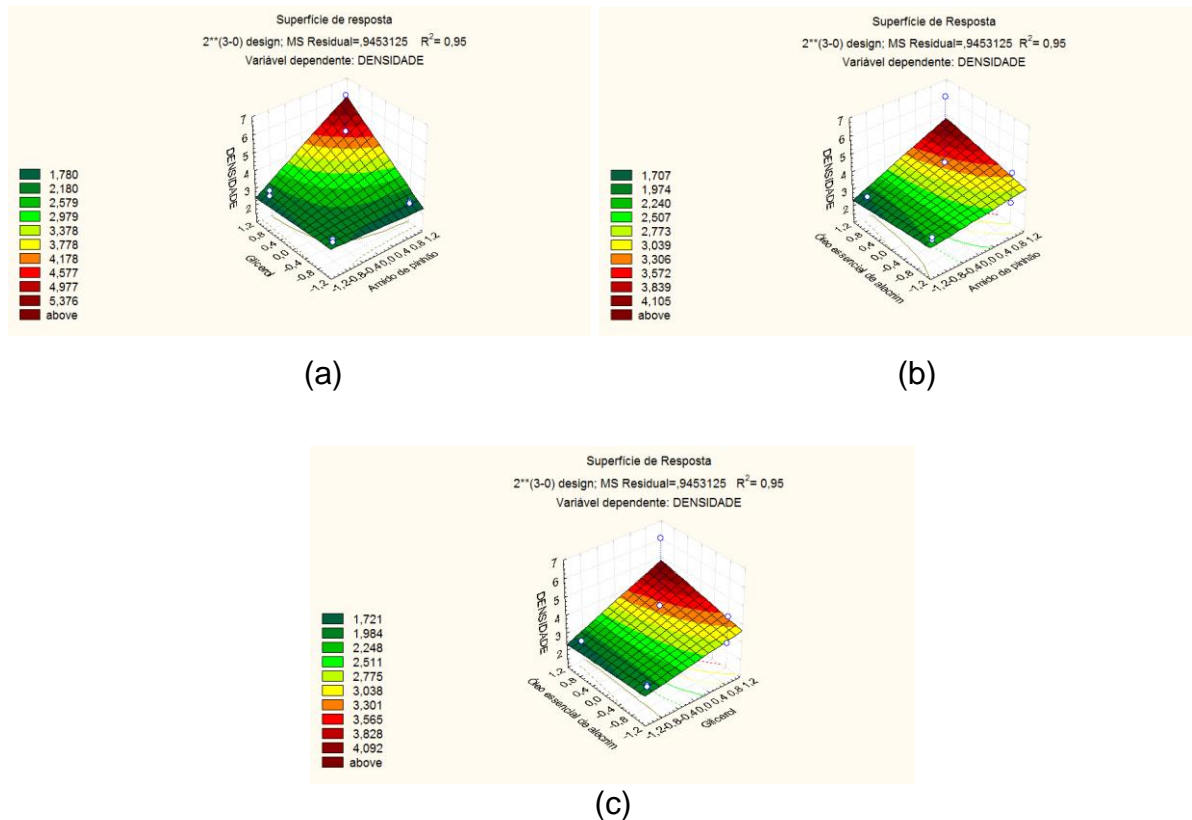
Nota: Letra minúsculas iguais sobscritas nas barras não apresentam diferenças significativas em nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

No entanto, foi observado boa reprodutibilidade do processo de preparação dos filmes, quando se observa pelo teste de Tukey que os tratamentos 1, 2, 3, 5, 6 e 7 não diferiram estatisticamente na análise da densidade.

Resultados diferentes deste trabalho foram encontrados por Dias (2008), ao desenvolver filmes biodegradáveis de amido e de farinha de arroz, observou valores de densidade semelhantes em todas as formulações. Araújo (2014) desenvolvendo filmes biodegradáveis de amido incorporados com extrato de própolis, obteve

resultados de densidade estatisticamente iguais em todas as formulações, indicando que a adição de extrato de própolis não interferiu nesta propriedade.

Segundo análise de superfície de resposta, o amido de pinhão e o glicerol apresentaram efeito significativo sobre a densidade dos filmes (Figura 4 a, b, c).



**Figura 4 - Superfície de resposta para densidade dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim: (a) amido de pinhão e glicerol; (b) amido de pinhão e óleo essencial de alecrim; (c) glicerol e óleo essencial de alecrim**

**Fonte: Autoria própria**

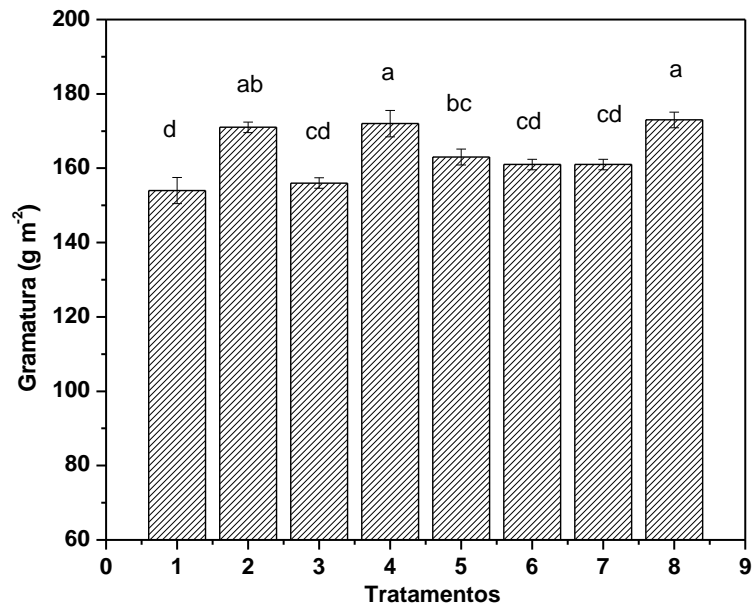
#### 4.1.4 Gramatura dos Filmes

A gramatura tem influência na eficiência funcional sobre os biofilmes (SOBRAL, 2000).

Foram observadas diferenças significativas entre os filmes ( $p < 0,05$ ) nos valores da gramatura, confirmada pelo teste de Tukey (Figura 5), o que demonstra efeito significativos dos componentes e das concentrações dos filmes.

As maiores gramaturas foram verificadas nos tratamentos 8 (3,0g de amido, 0,7g de glicerol, 0,8g de óleo de alecrim) com  $173 \text{ g m}^2$  e 4 (3,0g de amido, 0,7g de

glicerol, 0, 5g de óleo de alecrim) com 172 g m<sup>2</sup>, que pode ser influenciada pela maior concentração do amido, indicando maior resistência mecânica, segundo Oliveira et al. (1996).



