

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA  
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

LETÍCIA CAROLINE DUBINSKI DE FARIAS

**ESTUDO VISANDO À OBTENÇÃO DE NOVOS PLÁSTICOS  
BIODEGRADÁVEIS COM PROPRIEDADE ANTIMICROBIANA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2015

LETICIA CAROLINE DUBINSKI DE FARIAS

**ESTUDO VISANDO À OBTENÇÃO DE NOVOS PLÁSTICOS  
BIODEGRADÁVEIS COM PROPRIEDADE ANTIMICROBIANA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2 (TCC2), do Curso de Licenciatura em Química do Departamento Acadêmico de Química – DAQUI – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito para obtenção do título de Licenciado em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Rafaelle B. Romero

CAMPO MOURÃO

2015

## DEDICATÓRIA

*Dedico esta conquista aos meus pais Josefa  
Dubinski de Farias e Devanil dos Santos  
Lopes de Farias, pelo apoio, incentivo,  
compreensão, amor e carinho.*

*Ao meu querido Noivo Magno José Pinelli  
pela paciência e compreensão,  
encorajando-me a enfrentar os momentos  
difíceis.*

*Dedico ainda, aos meus amigos, professores  
e colegas que fizeram e fazem parte da  
minha vida.*

## AGRADECIMENTOS

*Agradeço primeiramente a Deus por ter me permitido alcançar esta vitória, por me manter na fé nos momentos mais difíceis.*

*Agradeço aos meus pais Josefa Dubinski de Farias e Devanil dos Santos Lopes de Farias, por sempre estarem ao meu lado nos momentos tristes e alegres, me apoiando, incentivando, não medindo esforços para me ver feliz, o meu mais sincero obrigada.*

*Ao meu Noivo Magno José Pinelli um agradecimento muito especial por todos esses anos de companheirismo, paciência, apoio, carinho, esta vitória também é sua, obrigada meu amor.*

*A minha querida vó Estefania Malovani Dubinski por todo seu carinho, incentivo e amor, a qual tenho um profundo carinho e respeito, muito obrigada de coração. Estendo este agradecimento a todos meus familiares.*

*A minha sogra Nair Rodolfo Pinelli pelas palavras de apoio que me fortaleceram a alcançar esta vitória.*

*À Universidade Tecnológica Federal do Paraná pela oportunidade.*

*Agradeço imensamente a minha orientadora Rafaelle Bonzanini Romero pela paciência, dedicação, apoio, sabedoria, incentivo e amizade nestes anos de estudos, por ser uma pessoa de um coração imenso, ajudando-me a alcançar meus objetivos.*

*Ao professor Dr. Adley F. Rubira e a Dra. Thelma S. P. Cellet da Universidade Estadual de Maringá, pela dedicação e ajuda com as análises de Microscopia Eletrônica de Varredura.*

*Ao professor Adriano Lopes Romero por todo apoio e incentivo neste trabalho, o meu muito obrigada.*

*Agradeço a professora Doutora Elizabete Satsuki Sekine pela ajuda com as análises microbiológicas realizadas neste trabalho, sua paciência e dedicação foram fundamentais.*

*A todos os Professores que passaram por minha vida, com quem tive o privilégio de aprender ao longo desta trajetória acadêmica.*

*Ao meu querido amigo Fábio que me ajudou na fabricação da câmara fotoreatora utilizada para fotopolimerização, muito obrigado pelo seu empenho.*

*Aos meus amigos Thays Raphaela, Héllen Flávio e Leonardo Valderrama que me mostraram o verdadeiro significado da palavra amizade, obrigada por fazerem parte da minha vida, espero que nossa amizade se fortaleça mais e mais, desejo a vocês muito sucesso e alegria sempre.*

*Aos meus queridos amigos de faculdade Andressa, Karla, Géssica, Larissa, Júlia, João, Karin, Mireli, Leandro e Josi o meu muito obrigado por todo apoio ao longo desta caminhada, pelos momentos de risadas, choros, longos horas de estudos, agradeço por todo carinho, vocês foram fundamental para realização desta conquista, o meu mais sincero obrigada por tudo.*

## EPÍGRAFE

“Tenho a impressão de ter sido uma criança brincando à beira-mar, divertindo-me em descobrir uma pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita que as outras, enquanto o imenso oceano da verdade continua misterioso diante de meus olhos”.

*Isaac Newton*

## RESUMO

Atualmente a utilização de embalagens plásticas para proteção dos alimentos e seu impacto ambiental no processo de degradação vem sendo amplamente investigada. Em comparação, os polímeros naturais apresentam inúmeras vantagens em relação aos polímeros sintéticos, tais como ação antimicrobiana, biodegradabilidade e permeabilidade à gases. Filmes produzidos com polímeros naturais, por exemplo, podem ser utilizados na proteção de alimentos embalados para consumo, principalmente nos processos de exportações, que exige uma maior atenção pelo longo período até o destino final. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo a síntese, preparação e caracterização de novos polímeros à base de produtos naturais, eugenol e limoneno, visando à obtenção de plásticos biodegradáveis com propriedades antimicrobianas. Nas reações de polimerização catiônica na presença de cloreto de alumínio e tolueno formou-se uma substância pastosa de coloração amarela, após aquecimento sua coloração ficou avermelhada, não formando o polímero desejado. No método de fotopolimerização, utilizando uma câmara fotoreatora com lâmpada de mercúrio de média pressão (250 W), o produto natural (eugenol ou limoneno) e o peróxido de benzoíla foram expostos à radiação por 96 horas, obtendo a formação de sais cristalizados. No método de polimerização por suspensão obteve-se géis que, nos testes de solubilidade, apresentou capacidade de intumescimento. Com o intuito de identificar qual polímero possui maior potencial para o uso como biofilmes, filmes de acetato de celulose e amido solúvel foram preparados com diferentes teores de eugenol ou limoneno. As propriedades morfológicas, de armazenamento, antimicrobiana e a cinética de liberação dos produtos naturais foram investigadas. As micrografias dos filmes de acetato de celulose com eugenol, amido com eugenol ou limoneno apresentaram uma superfície lisa, indicando filmes densos e uniformes. Os filmes de acetato de celulose com limoneno possuem morfologia porosa, devido à separação de fases, promovida pela evaporação do solvente. A aplicação dos filmes de amido com 5% (m/m) do produto natural em maçãs, que foram banhadas ou revestidas e armazenadas por 15 dias em incubadora, permitiu avaliar a aplicabilidade dos materiais produzidos para embalagens de alimentos. As maçãs revestidas com filme de amido-eugenol apresentaram perfil de oxidação, já as maçãs revestidas com filme de amido-limoneno apresentaram resultados satisfatórios no processo de conservação do alimento. Os testes no qual as maçãs foram banhadas com solução filmogênica resultaram em alimentos com melhor conservação e manutenção das características sensoriais. Os filmes obtidos foram avaliados, em testes microbiológicos, frente às bactérias *Escherichia Coli* e *Staphylococcus aureus*. Os halos médios do fármaco controle foram de 27,24 mm, já o filme de acetato de celulose na presença de *Staphylococcus aureus* formou um halo de 10,5 mm, enquanto os de acetato de celulose-eugenol na presença de *Escherichia coli* formaram um halo de 11,50 mm. Os testes com a concentração de 10% foram realizados apenas com a *Escherichia coli*, com resultados de halos maiores, tal como esperado, chegando à 19,83 mm para o filme de acetato de celulose-eugenol e 10,8 mm para o filme de amido-limoneno e 8,06 mm para o filme de amido-eugenol. Os resultados obtidos indicam que os polímeros acetato de celulose ou amido incorporados com eugenol ou limoneno podem atuar como produtos que permitem aumentar o tempo de prateleira de alimentos, diminuindo a taxa de oxidação de alimentos e controlando a proliferação de microrganismos.

Palavra chave: Síntese de polímeros, biofilmes, conservação de alimentos, produtos naturais.

## ABSTRACT

Nowadays the utilization of plastic packages for the protection of food and your environmental impact in the degradation process are been largely investigated. In comparison, the natural polymers shows countless benefits over synthetic polymers, such as antimicrobial action, biodegradability and permeability to gases. Films produced with natural polymers, for example, can be used for packages for protection of food for consumption, mainly in exportation process, that requires a larger attention by the long period to the final destination. In this context, the present study aimed to the synthesis, preparation and characterization of a new polymer based in natural products, eugenol and limonene, in order to produce biodegradable plastics with antimicrobial properties. In cationic polymerization reactions in the presence of aluminum chloride and toluene formed pasty substance with yellow coloring, after heating was reddish coloration, not forming the desire polymer. In photo polymerization method, requisition a camera photoreatora with medium pressure mercury lamp (250 W), the natural product (eugenol and limonene) and benzoyl peroxide has exposed to radiation for 96 hours, getting a formation of crystallized salts. In the polymerization, method by suspension has obtained gels that, in solubility tests, presented swelling capacity. In order to identify which polymer has the major potential for use as biofilms, films of a cellulose acetate and soluble starch were prepared with different grades of eugenol or limonene. Morphological properties of, storage, antimicrobial and the kinetics of release of natural products has investigated. The micrographs of films of cellulose acetate with eugenol, starch with eugenol or limonene, presented a smooth surface, indicating dense and uniform films. Cellulose acetate films containing limonene have porous morphology, due to phase separation, promoted by evaporation of the solvent. The application of starch films containing 5% (wt/wt) of natural product in apples, that has bathed or enveloped and stores for 15 days in incubator, allowing gauging the applicability of the material for food packaging. Apples enveloped with starch-eugenol have presented an oxidative profile; already the apples enveloped with starch-limonene have presented satisfactory results in the process of food conservation. Test that apples has submerged in filmogenic solution resulted in foods with better conservation and maintenance of sensory characteristics. The films obtained has evaluated for microbiological testing front bacteria *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Average halos of drug control was 27,24 mm, already the cellulose acetate film in the presence of *Staphylococcus aureus* has formed a halo of 10,5 mm, while the film cellulose acetate containing eugenol in the presence of *Escherichia Coli* has formed a halo of 11,50 mm. A 10% concentration tests has performed only with *Escherichia coli*, with results of bigger halos, as expected, coming to 19, 93 mm for cellulose acetate containing eugenol film and 10, 8 mm o starch containing limonene film and 8, 06 mm for starch containing eugenol film. The results obtained indicate that cellulose acetate or starch polymers incorporated with eugenol or limonene can act as products that allow food shelf live, reducing the food oxidation rate and controlling the proliferation of microorganisms.

Keyword : Polymer Synthesis , biofilms , food preservation , natural products

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – ESQUEMA DE INTERAÇÃO ALIMENTO/PRODUTO/AMBIENTE EM EMBALAGENS PLÁSTICAS.....	19
FIGURA 2 – ESTRUTURA MOLECULAR DO EUGENOL.....	23
FIGURA 3 – ESTRUTURA MOLECULAR DO LIMONENO.....	24
FIGURA 4 – ESTRUTURA MOLECULAR DA AMIOLOSE.....	25
FIGURA 5 – ESTRUTURA MOLECULAR DA AMILOPECTINA.....	26
FIGURA 6 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA UNIDADE ESTRUTURAL DO ACETATO DE CELULOSE.....	27
FIGURA 7 – ESTRUTURA MOLECULAR DA GLICERINA.....	28
FIGURA 8 – <i>ESCHERICHIA COLI</i> COM FLAGELOS.....	30
FIGURA 9 – <i>ESCHERICHIA COLI</i> IDENTIFICADAS COM O AZUL DE METILENO, VISUALIZADAS COMO VERDE METÁLICO.....	31
FIGURA 10 – <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> .....	32
FIGURA 11 – FOTOGRAFIA DO SISTEMA REACIONAL DE POLIMERIZAÇÃO CATIONICA.....	35
FIGURA 12 – FOTOGRAFIA DA CÂMARA FOTOREATORA COM LÂMPADA DE MERCÚRIO.....	35
FIGURA 13 – FOTOGRAFIA DA REAÇÃO DE POLIMERIZAÇÃO POR SUSPENSÃO.....	36
FIGURA 14 – FOTOGRAFIA DA FRUTA BANHADA COM A SOLUÇÃO FILMOGÊNICA DE AMIDO.....	40
FIGURA 15 – FOTOGRAFIA DA FRUTA REVESTIDA COM FILME DE AMIDO.....	40
FIGURA 16 – FOTOGRAFIA DA MONTAGEM DA PLACA DE PETRI PARA ANÁLISE DISCO-DIFUSÃO.....	41
FIGURA 17 – FOTOGRAFIA DO PRODUTO OBTIDO DA REAÇÃO DE POLIMERIZAÇÃO CATIONICA (A) SEM AQUECIMENTO E (B) COM AQUECIMENTO.....	43



FIGURA 18 – FOTOGRAFIA DO MATERIAL OBTIDO APÓS A FOTOPOLIMERIZAÇÃO.....	44
FIGURA 19 – FOTOGRAFIA DO MATERIAL OBTIDO APÓS REAÇÃO DE POLIMERIZAÇÃO POR SUSPENSÃO COM PRODUTO NATURAL: (A) LIMONENO E (B) EUGENOL.....	45
FIGURA 20 – FOTOGRAFIA DO GEL DE LIMONENO OBTIDO APÓS TEMPO DE CURA.....	46
FIGURA 21 – FOTOGRAFIA DO GEL DE EUGENOL OBTIDO APÓS TEMPO DE CURA.....	46
FIGURA 22 – TESTE DE SOLUBILIZAÇÃO DO GEL DE EUGENOL EM: A)HEXANO; B)ÁGUA; C)ACETONA; D)TETRAHIDROFURANO, E)ACETATO DE ETILA E F)ÁLCOOL.....	47
FIGURA 23 – TESTE DE SOLUBILIZAÇÃO DO GEL DE EUGENOL EM: A)HEXANO; B)ÁGUA; C)ACETONA; D)TETRAHIDROFURANO, E)ACETATO DE ETILA E F)ÁLCOOL.....	47
FIGURA 24 – FOTOGRAFIA DOS FILMES DE CA PURO E CONTENDO DIFERENTES TEORES DE LIMONENO.....	48
FIGURA 25 – FOTOGRAFIA DOS FILMES DE CA PURO E CONTENDO DIFERENTES TEORES DE EUGENOL.....	49
FIGURA 26 – FOTOGRAFIA DOS FILMES DE AMIDO PURO E CONTENDO DIFERENTES TEORES DE LIMONENO.....	49
FIGURA 27 – FOTOGRAFIA DOS FILMES DE AMIDO CONTENDO DIFERENTES TEORES DE EUGENOL.....	50
FIGURA 28 – MICROFRAFIAS DE MEV DA SUPERFÍCIE DE FRATURA DO FILME DE ACETATO DE CELULOSE PURO, EM VÁRIAS AMPLIAÇÕES.....	51
FIGURA 29 – MICROFRAFIAS DE MEV DA SUPERFÍCIE DE FRATURA DO FILME DE ACETATO DE CELULOSE CONTENDO 5% DE LIMONENO, EM VÁRIAS AMPLIAÇÕES.....	52
FIGURA 30 – MICROFRAFIAS DE MEV DA SUPERFÍCIE DE FRATURA DO FILME DE ACETATO DE CELULOSE CONTENDO 5% DE EUGENOL, EM VÁRIAS AMPLIAÇÕES.....	52

FIGURA 31 – MICROGRAFIAS DE MEV DA SUPERFÍCIE DE FRATURA DO FILME DE AMIDO PURO, EM VÁRIAS AMPLIAÇÕES.....	53
FIGURA 32 – MICROGRAFIAS DE MEV DA SUPERFÍCIE DE FRATURA DE AMIDO CONTENDO 5% DE EUGENOL, EM VÁRIAS AMPLIAÇÕES.....	54
FIGURA 33 – MICROGRAFIAS DE MEV DA SUPERFÍCIE DE FRATURA DE AMIDO CONTENDO 5% DE LIMONENO, EM VÁRIAS AMPLIAÇÕES.....	54
FIGURA 34 – ASPECTO VISUAL DA MAÇÃ APÓS 15 DIAS DE ARMAZENAMENTO: (A) SEM TRATAMENTO, (B) BANHADA EM SOLUÇÃO FILMOGÊNICA DE AMIDO CONTENDO LIMONENO E (C) BANHADA EM SOLUÇÃO FILMOGÊNICA DE AMIDO CONTENDO EUGENOL.....	55
FIGURA 35 – ASPECTO VISUAL DA MAÇÃ ABERTA APÓS 15 DIAS DE ARMAZENAMENTO: (A) SEM TRATAMENTO, (B) BANHADA EM SOLUÇÃO FILMOGÊNICA DE AMIDO CONTENDO LIMONENO E (C) BANHADA EM SOLUÇÃO FILMOGÊNICA DE AMIDO CONTENDO EUGENOL.....	55
FIGURA 36 – ASPECTO VISUAL DA MAÇÃ APÓS 15 DIAS DE ARMAZENAMENTO: (A) SEM TRATAMENTO, (B) RECOBERTA COM FILME DE AMIDO CONTENDO LIMONENO E (C) RECOBERTA COM FILME DE AMIDO CONTENDO EUGENOL.....	56
FIGURA 37– ASPECTO VISUAL DA MAÇÃ ABERTA APÓS 15 DIAS DE ARMAZENAMENTO: (A) SEM TRATAMENTO, (B) RECOBERTA COM FILME DE AMIDO CONTENDO LIMONENO E (C) RECOBERTA COM FILME DE AMIDO CONTENDO EUGENOL.....	56
FIGURA 38 – ASPECTO VISUAL DA MAÇÃ ABERTA APÓS 15 DIAS DE ARMAZENAMENTO FRUTA REVESTIDA COM FILME DE LIMONENO.....	57
FIGURA 39 – TESTE DE DISCO-DIFUSÃO COM FILMES CONTENDO 5% DE LIMONENO COM AS BACTÉRIAS <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> (A) E <i>ESCHERICHIA COLI</i> (B).....	58
FIGURA 40 – TESTE DE DISCO-DIFUSÃO COM FILMES CONTENDO 5% DE EUGENOL COM AS BACTÉRIAS <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> (A) E <i>ESCHERICHIA COLI</i> (B).....	58

FIGURA 41 – TESTE DE DISCO-DIFUSÃO COM FILMES CONTENDO 10% DE LIMONENO COM BACTÉRIAS <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....	59
FIGURA 42 – TESTE DE DISCO-DIFUSÃO COM FILMES CONTENDO 10% DE EUGENOL COM BACTÉRIAS <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....	59
FIGURA 43 – (A) ESPECTRO DE ABSORBÂNCIA EM FUNÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE LIMONENO. (B) CURVA ANALÍTICA DO LIMONENO ( $\lambda = 240$ NM).....	61
FIGURA 44 – (A) ESPECTRO DE ABSORBÂNCIA EM FUNÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA PARA DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE EUGENOL. (B) CURVA ANALÍTICA DO EUGENOL ( $\lambda = 277$ NM).....	61
FIGURA 45 – ESPECTRO DE ABSORBÂNCIA EM FUNÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA EM FUNÇÃO DO TEMPO PARA OS FILMES: (A) AM-5% LIM, (B) AM-5% EUG, (C) CA-5% LIM E (D) CA-5% EUG.....	62
FIGURA 46 – CURVAS DE LIBERAÇÃO DOS PRODUTOS NATURAIS REFERENTE AOS FILMES: (A) AM-1% LIM, (B) AM-1% EUG, (C) CA-1% LIM E (D) CA-1% EUG.....	63

