

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS BLUMENAU
COORDENADORIA ESPECIAL DE ENGENHARIA DE MATERIAIS
CURSO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS

Fernanda Yumi Kawasaki

**ESTUDOS DE LIBERAÇÃO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO
ESSENCIAL DE ORÉGANO EM FILMES POLIMÉRICOS À BASE DE
POLI(HIDROXIBUTIRATO-CO-HIDROXIVALERATO) E CAULINITA**

Blumenau

2022

Fernanda Yumi Kawasaki

Estudos de liberação e atividade antioxidante do óleo essencial de orégano em filmes poliméricos à base de poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) e caulinita

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Engenharia de Materiais da Coordenadoria Especial de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Larissa Nardini Carli
Coorientador: Ms. Renata Cerruti da Costa

Blumenau

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Kawasaki, Fernanda Yumi

Estudos de liberação e atividade antioxidante do óleo essencial de orégano em filmes poliméricos à base de poli(hidroxitirato-co-hidroxivalerato) e caulinita / Fernanda Yumi Kawasaki ; orientador, Larissa Nardini Carli, coorientador, Renata Cerruti da Costa, 2022.

74 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Blumenau, Graduação em Engenharia de Materiais, Blumenau, 2022.

Inclui referências.

1. Engenharia de Materiais. 2. Embalagem ativa. 3. Polímero biodegradável. 4. Óleo essencial de orégano. 5. Nanopartículas de argila. I. Carli, Larissa Nardini. II. Costa, Renata Cerruti da. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Engenharia de Materiais. IV. Título.

Fernanda Yumi Kawasaki

Estudos de liberação e atividade antioxidante do óleo essencial de orégano em filmes poliméricos à base de poli(hidroxitirato-co-hidroxitirato) e caulinita

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia de Materiais e aprovado em sua forma final pelo Curso de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Santa Catarina.

Blumenau, 09 de março de 2022.

Fernanda Yumi Kawasaki
Acadêmica

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Larissa Nardini Carli
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Ismael Casagrande Bellettini
Avaliador
Universidade Federal de Santa Catarina

Dr. Tales da Silva Daitx
Avaliador
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dedicatória

Este trabalho é dedicado à minha família, que me apoiou em todos os momentos da graduação.

AGRADECIMENTOS

À Deus por guiar a minha vida e me dar forças todos os dias.

Aos meus pais, Marcos Tsutomu Kawasaki e Meire Setsuko U. Kawasaki, e meus irmãos, Priscila Sayuri Kawasaki e Marcos Makoto Kawasaki, por toda a união, amor e apoio incondicional e por proporcionarem momentos inesquecíveis em minha vida. Muito obrigada por estarem ao meu lado e por me incentivarem a seguir meu caminho sempre com fé e esforço.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a Larissa Nardini Carli, por toda a ajuda neste período tão importante na minha vida. Muito obrigada pelos ensinamentos compartilhados, paciência, dedicação e apoio. Sou muito grata por ter sido sua aluna e pela confiança depositada em mim para a realização deste trabalho, proporcionando todas as condições de aprendizado.

Agradeço à minha coorientadora, Renata Cerruti da Costa, por toda a parceria no seu projeto de Doutorado, pela ajuda, disposição, paciência e dedicação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, processos nº 435650/2018 e 313599/2018-1, pelo apoio financeiro.

As alunas de iniciação científica, Daniela e Pamela, pelos conhecimentos divididos e apoio prestado durante a realização deste trabalho.

Aos meus colegas de curso, por toda a ajuda, pelo companheirismo e momentos de muitas risadas.

À Universidade Federal de Santa Catarina pela oportunidade de realização do curso.

A todos os professores que fizeram parte da minha vida acadêmica, pelos ensinamentos compartilhados.

A todos aqueles que contribuíram de forma direta ou indireta para o desenvolvimento deste trabalho, muito obrigada!

RESUMO

A fim de minimizar o impacto ambiental causado pelas embalagens plásticas convencionais, a utilização de polímeros naturais e biodegradáveis tem se tornado uma alternativa interessante para o desenvolvimento dessas embalagens, uma vez que reduzem o acúmulo de poluentes poliméricos e minimizam a ação do descarte inadequado desses materiais. Além do mais, com a intenção de prolongar o tempo de prateleira dos alimentos, tem-se desenvolvido embalagens ativas com a incorporação de aditivos naturais, capazes de interagir com o produto, minimizando o crescimento de microrganismos, a oxidação de determinados componentes de alimentos e protegendo o produto alimentício da permeação de gases através do filme plástico da embalagem. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi preparar filmes poliméricos ativos à base de poli(hidroxi-butilirato-co-hidroxi-valerato) – PHBV incorporando nanopartículas de caulinita e óleo essencial de orégano a fim de estudar a liberação do óleo nos filmes e a atividade antioxidante. Para isso, foram desenvolvidas quatro composições, incluindo filmes de PHBV puro e combinações com 3% m/m de caulinita e 8% m/m de óleo essencial de orégano. Os filmes obtidos foram moldados por compressão e caracterizados em relação à permeabilidade ao vapor de água e atividade antioxidante determinada pelo método de (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) – DPPH. Os resultados mostraram que os filmes contendo apenas óleo (PHBV/OEO) apresentaram um decréscimo na permeabilidade ao vapor de água enquanto para os filmes contendo argila (PHBV/Caulinita e PHBV/Caulinita/OEO) não houve uma diferença significativa em relação ao polímero puro. Tal comportamento pode ser justificado, em parte, pelo grau de dispersão e a interação da argila com matriz polimérica. Foi observado também que os filmes tendem a apresentar atividade antioxidante. De acordo com análises termogravimétricas, a quantidade de óleo presente nos filmes foi relativamente baixa, em torno de 1,55% para PHBV/OEO e 2,22% para PHBV/Caulinita/OEO. Adicionalmente, com a finalidade de acompanhar a difusão do óleo de orégano nos filmes, foi avaliada sua liberação em meio simulador de alimentos ao longo de 48 h. Os resultados mostraram que ambos os filmes apresentaram uma liberação gradual, sendo que o filme PHBV/Caulinita/OEO exibiu uma cinética de liberação mais lenta, liberando $29,6\% \pm 4,8\%$ de óleo no final de 48 h.