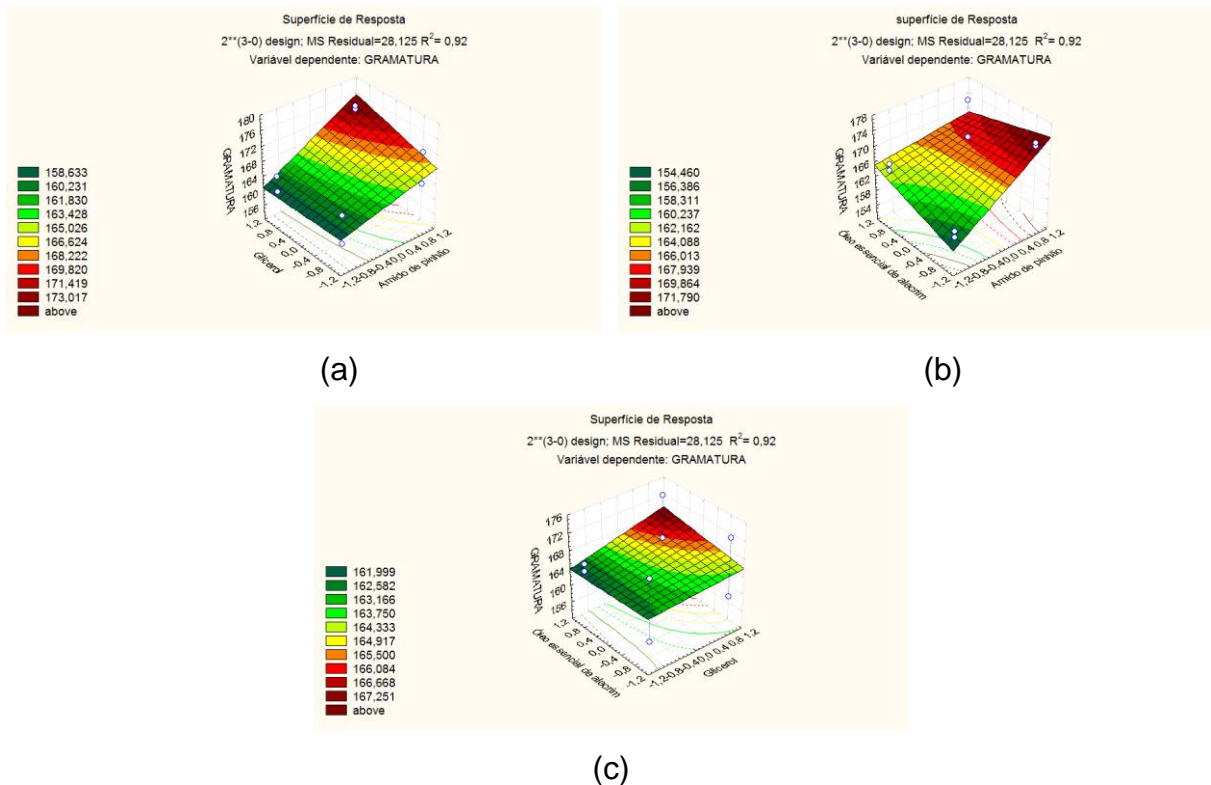
**Figura 5 - Gramatura dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim**

**Fonte: Autoria própria**

Nota: Letra minúsculas iguais sobrescritas nas barras não apresentam diferenças significativas em nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Valores diferentes de gramatura foram observados por Henrique, Cereda e Sarmiento (2008), ao trabalharem com filmes de amido modificado de mandioca, onde todos os filmes obtidos com concentrações menores (3%) de amido apresentaram menores valores de gramatura, o que pode ser devido ao teor de matéria seca presente nos tratamentos.

Segundo análise de superfície de resposta o amido de pinhão e o glicerol apresentaram efeito significativo sobre a gramatura dos filmes (Figura 6 a, b, c).



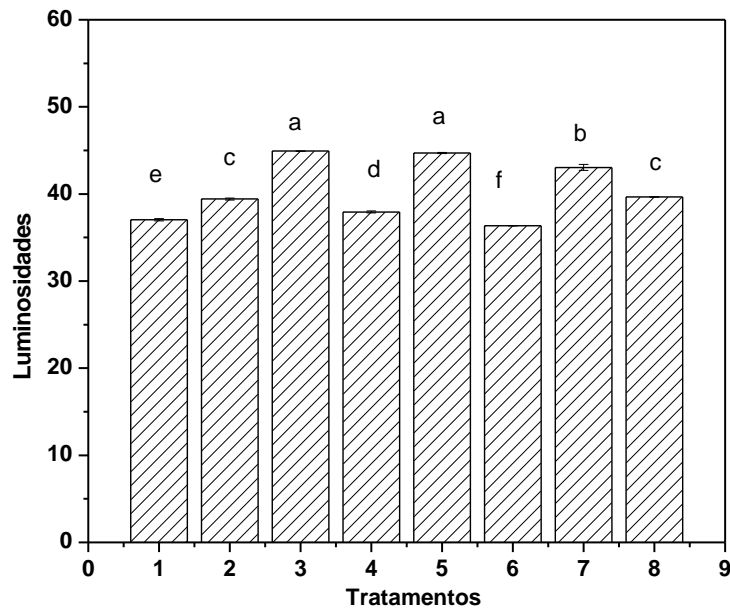
**Figura 6 - Superfície de resposta para gramatura dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim: (a) amido de pinhão e glicerol; (b) amido de pinhão e óleo essencial de alecrim; (c) glicerol e óleo essencial de alecrim**

**Fonte: Autoria própria**

#### 4.1.5 Luminosidade e Cromo b\* dos Filmes

Dentre as propriedades óticas dos filmes, há destaque para a cor e a transparência (opacidade), estando associadas com a matéria prima utilizada na elaboração e um importante parâmetro de caracterização (BERTUZZI; ARMADA; GOTTIFREDI, 2007).

A análise de variância mostrou diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as médias dos tratamentos, indicando que a composição dos filmes influenciaram na luminosidade dos filmes, confirmado pelo teste de Tukey (Figura 7).



**Figura 7 - Luminosidade dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim**

**Fonte: Autoria própria**

Nota: Letra minúsculas iguais sobscritas nas barras não apresentam diferenças significativas em nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Os filmes com maior luminosidade foram observados nos tratamentos 3 (2,5g amido, 0,7g glicerol, 0,5g óleo de alecrim) e 5 (2,5g amido, 0,5g glicerol, 0,8g óleo de alecrim), possivelmente pelo aumento do teor de glicerol e óleo essencial e pela menor espessura do tratamento 3 (2,5g amido, 0,7g glicerol, 0,5g óleo de alecrim) (Figura 1).

A maior luminosidade observada nos tratamentos 3 (2,5g amido, 0,7g glicerol, 0,5g óleo de alecrim) e 5 (2,5g amido, 0,5g glicerol, 0,8g óleo de alecrim) são desejados, porque segundo Oliveira et al. (1996) para que o produto tenha uma boa apresentação visual, se torna desejável que as embalagens plásticas apresentem elevado brilho e alta transparência, mas a opacidade não se apresenta como um fator limitante de uso.

A menor luminosidade foi verificada no tratamento 6 (3,0g amido, 0,5 glicerol, 0,8g óleo de alecrim), indicando ser decorrente do maior teor de amido, dificultando a passagem de luz pela matriz dos filmes, o que os torna opacos.