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CODIFICAÇÃO DOS FILMES DE ACETATO DE CELULOSE (CA) COM DIFERENTES TEORES DE LIMONENO (LIM) OU EUGENOL (EUG).....	37
TABELA 2 - CODIFICAÇÃO DOS FILMES DE AMIDO (AM) COM DIFERENTES TEORES DE LIMONENO (LIM) OU EUGENOL (EUG).....	48
TABELA 3 - HALOS MÉDIOS* (MM) APRESENTADOS PELO BIOPOLÍMERO AMIDO (AM) FILME DE ACETATO DE CELULOSE (CA) E CONTENDO 5% DE LIMONENO (LIM) OU EUGENOL (EUG).....	60
TABELA 4 - HALOS MÉDIOS* (MM) APRESENTADOS PELO FILME DE AMIDO (AM), FILME DE ACETATO DE CELULOSE (CA) E CONTENDO 10% DE LIMONENO (LIM) OU EUGENOL (EUG).....	60

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
2.1 EMBALAGENS PLÁSTICAS .....	17
2.1.1 PLÁSTICOS BIODEGRADÁVEIS .....	19
2.2 SÍNTESE DE POLÍMEROS .....	20
2.3 ÓLEOS ESSENCIAIS .....	22
2.3.1 EUGENOL .....	23
2.3.2 LIMONENO .....	24
2.4 AMIDO .....	25
2.5 ACETATO DE CELULOSE .....	26
2.6 GLICERINA .....	27
2.7 TESTES DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA .....	28
2.7.1 <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....	30
2.7.2 <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> .....	31
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	33
3.1 OBJETIVO GERAL .....	33
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	33
<b>4 MATERIAL E MÉTODO</b> .....	34
4.1 SÍNTESE DOS POLÍMEROS .....	34
4.1.1 Método 1: Polimerização Catiônica (SCHLISCHTING, 2008) .....	34
4.1.2 MÉTODO 2: FOTOPOLIMERIZAÇÃO .....	35
4.1.3 Método 3: Polimerização por Suspensão .....	36
4.2 OBTENÇÃO DOS BIOFILMES .....	37
4.2.1 Preparação dos Filmes de Acetato de Celulose .....	37
4.2.2 Preparação dos Filmes de Amido .....	38
4.3 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL .....	39
4.3.1 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA .....	39
4.3.2 APLICAÇÃO DOS BIOFILMES COMO REVESTIMENTO DE ALIMENTOS .....	39
4.3.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA .....	40
4.3.4 LIBERAÇÃO DOS PRODUTOS NATURAIS .....	41
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	43
5.1 MÉTODO 1 : POLIMERIZAÇÃO CATIÔNICA (SCHLISCHTING, 2008) .....	43
5.2 MÉTODO 2: FOTOPOLIMERIZAÇÃO .....	44
5.3 MÉTODO 3: POLIMERIZAÇÃO POR SUSPENSÃO .....	45
5.4 OBTENÇÃO DOS FILMES .....	48
5.5 APLICAÇÃO DOS FILMES POLÍMERICOS .....	55
5.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA .....	57
5.7 LIBERAÇÃO DOS PRODUTOS NATURAIS .....	63
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	64
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	65

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos três maiores produtores mundiais de frutas, no ano de 2011 foram colhidas 45,1 milhões de toneladas, 7,1% superior ao ano anterior, quando os volumes colhidos foram de 42,1 milhões de toneladas (DERAL, 2012).

A laranja é a principal fruta produzida no Brasil, com 19,8 milhões de toneladas saídas dos pomares em 2011, e responde por 43,9% do volume total da Fruticultura, um acréscimo na produção em 9,4% em relação a 2010. O estado de São Paulo é o principal produtor, com 15,3 milhões de toneladas, cuja participação representa 77,2% do volume. A Banana é a segunda fruta em volume produzido com 7,3 milhões de toneladas colhidas, correspondentes a 16,2% do volume das frutas. São Paulo é o principal produtor, com 1,3 milhão de toneladas colhidas, seguido da Bahia, com 1,2 milhão de toneladas, e Minas Gerais, que produziu 654,5 mil toneladas. E em terceiro o Abacaxi contribui com 6,9% do volume total da fruticultura brasileira, com 3,1 milhões de toneladas (DERAL, 2012).

E neste mercado brasileiro destacam-se as exportações a cada ano, a partir dos dados da Secretaria de Comércio Exterior do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior - SECEX/MDIC indica que em 2011 foram exportadas 682,0 mil toneladas de frutas frescas, com rendimentos de US\$ 634,5 milhões, no qual a União Européia respondeu por 81,6% do volume das vendas externas do Brasil. Com vistas a ampliar cada vez mais o mercado externo, produtores e exportadores buscam medidas que aumentem a segurança e a vida útil das frutas.

Calcula-se que no Brasil as perdas no processo de comercialização de frutas e hortaliças ultrapassem 30% do total produzido. Isso significa que, a cada ano, o volume cultivado em mais de 200 mil hectares é desperdiçado no país durante as etapas de pré-colheita, colheita, beneficiamento e comercialização. A busca por técnicas que minimiza perdas e prolongam a vida útil dos hortifrutícolas depois da colheita são cada vez mais importantes para reverter essa situação (DERAL, 2012).

Desta forma, a utilização de embalagens plásticas é uma das alternativas para promover um aumento neste tempo, contribuindo para minimizar o índice de perdas pós-colheita. Estima-se que cerca de 20 a 30% das hortaliças e frutas produzidas não chegam até o

local desejado de consumo, dentre as perdas o uso de embalagens inadequadas sem controle bactericida é um dos problemas a este produto acondicionado (LUENGO; CALBO, 2006).

Segundo a Associação Brasileira de Embalagem anunciou em fevereiro 2015 os resultados do Estudo Macroeconômico da Embalagem ABRE “Desempenho da Indústria de Embalagens: retrospectiva 2014 e perspectivas 2015, no qual relata o volume bruto de produção em embalagens plásticas com estimativa de R\$ 55,1 bilhões, um valor que amplia os interesses tecnológicos na área de polímeros.

A indústria de polímeros é de grande importância a nível nacional, sendo que o setor busca o desenvolvimento de novos materiais para diversas aplicações cuja intenção é ampliar sua atuação no mercado nacional e aumentar as exportações. O desenvolvimento de polímeros com características bactericidas possui um grande interesse tecnológico. A mistura destes materiais com cargas bacteriostáticas no processamento é muitas vezes ineficiente, devido à incompatibilidade dos materiais misturados, a perda de atividade, dentre outros fatores. A incorporação dos materiais biocidas em matérias de consumo é fundamental na prevenção de doenças e contaminações. Existem no mercado alguns materiais cuja composição contém íons metálicos, como sais de prata, que possuem propriedades bactericidas. Porém no caso dos polímeros os íons metálicos são de difícil incorporação.

As embalagens plásticas resultantes na combinação de polímeros que atendem a requisitos econômicos, ambientais e de conservação e comercialização de produtos é umas das grandes vantagens competitivas. Na fabricação de uma embalagem plástica, vários requisitos devem ser levados em conta na escolha dos polímeros, incluindo permeabilidade a gases, aromas e vapor de água, temperatura de processamento ou de acondicionamento do produto embalado, temperatura de estocagem e de uso do consumidor, custo do material e processo de transformação, processabilidade do polímero, resistência química, requisitos da legislação e impacto ambiental. O termo condicionamento refere-se à estocagem da embalagem em uma atmosfera com certa umidade relativa de água ou líquidos, a certa temperatura, durante um período de tempo, visando sempre o estado do produto (SARANTÓPOULOS et al, 2002, p.59; GARCIA, 2002, p.3). Entretanto, é possível construir estruturas de embalagens específicas para cada aplicação, tendo em vista o nível de proteção bactericida necessário para um consumo saudável.

Atualmente destacam-se os sistemas de embalagem ativa no qual apresentam funções adicionais específicas, tais como evitar deteriorações química e microbiológica para garantir a

segurança dos alimentos, inibindo o crescimento de microorganismos patogênicos, sendo uma embalagem inovadora que combina avanços tecnológicos e segurança alimentar. Os aditivos encontrados nas embalagens ativas aumenta a segurança do consumidor na procura por alimentos saudáveis e frescos, no qual as embalagens possuem permeabilidades a gases, agentes microbianos ou antioxidantes incorporados diretamente na matriz da embalagem, preservando constantemente sua qualidade para o consumo (SILVA, 2011).

É crescente o empenho das industriais de polímeros em matéria-prima de origem natural o que vem impulsionando a pesquisa por produtos naturais, em especial óleos essenciais com o objetivo de isolar e caracterizar suas propriedades (RUBIRA et al, 2009).

Os óleos essenciais são produtos naturais voláteis constituídos, geralmente, por misturas complexas de terpenóides e fenilpropanóides (SIMÕES, 2000). Estes produtos naturais apresentam várias atividades biológicas/farmacológicas comprovadas (KALEMBA, 2003), tais como anti-inflamatória, inseticida, antimicrobiana, antitumoral, antiviral, imunomoduladora, anticonvulsante, antiespasmódica, ansiolítica, entre outras. A maioria dessas atividades biológicas/farmacológicas são atribuídas aos terpenóides constituintes dos óleos essenciais.

Os óleos essenciais podem ser extraídos de componentes das plantas como raízes, flores, caules, sementes, folhas, frutos e da planta inteira por diversos métodos, sendo produtos complexos de baixo peso molecular e instável na presença de ar, calor, luz, umidade e metais. Há uma grande variedade de óleos essenciais tais como os obtidos do anis estrelado, alecrim, basilicão, canela, citronela, eucalipto, dentre muitos outros, com aplicações em áreas de perfumaria, cosméticos, alimentos, recursos terapêuticos e como coadjuvantes em medicamentos, os óleos essenciais são comercializados em sua forma bruta ou beneficiados, fornecendo substâncias purificadas como o eugenol e o limoneno (BIZZO et al, 2009).

O eugenol é muito utilizado na área de odontologia como componente de seladores, sendo um forte antisséptico, auxiliando também em tratamento de náuseas, indigestão e diarreia, contendo propriedades bactericidas, antivirais, anti-inflamatórios e cicatrizantes. Já o limoneno é um composto pertencente à família dos terpenos, classe dos monoterpenos, é geralmente separado do óleo essencial de laranja ou limão. Este monoterpeno possui alta tendência a autoxidação, polimerização e formação de *off-flavors* (aromas desagradáveis), além de diversas aplicações em resinas, síntese de outros compostos químicos, borracha,



tintas, agente dispersante para o óleo e utilização para síntese química do mentol (JUNIOR, PASTORE, 2007).

Neste cenário de desenvolvimento e preservação em busca por tecnologia limpa e de baixo custo, a utilização de óleos essenciais para síntese de novos polímeros visando embalagens com ação bactericida, apresenta-se uma alternativa viável. Estas embalagens proporcionam uma maior durabilidade dos alimentos tais como, hortaliças e frutas, contribuindo para o mercado interno e principalmente externo, já que o setor de exportação tem aumentando desde 1990 gradativamente (FILHO; CARVALHO, 2003 p.5).

Segundo Lira e Carvalho (2002, p.3) as embalagens tinham como função inicial proteger o alimento, com o desenvolvimento da humanidade e economia as embalagens também tem denotação de conservar, proteger contra possíveis contaminações, expor e vender os produtos, tornando assim uma importante ferramenta de *marketing* (comercialização) para chamar a atenção do consumidor, estimulando diretamente o paladar.

O problema enfrentado ocorre pelo crescimento de microorganismos na superfície dos alimentos sendo umas das principais causas de deterioração e perdas dos produtos, minimizando a durabilidade em mercado. Neste contexto, este trabalho teve como objetivo a obtenção e caracterização de novos polímeros, à base de eugenol e/ou limoneno, com propriedades antimicrobianas, formando um plástico de baixo custo para que possa ser utilizado para aumentar o tempo de prateleira de hortaliças e frutas, diminuindo assim quaisquer preocupações de exportação alimentícia.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 EMBALAGENS PLÁSTICAS

A palavra plástico é amplamente utilizada em nosso cotidiano e possui várias aplicações, dependendo do contexto no qual é aplicada. Segundo o dicionário Aurélio (2008) a palavra plástico pode ser definida:

**Plástico:** [Do grego *plastikos*, ‘relativo às dobras de argila’, pelo latim *plastiku*, ‘que modela’] Adjetivo. **1.** Relativo à plástica. **2.** Que tem a propriedade de adquirir determinadas formas. **3.** Diz-se de matéria sintética, dotada de grande maleabilidade e facilmente transformável mediante o emprego de calor e pressão. **4.** Diz-se de ato cirúrgico que visa a modificar, embelezando ou reconstruindo, uma parte externa do corpo humano. **5.** Que tem características de beleza e harmonia. *sm.* **6.** Matéria Plástica. **7.** *Pop.* Cirurgia plástica.

De acordo com Mano & Mendes (1999) plástico pode ser definido como um material macromolecular que, embora sólido no estado final, em algum estágio do seu processamento pode torna-se fluido e moldável, por ação isolada ou conjunta de calor e/ou pressão (MANO & MENDES, 1999, p. 10).

Do ponto de vista químico os plásticos são classificados como polímeros, e estes, por sua vez, são definidos como sendo compostos químicos de peso molecular elevado, formados por muitas moléculas pequenas iguais, chamadas de monômeros (do grego *monos* = um), unidas umas a outras por ligações covalentes. Desta forma, o termo polímero foi criado para significar muitos meros. Os polímeros são produzidos através de um processo químico chamado de polimerização, que proporciona a união química de monômeros para formar polímeros (MANO & MENDES, 1999, p. 17). É importante ressaltar que todos os plásticos são polímeros, porém, nem todos os polímeros são considerados plásticos.

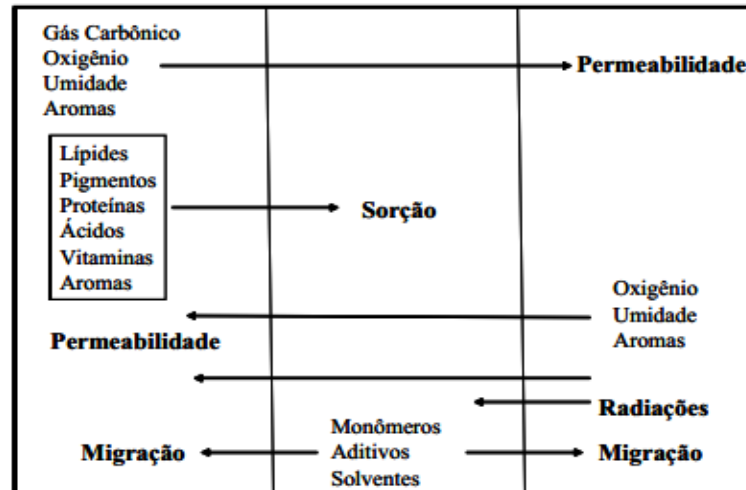
Os materiais plásticos, entre os materiais desenvolvidos pela ciência, alteraram o modo de vida da sociedade e hoje estão presentes na maioria das ações realizadas em nosso dia a dia, sendo, portanto, de extrema relevância industrial. Podemos observar no seu dia a dia como são variados os objetos e equipamentos confeccionados com estes materiais, como, por

exemplo, utensílios domésticos, brinquedos, peças automotivas, cabos para distribuição de energia, peças de equipamentos eletrônicos, calçados, embalagens, pisos, revestimentos e, até mesmo, próteses que substituem partes de nossos corpos.

As embalagens plásticas se enquadram sacos ou sacarias com duas ou três soldas, envoltórios fechados por torção e/ou grampos, tripas, bandejas flexíveis que se conformam ao produto, filmes esticáveis, sendo materiais flexíveis que se destacam pela relação otimizada massa de embalagem/quantidade de produto acondicionado e pela flexibilidade que oferecem ao dimensionamento de suas propriedades, o objetivo principal é proteger o alimento. Os materiais utilizados devem atender aos critérios de preservação do alimento e de seus nutrientes, e resguardar fatores ambientais como microorganismo, umidade, oxigênio, de forma a dificultar o contato externo (SARANTÓPOULOS et al, 2002).

O desenvolvimento de tecnologias na indústria de plástico têm sido responsável por grandes avanços na comercialização de alimentos trazendo uma série de benefícios para a sociedade. Atualmente mais de trinta diferentes tipos de polímeros estão sendo utilizados como matérias de embalagens plásticas no qual os mais conhecidos são: PEBID (polietileno de baixa densidade), PEAD (polietileno de alta densidade), PP (polipropileno), PVC (policloreto de vinila), PVDC (copolímeros de cloreto de vinilideno), PET (poli(tereftalato de etileno)), PA (poliamida), PS (poliestireno), EVOH (copolímeros de etileno e álcool vinílico), e EAA (copolímero de etileno e ácido acrílico) (FABRIS et al. 2007, p.61; REYES 2007, p.63).

Quando um alimento entra em contato direto com um material de embalagem, ocorrem interações, podendo levar a absorção de constituintes do alimento pelo material e conseqüentemente perda de características sensoriais. Por outro lado, muitos compostos possuem baixa massa molecular e se difundem facilmente através do polímero. Como conseqüência, há uma tendência de transferência (migração) destes compostos para a superfície do material, com posterior interação com o produto acondicionado. A transferência de substâncias da embalagem para o alimento varia de acordo com a composição do material, com o processo de fabricação da embalagem, com o nível de degradação do material decorrente dos processos de transformação (FABRIS et al. 2007, p.61 REYES 2007, p.65). Tais aspectos podem ser melhores visualizados na **Figura 1**.



**Figura 1. Esquema de interação alimento/produto/ambiente em embalagens plásticas.**

**Fonte: FABRIS et al. REYES 2007, p.65.**

As características estruturais dos polímeros resultam em elevada resistência à degradação, fazendo com que os plásticos demorem anos até séculos para se decompor. Esta característica peculiar associada ao consumo de produtos plásticos ao longo dos anos vem produzindo grande número de resíduos desse material, os quais se acumulam pelos aterros gerando problemas ambientais consideráveis. Para contornar este problema, pesquisadores e indústria vêm buscando alternativas para minimizar os impactos ambientais causados pelo descarte inadequado de produtos fabricados com plásticos.

Dentre as alternativas estão o reaproveitamento, a reciclagem e a conscientização da população para o descarte e destino adequados destes materiais (BRITO, 2011, p. 127). Outra alternativa que tem sido explorada consiste em usar plásticos produzidos a partir de polímeros biodegradáveis, que sofrem decomposição em condições ambientais, pela ação de microorganismos, tais como fungos, bactérias e algas.

### 2.1.1 Plásticos Biodegradáveis

O processo de biodegradação acontece de forma natural, no qual substâncias químicas são transformadas em simples compostos minerais redistribuídos em ciclos naturais como

carbono, enxofre e nitrogênio. A biodegradação ocorre a partir de fotodegradação, oxidação e hidrólise, tornando-se um processo irreversível.

Em síntese, a biodegradação pode ocorrer em um ambiente no qual o polímero está em contato direto com agentes degradáveis tais como: oxigênio, luz solar, água, vento, calor entre outros. Existem diversos tipos de degradação já citados na literatura como: Biodegradação, Fotodegradação, Erosão ou Desgaste Ambiental e Degradação Química (GANZERLI, 2013).