Palavras-chave: Polímeros biodegradáveis. Embalagens ativas. Nanocompósitos poliméricos. Óleo essencial de orégano. Atividade antioxidante.

ABSTRACT

In order to minimize the environmental impact caused by conventional plastic packaging, the use of natural and biodegradable polymers has become an interesting alternative for the development of these packaging, since they reduce the accumulation of polymeric pollutants and minimize the action of inappropriate disposal of these materials. Furthermore, to prolong the shelf life of foods, active packaging has been developed with the incorporation of natural additives, capable of interacting with the product, minimizing the growth of microorganisms, the oxidation of certain food components, and protecting the food product from permeation of gases through the plastic film. Therefore, the objective of this work was to prepare active polymeric films based on poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) - PHBV incorporating kaolinite nanoparticles and oregano essential oil to study the release of oil in the films and the antioxidant activity. For this, four compositions were prepared, including pure PHBV film and combinations with 3% w/w of kaolinite and 8% w/w of oregano essential oil. The films obtained were compression molded and characterized by water vapor permeability and the antioxidant activity by the (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) - DPPH method. The results showed that the films containing only oil (PHBV/OEO) showed a decrease in water vapor permeability while for the films containing clay (PHBV/Kaolinite and PHBV/Kaolinite/OEO) there was no significant difference in relation to the pure polymer. Such behavior can be explained, in part, by the degree of dispersion and the interaction of clay with polymer matrix. It was also observed that the films tend to present antioxidant activity. According to thermogravimetric analyses, the amount of oil in the films was relatively low, around 1,55% for PHBV/OEO and 2,22% for PHBV/Kaolinite/OEO. Additionally, to monitor the diffusion of oregano oil in the films, the release in simulated food media was evaluated over 48 h. The results showed that both films showed a gradual release. The PHBV/Kaolinite/OEO film exhibited slower release kinetics, releasing $29,6\% \pm 4,8\%$ of oil at the end of 48 h.

Keywords: Biodegradable polymers. Active packaging. Polymeric nanocomposites. Oregano essential oil. Antioxidant activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sistemas de embalagens ativas.....	7
Figura 2. Etapas da oxidação lipídica.....	9
Figura 3. Sistema de embalagem ativa antioxidante: (a) sistema que libera a substância antioxidante do material da embalagem diretamente para a superfície do alimento, se difundindo para este (esse sistema requer o contato direto com o alimento); e (b) sistema que libera a substância antioxidante volátil do material da embalagem para o espaço vazio desta, de onde serão absorvidos pelo alimento (nesse sistema, não há necessidade de contato direto com o alimento).....	10
Figura 4. Mecanismo do antioxidante por remoção de radical livre.	11
Figura 5. Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos.	12
Figura 6. Exemplos de componentes presentes na composição dos OE.	13
Figura 7. Mecanismo da reação entre o radical DPPH• e antioxidante "A".....	14
Figura 8. Fórmula estrutural de componentes majoritários de OEO.....	16
Figura 9. Classificação dos polímeros biodegradáveis.....	18
Figura 10. Estrutura química do copolímero PHBV.	19
Figura 11. Grânulos de PHB no interior das bactérias.	20
Figura 12. Ilustração dos diferentes estados de dispersão das nanopartículas com correspondentes resultados de MET.....	23
Figura 13. Esquema de passagem de vapor e gases em filmes produzidos com e sem argilas lamelares.....	25
Figura 14. Representação esquemática da estrutura cristalina da caulinita.....	27
Figura 15. Morfologia da caulinita obtida por (a) MET e (b) MEV.	28
Figura 16. Aparência dos filmes após moldagem por compressão	30
Figura 17. Desenho esquemático do conjunto (célula, filme e cloreto de cálcio) utilizado na análise das propriedades de barreira ao vapor de água dos filmes ativos.....	32
Figura 18. Ensaio de liberação para as composições de PHBV contendo OEO.	33
Figura 19 (A). Termogramas dos filmes contendo óleo essencial de orégano. Em detalhe, ampliação dos termogramas na temperatura de degradação do óleo.....	37
Figura 19 (B). Curva obtida na análise TGA: curva de DTG <i>versus</i> temperatura.....	38
Figura 20. Permeabilidade ao vapor de água.....	39