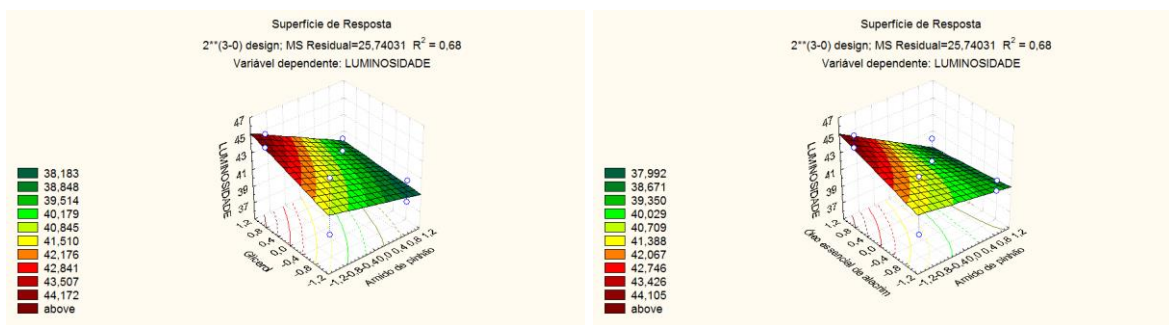
A opacidade dos filmes pode variar em função do teor de amilose, onde o amido de pinhão possui 34% (CORDENUNSI et al., 2004). Devido à linearidade de suas moléculas, em solução tendem a uma orientação paralela, buscando uma

aproximação para formar pontes de hidrogênio entre hidroxilas de cadeias adjacentes. Como resultado, a afinidade do polímero por água passa a ser reduzida, favorecendo a formação de pastas opacas e filmes resistentes (WURZBURG, 1986). Também, durante o processo de gelatinização do amido, ocorre mudança na coloração devido à perda da estrutura e cristalinidade dos grânulos de amido, tornando um gel opaco (SILVA et al., 2007).

Assim como verificado neste trabalho, Ugalde (2014) observou que em filmes de amido de milho e quitosana a adição de óleos essenciais afetou a transparência e cor dos mesmos. Em ambos os biopolímeros houve uma redução de luminosidade, quando maiores quantidades de óleos foram incorporados.

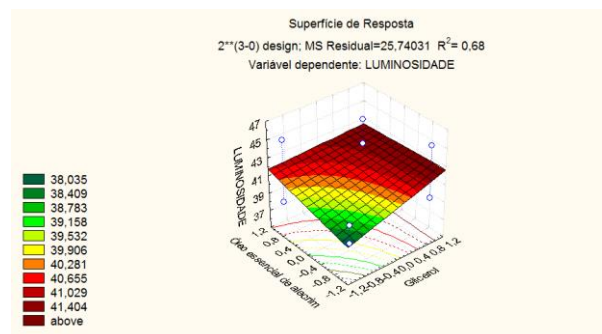
Rigo (2006) caracterizando filmes comestíveis de polissacarídeos (amido nativo e modificado) e alginato de sódio em diferentes experimentos observou que a luminosidade foi afetada, pela concentração de polissacarídeo e pela concentração de glicerol, onde aumentando a concentração destes componentes houve a diminuição da luminosidade dos mesmos.

Segundo análise de superfície de resposta o glicerol e o óleo essencial de alecrim mostraram efeito significativo sobre a luminosidade dos filmes (Figura 8 a, b, c).



(a)

(b)

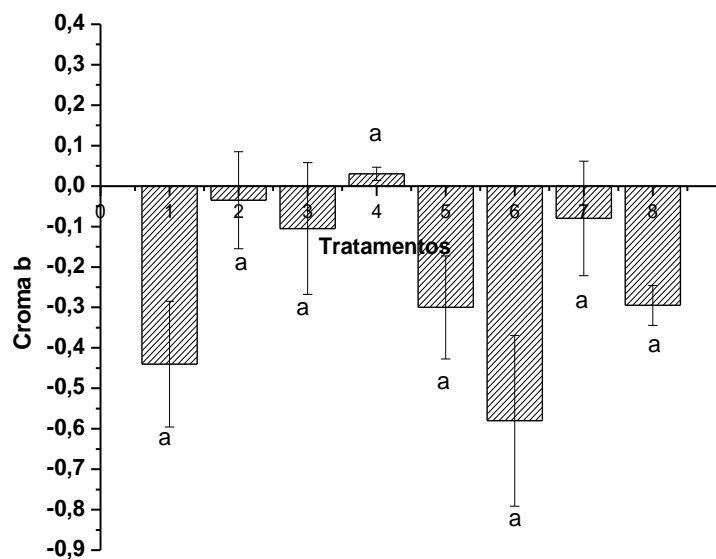


(c)

**Figura 8 - Superfície de resposta para luminosidade dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim: (a) amido de pinhão e glicerol; (b) amido de pinhão e óleo essencial de alecrim; (c) glicerol e óleo essencial de alecrim**

Fonte: Autoria própria

A análise de variância não mostrou diferença significativa ( $p \geq 0,05$ ) entre os tratamentos, indicando que a composição dos filmes não influenciaram no croma b\* dos filmes, confirmado pelo teste de Tukey (Figura 9).



**Figure 9 - Croma b\* dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim**

Fonte: Autoria própria

Nota: Letra minúsculas iguais sobrescritas nas barras não apresentam diferenças significativas em nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

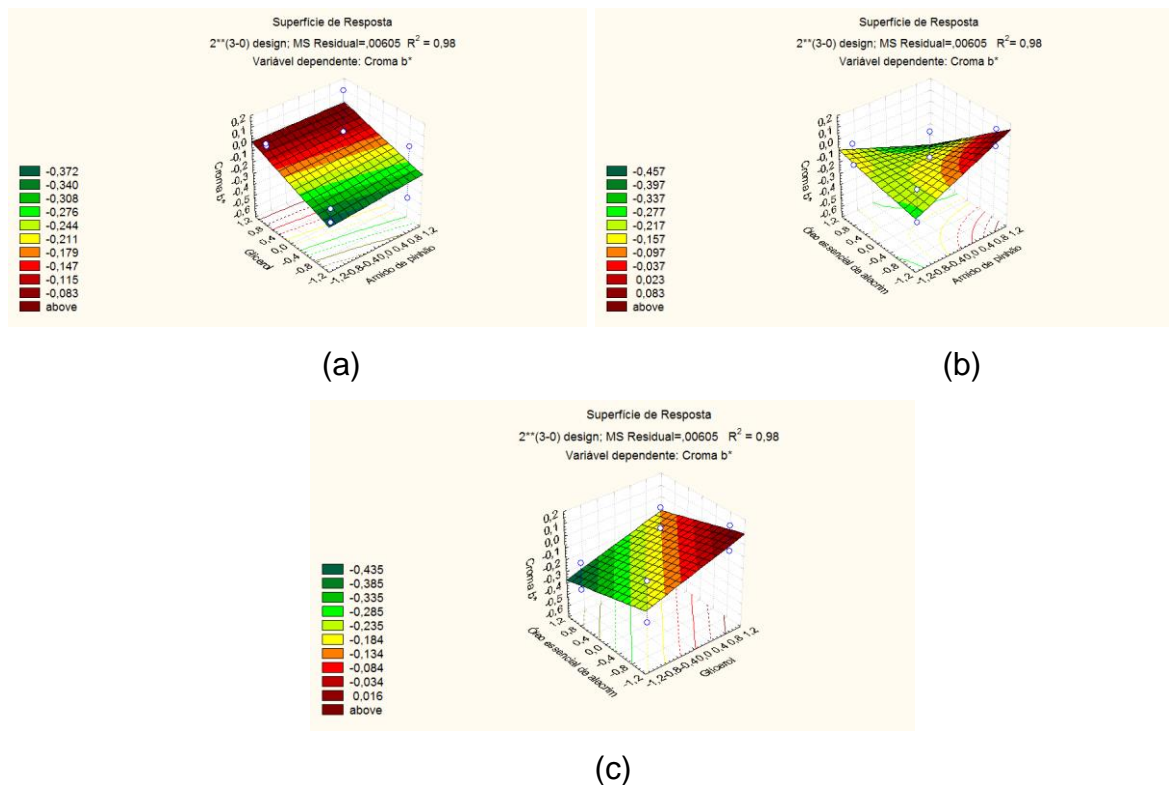
Os dados do croma b\* mostraram valores negativos, indicando que a coloração azul está presente na maioria dos filmes (tratamentos 1, 2, 3, 5, 6, 7 e 8), onde apenas o tratamento 4 (3,0g amido, 0,7g glicerol, 0,5g óleo essencial de alecrim) apresentou coloração amarela (Figura 6).