- Biodegradação: Ocorre pelas enzimas que degradam o polímero como fonte de nutriente, gerando  $\text{CO}_2$  e  $\text{CH}_4$ , componentes celulares e outros compostos.
- Fotodegradação: Ocorre devido à incidência de luz solar (UV) no material, se caso o polímero tiver grupos fotoativos como, vinil, cetonas e monóxido de carbono, podendo ajudar na biodegradação através da oxidação de grupos ou por fragmentar a estrutura polimérica.
- Erosão ou Desgaste Ambiental: Ocorre pelos efeitos climáticos como chuva, vento e temperatura, ou por ação de alguns invertebrados, obtendo uma degradação mais branda sem modificar o material.
- Degradação Química: Ocorre pelos aditivos presentes nos materiais poliméricos que reagem com as duplas ligações dos polímeros produzindo alguns tipos de peróxidos o qual podem decompor compostos radicalares (GANZERLI, 2013).

Nos dias atuais os plásticos biodegradáveis destacam-se no setor industrial pela ampla necessidade de utilizar materiais sustentáveis e que não agridam o meio ambiente, aumentando a procura dentro o ramo industrial.

## 2.2 SÍNTESE DE POLÍMEROS

Polimerização é a reação ou conjunto de reações na qual moléculas simples reagem entre si, formando uma macromolécula de alta massa molecular. Durante esse processo algumas variáveis são mais ou menos importantes, dependendo de sua influência na qualidade do polímero formado. Assim, a temperatura de reação, pressão, tempo, presença e tipo de

iniciador e agitação são considerados variáveis primárias e a presença, e tipo do inibidor, retardador, catalisador, controlador de massa molecular, quantidade de reagentes e demais agentes específicos são considerados variáveis secundárias.

Durante a reação para obtenção de compostos de baixa massa molecular, mudanças nas variáveis primárias não afetam o tipo de produto final, apenas alterando o rendimento de reação. Em contraste, mudança nessas variáveis primária durante a polimerização não só afetam o rendimento da reação, como também podem produzir alterações de massa molecular média, distribuição de massa molecular e estrutura química (JÚNIOR, 2002, p.80).

Os processos de polimerização podem ser classificados quanto ao:

a) Número de Monômeros

Durante a polimerização, um ou mais monômeros podem ser polimerizados ao mesmo tempo, produzindo a homopolimerização (quando apenas um monômero é envolvido), a copolimerização (dois monômeros) e a terpolimerização (três monômeros diferentes).

b) Tipo da Reação Química

Dependendo do tipo de reação química usada para a produção da nova ligação podemos ter: adição etênia (para a produção do polietileno), esterificação (poliéster), amidação (poliamida), acetilação (acetato de celulose) e outras.

c) Cinética de Polimerização

Dependendo do tipo de cinética envolvida durante as reações de polimerização podemos ter: polimerização em etapas (ou policondensação), polimerização em cadeia (ou poliadição) e polimerização com abertura de anel.

d) Polimerização de Arranjo Físico

Dependendo dos materiais utilizados durante a polimerização além do monômeros o processo de polimerização pode ser homogêneo (em massa e em solução) ou heterogêneo (suspensão e emulsão), (SEBASTIÃO et al, 2002, p.17).

e) Fotopolimerização

Considerado um mecanismo intrínseco da fotoformação do polímero, a luz interage na etapa de iniciação da polimerização ou entrecruzamento, sendo, portanto a etapa da fotoiniciação o ponto central de interesse fotoquímico. Estes sistemas envolvem modificações das formulações usadas para produzir materiais com propriedades

específicas, de modo a utilizar um fotoiniciador que absorva luz produza as espécies reativas, radicais ou íons, que iniciem a polimerização.

### 2.3 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são líquidos aromatizantes e voláteis extraídos de componentes das plantas como raízes, flores, caules, sementes, folhas, frutos e da planta inteira (UGALDE, 2014). Apresentam atividades contra ampla variedade de microorganismos: vírus, fungos, protozoários e bactérias, sendo potencializadores de reação antibacteriana. Os compostos e suas porcentagens presentes nos óleos essenciais variam de acordo com cada espécie, considerando a extração e as partes das plantas, o principal composto presente nos óleos essenciais são os terpenos e seus derivados oxigenados, terpenóides e os compostos fenólicos. Apesar de várias compostos isolado de plantas exercerem ação bactericida, a maior parte destas substâncias apresentam atividade fraca quando utilizadas sozinhas. Porém, quando combinadas com outras substâncias podem atuar como adjuvantes obtendo um resultado eficaz (PROSBT, et al; JUNIOR, 2012, p.25).

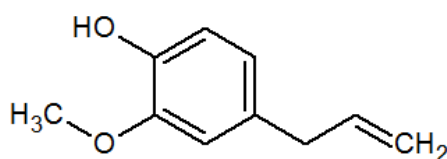
Os óleos essenciais possuem composição química variável acoplada de fatores genéticos, fisiológicos e ambientais. Com isso, além da determinação genética da planta as condições ambientais, como: hora da coleta, estação do ano, constituição do solo, clima, podem determinar variações expressivas na constituição dos óleos essenciais (LINARD, 2008). No Brasil, os óleos essenciais estão incluídos dentro da classe de aditivos como aromatizantes naturais, no entanto, excluem-se do regulamento da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), as matérias de origem vegetal e animal que possuam propriedades aromatizantes intrínsecas, quando não são utilizadas exclusivamente como fonte de aromas (ANVISA, 2007).

### 2.3.1 Eugenol

O eugenol é um derivado fenilpropanóide, sendo quimicamente denominado como 4-alil-2-metóxi-fenol ou 2-metoxi-4-(2-propenil-fenol), conhecido como popularmente como essência de cravo, pois está presente em grande quantidade no óleo essencial do cravo da índia (LINARD, 2008).

A árvore produtora do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry) é endêmica nas Molucas do Norte (Arquipélago de Molucas - Indonésia), tendo sido disseminada pelos alemães durante a colonização. Atualmente Zanzibar e Madagascar são os principais produtores de cravo-da-índia, seguidos pela Indonésia (MASSAFERA, 2003, p. 231). No entanto, podemos encontrar o eugenol em outras plantas como *Ocimum tenuiflorum*; *Caryophyllus aromaticus*; *Ocimum gratissimum*, *Eugenia caryophyllus*, *Dicopelium caryophyllatum*, *Pimenta dioica*, *Croton zehntneri* (LINARD, 2008).

Atualmente os principais produtos derivados do cravo-da-índia disponíveis no mercado são os óleos essenciais, puro ou derivados dele extraído por métodos de destilação, e o próprio botão floral seco que é usado como tempero. O cravo-da-índia possui atividades anti-inflamatórias, antioxidante, antitumoral, antidiabética, antiúlcera e antibacteriana (AFFONSO et al, p.148, 2012). O eugenol é um líquido amarelo pouco solúvel em água, com um aroma característico, sabor ardente, presente em alguns óleos essenciais como poejo, noz-moscada, louro e principalmente cravo-da-índia, com fórmula estrutural apresentada na **Figura 2**.



**Figura 2. Estrutura molecular do eugenol.**

**Fonte: Autoria Própria.**

O eugenol apresenta ponto de ebulição entre 244 a 253°C e de fusão -9°C, densidade relativa de 1,066 g/cm<sup>3</sup> a 20°C. Por conter um grupo hidroxila fenólico, o eugenol apresenta caráter ácido, sendo bastante solúvel em álcool, éter e na maioria dos solventes orgânicos. Este composto pode ser utilizado como agente redutor em várias reações químicas e ser

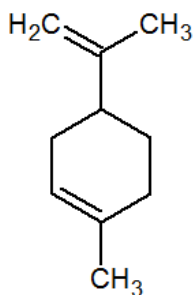


aplicado em áreas farmacêuticas, alimentícias, cosméticos, perfumes, odontológica e cigarros (FILHO, 2000, p. 29). Este composto é amplamente aplicado em medicamentos (anestésico, bactericida e antifúngica), sendo benéfico para o sistema digestivo, conhecido por aliviar os gases através da redução da ação absorvente. É eficaz no combate ao vômito, diarreia, ao espasmo intestinal, dispepsia e a parasitas. Também alivia a náusea e o mau hálito decorrentes da fermentação gástrica com efeito tônico sobre os rins, o estômago, o baço e os intestinos (TELINEA, 2015).

O eugenol pode ser sintetizado biologicamente a partir do aminoácido fenilalanina, através da rota metabólica dos fenilpropanóides, via: chiquinato, fenilalanina e ácido unâmico (LINARD, 2008).

### 2.3.2 Limoneno

No caso dos óleos cítricos extraídos das cascas de limão e laranja encontramos o limoneno cuja nomenclatura IUPAC é 4-isoprenil-1-metil-ciclo-hexeno, **Figura 3**. Este monoterpene monocíclico está presente em mais de 300 vegetais e apresenta forte odor característico de frutas cítricas. O limoneno apresenta dois enantiômeros: o *S*-limoneno encontrado em uma variedade de plantas e ervas, e o *R*-limoneno componente majoritário dos óleos essenciais extraídos da casca de limão e laranja. O *R*-limoneno encontra-se em grandes quantidades e com baixo custo, o que justifica seu uso como: solvente para resinas, síntese de outros compostos químicos, aplicações em borracha, tintas, agente dispersante para óleo, síntese química do mentol (JUNIOR, et al PASTORE, 2007; p.4).

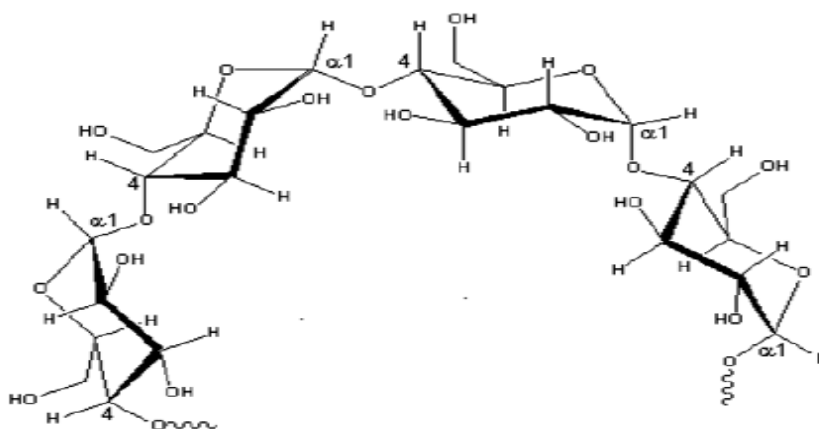


**Figura 3. Estrutura molecular do limoneno.**  
**Fonte: Autoria Própria.**

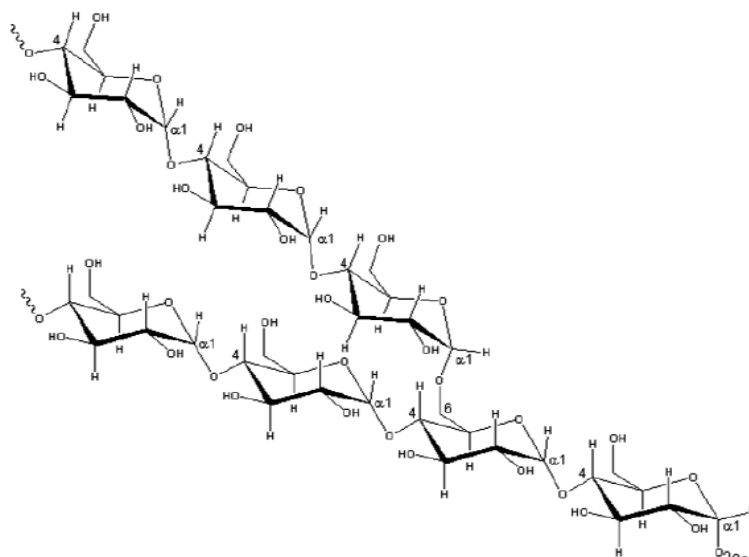
O limoneno é frequentemente usado também como um aroma e/ou fragrância nos alimentos, em perfumes e em produtos domésticos de limpeza (é extremamente seguro e mais eficaz que as soluções de limpeza típicas). É também usado como um intermediário químico, bem como na fabricação de resinas de politerpeno, e é um bom repelente de insetos.

## 2.4 AMIDO

O amido é um carboidrato no qual se distingue dos demais por possuir grânulos os quais são insolúveis em água em sua forma nativa, sendo constituído por dois tipos de polímeros: um polissacarídeo linear, chamado amilose **Figuras 4**, e um polissacarídeo ramificado, chamado amilopectina **Figura 5**. Os arranjos estruturais destas macromoléculas permitem a formação de grânulos o qual controlam seu comportamento em água tornando-se resistente ao ataque de enzimas. Os amidos podem ser classificados em vários grupos de acordo com a quantidade de amilose, tais como: amidos cerosos, no qual contem pequenas quantidades de amilose cerca de 1%; amidos normais que contem de cerca de 17 e 24% de amilose e amidos de alta amilose com 70% ou mais deste polímero (UGALDE, 2014).



**Figura 4. Estrutura molecular da amilose.**  
**Fonte: Denardin e Silva (2009).**



**Figura 5. Estrutura molecular da amilopectina.**  
**Fonte: Denardin e Silva (2009).**

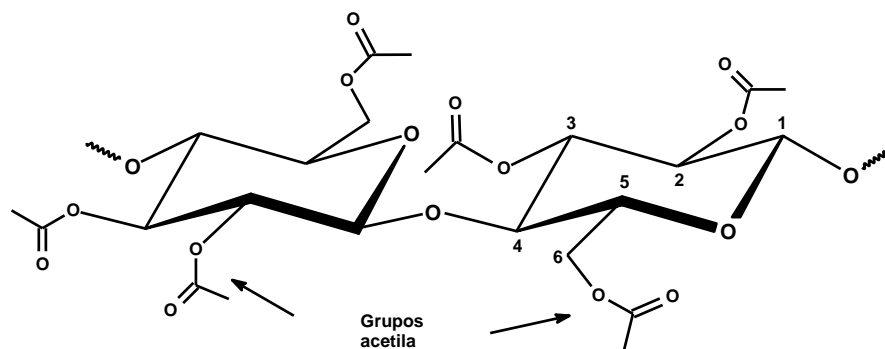
A gelatinização do amido está em adjunto com a ordem das macromoléculas dentro dos grânulos com mudanças em suas propriedades simultâneas e irreversíveis, como aumento granular, fusão de cristais, desenvolvimento de viscosidade e solubilidade. O processo de gelatinização ocorre em uma dada temperatura, pelo qual as ligações de hidrogênio entre as cadeias de amilose e amilopectina tornam-se mais fracas e são rompidas facilmente, promovendo uma redução na cristalinidade (SILVA, 2011).

Os amidos comerciais são obtidos a partir de sementes de cereais principalmente o milho comum, milho ceroso, trigo, arroz e raízes como a de batata doce e a mandioca.

## 2.5 ACETATO DE CELULOSE

O acetato de celulose (**Figura 6**) é um éster derivado da celulose amplamente utilizado na indústria têxtil como fabricação de fibras, filmes fotográficos, plásticos, entre outros. A celulose é um homopolímero linear com alta massa molecular, formado por unidades repetidas de  $\beta$ -D-glicopiranosil, ligando-se umas as outras por ligações de hidrogênio, formando cadeias fibrosas e policristalinos (SILVA, 2014).

O acetato de celulose é obtido a partir da reação de acetilação da celulose, que é realizado utilizando anidrido acético e ácido acético na presença de ácido sulfúrico como catalisador (MEIRELES, 2007).



**Figura 6. Representação esquemática da unidade estrutural do triacetato de celulose.**

**Fonte: Autoria Própria.**

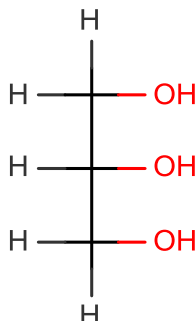
O polímero acetato de celulose é amorfo, estável em óleos minerais, não tóxico, permeável ao vapor de água, pode ser solúvel em acetona dependendo do grau de acetilação e em outros solventes. A partir deste polímero é possível formar filmes transparentes e com certa flexibilidade (UGALDE, 2014).

A obtenção de filmes a partir de acetato de celulose vem se destacando devido às excelentes propriedades mecânicas, estabilidade química, características de permeação e compatibilidade biológica apresentadas pela celulose, requisitos estes importantes para a indústria alimentícia e aplicações médicas (UGALDE, 2014).

## 2.6 GLICERINA

A glicerina ou glicerol, cuja nomenclatura IUPAC é propano-1,2,3-triol (**Figura 7**), é um composto utilizado em diversos processos industriais com ampla escala em áreas de cosméticos e têxtil, por ser um excelente plastificante promovendo estabilidade e compatibilidade na produção por exemplo de filmes. É um composto orgânico pertencente à

classe dos polióis, sendo líquido á temperatura ambiente, viscoso e presente em todos os óleos e gorduras de origem animal e vegetal (UGALDE, 2014).



**Figura 7. Estrutura molecular da Glicerina.**  
**Fonte: Autoria Própria.**

A glicerina é produzida por processos fermentativos ou químicos em processos simples e de baixo custo. Possui propriedades tais como ponto de ebulição 290°C e fusão 17,8°C. A adição de plastificantes tal como a glicerina, em bipolímeros tem grande efeito sobre as propriedades mecânicas do filme, como flexibilidade e o aumento da sua resistência mecânica (UGALDE, 2014).

## 2.7 TESTES DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os testes de atividade antimicrobiana podem ser classificados como de difusão, diluição ou bioautográficos. Para se determinar a CMB (concentração mínima bactericida) e a CMI (concentração mínima de inibição) de extratos ativos, tem se utilizado com maior frequência o método de difusão, também chamado de difusão em placas, no qual se remete ao método físico no qual o microorganismo é desafiado contra uma substância biologicamente ativa em meio de cultura sólido e relaciona o tamanho do halo de inibição, contra a substância em ensaio. A aplicação do método de difusão se limita a microrganismos de crescimento rápido, sendo eles aeróbios ou aeróbios facultativos. A avaliação é comparativa frente a um padrão biológico de referência (controle positivo), o halo de inibição de crescimento é medido

partindo-se da circunferência do disco, até a margem onde há crescimento de microrganismos (OSTROSKY et al, 2008).

De acordo com o tamanho do halo formado os microrganismos podem ser considerados sensíveis quando o diâmetro é maior que 3mm a menos que o controle positivo, moderadamente sensíveis quando o diâmetro for maior que 2mm, e resistentes se o diâmetro for igual ou menor que 2mm. No caso do controle positivo se utiliza um fármaco padrão e como controle positivo o solvente utilizado para dissolução dos extratos. As condições de incubações recomendadas consiste na temperatura de 35-37°C para bactérias durante um período de 24 a 48 horas e para fungos a temperatura de incubação é de 25-27°C em um período de 48 a 72 horas (OSTROSKY et al, 2008). O teste de difusão em disco é aceito pelo FDA (Food and Drug Administration) e estabelecido como padrão pelo NCCLS (National Committe for Clinical Laboratory Standards).