Figura 21. Espectro UV do óleo essencial de orégano (A) e a curva analítica do óleo essencial de orégano em isoctano (B).....	42
Figura 22. Curvas de liberação do óleo nos filmes: PHBV/OEO e PHBV/Caulinita/OEO.....	43
Figura 23. Gráficos da liberação obtidos automaticamente no software do Excel “ <i>DDSolver</i> ”.	45
Figura 24. Gráfico de absorvância <i>versus</i> comprimento de onda.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Propriedades físico-químicas e mecânicas do PHBV e do PP.	21
Tabela 2. Composição das misturas e filmes produzidos.....	30
Tabela 3. Modelos e respectivas equações para descrever os perfis de liberação controlada. .	34
Tabela 4. Determinação teor de óleo essencial de orégano presente nos filmes.	38
Tabela 5. Valores de n obtidos pelo modelo de Korsmeyer-Peppas	46
Tabela 6. Parâmetros estatísticos gerados nos modelos matemáticos.....	47
Tabela 7. Atividade antioxidante dos filmes de PHBV contendo OEO.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASTM – American Society for Testing and Materials
BHA – butil hidroxianisol
BHT – butil hidroxitolueno
TBHQ – terc butil hidroquinona
HB – hidroxibutirato
HV – hidroxivalerato
DPPH – 2,2-difenil-1-picrilhidrazil
DPPH-H – 2,2-difenil-1-picrilhidrazina
DTG – derivada da curva da análise termogravimétrica
FDA – *Food and Drug Administration*
GRAS – *Generally Recognized As Safe*
MET – microscopia eletrônica de transmissão
MMT – montmorilonita
OMMT – montmorilonita modificada organicamente
OE – óleo essencial
OEO – óleo essencial de orégano
PCL – policaprolactona
PEAD – polietileno de alta densidade
PEBD – polietileno de baixa densidade
PEG – polietilenoglicol
PET – poli(tereftalato de etileno)
PHA – polihidroxialcanoatos
PHB – polihidroxibutirato
PHBV – poli(hidroxibutirato-*co*-hidroxivalerato)
PLA – poli(ácido lático)
PP – polipropileno
PS – poliestireno
PVA – poli(acetato de vinila)
TEC – trietilcitrato

TGA – análise termogravimétrica

UV-Vis – Ultravioleta visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	OBJETIVOS	5
1.1.1	Objetivo Geral.....	5
1.1.2	Objetivos Específicos	5
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
2.1	EMBALAGENS ATIVAS	6
2.1.1	Embalagens ativas antioxidantes	8
2.1.1.1	<i>Processos oxidativos e antioxidantes</i>	8
2.1.1.2	<i>Óleos essenciais.....</i>	12
2.1.1.2.1	Óleo essencial de orégano (OEO).....	16
2.2	POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS	17
2.2.1	Poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) – PHBV.....	19
2.3	NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS.....	21
2.3.1	Caulinita	27
3	MATERIAIS E MÉTODOS	29
3.1	MATERIAIS.....	29
3.2	PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	29
3.3	TEOR DE ÓLEO NOS FILMES.....	30
3.4	PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA	31
3.5	ESTUDO DE LIBERAÇÃO DO ÓLEO DE ORÉGANO.....	33
3.5.1	Avaliação do comportamento cinético após o ensaio de liberação do OEO... 34	34
3.6	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS FILMES PELO MÉTODO DE DPPH ...	35
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	37
4.1	TEOR DE ÓLEO NOS FILMES.....	37
4.2	PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA.....	39

4.3	ENSAIO DE LIBERAÇÃO DO ÓLEO DE ORÉGANO	41
4.3.1	Aplicação de modelos cinéticos às curvas de liberação do óleo de orégano ...	44
4.4	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS FILMES PELO MÉTODO DE DPPH ...	47
	CONCLUSÃO.....	50
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

1 INTRODUÇÃO

A utilização de embalagens para a conservação de alimentos significou um grande avanço para os hábitos dos consumidores, facilitando o manuseio e garantindo a segurança alimentar de diversos produtos alimentícios (BRAGA; SILVA, 2017). Presentes em todas as etapas do ramo alimentício, desde a esteira das máquinas até consumidor final, as embalagens desempenham um papel importante na conservação, distribuição e comercialização do alimento. Algumas funções básicas são acondicionar o alimento, proteger contra danos físicos e mecânicos e, principalmente, atuar como uma barreira a fatores externos como umidade, trocas gasosas, luz, diferenças de temperatura, desenvolvimento de microrganismos, além de prevenir a migração de seus próprios compostos para o alimento (BARÃO, 2011). Outros aspectos importantes das embalagens são as funções de comunicação, marketing e comodidade (MARTINS, 2018).

Dependendo da perspectiva em que são observadas, as embalagens podem apresentar diferentes definições. De acordo com Lautenschlager (2001 *apud* LANDIM *et al.*, 2016), para o consumidor, a embalagem é um meio de satisfazer o desejo de consumo do produto, contendo informações legais sobre o nome e tipo de produto, data de consumo, valor nutricional e instrução de preparação, armazenamento e uso; para o *marketing*, a embalagem é um recurso de exposição permanente do produto para o consumidor; para o setor de *design*, a embalagem é a forma de proteção até chegar ao consumidor; para a engenharia industrial é o meio de proteção do produto no transporte e armazenamento (BARÃO, 2011).

Contudo, a fim de desenvolver embalagens que, além de proteger, promovam uma interação benéfica com o produto em seu interior, aumentando seu prazo de validade e garantindo a qualidade e a segurança alimentar, surgiram as embalagens denominadas embalagens ativas (BRAGA e SILVA, 2017; AZEREDO, 2012).

Esse tipo de embalagem possui em sua constituição ou no seu interior um composto ativo capaz de interagir com o alimento ou com o espaço livre entre a embalagem e o alimento de forma desejável, com o propósito de proteger, aumentar a vida de prateleira, preservar as propriedades sensoriais (aparência, aroma, consistência, textura) e assegurar a qualidade e a durabilidade do alimento (SUPPAKUL *et al.*, 2003 *apud* BRAGA e SILVA, 2017). O mecanismo de ação protetora dessas embalagens ocorre através da liberação

controlada desses compostos ativos para o alimento embalado ou para o ambiente da embalagem, ou pela absorção de compostos indesejáveis que aceleram a degradação do produto alimentício (BRAGA e SILVA, 2017; SOUZA, 2018).