No entanto, resultados diferentes tem sido apresentados em outros trabalhos, onde a coloração amarela se mostra como característica de filmes a base de amido e óleos essenciais. Segundo Ugalde (2014) avaliando filmes de amido de milho, quitosana e acetato de celulose, mostraram variação significativa para os valores de croma b, ressaltando a presença da coloração amarela quando incorporado os filmes de óleos essenciais, mas quando utilizado acetato de celulose



a coloração se mostrou azul. Rigo (2006) caracterizando filmes de polissacarídeos (amido nativo e modificado) e alginato de sódio obteve valores positivos de croma  $b^*$  (coloração amarela) para todos os filmes produzidos, indicando ter sido influenciado em função da concentração de polissacarídeo e glicerol.

Segundo análise de superfície de resposta o glicerol e a interação do glicerol com o amido de pinhão, apresentaram efeito significativo sobre o croma  $b^*$  dos filmes (Figura 10 a, b, c).



**Figura 10 - Superfície de resposta do croma  $b^*$  nos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim: (a) amido de pinhão e glicerol; (b) amido de pinhão e óleo essencial de alecrim; (c) glicerol e óleo essencial de alecrim**

Fonte: Autoria própria

#### 4.1.6 Isoterma de Adsorção a Água

As isotermas de adsorção a água apresentam a relação entre a umidade de equilíbrio de um material a uma determinada umidade relativa, a uma temperatura específica. O modelo de Guggenheim - Anderson - de Boer (GAB) utilizado para representar as isotermas de sorção de água forneceu altos coeficientes de correlação, que demonstra significativa representação dos dados (Tabela 4).

**Tabela 4 - Parâmetro de ajuste do modelo GAB para as isotermas de adsorção a água dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim, a temperatura de 20°C e o coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>)**

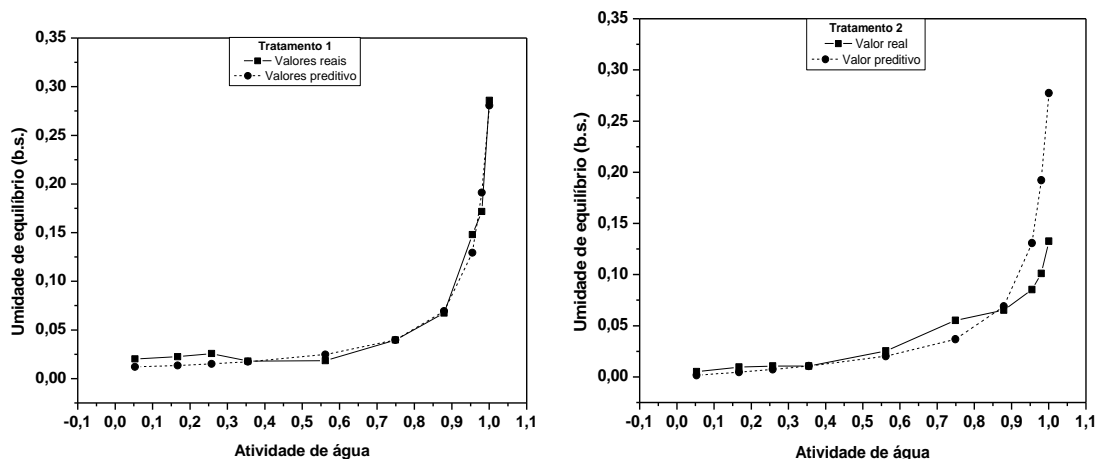
Tratamentos	K	X <sub>m</sub>	R <sup>2</sup>	Variância explicada (%)
1	0,9556	0,1253	0,98	97,50
2	0,6984	0,0828	0,98	96,63
3	0,9102	0,0155	0,97	94,25
4	0,9343	0,0163	0,99	98,39
5	0,8351	0,2059	0,98	96,59
6	0,9360	0,0393	0,97	94,63
7	0,7904	0,0592	0,95	90,75
8	0,8707	0,0489	0,95	90,88