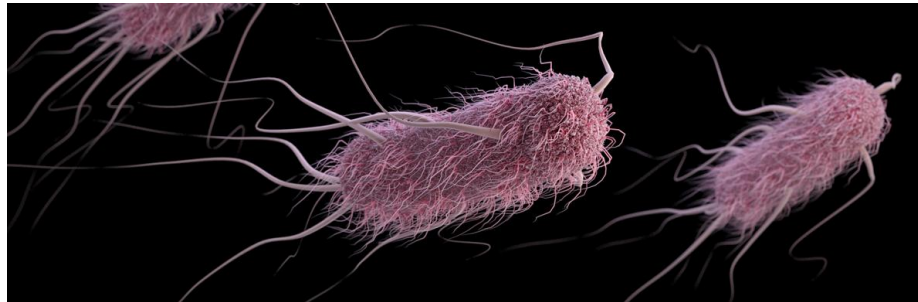
Os meios de cultura devem proporcionar um crescimento adequado aos organismos desafiados e não conter substâncias antagônicas. Entre os meios de cultura mais utilizada encontra-se o Meio de Ágar Müeller-Hinton com rotineiros de sensibilidade, tais como:

- Demonstra reprodutibilidade aceitável entre os diferentes lotes nos testes de sensibilidade;
- Contém baixo teor de inibidores de sulfonamida, trimetoprim e tetraciclina;
- Permite crescimento satisfatório dos patógenos não fastidiosas;
- Existe um grande acervo de dados e experiência relativos a testes de sensibilidade realizados com esse meio (NCCLS, 2003).

A espessura e a uniformidade do ágar são essenciais para a boa resolução dos resultados. Deve-se controlar rigorosamente o volume de ágar transferido para a placa de Petri, e o meio de cultura deve ser distribuído de modo a evitar formação de estrias superficiais e bolhas.

### 2.7.1 *Escherichia Coli*

A *Escherichia coli* é um microorganismo anaeróbico facultativo que faz parte da microbiota intestinal dos animais que mantem a temperatura corporal interna constante, inclusive dos seres humanos. Pertence à família *Enterobacteriaceae* no qual os membros se caracterizam por serem bacilos Gram-negativos, capazes de fermentarem a glicose com produção de ácido e gás, possuem mobilidade quando apresentam flagelos **Figura 8** (VIEIRA, 2010).



**Figura 8. *Escherichia Coli* com flagelos.**  
**Fonte: Center for Disease Control and Prevention.**

O gênero *Escherichia* é bioquimicamente capaz de utilizar em seu metabolismo a glicose e outros carboidratos. São negativas para a prova de oxidase, citrato de simmons, urease, produção de sulfeto, Voges-Proskauer e fenilalanina desaminase. Sendo positivas no teste do vermelho de metila, indol, catalase e redução do nitrato. Em meio ágar eosina azul de metileno são visualizadas como colônias verdes com brilho metálico e centro preto azulado, conforme podemos visualizar na **Figura 9** (VIEIRA, 2010).



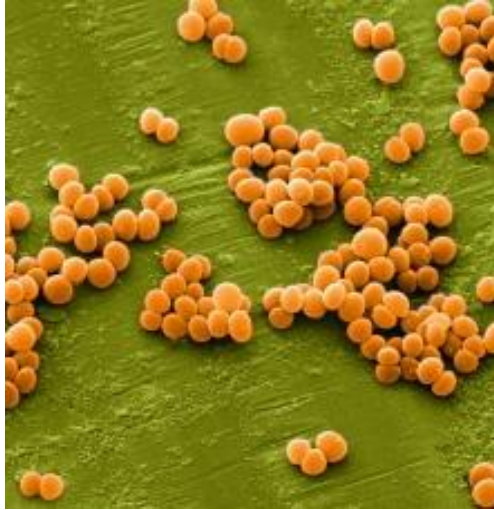
**Figura 9.** *Escherichia coli* identificadas com o azul de metileno, visualizadas como verde metálico.  
Fonte: Aatoria própria.

### 2.7.2 *Staphylococcus Aureus*

A *Staphylococcus aureus* é uma bactéria esférica, **Figura 10**, com grupos de coccus gram-positivas, encontrada com frequência na pele e nas fossas nasais de pessoas saudáveis. Porém pode desencadear doenças como infecção (furúnculos, celulites e espinhas), até infecções graves (pneumonia, meningite, endocardite entre outras). A *Staphylococcus* é coccus Gram positivas com aproximadamente 0,5 a 1,5 $\mu$ m de diâmetro, sendo imóveis. Possuindo variam formas desde isolados, aos pares, cadeias curtas ou agrupamentos irregulares, podendo ser lisas, arredondadas e brilhantes (LIMA et al, 2015).

O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Micrococcae* possui 33 espécies, sendo 17 delas podem ser isoladas de amostras biológicas humanas, a espécie de maior interesse médico principalmente em ambiente *nosocomial* é o *S. aureus* cujas cepas crescem em meios comuns com pH = 7 em temperatura aproximada a 37°C, e manter em um período de 24 horas. A coloração dessas colônias varia desde o acinzentado até o amarelo-ouro, em que a pigmentação aumenta com o tempo de incubação prolongado, não chegando a ser formada nos casos de crescimento em condições anaeróbicas, ou na cultura em caldo (SANTOS et al, 2007).





**Figura 10.** *Staphylococcus aureus*.  
**Fonte:** Bioquell 2014.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi a síntese, preparação e caracterização de novos polímeros, à base de eugenol e/ou limoneno, visando à obtenção de plásticos biodegradáveis com propriedades antimicrobianas.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Síntese dos polímeros a base de eugenol e limoneno;
- Obtenção dos filmes de acetato de celulose com limoneno e eugenol pelo método *casting*;
- Obtenção dos filmes de amido com limoneno e eugenol pelo método *casting*;
- Estudo das propriedades antimicrobiana dos filmes obtidos frente as bactérias (*Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*);
- Estudo da liberação dos produtos naturais eugenol e limoneno.
- Estudo da aplicação dos biofilmes como revestimento de alimentos.

## 4 MATERIAL E MÉTODO

Os polímeros utilizados foram acetato de celulose (CA,  $M_n = 30.000 \text{ g.mol}^{-1}$ , grau de substituição de 2,5) adquirido da Sigma-Aldrich e Amido Solúvel (AM) adquirido da Dinâmica Química Contemporânea Ltda. Os solventes utilizados foram: acetona (Synth), água destilada, peróxido de benzoíla (Sigma-Aldrich – 75%), hexano (Sigma-Aldrich- 92%), tolueno (Sigma-Aldrich). Os óleos essenciais utilizados foram (R)-(+)-Limoneno (LIM,  $d = 0,84 \text{ g/mL}$ , Natural  $\geq 93\%$ ) e o eugenol (EUG, Natural  $\geq 98\%$ ), adquiridos da Sigma-Aldrich. Os microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* foram adquiridos da ATCC® 25922. O poli (álcool vinílico) (PVA,  $M_n = 31.000 - 50.000 \text{ g.mol}^{-1}$ ) foi adquirido da Sigma-Aldrich. O glicerol foi adquirido da Proton Química®.

### 4.1 SÍNTESE DOS POLÍMEROS

#### 4.1.1 Método 1: Polimerização Catiônica (SCHLISCHTING, 2008)

Foi utilizado um balão de boro silicato de uma boca, com capacidade de 500 mL, aquecido por meio de um banho termoplástico, **Figura 11**, no qual as reações foram realizadas em solução, onde foi utilizado 100g de tolueno e 1g de cloreto de alumínio anidro adicionados ao reator, sob leve agitação para promover a solubilização. Adicionou-se 100 mL de *d*-limoneno e/ou eugenol gradualmente ao meio, em seguida adicionou-se 200 mL de uma solução hidroalcoólica (25% m/m). O sistema foi lavado duas vezes com a mesma solução alcoólica e mais duas vezes com água destilada para regularizar o pH do meio para retirar o catalisador, resultando na solução acondicionada a 220°C para promover a retirada do solvente e monômero residual.



**Figura 11. Fotografia do sistema reacional da polimerização catiônica.  
Fonte: Autoria própria.**

#### 4.1.2 Método 2: Fotopolimerização

As reações de polimerização fotoquímica radicalar do eugenol ou *d*-limoneno foram realizadas dentro de uma câmara fotoreatora como apresentada na Figura 12, com uma lâmpada de mercúrio de média pressão com 250W de potência. Foram utilizados limoneno e eugenol puros na presença de peróxido de benzoíla 1:1 exposto por período de 92 horas a lâmpada de mercúrio.

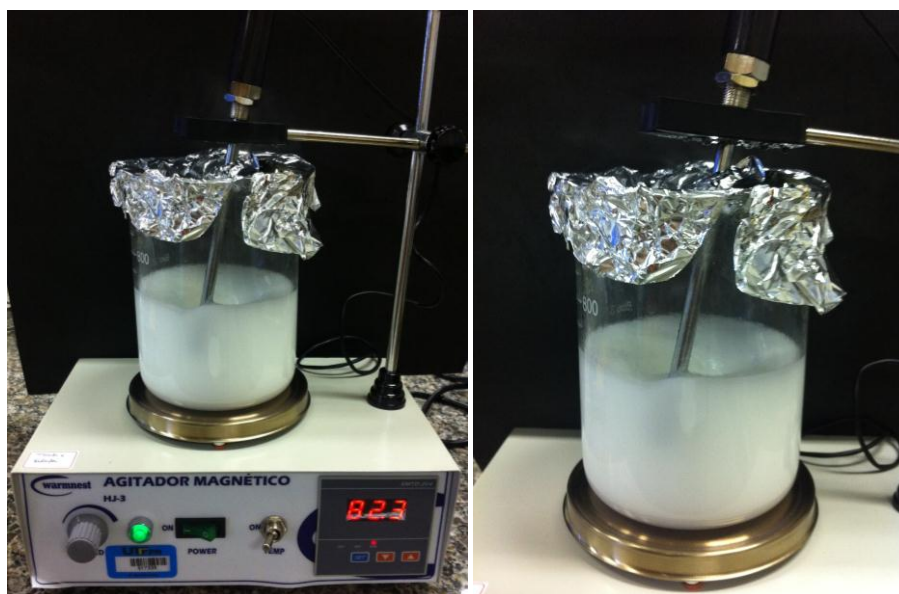


**Foto 12. Fotografia da câmara fotoreatora com lâmpada de mercúrio.  
Fonte: Autoria própria.**

#### 4.1.3 Método 3: Polimerização por Suspensão

No preparo da fase orgânica utilizou-se 100 g de Limoneno ou Eugenol e 2,2 g de peróxido de benzoíla, o sistema foi levado à agitação por meia hora, para melhor solubilização do iniciador. Já a fase aquosa foi preparada utilizando-se 400 mL de água destilada e 0,8 g do álcool polivinílico, submetido à agitação por 24 horas. Após o período indicado foi acrescentado 2,0 g de persulfato de amônia na solução, que ficou sob agitação por 30 minutos, **Figura 13**.

A fase orgânica foi adicionada na fase aquosa, previamente aquecida a 80°C, para dar início à reação. A reação ficou sob agitação magnética e aquecimento por 9 horas. Ao final da reação o produto obtido foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada.



**Figura 13. Fotografia da reação de polimerização por suspensão.  
Fonte: Autoria própria.**

## 4.2 OBTENÇÃO DOS BIOFILMES

### 4.2.1 Preparação dos Filmes de Acetato de Celulose

Os filmes foram preparados pelo método *casting*. Inicialmente preparou-se uma solução do produto natural em acetona. Em seguida esta solução foi adicionada à solução de acetato de celulose preparada previamente com o mesmo solvente. A mistura do CA com o foi homogeneizada em um agitador magnético por 4 horas em temperatura ambiente. Manteve-se uma solução filmogênica sem a adição de produto natural, a qual foi denominada de controle, 50 g de solução filmogênica foram vertidas em placas de acrílico de 15 x 15 cm, previamente higienizadas com álcool 70 %, objetivando a formação de filmes com espessura homogênea, sendo posteriormente submetidas à secagem em estufa uma temperatura de 50 °C por 24 horas. Passado este período, os filmes foram retirados das placas e armazenados em recipientes lacrados até as análises posteriores.

Em todos os casos foi mantida a proporção do acetato de celulose na solução em 11% em massa. Os filmes de acetato de celulose foram incorporados com 0,1%, 2,5%, 5% e 10% (m/m) dos produtos naturais limoneno (LIM) ou eugenol (EUG). Os filmes foram codificados como CA/teor de produto natural como mostrado na **Tabela 1**.

**Tabela 1: Codificação dos filmes de acetato de celulose (CA) com diferentes teores de limoneno (LIM) ou eugenol (EUG).**

<i>Codificação</i>	<i>Teor de Limoneno (%)</i>
CA	0
CA-1% LIM	1
CA-2,5% LIM	2,5
CA-5% LIM	5
CA-10% LIM	10
<i>Teor de Eugenol (%)</i>	
CA-1% EUG	1
CA-2,5% EUG	2,5
CA-5% EUG	5
CA-10% EUG	10

**Fonte: Autoria própria.**

#### 4.2.2 Preparação dos Filmes de Amido

Os filmes de amido foram obtidos à partir de uma suspensão aquosa contendo 3 % de amido solúvel (m/v) e 30 % de glicerol (m/m) como agente plastificante. Os componentes foram misturados e aquecidos gradualmente sob agitação em banho-maria, até atingir a temperatura de 90 °C sendo a mesma mantida por 15 minutos. As soluções filmogênicas foram resfriadas até a temperatura de 70 °C, para subsequente adição produtos naturais, limoneno ou eugenol, nas proporções 1,0%, 2,5% e 5,0% e 10% (m/m). Manteve-se uma solução filmogênica sem a adição de produto natural, a qual foi denominada de controle, 50 g de solução filmogênica foram vertidas em placas de acrílico de 15 x 15 cm previamente higienizadas com álcool 70 %, objetivando a formação de filmes com espessura homogênea, sendo posteriormente submetidas à secagem em estufa uma temperatura de 50 °C por 24 horas. Passado este período, os filmes eram retirados das placas e armazenados em recipientes lacrados até as análises posteriores. Os filmes foram codificados como AM/teor de produto natural como mostrado na **Tabela 2**.

**Tabela 2: Codificação dos filmes de amido (AM) com diferentes teores de limoneno (LIM) ou eugenol (EUG).**

<i>Codificação</i>	<i>Porcentagem de Limoneno (%)</i>
AM	0
AM -1% LIM	1
AM -2,5% LIM	2,5
AM -5% LIM	5
AM -10% LIM	10
<i>Porcentagem de Eugenol (%)</i>	
AM -1% EUG	1
AM -2,5% EUG	2,5
AM -5% EUG	5
AM -10% EUG	10

**Fonte: Autoria própria.**

### 4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS

#### 4.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura

A morfologia das amostras foi analisada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) por um microscópio da marca Shimadzu, modelo SS 550 Superscan, voltagem de aceleração de 15 kV e intensidade de corrente de 30  $\mu$ A. A superfície de fratura criogênica das amostras foi previamente coberta com uma fina camada de ouro. As análises foram realizadas na Universidade Estadual de Maringá, por intermédio do prof. Dr. Adley Forti Rubira.

#### 4.3.2 Aplicação dos Biofilmes como Revestimento de Alimentos

Para avaliar as propriedades de armazenamento dos biofilmes de amido, soluções filmogênicas foram preparadas, conforme seção 4.2.2, contendo 5% de produto natural, para posterior revestimento de frutas. A fruta utilizada foi maçãs adquiridas no comércio local de Campo Mourão/Paraná. As amostras de maçãs foram amarradas, com o auxílio de um barbante, e mergulhadas na solução filmogênica, por três vezes, em seguida foram suspensas para secagem. Após secagem as frutas foram armazenadas em incubadora com temperatura de 20°C. Os testes foram realizados com solução filmogênica do amido na ausência de produto natural. Para comparação foi usada uma amostra de maçã sem revestimento (controle). Conforme podemos visualizar na **Figura 14**.

Os mesmos procedimentos foram realizados, com os filmes de AM, AM-5% EUG e AM -5% LIM, com dimensões de 40 x 25 cm. As amostras de maçã foram revestidas com os filmes, **Figura 15**, e armazenadas em incubadora com temperatura de 20°C.

As amostras foram fotografadas por 30 dias para acompanhar o aspecto visual de conservação e proliferação de microorganismos. Os testes foram feitos em duplicata.





**Figura 14. Fotografia da fruta banhada com solução filmogênica de amido.  
Fonte: Autoria Própria.**



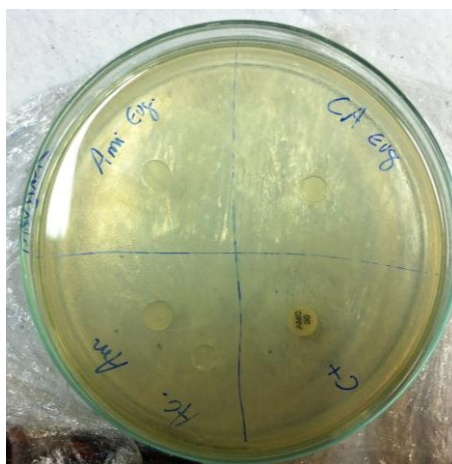
**Figura 15. Fotografia da fruta revestido com filme de amido.  
Fonte: Autoria Própria.**

#### 4.3.3 Avaliação da Atividade Antimicrobiana

O método de difusão em ágar foi executado como teste qualitativo para verificar a atividade antibacteriana dos filmes. Esta análise foi conduzida segundo Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-Difusão, oitava edição. Foram assepticamente cortados discos de 7 mm de diâmetro e submetidos a radiação UV por 30

minutos de cada lado. As culturas das bactérias (*Staphylococcus Aureus* e *Escherichia Coli*) foram inoculadas por espalhamento nas placas com o auxílio da alça. Para cada microorganismo e filme testado, foi preparado uma placa na qual foram depositados um disco do filme de amido puro, filme de acetato de celulose puro e os filmes de AM - 5% LIM e CA- 5% LIM, um disco controle positivo (antibiótico), conforme podemos visualizar na Figura 16. Outra placa foi preparada mas com os discos dos filmes de AM - 5% EUG e CA- 5% EUG. O mesmo ensaio foi realizado com os filmes de CA e AM com 10% dos produtos naturais, ambos feitos em cinco repetições.

Após a incubação das placas a 35 °C durante 48 horas, os resultados foram analisados medindo-se o diâmetro do halo de inibição de crescimento das bactérias, incluindo o diâmetro do filme. Os resultados foram expressos em milímetros pela média aritmética dos valores dos halos obtidos nas cinco repetições (por volume utilizado) (UGALDE, 2014). As análises foram realizadas em colaboração com a profa. Dr. Elizabete Satsuki Sekine da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.