A oxidação é uma das causas mais frequentes de deterioração e perda de vida útil dos alimentos (KUAI *et al.*, 2021), sendo responsável por várias alterações que provocam a perda do valor nutricional, alteração das características sensoriais, formação de compostos tóxicos e, conseqüentemente, a rejeição do produto pelo consumidor. Muitas pesquisas têm sido desenvolvidas na produção de embalagens ativas com a incorporação de aditivos antioxidantes na composição do material da embalagem, com o intuito de inibir ou retardar o processo oxidativo dos alimentos. Os antioxidantes são substâncias capazes de diminuir, retardar ou prevenir as reações de oxidação, podendo reagir com radicais livres ou interromper a cadeia de propagação da oxidação (RAMALHO; JORGE, 2006).

A utilização de embalagens ativas antioxidantes, especialmente em alimentos sensíveis à oxidação lipídica, é de grande interesse para a indústria de alimentos, uma vez que possibilita a substituição de conservantes químicos por aditivos mais naturais, além de possibilitar a redução do teor de aditivo adicionado, uma vez que a liberação irá ocorrer de forma gradativa e contínua na superfície do alimento, onde a maior parte das reações oxidativas ocorrem (MARTINS, 2018). Atualmente, são empregados tanto antioxidantes sintéticos, como butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT) e butil hidroxiquinona (TBHQ), como também aditivos de origem natural, como os ácidos fenólicos (α -tocoferol), extrato de plantas e óleos essenciais.

O uso de antioxidantes sintéticos tem sido alvo de questionamento devido a sua possível toxicidade à saúde humana. Com isso, existe uma crescente preferência pelo uso de antioxidantes naturais (RAMALHO; JORGE, 2006). Neste cenário, os óleos essenciais tendem a ser uma alternativa aos sintéticos, pois são substâncias voláteis naturais de origem vegetal classificadas pela *Food and Drug Administration* (FDA) como compostos reconhecidos como seguros (GRAS – *Generally Recognized as Safe*), o que os torna atrativos ao consumidor (BURT, 2004; BALAN, 2020).

No que se diz respeito à composição das embalagens de alimentos, é muito comum o uso de polímeros derivados do petróleo, como o polietileno e polipropileno, devido a suas propriedades como o baixo custo, leveza, excelentes propriedades mecânicas e térmicas,

versatilidade e praticidade. Este setor corresponde cerca de 39,6% do consumo mundial do plástico, com crescimento anual da produção física de 6,8% (ABRE, 2020). Contudo, essas mesmas propriedades fazem destes materiais poliméricos um sério agente poluidor, uma vez que quando descartados no meio ambiente levam um intervalo de 250 a 400 anos para se degradarem, gerando um grande acúmulo de resíduos. De acordo, com a pesquisa da FAPESP (2019), estima-se que anualmente sejam produzidos 200 milhões de toneladas de plásticos em todo o mundo e em 2030 a projeção é de que sejam produzidos 550 milhões de toneladas. Em 2018, o Brasil foi considerado o quarto maior produtor de resíduo plástico, com 11,3 milhões de toneladas (PORTAL WWF, 2019).

Por esse motivo, pesquisas relacionadas ao uso de polímeros biodegradáveis oferece uma solução interessante para a substituição de polímeros convencionais, uma vez que esses polímeros se degradam pela ação de microrganismos naturais como bactérias, fungos e algas (BRANDOLT, 2015). Dentre os polímeros biodegradáveis, destaca-se o poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) (PHBV), um polímero pertencente à família dos polihidroxicanoatos (PHA), natural, biodegradável, biocompatível e que apresenta propriedades físicas semelhantes aos polímeros convencionais utilizados no setor de embalagens de alimentos. No entanto, alguns fatores dificultam sua aplicabilidade em larga escala, tais como alta cristalinidade, a dificuldade de processamento e elevado custo de produção em relação aos polímeros provenientes do petróleo (CHEN *et al.*, 2002).

Diante disso, possíveis alternativas têm sido estudadas para minimizar estes problemas. Entre elas, encontram-se estudos focados na produção de nanocompósitos, utilizando argilas como material de reforço. A incorporação de pequenas quantidades de argilas nas matrizes poliméricas, geralmente menores que 5% em massa, proporciona melhorias nas propriedades mecânicas, térmicas e de barreira em relação ao polímero puro ou compósitos convencionais, devido à dispersão polímero-argila em escala nanométrica (BRANDOLT, 2015; THEOBALD, 2019; COSTA *et al.*, 2020).

No caso de embalagens ativas biodegradáveis, essa alternativa se torna bastante interessante pois além de melhorar as propriedades mecânicas, também confere uma maior propriedade de barreira à permeação de vapor de água e gases, através da criação de um caminho tortuoso que retarda a difusão de moléculas gasosas através da matriz polimérica, evitando assim que o alimento perca suas características sob a influência do ambiente externo.

A utilização das nanopartículas de argila proporciona, também, um aumento na eficácia das propriedades funcionais dessas embalagens, uma vez que contribuem para que os compostos ativos não se difundam facilmente pela matriz, permitindo assim um ajuste adequado para a liberação desses ativos, sem que ocorra rapidamente e, desta maneira, garantindo que a atividade seja mantida por longos períodos (SILVA 2012; RADAELLI, 2017; COSTA *et al.*, 2020).