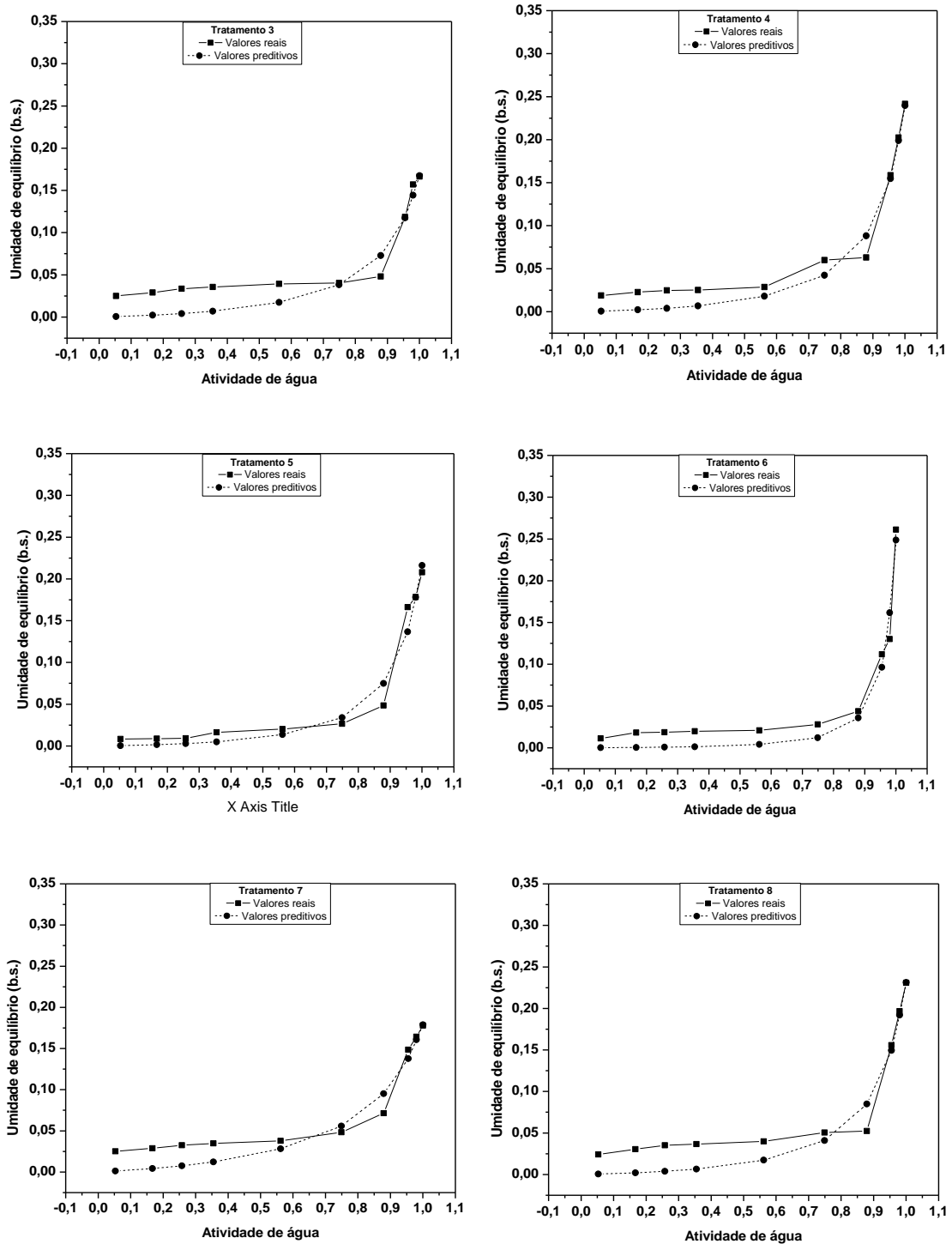
**Fonte: Autoria própria**

NOTA - X<sub>m</sub> = umidade na monocamada (g de água/100 g<sup>-1</sup> de matéria seca); C = constante relacionada à energia de interação das moléculas na monocamada; K = constante relacionada à energia de interação das moléculas adsorvidas na multicamada. A tabela apresenta as médias das triplicatas.

A Figura 11 mostra as isotermas de adsorção dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim, ajustado pelo modelo de GAB, onde se observa um acréscimo da umidade de equilíbrio com a ampliação da atividade de água (A<sub>w</sub>).

Todos os tratamentos apresentaram as isotermas do tipo III, que segundo Ordóñez (2005), as curvas que demonstram uma zona plana na primeira parte, em formato de J (Figura 11), são típicas de alimentos com alto teor açúcar e solutos e, com pouca adsorção por capilaridade.





**Figura 11 - Isothermas de adsorção a água em filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim, submetidos a temperatura de 20°C, ajustadas pelo modelo matemático de GAB.**

**Fonte: Autoria própria**

O ponto crítico das isothermas de todos os tratamentos foi verificado a partir da atividade de água de 0,87, onde as umidades de equilíbrio apresentaram valores

de 6,7%, 6,5%, 4,8%, 6,3%, 4,8%, 4,3%, 7,1% e 5,2%, nos tratamentos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8, respectivamente. Segundo Moura e Germer (2004) o ponto crítico de uma isoterma determina o limite da atividade de água e da umidade de equilíbrio, que acima do qual o produto acelera as suas transformações conduzindo a deterioração.

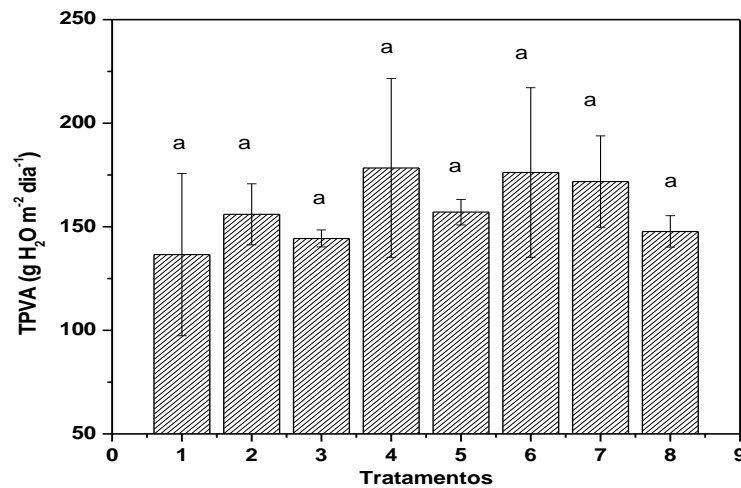
O valor da monocamada ( $X_m$ ) indica a quantidade máxima de água por grama de sólido seco, que pode ser adsorvida em uma única camada, sendo a medida do número de sítios de adsorção, também identificando que a partir destes valores há início das reações químicas geradoras da deterioração dos alimentos (JENSEN, GROSSMANN e MALLI, 2009). O conteúdo de umidade na monocamada molecular ( $X_m$ ) foi maior no tratamento 5 (2,5g de amido de pinhão, 0,5g de glicerol e 0,8g de óleo essencial de alecrim), ou seja, 0,2059 g de água  $g^{-1}$  de filme seco, que sugere maior absorção de umidade e, o menor valor foi observado no tratamento 3 (2,5g de amido de pinhão, 0,7g de glicerol e 0,5g de óleo essencial de alecrim), o que favorece redução na absorção de umidade, comparado aos outros tratamentos.

Os resultados mostram que a concentração do glicerol teve influência direta sobre a umidade da monocamada, ou seja, a maior concentração de glicerol proporcionou filmes mais hidrofílicos. Segundo Mali et al. (2004), a capacidade hidrofílica do glicerol está relacionado a composição de sua molécula, com 3 carbonos ligados a 3 hidroxilas, isso possibilita maior capacidade de interação com as moléculas de amido e a água, e favorece maior mobilidade às cadeias formadoras da matriz do filme.

O parâmetro K se refere à energia de interação das moléculas adsorvidas na multicamada para filmes, e segundo Coupland et al. (2000) se mostra independente da formulação. Os filmes tiveram valores de K menores que 1, entre 0,69 a 0,95. Valores de K menores que 1,0 são característicos de produtos alimentícios, indicando que a isoterma tende a uma assíntota em atividade igual a 1,0 (FERNANDEZ, 1995).

#### 4.1.7 Taxa de Permeabilidade ao Vapor de Água e Permeabilidade ao Vapor de Água

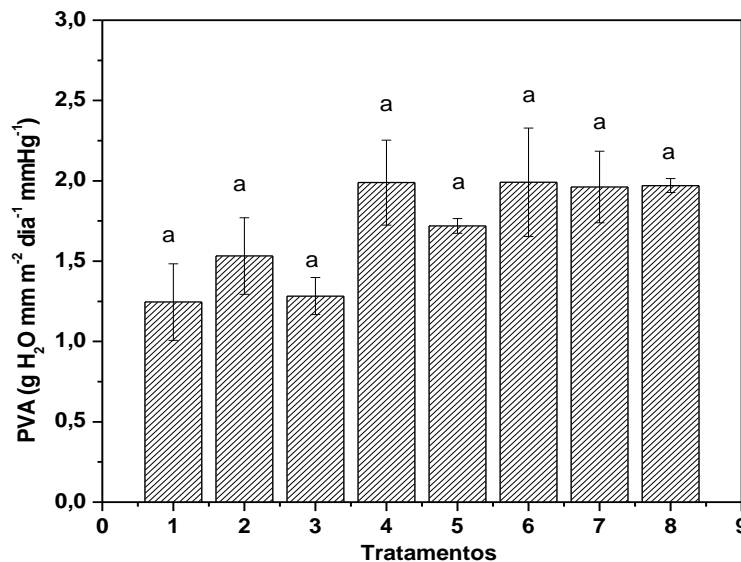
A taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) e a permeabilidade ao vapor de água não apresentaram diferença significativa ( $p \geq 0,05$ ) entre os tratamentos ao nível de confiança de 95%, sendo confirmadas pelo teste de Tukey (Figuras 12 e 13).