**Figura 16. Fotografia da montagem da placa de Petri para análise disco-difusão.**

**Fonte: Autoria própria.**

#### 4.3.4 Liberação dos Produtos Naturais

A liberação dos produtos naturais foi avaliada por Espectroscopia UV-Vis, em água destilada a fim de simular as condições de armazenamento. Para analisar o tempo e a forma

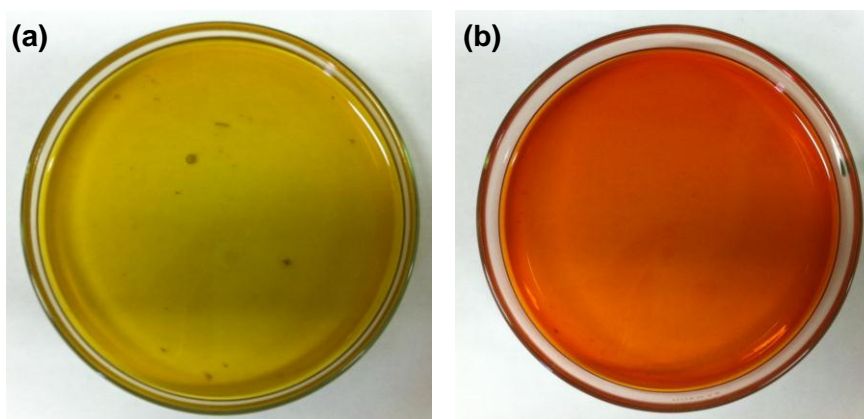
(rápida/lenta) de liberação dos produtos naturais dos filmes, estas soluções foram acondicionadas em incubadora e mantidas em repouso e com temperatura controlada de 22 °C. Alíquotas de 3 mL foram recolhidas, em intervalos de tempo 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 60, 1440, 2880 e 7200 minutos, e em seguida, leituras de absorção foram realizadas em espectrofotômetro UV-Vis da marca Red Tide USB650UV Ocean Optics, posteriormente as alíquotas foram devolvidas para dentro do frasco. A concentração dos produtos naturais liberados foi determinada a partir de uma curva analítica, correlacionando a absorção *versus* concentração do produto natural utilizado. As análises foram realizadas em colaboração com a profa. Dr. Patrícia Valderrama da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 MÉTODO 1: POLIMERIZAÇÃO CATIÔNICA (SCHLISCHTING, 2008)

As reações de polimerização catiônica normalmente são realizadas em solução, sob baixas temperaturas e utilizando cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$ ) como catalisador. Neste contexto, a polimerização radicalar do eugenol ou limoneno em tolueno, foi realizada utilizando o cloreto de alumínio como catalisador da reação.

No primeiro momento formou-se uma substância pastosa com coloração amarela (**Figura 17(a)**), sem nenhuma formação de polímero, deixou-se então a substância em repouso por cerca de 24 horas, para avaliar alguma mudança, que no caso não ocorreu. Em seguida aqueceu a substância na chapa de agitação, e observou-se mudança de coloração, e ainda a substância ficou mais viscosa, porém não formou o polímero desejado (**Figura 17(b)**).



**Figura 17. Fotografia do produto obtido da Reação de Polimerização Catiônica (a) sem aquecimento e (b) com aquecimento.**

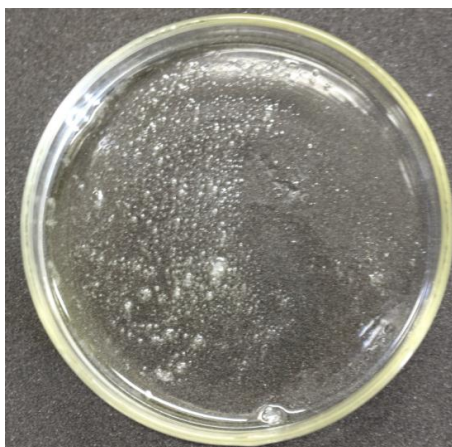
**Fonte: Autoria própria.**

Foram realizados diversos testes com esta metodologia o qual não formou o polímero esperado, devido a fatores tais como: velocidade de agitação, baixa interação, ou seja, quando a velocidade de reação é muito alta pode contribuir para dessorção do agente de suspensão, diminuindo a camada de proteção formada pelo estabilizante, porém quando a velocidade é

muito baixa, a reação é neutralizada, afetando diretamente na formação do polímero (ABIRAMIA, 2012).

## 5.2 MÉTODO 2: FOTOPOLIMERIZAÇÃO

Na fotopolimerização radicalar ocorre processos cinéticos de iniciação e terminação essenciais para a formação do polímero. Foram preparadas quatro placas de petri com o limoneno juntamente com o peróxido de benzoíla exposto a radiação por 96 horas, no qual obteve a formação de sais cristalizados, conforme apresentando na **Figura 18**.



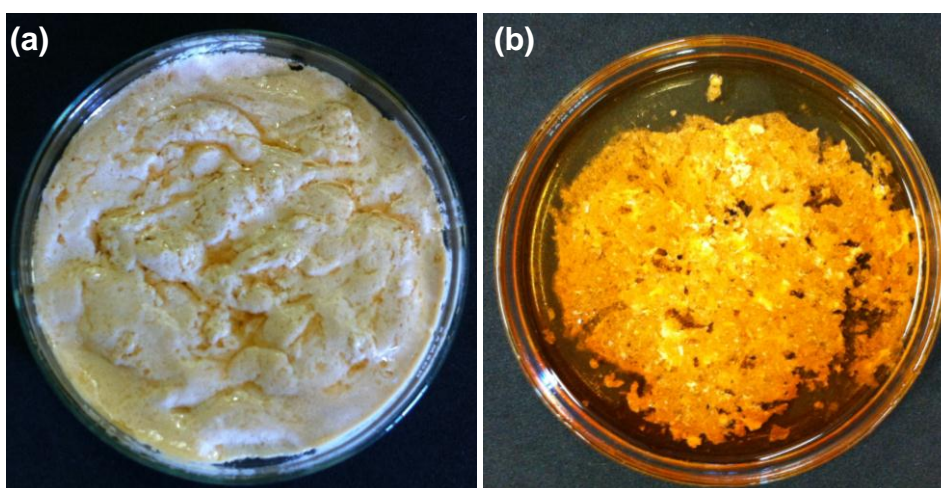
**Figura 18. Fotografia do material obtido após a fotopolimerização.**

**Fonte: Autorial Própria.**

A metodologia proposta com a utilização da lâmpada de mercúrio com radiação do infravermelho ao ultravioleta. A radiação é o principal responsável no processo de polimerização, sendo que a maior parte de energia fornecida era perdida na forma de calor, além disso, o calor gerado no interior da lâmpada pode causar degradação do refletor, do filtro e da ponteira de fibra ótica, reduzindo a potência luminosa, e assim diminuindo a possibilidade de polimerização (CAMPREGHER, 2003). Além do baixo rendimento de polimerização do limoneno em contato com a luz, os sais formados foram do peróxido de benzoíla que cristalizou.

### 5.3 MÉTODO 3: POLIMERIZAÇÃO POR SUSPENSÃO

O método de polimerização por suspensão consiste na reação entre iniciador e monômero, que são agitados em água até dispersada em minúsculas gotículas, que permitem a polimerização ocorrer em cada gotícula formada. A polimerização foi realizada com os produtos naturais limoneno e eugenol de acordo com o método proposto, porém o que melhor se destacou foi o eugenol, com maior formação de gotículas, formando uma substância pastosa (sólida), ainda com a presença do óleo puro, em sua forma líquida, **Figura 19**. O material obtido após a polimerização ficou em repouso por cerca de quatro dias, observando a diminuição da substância pastosa e a formação de um gel, conforme podemos observar nas **Figuras 20 e 21**.



**Figura 19.** Fotografia do material obtido após reação de Polimerização por suspensão com produto natural: (a) limoneno e (b) eugenol.

Fonte: Autoria Própria.



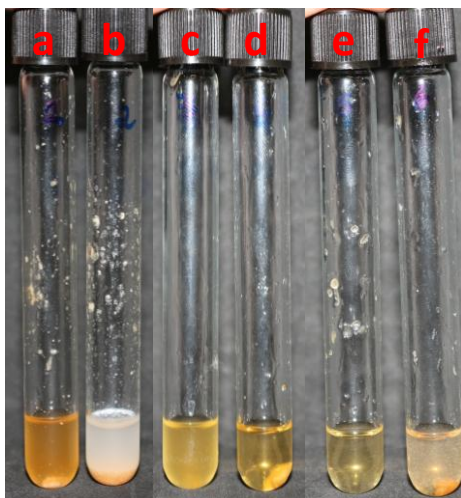
**Figura 20.** Fotografia do gel de limoneno obtido após tempo de cura.  
**Fonte:** Autoria Própria.



**Figura 21.** Fotografia do gel de eugenol obtido após tempo de cura.  
**Fonte:** Autoria Própria.

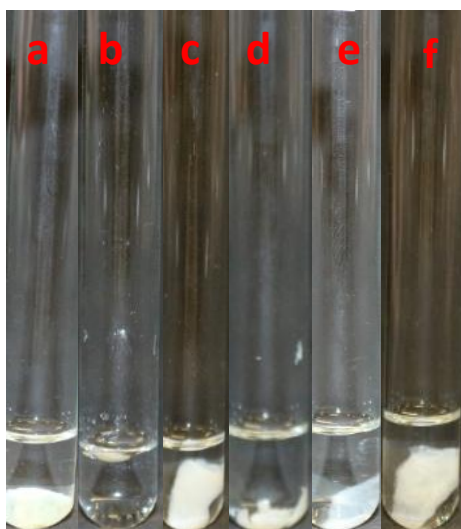
Foram feitos testes de solubilidade, em diversos solventes, com o gel obtido após polimerização por suspensão **Figuras 22 e 23**. Dentre os solventes testados, o gel de eugenol apresentou maior solubilidade nos solventes tetraidrofurano e acetato de etila. No entanto, não solubilizou o suficiente para tentar adquirir um filme. O gel de limoneno sofreu intumescimento nos solventes testados, indicando a formação de um material reticulado.

Em função desta mudança de viscosidade alguns parâmetros são fundamentais para o processo tais como: concentração do estabilizante, condições de agitação, temperatura, geometria do reator. Uma das maiores dificuldades encontradas neste sistema é o controle da distribuição do tamanho final das partículas, devido a dificuldade de controlar a coalescência e a estabilidade da suspensão.



**Figura 22.** Teste de solubilidade do gel de eugenol em: (a) hexano, (b) água, (c) acetona, (d) tetraidrofurano, (e) acetato de etila e (f) álcool etílico.

**Fonte:** Autoria Própria.



**Figura 23.** Teste de solubilidade do gel de limoneno em: (a) hexano, (b) água, (c) acetona, (d) tetraidrofurano, (e) acetato de etila e (f) álcool etílico.

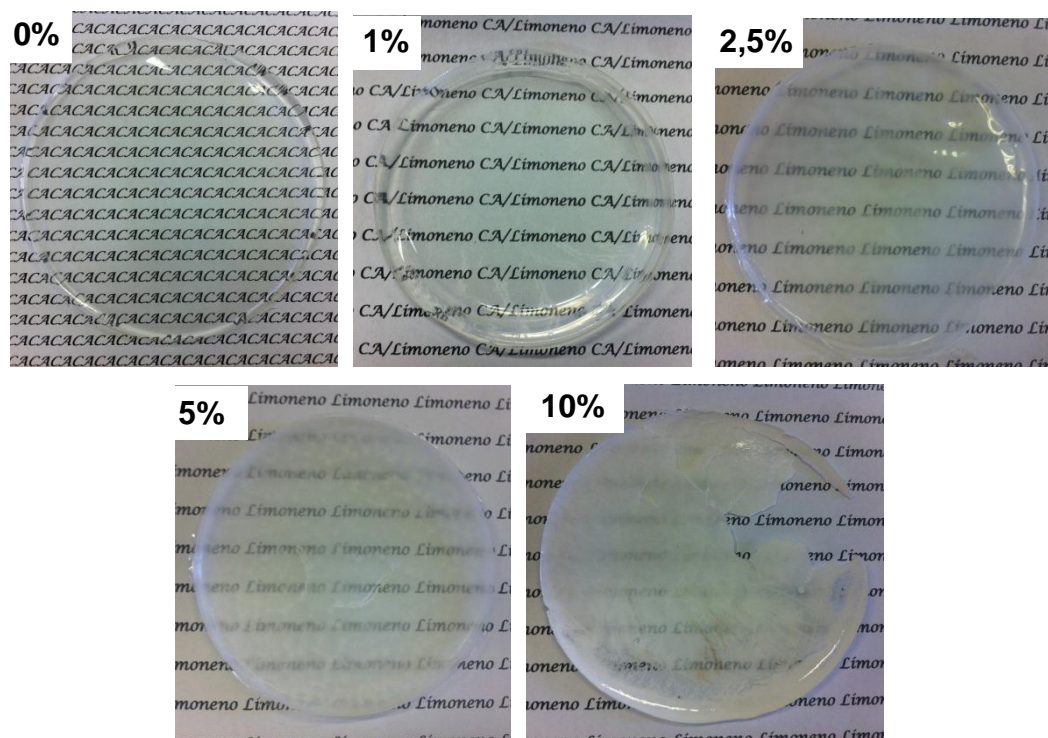
**Fonte:** Autoria Própria.



## 5.4 OBTENÇÃO DOS FILMES

Os filmes de acetato de celulose puro, contendo 1% de limoneno e com diferentes teores de eugenol apresentaram aspecto visual transparente, indicando morfologia densa e uniforme (**Figuras 24 e 25**). A transparência do material obtido é o primeiro indício da miscibilidade entre o acetato de celulose e eugenol. Entretanto, os filmes com teores acima de 2,5% de limoneno 10% são opacos, sugerindo uma morfologia porosa.

Todos os filmes de amido puro e com produtos naturais apresentaram-se translúcidos e com boa plasticidade, indicando morfologia densa e uniforme, promovendo um resultado satisfatório em todos os teores, conforme podemos observar nas **Figuras 26 e 27**. Estes resultados indicam que o amido tem maior interação com limoneno e/ou eugenol.



**Figura 24.** Fotografia dos filmes de CA puro e contendo diferentes teores de limoneno.

Fonte: Autoria Própria.

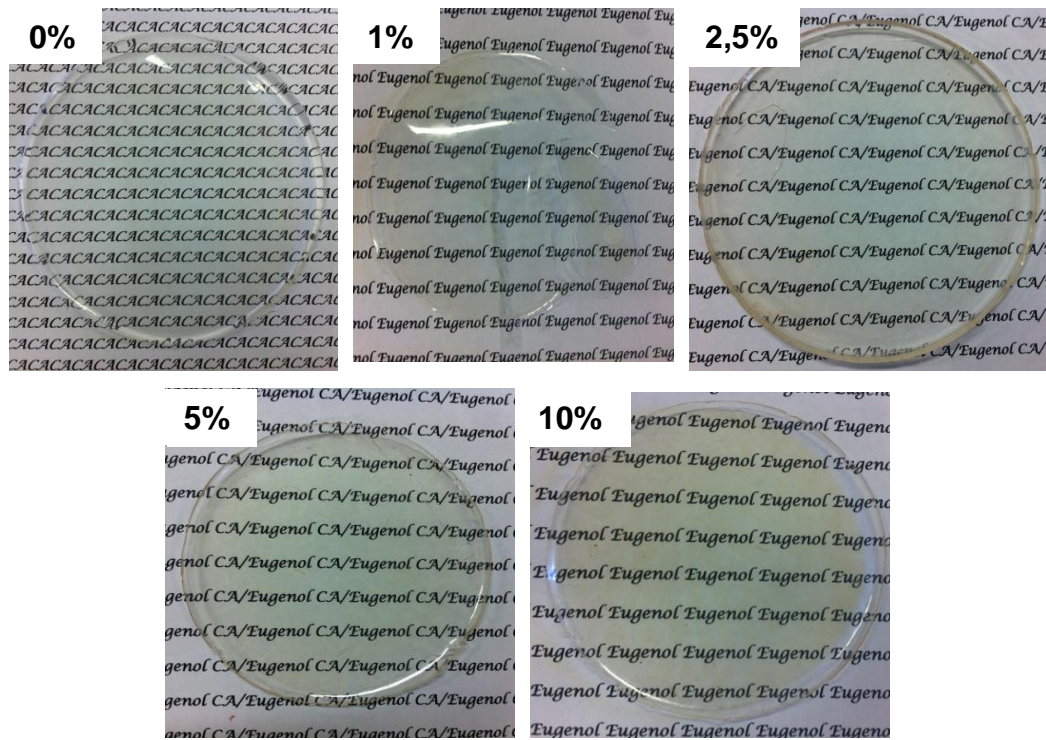


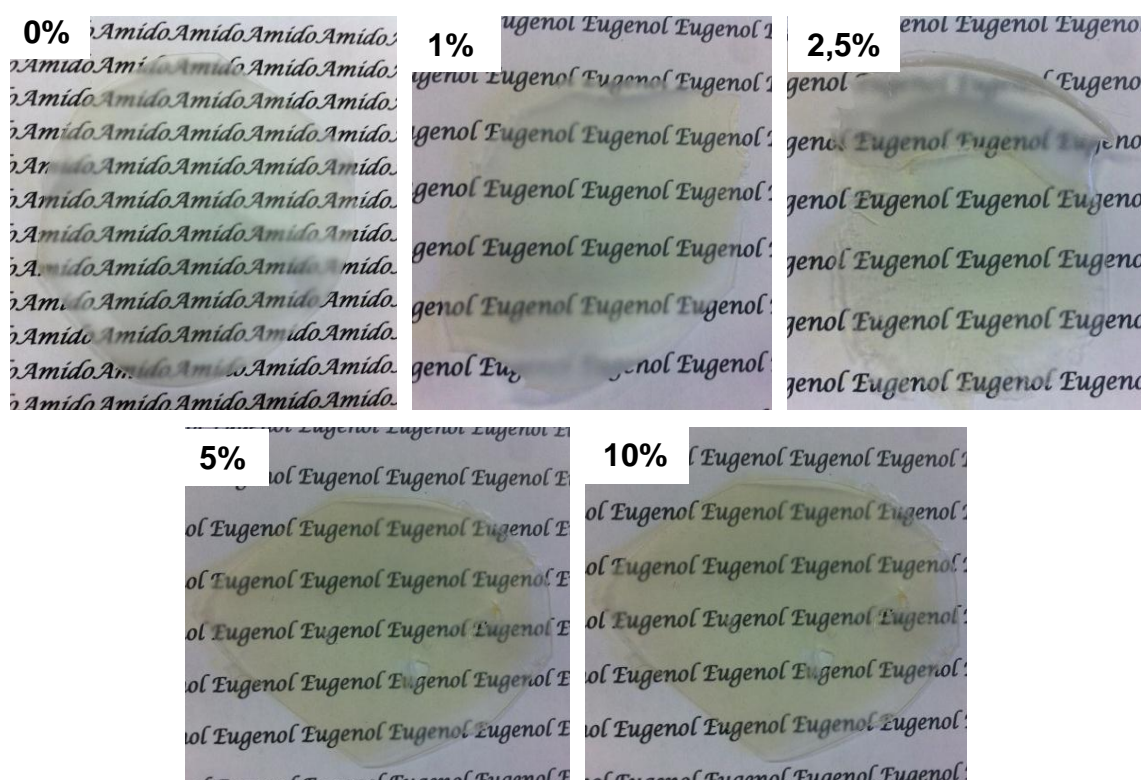
Figura 25. Fotografia dos filmes de de CA puro e contendo diferentes teores eugenol.

Fonte: Autoria Própria.



Figura 26. Fotografia dos filmes de amido puro e contendo diferentes teores de limoneno.