Dentro deste contexto, este trabalho teve como proposta estudar a influência da argila e do óleo essencial de orégano em filmes poliméricos à base de PHBV com o intuito de utilizar como materiais de embalagens ativas de alimentos. Para isso, foram realizadas análises termogravimétricas para determinar a quantidade de óleo presente nos filmes, avaliações de permeabilidade ao vapor de água, ensaio de liberação do óleo em isoctano e atividade antioxidante.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Estudar a liberação do óleo essencial de orégano em isoctano e a atividade antioxidante de filmes poliméricos à base de PHBV contendo nanopartículas de caulinita e óleo essencial de orégano para possível aplicação em embalagens de alimentos.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Estudar a influência das nanopartículas nos diferentes sistemas preparados, comparando as formulações sem caulinita e o sistema PHBV/Caulinita/Óleo nas propriedades de barreira;
- Caracterizar os filmes quanto à permeabilidade ao vapor de água, de modo a verificar o efeito da nanopartícula nas propriedades de barreira;
- Compreender o comportamento cinético do óleo essencial de orégano nos diferentes sistemas através da liberação em meio simulador de alimentos gordurosos;
- Avaliar a atividade antioxidante dos filmes contendo óleo essencial de orégano através do método de DPPH.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 EMBALAGEM ATIVAS

A embalagem desempenha um papel fundamental na indústria de alimentos, uma vez que é projetada para garantir diferentes funcionalidades, tais como conter, conservar e proteger o alimento, promover informação entre os produtores e consumidores, facilitar o transporte do produto durante todo o processo de cadeia de abastecimento, entre outros (JORGE, 2013; BRAGA; SILVA, 2017).

Desta forma, a embalagem pode ser definida como um meio que acondiciona o alimento e possui como uma das principais funções manter a integridade do seu conteúdo durante toda sua vida útil. Isto é, deve proteger o alimento tanto de danos físicos e mecânicos provocados pelo transporte, armazenamento e distribuição, quanto de fatores externos, tais como desenvolvimento microbiano, entrada de oxigênio, absorção ou perda de umidade, odores indesejados, migração de componentes da própria embalagem para o produto, entre outros, atuando, assim, como uma barreira inerte que impeça ou dificulte o contato do ambiente externo com o produto em seu interior (AZEREDO, 2012).

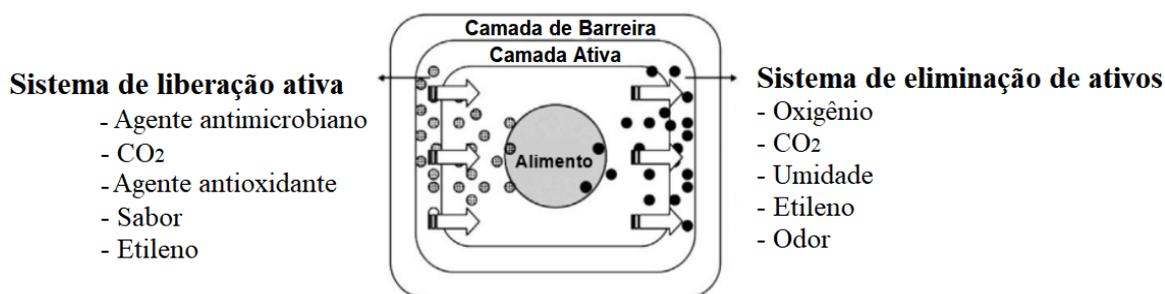
Com a crescente dinâmica do mundo atual, consumidores buscam cada vez mais produtos naturais, isentos de conservantes químicos e prontos para o consumo, associado com a internacionalização de mercadorias, que impacta na logística de distribuição e na necessidade de aumentar o período de armazenamento dos alimentos. Novas tecnologias vêm sendo desenvolvidas com o princípio de promover uma interação mútua entre embalagem, o produto e o ambiente, de modo a prolongar a vida de prateleira desses alimentos e, conseqüentemente, diminuir as perdas por deterioração (MEDEIROS, 2017; ARAÚJO, 2019). A estas tecnologias dá-se o nome de embalagens ativas (AZEREDO, 2012).

Assim, diferentemente das embalagens convencionais, onde se busca uma mínima interação entre os materiais da embalagem e o alimento que acondicionam, as embalagens ativas possuem em sua constituição ou no seu interior substâncias ativas capazes de interagir intencionalmente com o alimento ou com o espaço que se localiza entre a embalagem e o alimento, criando condições que minimizam sua deterioração (MEDEIROS, 2017; SOUZA, 2018). Dessa maneira, além de atuar como uma barreira a fatores externos, estas embalagens

desempenham um papel ativo na preservação dos alimentos, aumentando a sua vida de prateleira, mantendo a segurança e a qualidade e, até mesmo, melhorando suas características sensoriais (VERMEIREN *et al.*, 2002 *apud* SOARES *et al.*, 2009), além de reduzirem a quantidade de aditivos sintéticos adicionados diretamente no alimento (SOUZA, 2018).

Estas embalagens podem ser divididas em dois tipos de sistema, como mostra a Figura 1. Os sistemas absorvedores (ou de eliminação de ativos) removem os compostos indesejáveis no espaço livre da embalagem ou ao redor do alimento, como oxigênio, dióxido de carbono, água e outros compostos específicos que aceleram a degradação do produto alimentício. Já os sistemas emissores (ou de liberação ativa) incorporam substâncias ativas no material da embalagem, como por exemplo, agentes antimicrobianos, antioxidantes, aromatizantes, entre outros, de onde serão liberadas gradativamente para o alimento embalado ou para o ambiente da embalagem (BRAGA; SILVA, 2017).

Figura 1. Sistemas de embalagens ativas.