**Figura 12 - Taxa de permeabilidade ao vapor de água dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim**

**Fonte: Autoria própria**

Nota: Letra minúsculas iguais sobrescritas nas barras não apresentam diferenças significativas em nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).



**Figura 13 - Permeabilidade ao vapor de água dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim**

**Fonte: Autoria própria**

Nota: Letra minúsculas iguais sobrescritas nas barras não apresentam diferenças significativas em nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

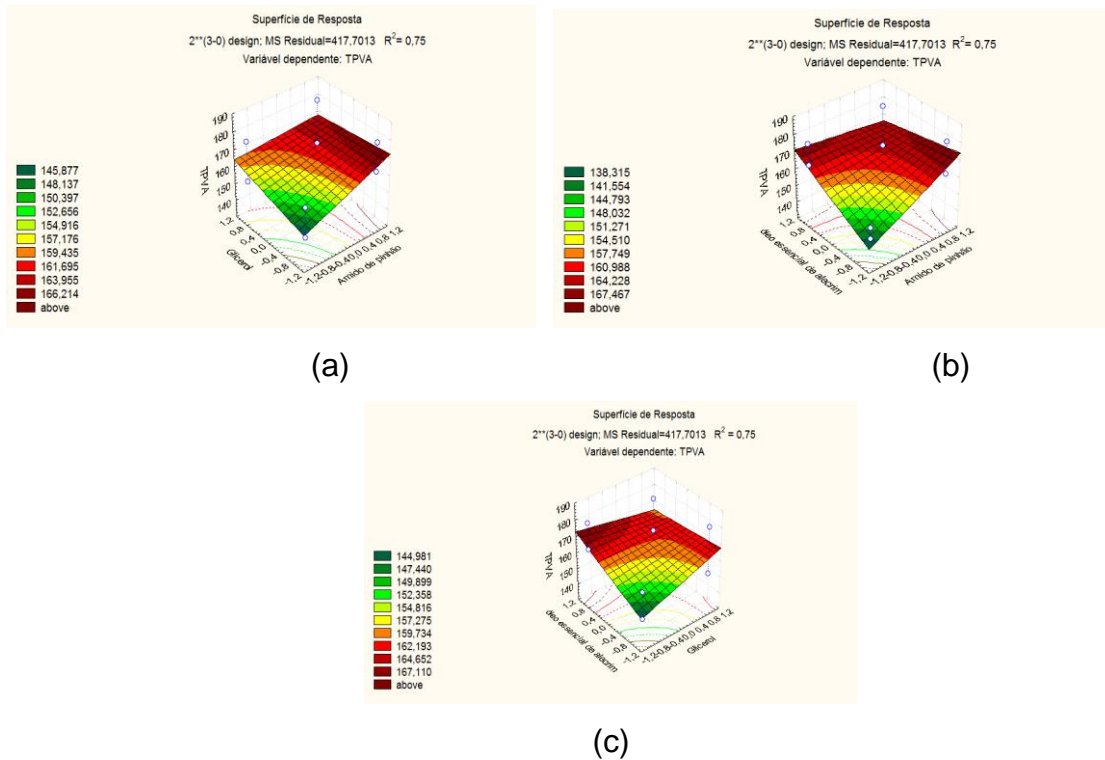
A taxa de permeabilidade ao vapor de água pode ser definida como a quantidade de água que passa através de uma unidade de área, por unidade de tempo, no estado estacionário sob as condições de ensaio (FIGUEIRÓ, 2004). A TPVA apresentou variação entre os tratamentos de 204,83 a 267,61  $\text{gH}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{dia}^{-1}$ , nos tratamentos 1 (2,5g de amido de pinhão, 0,5g de glicerol e 0,5 g de óleo essencial de alecrim) e 4 (3g de amido de pinhão, 0,7g de glicerol e 0,5 g de óleo essencial de alecrim), respectivamente, indicando alta taxa de permeabilidade ao vapor de água. Segundo Garcia, Padula e Sarantópoulos (1989), materiais com alta e altíssima barreira ao vapor de água apresentam taxa de permeabilidade ao vapor de água menor que  $8 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{dia}^{-1}$  e  $0,8 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{dia}^{-1}$ , respectivamente.

A permeabilidade ao vapor de água está relacionada ao produto da taxa de permeabilidade pela espessura do material da embalagem, dividido pelo gradiente de pressão de vapor de água entre as superfícies do material (SARANTÓPOULOS et al.,2002), sendo observada uma variação de 1,24 a 1,99  $\text{g H}_2\text{O mm m}^{-2} \text{ dia}^{-1} \text{ mmHg}^{-1}$ , nos tratamentos 1 (2,5g de amido de pinhão, 0,5g de glicerol e 0,5 g de óleo essencial de alecrim) e 6 (3g de amido de pinhão, 0,5g de glicerol e 0,8 g de óleo essencial de alecrim), respectivamente.

Os maiores valores de PVA entre os tratamentos, 4 (3g de amido de pinhão, 0,7g de glicerol e 0,5 g de óleo essencial de alecrim) de  $1,98 \text{ g H}_2\text{O mm m}^{-2} \text{ dia}^{-1} \text{ mmHg}^{-1}$ , 6 (3g de amido de pinhão, 0,5g de glicerol e 0,8 g de óleo essencial de alecrim) de  $1,99 \text{ g H}_2\text{O mm m}^{-2} \text{ dia}^{-1} \text{ mmHg}^{-1}$  e 8 (3g de amido de pinhão, 0,7g de glicerol e 0,8 g de óleo essencial de alecrim) de  $1,97 \text{ g H}_2\text{O mm m}^{-2} \text{ dia}^{-1} \text{ mmHg}^{-1}$ , podem estar relacionados ao aumento da concentração do amido. Segundo Palmu, (2003) filmes desenvolvidos a partir de polissacarídeos e proteínas possuem alta permeabilidade ao vapor de água.

Segundo a lei de difusão de Fick, e a lei de sorção de Henry, a permeabilidade ao vapor de água (PVA) varia com a espessura do filme (MALI et al. 2004). No entanto, neste trabalho a PVA não mostrou variação conforme a espessura.