Fonte: Autoria Própria



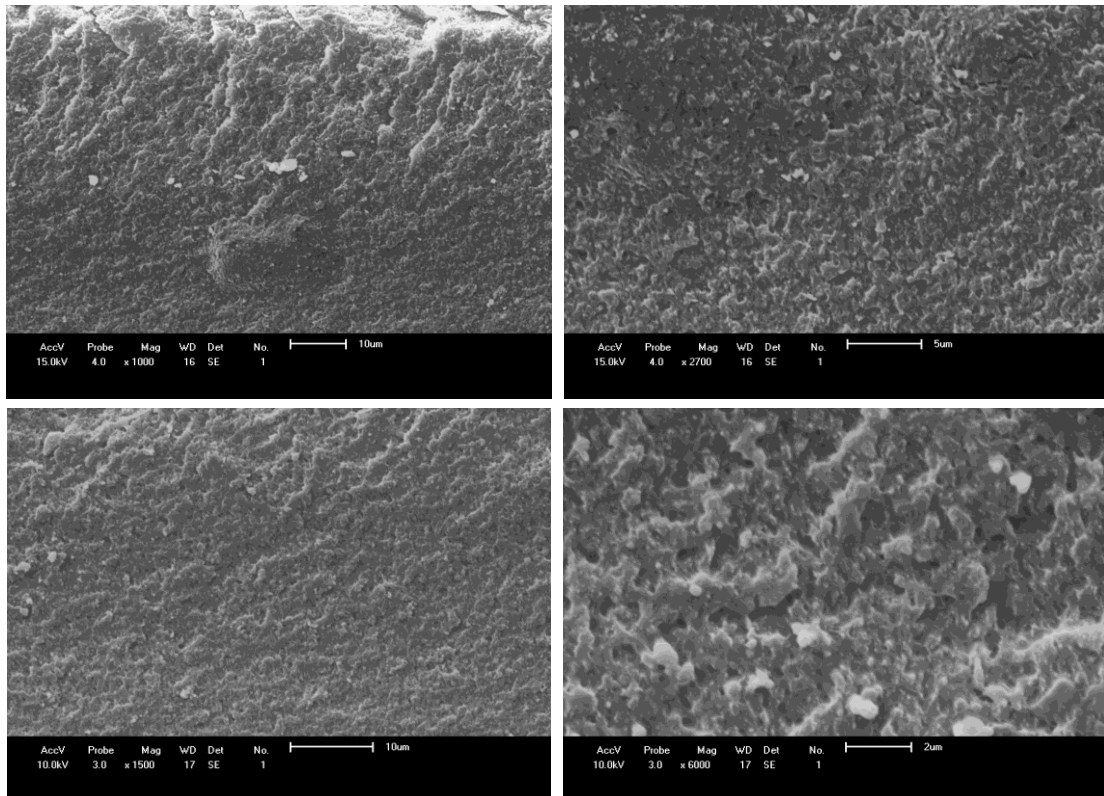
**Figura 27. Fotografia dos filmes de amido contendo diferentes teores de eugenol.**

**Fonte: Autoria Própria.**

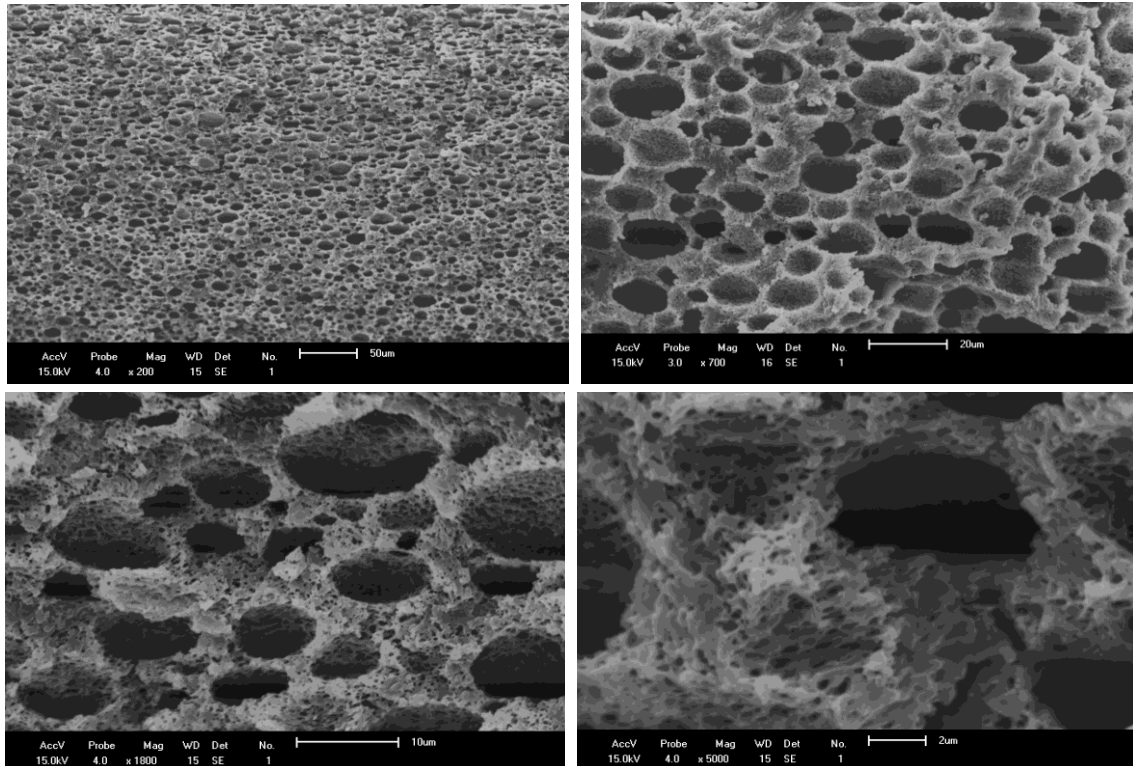
As características morfológicas das superfícies de fratura criogênicas dos filmes de CA e AM puro e com 5% de limoneno ou 5% de eugenol foram investigadas por MEV, algumas micrografias estão apresentadas nas **Figuras 28 à 33**. A morfologia da superfície de fratura dos filmes de CA puro (**Figura 28**) revela uma superfície lisa e indica um filme denso e uniforme. As micrografias dos filmes de CA contendo eugenol CA-5% EUG (**Figura 30**) mostram as mesmas características, embora algumas partículas de eugenol envolvidas pela matriz polimérica também possam ser observadas. Por outro lado, as micrografias dos filmes de CA contendo limoneno (**Figuras 29**) mostram uma superfície de fratura mais rugosa e sem a presença de placas de limoneno. Devido à menor interação do limoneno com acetato de celulose, nesse caso, a formação do filme segue o processo de inversão de fases, onde a solução do polímero intumescido evolui para uma rede macromolecular tridimensional ou gel.

O processo de inversão de fases foi descrito extensivamente na literatura para o sistema CA-acetona/água, Romero (2009), como um sistema modelo para investigar a formação de membranas poliméricas. Neste trabalho, a separação de fases líquido/sólido deve

ocorrer durante o processo *casting* das soluções contendo limoneno. No caso da preparação com a mistura acetona/limoneno, a separação de fases foi promovida pela evaporação preferencial do bom solvente (acetona, que é mais volátil) e consequente aumento na concentração do não solvente (limoneno). Este processo resultou em uma estrutura porosa uniforme, como observado nas micrografias dos filmes de CA com limoneno.

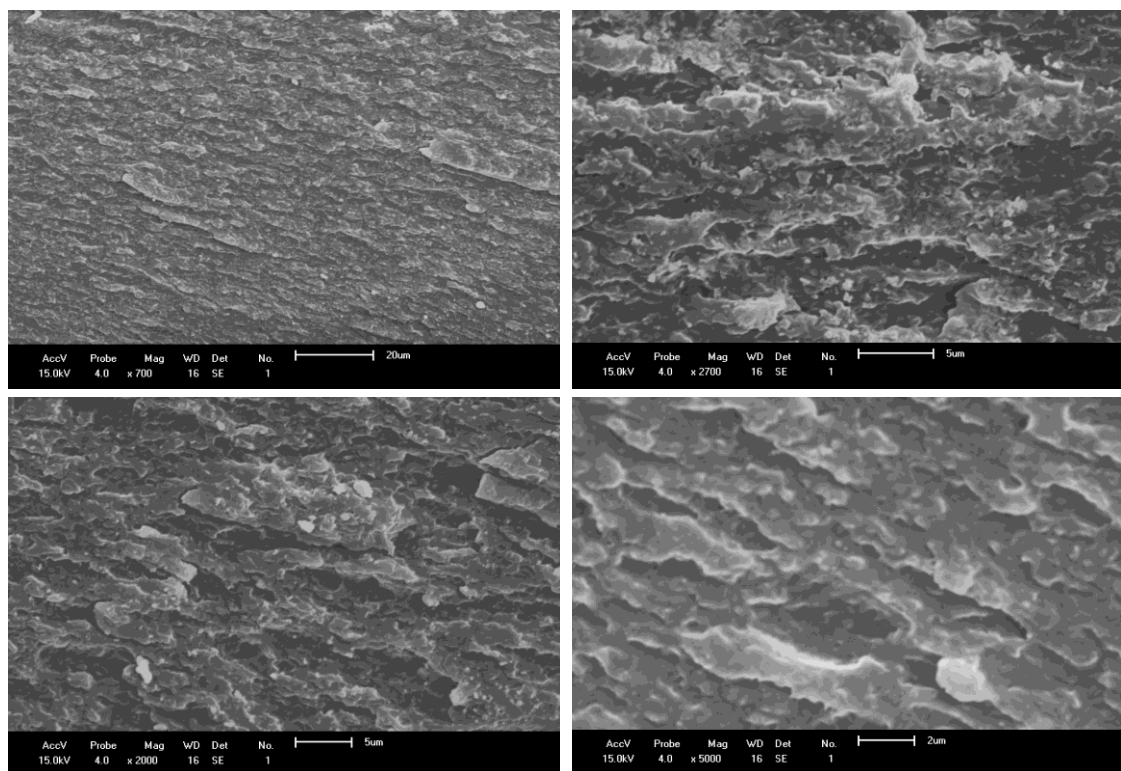


**Figura 28.** Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de acetato de celulose puro, em várias ampliações.  
**Fonte:** Autoria Própria.



**Figura 29. Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de acetato de celulose contendo 5% de limoneno, em várias ampliações.**

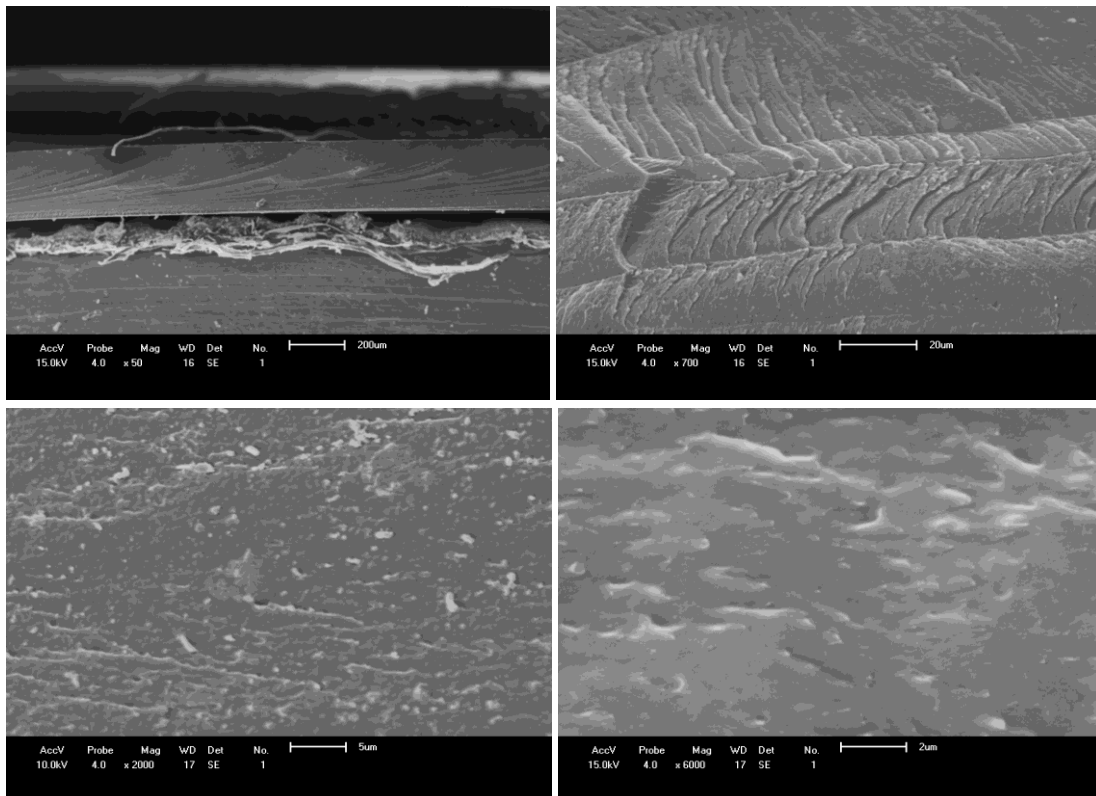
**Fonte: Autoria Própria**



**Figura 30. Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de acetato de celulose contendo 5% de eugenol em várias ampliações.**

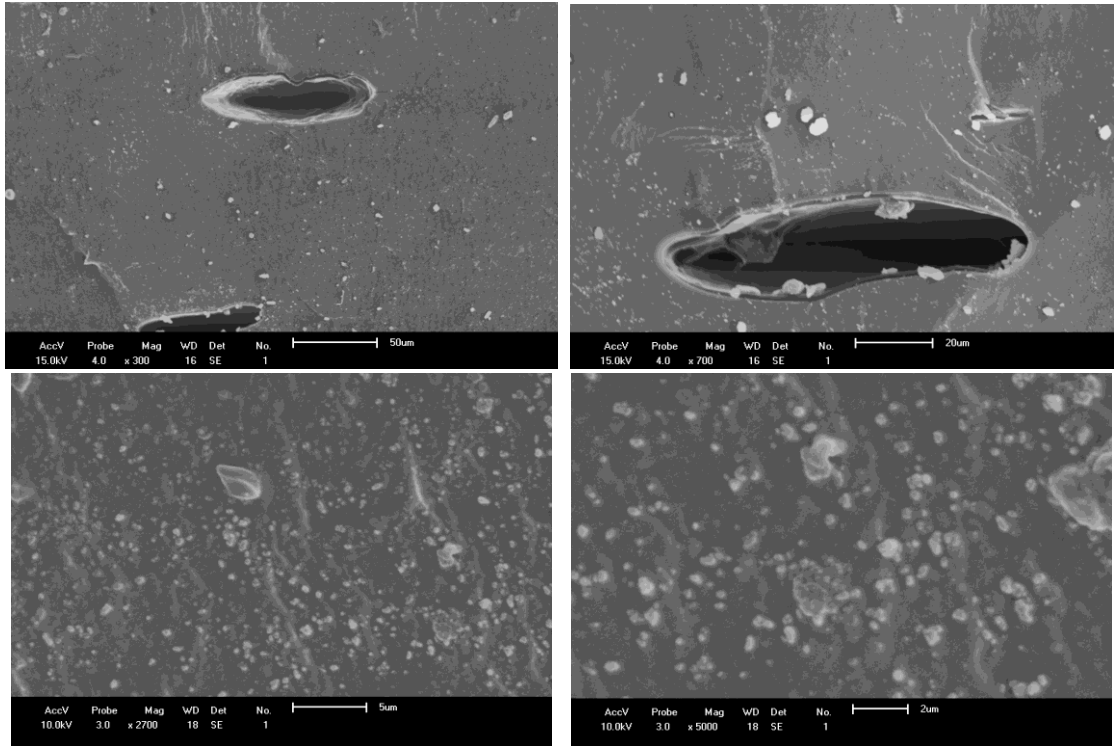
**Fonte: Autoria Própria.**

Na **Figura 31** são apresentadas as micrografias para o filme de amido puro, que revela uma superfície lisa, indicando um filme denso e uniforme. Os filmes de amido preparados com 5% limoneno (**Figura 32**) e 5% eugenol (**Figura 33**) mostraram uma superfície lisa com várias partículas dos produtos naturais, sendo estas envolvidas pela matriz polimérica, evidenciando a boa adesão na interface polímero/produto natural. Além disso, vários domínios de glicerina são observados na **Figura 32**.

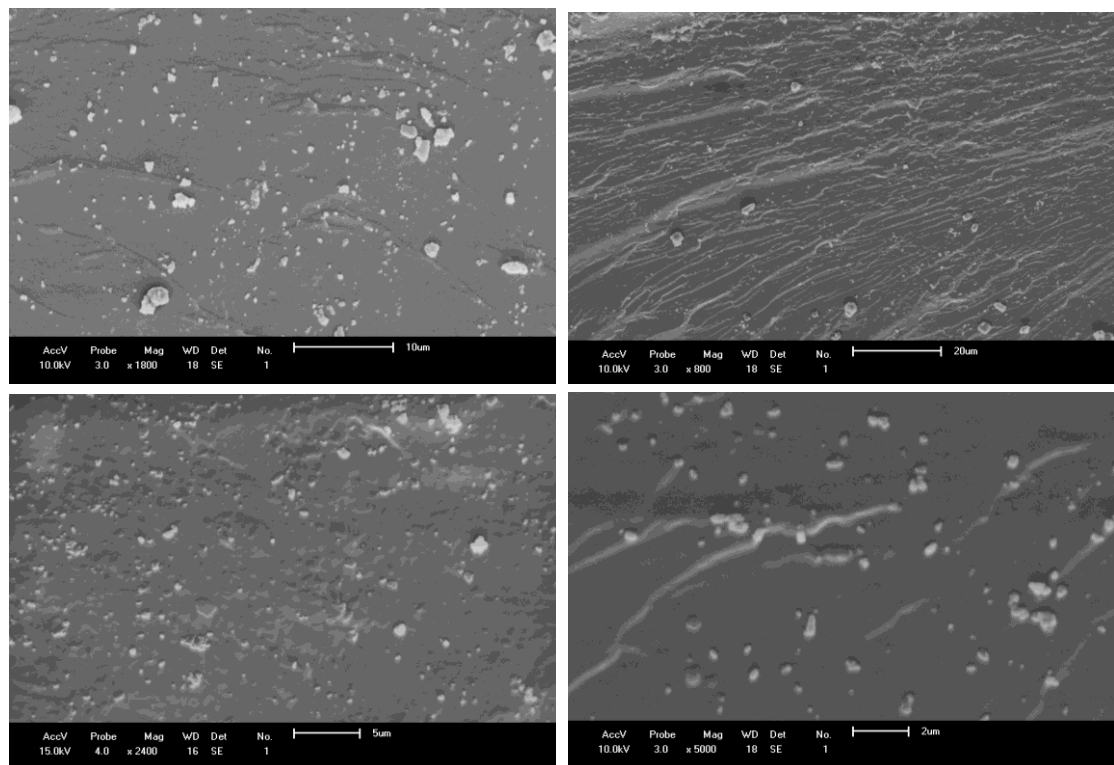


**Figura 31.** Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de amido puro, em várias ampliações.

Fonte: Autoria Própria.