Fonte: adaptado de YILDIRIM; RÖCKER, 2018.

Como exemplos de embalagens ativas presentes na indústria de alimentos, tem-se os absorvedores de oxigênio, reguladores de umidade, emissores de etanol, absorvedores de etileno, absorvedores de odores e sabores desagradáveis, sistema de liberação de aditivos (antimicrobianos e antioxidantes), entre outros (AZEREDO, 2012).

Outros exemplos de destaque para a preservação e aumento do período de armazenamento de produtos são as embalagens ativas antimicrobianas e antioxidantes, onde os compostos ativos são incorporados diretamente ao material da embalagem no processo de transformação do polímero ou imobilizados quimicamente e aplicados como revestimento com a finalidade de reduzir, inibir ou retardar o crescimento de microrganismos e/ou reações

oxidativas, através da liberação controlada desses agentes para o alimento embalado ou para o ambiente da embalagem (YILDIRIM; RÖCKER, 2018).

Numerosos estudos têm demonstrado a eficiência e a aplicabilidade dessas embalagens (MEDEIROS *et al.*, 2016; KWON *et al.*, 2017; LIMA, 2018; SOUZA, 2018; CASTRO, 2018; MARTINS, 2018). Em um trabalho realizado por Lima Júnior (2016), filmes de poli(3-hidroxiбутirato) (PHB) incorporados com nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) foram desenvolvidos com a finalidade de avaliar sua ação antimicrobiana na presença da bactéria *Escherichia coli*. Os resultados foram positivos para os filmes de PHB contendo 5% de ZnO, demonstrando que a atividade antimicrobiana foi confirmada devido à presença de halo de inibição do crescimento da bactéria ao redor do filme, mostrando ser promissor em aplicações na indústria de embalagens para alimentos (LIMA JÚNIOR, 2016). Em um outro trabalho, filmes biodegradáveis comestíveis à base de amido de mandioca, plastificados com glicerol e incorporados com polpa de manga (0-20% m/m) e de extrato aquoso de erva-mate (0-30% m/m), como compostos ativos na conservação do azeite de dendê, foram investigados por Reis (2011). Os resultados demonstraram que a incorporação desses compostos ativos contribuiu para diminuição da oxidação do azeite de dendê embalado no biomaterial durante 45 dias de armazenamento, atuando assim, como agentes antioxidantes (REIS, 2011).

2.1.1 Embalagens ativas antioxidantes

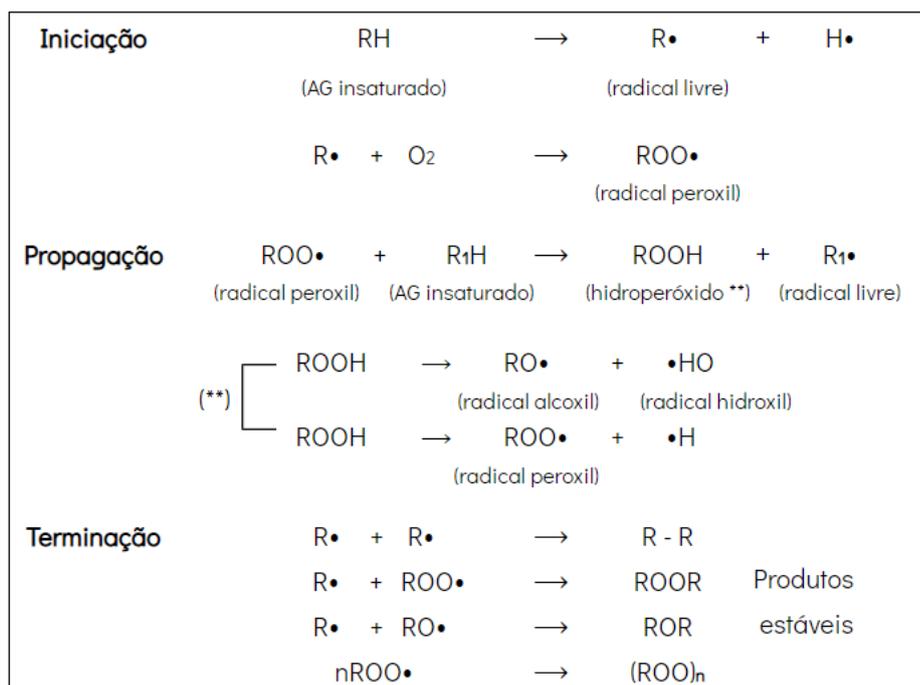
2.1.1.1 Processos oxidativos e antioxidantes

A presença de oxigênio nas embalagens de alimentos é fator importante a se considerar durante a estocagem do alimento. A maioria dos alimentos, principalmente ricos em lipídios, são suscetíveis às reações de oxidação, resultando no desenvolvimento de características que tornam o produto impróprio para o consumo, como o aparecimento de sabores e odores desagradáveis, perdas nutricionais e, ainda, a formação de substâncias potencialmente tóxicas (SOARES *et al.*, 2012; BARON *et al.*, 2020). Devido a essas alterações indesejáveis nos alimentos, a oxidação é considerada uma das principais reações de degradação, limitando a vida de prateleira.

De acordo com Ramalho e Jorge (2006), os alimentos que apresentam maiores porcentagens de lipídios insaturados, como por exemplo castanhas, nozes e carnes, são mais suscetíveis a sofrer o processo de oxidação devido às reações que ocorrem entre o oxigênio atmosférico e os ácidos graxos insaturados presentes nos lipídeos (RAMALHO; JORGE, 2006).