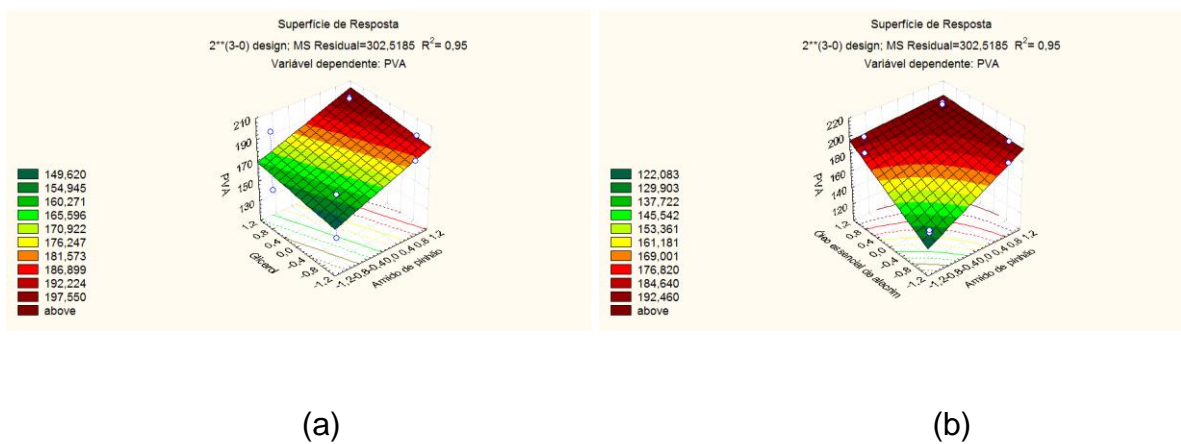
Segundo a análise de superfície de resposta as interações do glicerol com o amido de pinhão, do óleo essencial de alecrim com o amido de pinhão e do glicerol com o óleo essencial de alecrim apresentaram efeito significativo sobre a TPVA dos filmes (Figura 14 a, b, c).

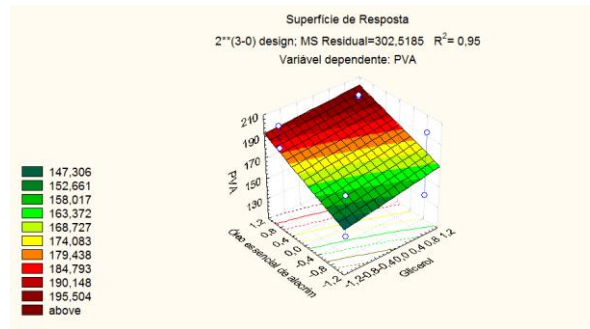


**Figura 14 - Superfície de resposta da TPVA dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim: (a) amido de pinhão e glicerol; (b) amido de pinhão e óleo essencial de alecrim; (c) glicerol e óleo essencial de alecrim**

**Fonte: Autoria própria**

Segundo análise de superfície de resposta o amido de pinhão e as interações do óleo essencial de alecrim com o amido de pinhão e, do glicerol com o óleo essencial de alecrim apresentaram efeito significativo sobre a PVA dos filmes (Figura 15 a, b, c).





(c)

**Figura 15 - Superfície de resposta da PVA dos filmes de amido de pinhão impregnadas com óleo essencial de alecrim: (a) amido de pinhão e glicerol; (b) amido de pinhão e óleo essencial de alecrim; (c) glicerol e óleo essencial de alecrim**

**Fonte: Autoria própria**



## 5. CONCLUSÃO

O óleo essencial de alecrim aplicado aos filmes mostraram efeito antimicrobiano sobre os micro-organismos *Salmonella sp.* e *Bacillus cereus*, em todos os filmes.

Filmes com maior concentração de amido promoveram aumento da espessura, densidade e gramatura. O maior teor de glicerol e óleo essencial de alecrim aumentaram a luminosidade e o croma b\* dos filmes.

Todos os filmes apresentaram como ponto crítico atividade de água a partir de 0,87 e a maior absorção de umidade foi verificado em filmes com alta concentração de glicerol, portanto, mais hidrofílicos.

Todos os filmes demonstraram alta taxa de permeabilidade ao vapor de água e permeabilidade ao vapor de água, sendo estas influenciadas pela concentração de amido e pelo óleo essencial de alecrim.

Os filmes de amido de pinhão impregnados com óleo essencial de alecrim demonstraram potencial de produção, mas se caracterizaram altamente hidrofílicos, o que dificulta uma aplicação como embalagem para alimentos. Desta forma, há necessidade de adicionar outros componentes na matriz, para reduzir a hidrofilicidade e, novos estudos sobre as propriedades mecânicas e de barreiras devem ser realizados.

Em virtude dos resultados obtidos, o tratamento 8 é o mais indicado, pois promoveu filmes com maior espessura, densidade e gramatura, o que caracteriza bom desempenho mecânico e de barreira e apresentou a maior atividade antimicrobiana sobre os micro-organismos testados.

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO, G. K. P., **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis de amido incorporados com extrato de própolis**. 2014. 43 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso Superior de Tecnologia em Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014.

BERTUZZI, M. A.; ARMADA, M.; GOTTIFREDI, J. C. Physicochemical characterization of starch based films. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 82, n. 1, p. 17-25, 2007.

BUSATTA, C.; MOSSI, A.J.; RODRIGUES, A.R.M.; CANSIAN, R.L.; OLIVEIRA, J.V. Evaluation of *Origanum vulgare* essential oil as antimicrobial agent in sausage. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, n.4, p. 610-616, 2007.

CANTERI, M. G.; ALTHAUS, R. A.; VIRGENS FILHO, J. S.; GIGLIOTI, E. A.; GODOY, C. V. SASM- agri. Sistema para análise e separação de médios em experimentos agrícolas pelos métodos Scoft. Knott, Tukey e Duncan. **Revista brasileira de agrocomputação**, v.1, n.2, p. 18-24, 2001.

CEREDA, M. P.; FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO, L. J. C. B.; LEONEL, M.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S. Propriedades gerais do amido. In: **Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**, v. 1. São Paulo: Fundação Cargill, 2002.

CORDENUNSI, B., R.; MENEZES, E., W.; GENOVESE, M., I.; DOLLI, C.; SOUZA, A., G.; LAJOLO, F., M. (2004). Chemical composition and glycemic index of Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52, p.3412 – 3416, 2004.

COSTA, F. J. O. G.; LEIVAS, C. L.; WASZCZYNSKYJ, N.; GODOY, R. C. B.; HELM, C. V.; COLMAN, T. A. D.; SCHNITZLER, E. Characterisation of native starches of seed of *Araucaria angustifolia* from four germplasm collections. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v. 565, p. 172-177, 2013.

COUPLAND, J. N.; SHAW, N. B.; MONAHAN, F. J.; O'RIORDAN, E. D.; O'SULLIVAN, M. Modeling the effect of glycerol on the moisture sorption behavior of whey protein edible films. **Journal of Food Engineering**, v. 43, p. 25-30, 2000.

DIAS, A., B. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis obtidos de amido e de farinha de arroz**. 2008. 116 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Centro Tecnológico - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

DITCHFIELD, C. **Estudos dos métodos para a medida da atividade de água**. 2000. 126f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

DURAN, L. W. Preventing medical device related infections. **Medical Device Technology**, v.11, p.14-17, 2000.

FAMÁ, L.; ROJASB, A. M.; GOYANESA, S.; GERSCHENONB, L. Mechanical properties of tapioca-starch edible films containing sorbates. **Food Science and Technology**, v.38, p.631-639, 2005.