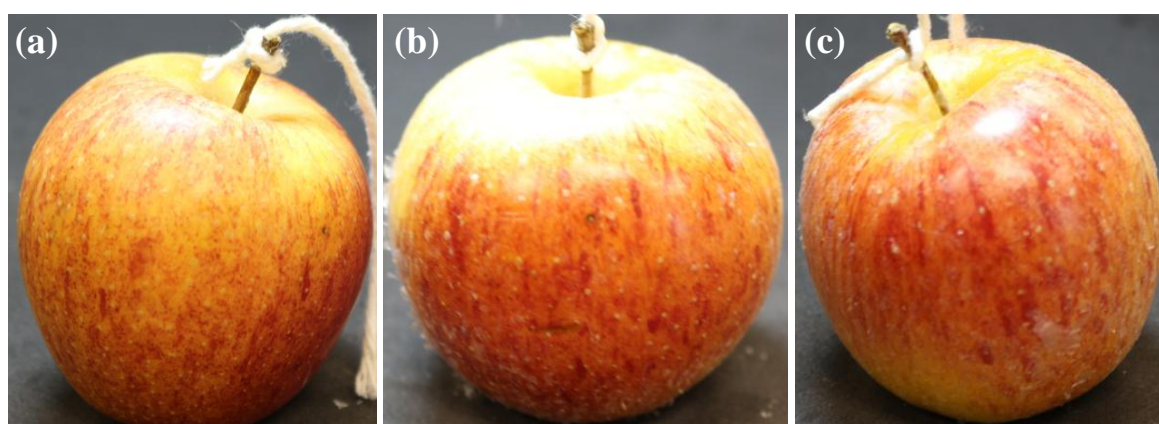
**Figura 32. Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de amido contendo 5% de eugenol, em várias ampliações. Fonte: Autoria Própria.**



**Figura 33. Micrografias de MEV da superfície de fratura do filme de amido contendo 5% de limoneno, em várias ampliações. Fonte: Autoria Própria.**

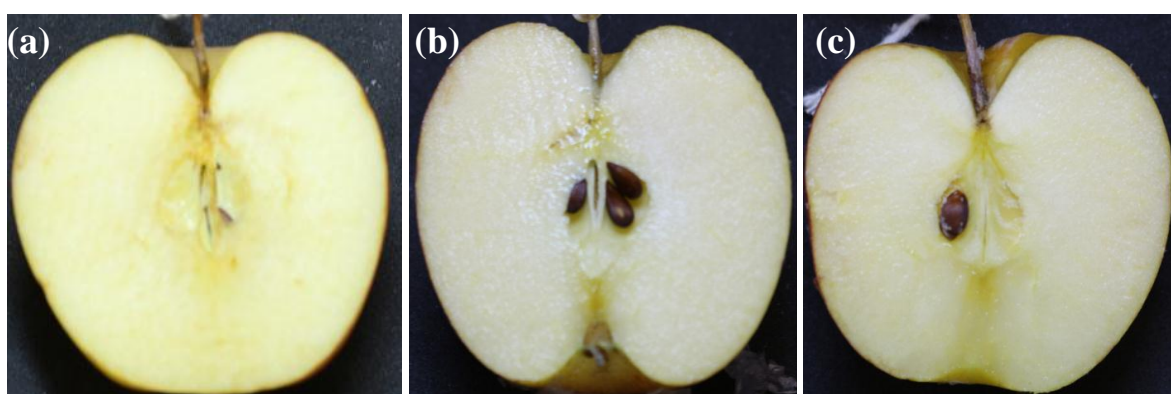
## 5.5 APLICAÇÃO DOS FILMES POLÍMERICOS

A concentração de produto natural, 5% (m/m) de eugenol ou limoneno, utilizada para preparação da solução filmogênica de amido foi definida com base nos testes de atividade antimicrobiana realizados neste trabalho. Após realização do procedimento de proteção das maçãs com as soluções filmogênicas obtiveram-se os aspectos visuais apresentados nas **Figuras 34 a 37**.



**Figura 34:** Aspecto visual da maçã após 15 dias de armazenamento: (a) sem tratamento, (b) banhada em solução filmogênica de amido contendo limoneno e (c) banhada em solução filmogênica de amido contendo eugenol.

Fonte: Autoria Própria.



**Figura 35:** Aspecto visual da maçã aberta após 15 dias de armazenamento: (a) sem tratamento, (b) banhada em solução filmogênica de amido contendo limoneno e (c) banhada em solução filmogênica de amido contendo eugenol.

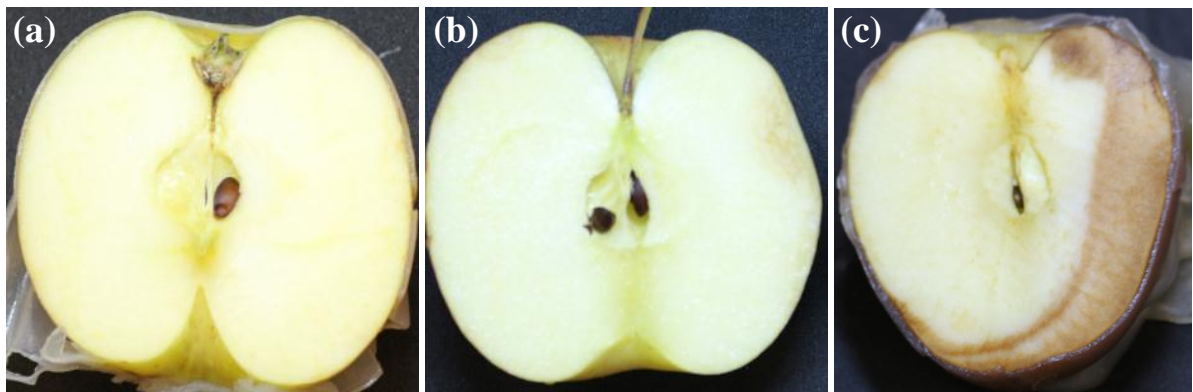
Fonte: Autoria Própria.





**Figura 36:** Aspecto visual da maçã após 15 dias de armazenamento: (a) sem tratamento, (b) recoberta com filme de amido contendo limoneno e (c) recoberta com filme de amido contendo eugenol.

**Fonte:** Aatoria Própria.



**Figura 37:** Aspecto visual da maçã aberta após 15 dias de armazenamento: (a) sem tratamento, (b) recoberta com filme de amido contendo limoneno e (c) recoberta com filme de amido contendo eugenol.

**Fonte:** Aatoria Própria.

A aplicação dos filmes de amido com 5% (m/m) do produto natural em maçãs, que foram banhadas ou revestidas e armazenadas por 15 dias em incubadora, permitiu avaliar a aplicabilidade dos materiais produzidos para embalagens de alimentos. As maçãs revestidas com filme AM-5% EUG apresentaram perfil de oxidação, já as maçãs revestidas com filme AM-5% LIM apresentaram resultados satisfatórios no processo de conservação do alimento. Os testes no qual as maçãs foram banhadas com solução filmogênica resultaram em alimentos com melhor conservação, manutenção das características sensoriais, não afetando seu aspecto de *marketing*.

As maçãs recobertas com os filmes contendo eugenol em 15 dias de análises apresentaram oxidação na parte inferior, sendo desvantajoso para o teste proposto, seriam necessárias menores quantidades, a fim de conseguir uma vida útil. Já a maçã revestida com o filme de limoneno apresentou fatores vantajosos não sofrendo alterações sensoriais (**Figura 38**).

Percebe-se que claramente que a maçã revestida com o filme de amido contendo limoneno apresentou baixa permeabilidade a fatores externos o que contribui para a conservação das frutas, e preservou ainda a migração de aditivos que poderiam degradar com rapidez a maçã exposta ao ambiente.



**Figura 38:** Aspecto visual da maçã aberta após 15 dias de armazenamento Fruta revestida com filme de limoneno.  
**Fonte:** Autorial Própria.

## 5.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os resultados obtidos na avaliação da atividade antimicrobiana são apresentados nas **Figuras 39 a 42**. Os valores relacionados aos halos de inibição são apresentados nas **Tabelas 3 e 4**. Os filmes obtidos foram avaliados, em testes microbiológicos, frente às bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. O halo de inibição do fármaco (controle) foi de 27,24 mm, já o filme de acetato de celulose na presença de *Staphylococcus aureus* formou um halo de 10,5 mm, enquanto os de acetato de celulose-eugenol na presença de *Escherichia coli* formaram um halo de 11,50 mm. Os testes com a concentração de 10%

foram realizados apenas com a *Escherichia coli*, com resultados de halos maiores, tal como esperado, chegando à 19,83 mm para o filme de acetato de celulose-eugenol e 10,8 mm para o filme de amido-limoneno e 8,06 mm para o filme de amido-eugenol. Dentro os dois óleos utilizados para o estudo, o que mais se destacou, neste teste, foi o eugenol. Este resultado era esperado, uma vez que segundo dados da literatura (Romero, 2009), compostos fenólicos apresentam maior atividade antimicrobiana do que os hidrocarbonetos parentes.

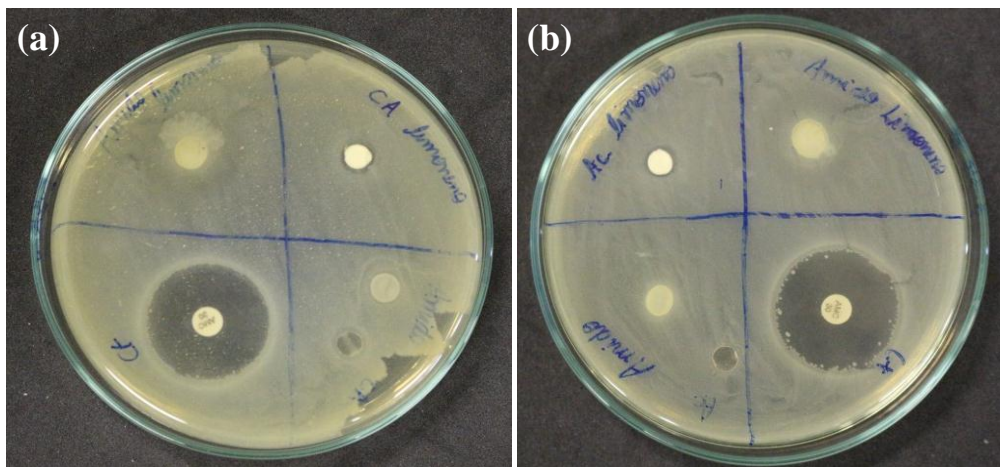


Figura 39. Teste de Disco-Difusão com filmes contendo 5% de limoneno com as bactérias *Staphylococcus aureus* (a) e *Escherichia coli* (b).

Fonte: Autoria Própria.

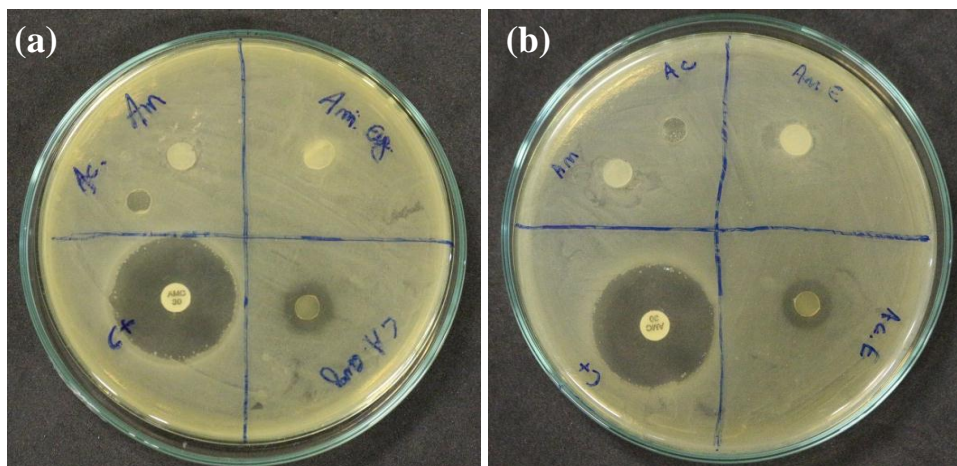
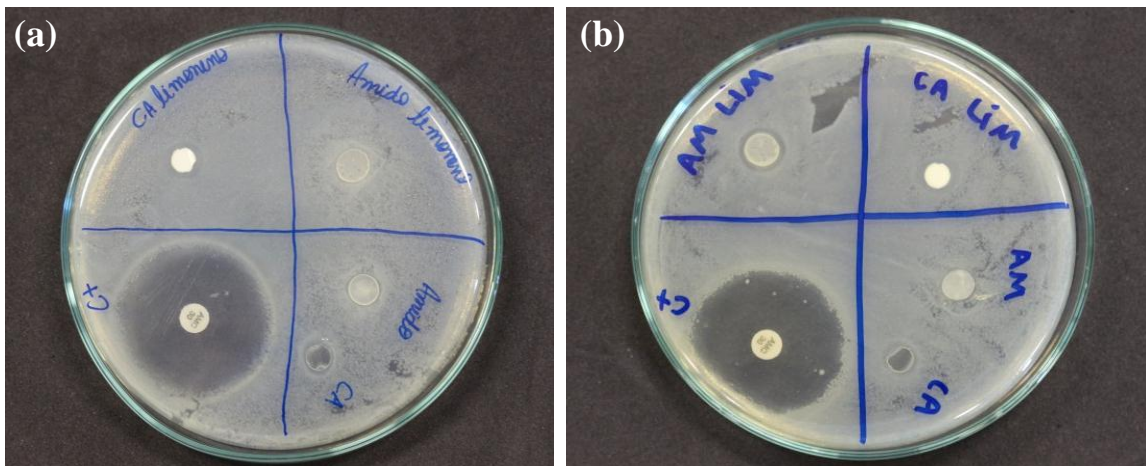


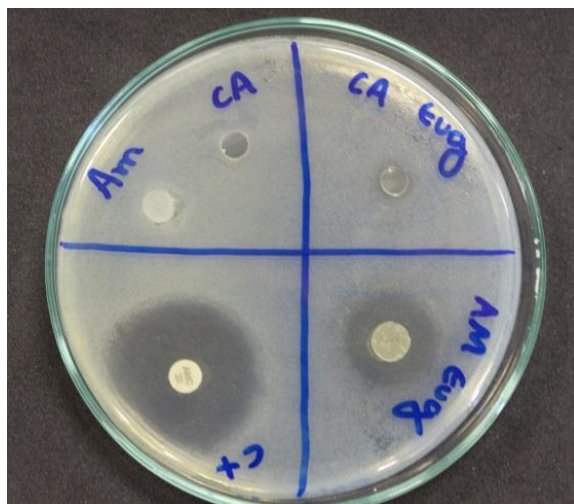
Figura 40. Teste de Disco-Difusão com filmes contendo 5% de eugenol com as bactérias *Staphylococcus aureus* (a) e *Escherichia coli* (b).

Fonte: Autoria Própria.



**Figura 41.** Teste de Disco-Difusão com filmes contendo 10% de limoneno com bactérias *Escherichia coli*.

Fonte: Autorial Própria



**Figura 42.** Teste de Disco-Difusão com filmes contendo 10% de eugenol com bactérias *Escherichia coli*.

Fonte: Autorial Própria.

**Tabela 3. Halos médios\* (mm) apresentados pelo filme de amido (AM), filme de acetato de celulose (CA) e contendo 5% de limoneno (LIM) ou eugenol (EUG).**

<i>Compostos</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>AM puro</i>	0	0
<i>CA puro</i>	0	0
<i>Fármaco</i>	27,24 ± 0,33	26,32 ± 0,47
<i>AM-5%LIM</i>	0	0
<i>AM-5%EUG</i>	10,33 ± 0,13	0
<i>CA-5%LIM</i>	10,56 ± 0,16	7,39 ± 0,20
<i>CA-5%EUG</i>	0	11,80 ± 0,10

**Fonte: Autoria própria.**

**Tabela 4: Halos médios\* (mm) apresentados pelo filme de amido (AM), filme de acetato de celulose (CA) e contendo 10% de limoneno (LIM) ou eugenol (EUG).**

<i>Compostos</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>AM puro</i>	0
<i>CA puro</i>	0
<i>Fármaco</i>	31,76 ± 0,45
<i>AM-10%LIM</i>	10,8 ± 0,11
<i>AM-10%EUG</i>	19,87 ± 0,10
<i>CA-10%LIM</i>	9,13 ± 0,06
<i>CA-10%EUG</i>	19,83 ± 0,10

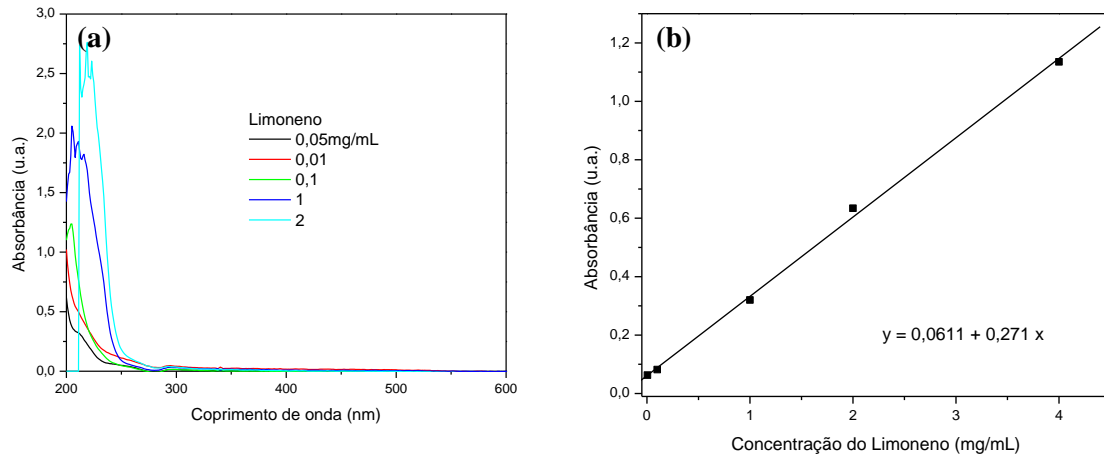
**Fonte: Autoria própria.**

## 5.7 LIBERAÇÃO DOS PRODUTOS NATURAIS

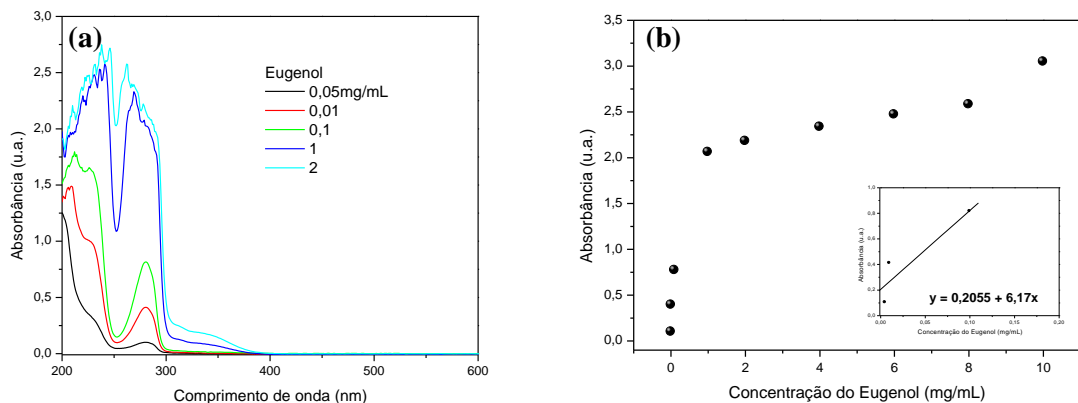
Neste trabalho os produtos naturais, limoneno e eugenol, foram incorporados nos filmes de amido e acetato de celulose, visando uma liberação prolongada dos produtos naturais durante o armazenamento.

Nas **Figuras 43(a)** e **44(b)** são apresentados os espectros de absorbância do limoneno e do eugenol em diferentes concentrações, respectivamente. A concentração dos produtos naturais liberados a partir dos filmes foi determinada a partir de uma curva analítica,

correlacionando a absorção *versus* concentração dos produtos naturais utilizados (**Figuras 43(b) e 44(b)**).