A oxidação lipídica é um fenômeno espontâneo e inevitável, que envolve uma série de reações químicas complexas resultantes das reações do oxigênio atmosférico com ácidos graxos insaturados presentes na constituição dos lipídios. Estas reações ocorrem em cadeia, retratada por três fases: iniciação, propagação e terminação, conforme esquematizadas na Figura 2 (VAZ, 2015; AZEREDO, 2012).

Figura 2. Etapas da oxidação lipídica.



Fonte: adaptado de VAZ, 2015.

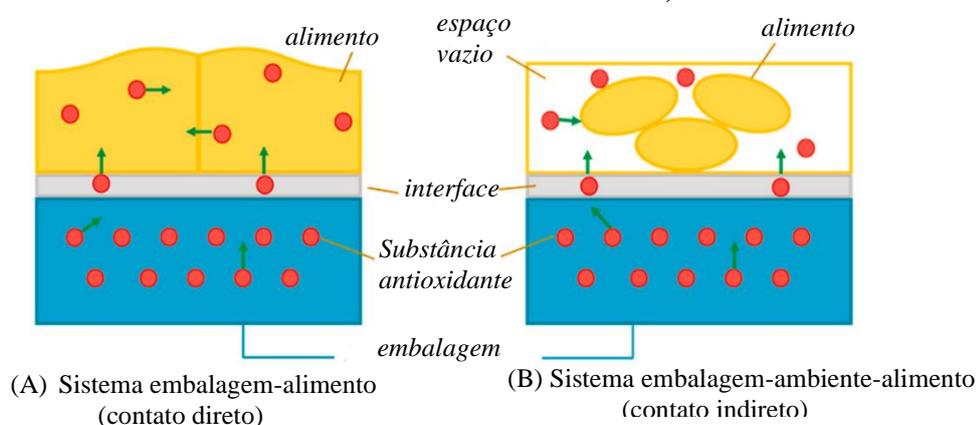
Na fase inicial, as reações químicas ocorrem devido a fatores externos e internos, como altas temperaturas e luz que geram instabilidade nas insaturações dos ácidos graxos (RH), possibilitando a quebra das insaturações e permitindo assim a formação de radicais livres (R•). Esses radicais livres, quando na presença de oxigênio, são convertidos em outros radicais instáveis, os radicais peróxidos (ROO•).

Na segunda fase, os radicais livres provenientes da primeira fase continuam a combinar-se com o oxigênio formando mais radicais peróxidos que, por sua vez, reagem com um átomo de hidrogênio de outro ácido graxo insaturado, originando os produtos primários da oxidação, os hidroperóxidos (ROOH). Esses radicais atuam como propagadores da reação.

Na fase final, a terminação, os produtos primários da oxidação que são moléculas instáveis, se degradam facilmente e os produtos voláteis de sua degradação, denominados como produtos secundários da oxidação – aldeídos, cetonas e álcoois – são os responsáveis por conferirem sabores e odores não desejáveis nos alimentos, resultando na condição de ranço (AZEREDO, 2012; VAZ, 2015; CASTRO, 2018).

Dessa maneira, com o intuito de diminuir ou retardar a taxa de oxidação dos alimentos, preservando sua qualidade e, conseqüentemente, aumentando seu prazo de validade, a indústria utiliza sistemas de embalagens ativas que incorporam substâncias antioxidantes nos materiais da embalagem, de onde serão liberadas gradativamente para a superfície do alimento ou no espaço vazio em que se localiza o alimento e a embalagem, inibindo as reações de oxidação, conforme ilustrada na Figura 3 (RAMALHO; JORGE, 2006).

Figura 3. Sistema de embalagem ativa antioxidante: (A) sistema que libera a substância antioxidante do material da embalagem diretamente para a superfície do alimento, se difundindo para este (esse sistema requer o contato direto com o alimento); e (B) sistema que libera a substância antioxidante volátil do material da embalagem para o espaço vazio desta, de onde serão absorvidos pelo alimento (nesse sistema, não há necessidade de contato direto com o alimento).



Fonte: adaptado de KUAI *et al.*, 2021.

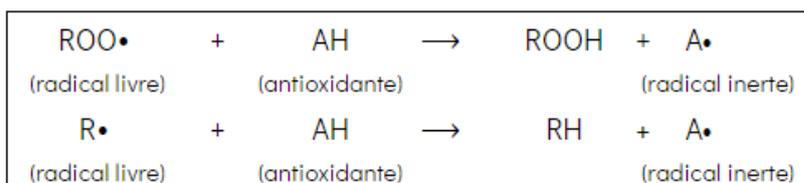
Para a produção dessas embalagens, os antioxidantes podem ser aplicados em diferentes formas, incluindo dispositivos independentes na forma de sachês e etiquetas adesivas contendo antioxidante volátil, por adsorção física/revestimento na superfície do material de embalagem, incorporados na matriz polimérica e através de imobilização covalente na superfície de contato (SOUZA, 2018).

De acordo com Martins (2018), a incorporação de antioxidantes diretamente nas matrizes poliméricas pode melhorar a segurança e a preservação da qualidade do alimento, já que o agente antioxidante não faz parte da formulação do alimento, o que poderia levar ao comprometimento das características sensoriais do mesmo. Além disso, com a interação mútua do filme, alimento e o ambiente em que está inserido, a liberação dos antioxidantes ocorre de forma controlada sobre a superfície do alimento, evitando, assim, a oxidação e a formação de odores e sabores indesejáveis (MARTINS, 2018).