FERNANDEZ, C.S. Isotermas de sorção em substâncias alimentares. In: **CONGRESSO IBERO-AMERICANO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**, 1, 1995, Campinas. **Anais...** Campinas: FEA/UNICAMP-CYTED-SBCTA Ital, 1995.

FIGUEIRÓ, S. R. D. **Avaliação da permeabilidade ao vapor de água de filmes simples para dimensionamento de embalagens**. 2004. Monografia (Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos) - URI, Campus de Erechim, Erechim, 2004.

GARCIA, E. E. C.; PADULA, M.; SARANTÓPOULOS, C., I., G., L. **Embalagens plásticas: propriedades de barreira**. Campinas : **CETEA/ ITAL**, 44p., 1989.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; SARMENTO, S. B. S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, p. 231- 240, jan.- mar. 2008.

JENSEN, S.; GROSSMANN, M. V. E.; MALI, S. Microestrutura e estabilidade de filmes de amido de mandioca adicionados de emulsificantes com diferentes equilíbrios hidrofílico/lipofílico. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 12, n. 2, p. 97-105, 2009.

LAURINDO, J. B.; PELEG, M. Mechanical measurements in puffed Rice cakes. **Journal of Texture Studies**, v.38, p.619-634, 2007.

LOWDIN, D.; DELLA VALLE, G.; COLONNA, P. Influence of amylose content on starch films and foams. **Carbohydrate Polymers**, v. 27, n° 4, p. 261-270, 1995.

MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E.; GARCÍA, M.A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, v.56, p. 129-135, 2004.

MARTINO, L. D.; VINCENZO, D. F.; FORMISANO, C.; MIGNOLA, E.; SENATORE, F. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from three chemotypes of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart growing wild in Campania (Southern Italy). **Molecules**. v.14, n.8, p. 2735-46, 2009.

MATTEI, D.; GUIMARÃES, L. F.; FERREIRA, F. B. P.; SANTOS, S. R. S. R. dos; MARTIN, A. A.; GAZIM, Z. C.; DRAGUNSKI, D. C. Análises das propriedades físicas e antimicrobianas de filmes a base de amido contendo óleo essencial de *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd e *Rosmarinus officinalis* L. - LAMIACEAE. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 16, n. 2, p. 129-136, jul./dez. 2013.

MIRELES, J. R.; TOGUCHI, A.; HARSHEY, R. M. Salmonella enterica serovar *Typhimurium* swarming mutants with altered biofilm-forming abilities: surfactin inhibits biofilm formation. **Journal of bacteriology**, v. 183, n. 20, p. 5848-5854, 2001.

MORAES, A. R. F.; VIDIGAL, M. C. T. R.; SOARES, N. F. F.; MORAES, L. P.; MELO, N. R.; GONÇALVES, M. P. J. Desenvolvimento e avaliação de filme antimicrobiano aromatizado para aplicação em massa de pastel. **Cienc. Rural**, Vol.41, p. 537 – 543, 2007

MORTOLA, V. B.; MEILI, L.; PINTO, L. A. A. Determinação das isotermas de equilíbrio para cebola, gelatina e farinha de pescado: análise dos modelos de GAB, BET e Henderson. **Revista Veter**, Rio Grande, RS, v. 13, n. 2, p. 79-91, 2003.

MOURA, S. C. S. R.; GERMER, S. P. M. **Reações de transformação e vida-de-prateleira de alimentos processados**. Manual técnico n.6, 3ª Ed., Campinas: Instituto de Tecnologia em Alimentos (ITAL), 2004.

OLIVEIRA, L. M.; ALVES, R. M. V.; SARANTÓPOULOS C. I. G. L.; PADULA, M., GARCIA, E. E. C.; COLTRO, L. **Ensaio para avaliação de embalagens plásticas**

**flexíveis**. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem, **CETEA/ ITAL**, 219 p., 1996.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos**: componentes dos alimentos e processos. Porto Alegre: Artmed, v.1, 2005.

PALMU, P. S. T. **Preparação, propriedades e aplicação de biofilmes comestíveis à base de glúten de trigo**. 2003. 244 f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

RIGO, L. N. **Desenvolvimento e caracterização de filmes comestíveis**. 2006. 130 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Rio Grande do Sul, Erechim, 2006.

ROLLAND-SABATÉ, A.; SÁNCHEZ, T.; BULÉON, A.; COLONNA, P.; JAILLAIS, B.; CEBALLOS, H.; DUFOUR, D. Structural characterization of novel cassava starches with low and high-amylose contents in comparison with other commercial sources. **Food Hydrocolloids** v. 27 n. 00 p.161-174, 2012.

SARANTÓPOULOS, C. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; PADULA, M.; COLTRO, L.; ALVES, R. M. V; GARCIA, E. E. C. **Embalagens Plásticas Flexíveis**: principais polímeros e avaliação de propriedades. Campinas: **CETEA/ ITAL**, 267 p. 2002.

SCHMIDT, V. C.R.; PORTO, L. M.; LAURINDO, J. B.; MENEGALLI, F. C. Water vapor barrier and mechanical properties of starch films containing stearic acid. **Industrial Crops and Products**, v.41, n. 2013, p. 227– 234, 2012.

SHAH, P. B.; BANDOP ADHYAY, S.; BELLARE, J. R. Environmentally degradable starch filled low density polyethylene. **Polymer Degradation and Stability**, v. 47, nº 2, p.165-173, 1995.

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

SILVA, A. W.; PEREIRA, J.; CARVALHO, P. W. C.; FERRUA, Q. F. Determinação da cor, imagem superficial topográfica e ângulo de contato de biofilmes de diferentes fontes de amido. **Ciência agrotecnológica, Lavras**, v. 31, n. 1, p. 154-163, 2007.

SILVEIRA, M. F. A.; SOARES, N. F. F.; GERALDINE, R. M.; ANDRADE, N. J.; BOTREL, D. A.; GONÇALVES, M. P. J. Active film incorporated with sorbic acid on pastry dough conservation. **Food Control**, vol.18, p.1063-1067, 2007.

SOARES, A. G. Perdas Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças. In: FÓRUM AGRONEGÓCIOS DA UNICAMP, maio 2009, Campinas. **Qualidade e Segurança de Alimentos**. Campinas: UNICAMP, Mesa Redonda: Qual o Tamanho do Desperdício, 2009.

SOBRAL, P. J. A. Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre as suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, p.1-14, 2000.

SOUZA, C., O. **Preparação, caracterização e avaliação da eficácia de biofilmes a base de fécula de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) e incorporados com polpa de manga (*Mangifera indica L*) e de acerola (*Malpighia emarginata L*) como aditivos antioxidantes**. 2010. 143 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010.

UGALDE, M., L. **Biofilmes ativos com incorporação de óleos essenciais**. 2014. 168 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Rio Grande do Sul, Erechim, 2014.

WURZBURG, O. B. Cross-linked starches. In: Wurzburg, O. O. (ed.) **Modified starches: properties and uses**. Boca Raton: CRC Press, Cap. 3, p. 41-53, 1986.

YANG, L.; PAULSON, A.T. Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film. **Food Research International**, v. 33, n.7, p.571-578, 2000.