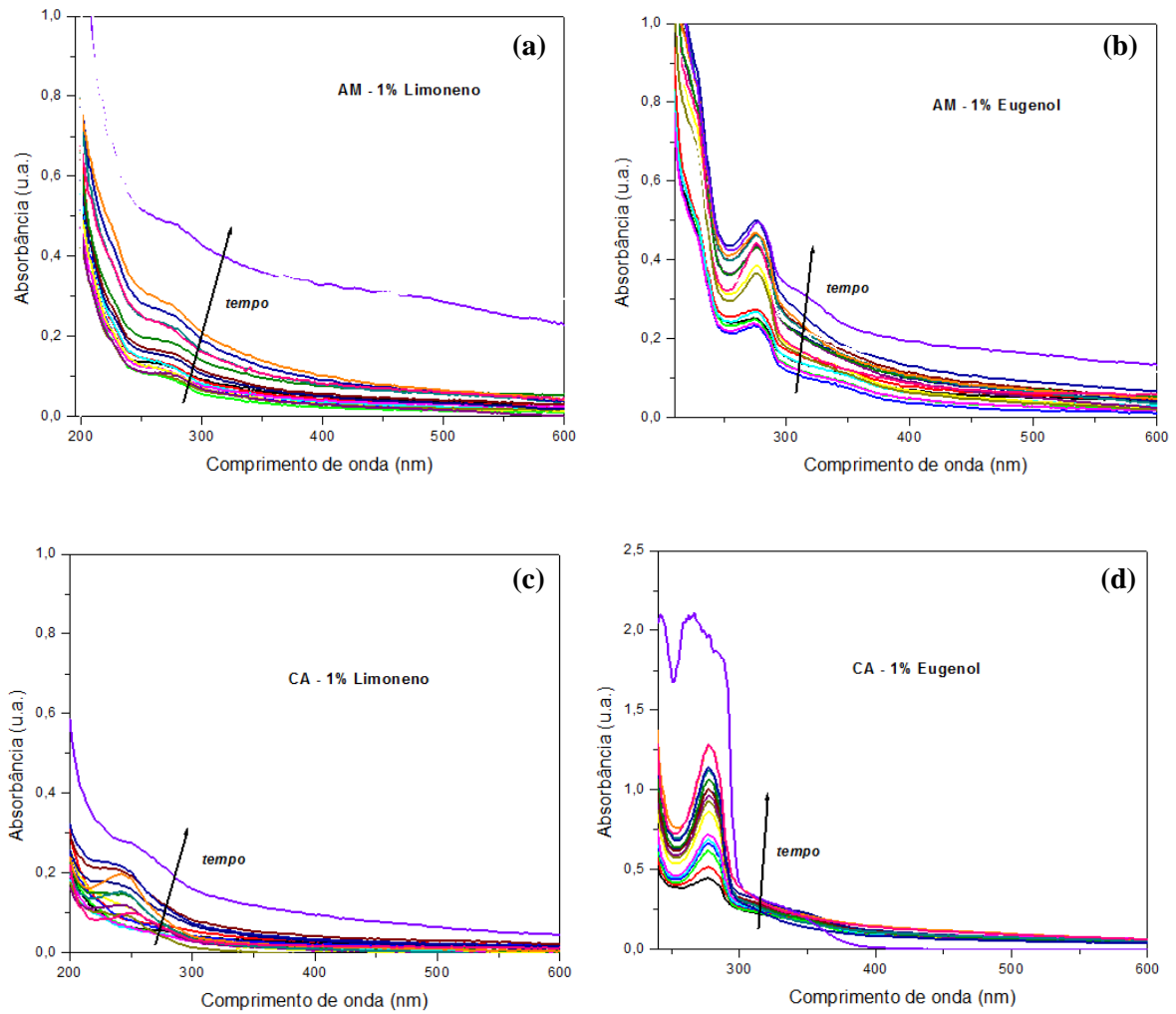
**Figura 43. (a) Espectro de absorvância em função do comprimento de onda para diferentes concentrações de limoneno. (b) Curva analítica do limoneno ( $\lambda = 240$  nm).  
Fonte: Autoria própria.**



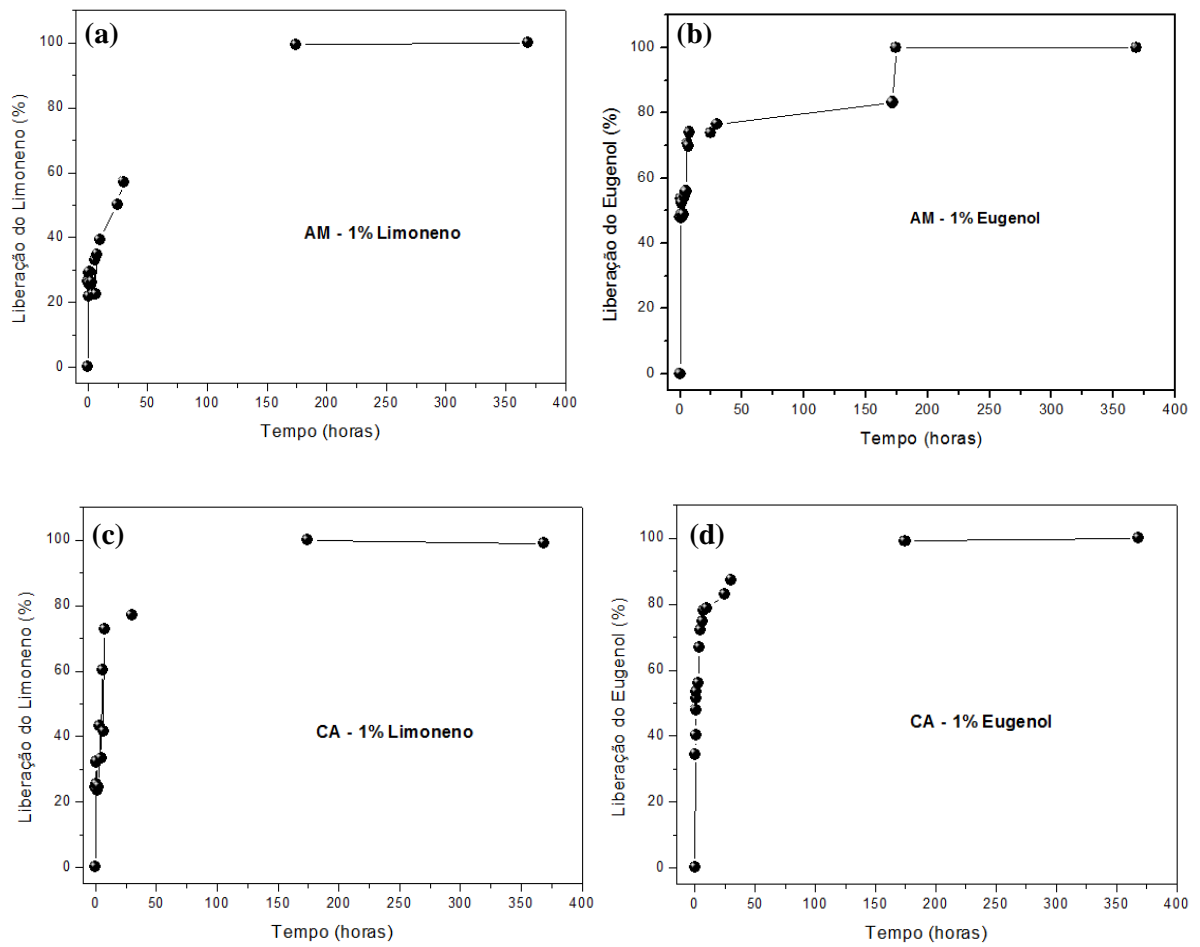
**Figura 44. (a) Espectro de absorvância em função do comprimento de onda para diferentes concentrações de eugenol. (b) Curva analítica do eugenol ( $\lambda = 277$  nm).  
Fonte: Autoria própria.**

A **Figura 45** apresenta os espectros de absorvância em função do comprimento de onda para o filme de amido e acetato de celulose contendo 5% de limoneno e eugenol. A partir deste gráfico foi possível construir a curva de liberação dos produtos naturais, **Figura 46**. De maneira geral podemos observar uma liberação rápida do limoneno e do eugenol, após 30 horas de contato com água há liberação de 57% e 77% de limoneno para os filmes preparados

com amido e acetato de celulose, respectivamente. Para o eugenol observou-se liberação de 76% (amido) e 87% (acetato de celulose). Além disso, podemos observar que após 15 dias, ainda ocorre liberação dos produtos naturais dos filmes, indicando que estes filmes tem grande potencial para serem aplicados como embalagens para alimentos.



**Figura 45.** Espectro de absorvância em função do comprimento de onda em função do tempo para os filmes: (a) AM-5% LIM, (b) AM-5% EUG, (c) CA-5% LIM e (d) CA-5% EUG.  
**Fonte:** Autoria própria.



**Figura 46. Curvas de liberação dos produtos naturais referente aos filmes: (a) AM-1% LIM, (b) AM-1% EUG, (c) CA-1% LIM e (d) CA-1% EUG.**  
**Fonte: Autoria própria.**



## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre os métodos de polimerização utilizados neste trabalho, a polimerização por suspensão, do limoneno e do eugenol, foi a que se mostrou mais viável, obtendo um gel como produto final.

As micrografias dos filmes de acetato de celulose com eugenol, amido com eugenol ou limoneno apresentaram uma superfície lisa, indicando filmes densos e uniformes. Já os filmes de acetato de celulose com limoneno, dependendo do teor de limoneno, possuem uma morfologia porosa.

Para as propriedades de armazenamento, observou-se que as maçãs revestidas com filme de amido-eugenol apresentaram oxidação, já as maçãs revestidas com filme de amido-limoneno apresentaram resultados satisfatórios no processo de conservação do alimento.

Os resultados obtidos nas avaliações frente às bactérias *E. coli* e *S. aureus* indicam que os polímeros acetato de celulose ou amido incorporados com eugenol ou limoneno podem atuar como produtos que permitem aumentar o tempo de prateleira de alimentos, diminuindo a taxa de oxidação de alimentos e controlando a proliferação de microrganismos. Estes resultados corroboram com dados da literatura que indicam que a utilização de produtos naturais é uma alternativa viável para produção de embalagens que permitem melhorar a conservação de alimentos e diminuir os impactos ao meio ambiente.

## REFERÊNCIAS

ABI-RAMIA, Natalia Mury. **Modelagem, Simulação E Otimização Da Polimerização Em Suspensão Do Pvc**. Instituto Alberto Luiz Coimbra do Rio de Janeiro, 2012.

ABRE – **Associação brasileira de embalagem plástica**. Disponível em: <http://www.abre.org.br/noticias/setor-de-embalagem-registra-producao-de-r-551-bilhoes-em-2014/>. Acessado em 28 de maio de 2015.

AGUIAR, Ivan Carlos. **Desenvolvimento e Caracterização De Biofilmes De Sericina Reticulados Com Dimetiloluréia**. Apucarana, 2011.

AFFONSO, R. S; RENNÓ, M.N; SLANA, G. B. C. A; FRANÇA, T. C. C. Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia. **Rev. Virtual Química**, 2012.

BRITO, Gustavo; AGRAWAL, Paulo; ARAÚJO Eliane, (2011) Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.6, n.(2), pg. 127-139

BIZZO, Humberto; HOVELL, Ana Maria; REZENDE, Cláudia. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, p.32 n.3 São Paulo 2009.

BIOQUELL - **Microbiology**. Community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CA-MRSA. Disponível em: <http://www.bioquell.com/fr-fr/>. Acessado em 4 de março de 2015.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION; CDC 24/7: Saving, **Protecting People- Escherichia coli**. Disponível em : <http://www.cdc.gov/ecoli/>. Acessado em: 20 de abril de 2015.

DERNADIN, Cristiane. C; SILVA, Leila. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, V.39, n.3, p.945-954, maio -jun., 2009.

FABRIS, Samanta; FREIRE, Maria; REYES, Felix. Embalagens Plásticas: Tipos de materiais, contaminação de alimentos e aspectos de Legislação. **Revista Brasileira de toxicologia** 19, n.2, Campinas-SP, 2006.

FILHO, Milton Lázaro. **Efeito do Eugenol sobre o Endurecimento de Resinas acrílicas Ativadas Quimicamente e Efeitos de Possíveis Tratamentos Paliativos**. Tese (Mestrado em Odontologia) São Paulo, 2000.

FILHO, Miguel; CARVALHO, Rosemiry. Exportação Brasileiras de Frutas: Diversificação ou concentração de produtos e destinos. **Comércio Internacional**, Fortaleza- CE.

GANZERLI, Amaral Thiago. “Sinalização do amido para a produção de Plásticos”. Departamento de Química, Programa de Pós-graduação em Química, **UEM – Universidade Estadual de Maringá**, Paraná, 2013.

JUNIOR, Mário; PASTORE, Gláucia. Biotransformação do limoneno: uma revisão das principais rotas metabólicas. São Paulo-SP, 2007. **Revista Química Nova**.

KALEMBA D, Kunicka A. **Antibacterial and antifungal properties of essential oils**. **Curr Med Chem**, v. 10, n. 10, p. 813-829, 2003.

KASNOWSKI, Maria Carmela; MANTILLA, Samira; OLIVEIRA, Luiz Antônio; FRANCO, Robson Maia. Formação De Biofilme Na Indústria De Alimentos E Métodos De Validação De Superfícies. **Universidade Federal Fluminense-UFF**, Niterói-RJ, 2010.

LINARD, Cybelle Façanha Barreto Medeiros. **Estudo do Efeito Antinociceptivo do Eugenol**. Universidade Estadual do Ceará Fortaleza, Tese (Mestrado em Ciências Fisiológicas), 2008.

LIMA Maiara pinto, BORGES milka azevedo, PARENTE rafael santos, JÚNIOR renan caldeira victória, OLIVEIRA maria emília. *Staphylococcus Aureus* E As Infecções Hospitalares – Revisão De Literatura. **REVISTA UNINGÁ**, V.21,n.1,p.32-39 (Jan-Mar 2015).

LUENGO Rita; CALBO, Adonai. Embalagens para Comercialização de Hortaliças e Frutas. Brasília; **Embrapa**, 2006.

MANO, Eloisa Biasotto ; MENDES, Luiz Cláudio. **Introdução A Polímeros**. 3. ed. São Paulo - Blucher, 1999.

MASSAFERA, Paulo. Efeito Alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol, Campinas-SP, 2003. **Brazilian Journal Of Batany**.

MEIRELES, C. da Silva. **Síntese e caracterização de membranas de acetato de celulose, obtido do bagaço de cana-de-açúcar, e blendas de acetato de celulose com poliestireno de**

**copos plásticos descartados.** Tese (Mestrado em Química). Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia –MG, Fevereiro de 2007.

MOHANTY, A. K., WIBOWO, A., MISRA, M. & DRZAL, L. T. (2003). Development of renewable resource-based cellulose acetate bioplastic: effect of process engineering on the performance of cellulosic plastics. **Polymer Engineer Science**, 43, pg. 1151-1161.

OLIVEIRA, Kelly Cristina Freire; SOARES, Luana Pereira; ALVES, Adriana Moreira **Revista Conhecimento & Inovação** - Irradiação: tecnologia boa para aumentar exportações de frutas, 2015.

OSTROSKY, A. Elissa. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. **REVISTA BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA**, vol.18 no.2 João Pessoa Apr./June 2008.

PROBST, Isabella. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação de potencial Sinérgico.** Tese (Mestrado em Biomoléculas), Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, p.13, 2012.

ROMERO, Rafaelle B; LEITE, C. A. P.; GONCALVE, M. **The effect of the solvent on the morphology of cellulose acetate/montmorillonite nanocomposites.** *Polymer*, v. 50, p. 161-170, 2009.

ROMERO, Adriano Lopes; OLIVEIRA, Ricardo Ribeiro, ROMERO, Rafaelle Bonzanini; ALMEIDA, Alessandra Lescano; DINIZ, Sergio Paulo Severo, VIDA, João Batista. Efeito de monoterpenos naturais no crescimento micelial e germinação de conídios de *Corynespora cassiicola*. **Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)**, Campo Mourão, 2013.

RUBIRA, Adley F. SILVA, Rafael; HARAGUCHI, Shirani K; MUNIZ, Edvani C. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. **Quím. Nova** vol.32, p.3 São Paulo, 2009.

SANTOS, André Luis; SANTOS, Dilvani Oliveira; FREITA, Cícero Carlos de; FERREIR, Bruno Leal Alves; AFONSO, Ilídio F; RODRIGUES, Carlos Rangel; CASTRO, Helena C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **JORNAL BRASILEIRO DE PATOLOGIA E MEDICINA LABORATORIAL**. J. Bras. Patol. Med. Lab. v.43 n.6 Rio de Janeiro Dec. 2007.

SARANTÓPOULOS, Claire; OLIVEIRA, Léa; PADULA, Marisa; COLTRO, Leda; ALVES, Rosa; GARCIA, Eloisa. **Embalagens plásticas flexíveis: Principais polímeros e avaliação de propriedades.** Campinas-SP, 2002 p.3-10.

SEAB – **Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento**; DERAL - **Departamento de Economia Rural** – Fruticultura- Análise de conjuntura agropecuária, dezembro de 2012. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/>. Acessado em 29 de abril de 2015.

SECEX - **Secretaria de Comercio Exterior**; DEPLA – **Departamento de Planejamento e Desenvolvimento do Comercio Exterior**, abril de 2015. Disponível em: <http://www.comexbrasil.gov.br/conteudo/ver/chave/secex/menu/211>. Acessado em 5 de maio de 2015.

SEBASTIÃO, Valter; CANEVAROLO, Junior. **Ciência dos polímeros: Um texto básico**. ed.3, 2010.

SILVA, Everton Menezes. Produção e Caracterização de filmes biodegradáveis de amido de Pinhão. **Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul**, Porto alegre, 2011.

SILVA, Thays; OLIVEIRA, Jordana; SOUZA, Sônia. Extração de Eugenol a Partir do Cravo da Índia e Produção de Sabonetes Aromatizados. **Revista Crase.edu** – IFG / Campus Inhumas –V. 01, n.01/ 2011.

SIMÕES, Cláudia Maria; MENTZ, Auler. **Óleos Essenciais. Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª edição, Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFRGS/UFSC; 2000.

SCHLISCHTING, Rodrigo. **Polimerização do Estireno na Presença de d-Limoneno Avaliação das Constantes da Taxa de Propagação e de Transferência de Cadeia**. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, Tese (Doutorado em Engenharia Química), 2008.

PROBST, Isabella. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação de potencial Sinérgico**. Tese (Mestrado em Biomoléculas), Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, p.13, 2012.

VIEIRA, Thays Badini. **Caracterização de *Escherichia coli* isolados de miúdos e carcaça com celulite por RAPD e detecção dos genes *issE* e *FEL* a por PCR**. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal), Universidade Federal Fluminense, 2010.

TELINEA, V.A. Óleo Essencial Eugenol – *Eugenia caryophyllus*, **Esthet Store Cosméticos** 2015.

UGALDE, Mariane Lobo. **Biofilmes ativos com Incorporação de óleos Essenciais**. Tese (Doutorado em Engenharia de alimentos), Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim- RS, 2014.