Os antioxidantes são definidos como substâncias que, mesmo presentes em baixas concentrações, apresentam a capacidade de intervir na iniciação ou propagação das reações em cadeia de oxidação que originam compostos tóxicos como cetonas, aldeídos, hidrocarbonetos e álcoois, de tal maneira a retardar, neutralizar ou, até mesmo, prevenir o desenvolvimento de sabor rançoso ou outras deteriorações aromáticas em alimentos, decorrentes da oxidação (SILVA, 2015; ROSAS, 2019).

A ação antioxidante pode ocorrer por diferentes mecanismos: capturando o oxigênio do meio; complexando com íons metálicos que catalisam a oxidação lipídica, decompondo os hidroperóxidos formados e removendo radicais livres formados durante as etapas de iniciação e propagação por meio da doação de um átomo de hidrogênio do grupo hidroxila para o radical livre, impedindo o processo oxidativo e formando radicais inertes (A•) (Figura 4). (SOUZA, 2018; SILVA, 2009).

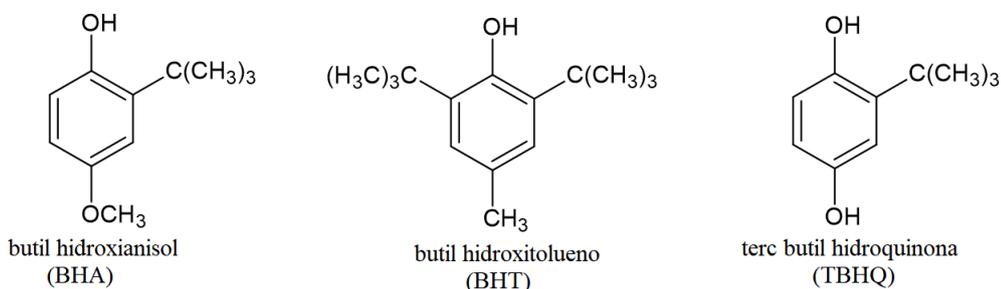
Figura 4. Mecanismo do antioxidante por remoção de radical livre.



Fonte: adaptado de RAMALHO; JORGE, 2006.

Os principais antioxidantes sintéticos utilizados na indústria de alimentos são butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT) e terc butil hidroquinona (TBHQ) (RÉ; JORGE, 2012) (Figura 5). Contudo, como o emprego de antioxidantes sintéticos tem sido alvo de questionamentos quanto à sua possível toxicidade e efeitos carcinogênicos, o seu uso em alimentos é limitado. No Brasil, o uso destes antioxidantes é controlado pelo Ministério da Saúde, que limita a 200 mg/kg para BHA e 100 mg/g para BHT, como concentrações máximas permitidas (RAMALHO; JORGE, 2006).

Figura 5. Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos.



Fonte: adaptado de RAMALHO; JORGE, 2006.

Por esse motivo, a indústria alimentícia tem investido cada vez mais em pesquisas voltadas para a utilização, preferencialmente, de antioxidantes naturais (CASTRO, 2018). Dentre os antioxidantes naturais, destacam-se tocoferóis, ácido ascórbico (vitamina C), óleos essenciais e outros compostos naturais (RAMALHO; JORGE, 2006; SOUZA, 2018).

2.1.1.2 Óleos essenciais

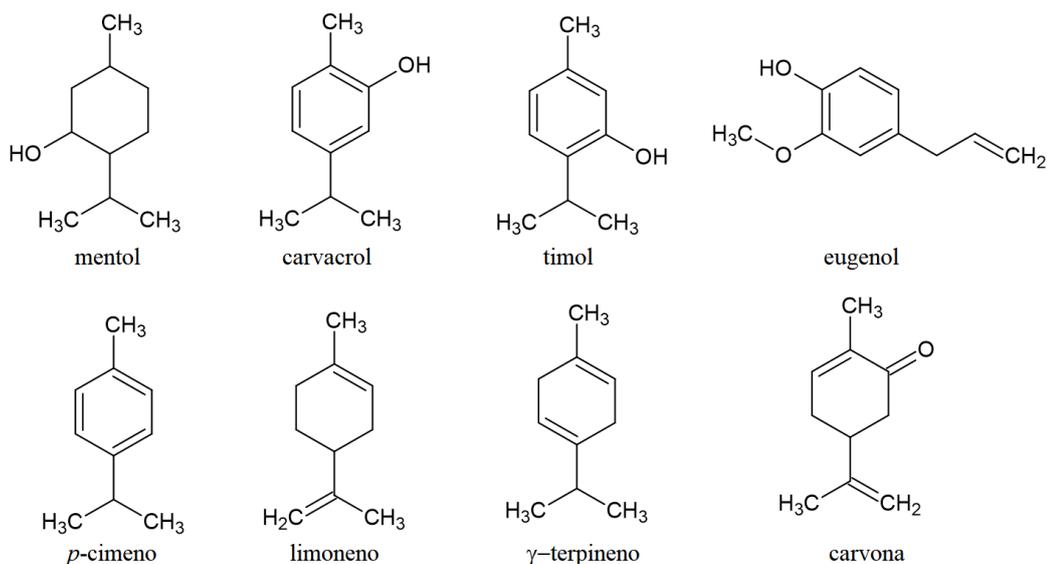
Os óleos essenciais (OE), também chamados óleos voláteis ou etéreos, são obtidos através de destilação/extração de diferentes partes de plantas, como raízes, sementes, flores, folhas, entre outras (BURT, 2004). São substâncias naturais voláteis de origem vegetal e se destacam por apresentarem um amplo espectro de atividade biológica, incluindo propriedades antimicrobianas e antioxidantes (UGALDE, 2014).

Além disso, segundo a *U.S. Food and Drug Administration* (FDA), são substâncias naturais de origem vegetal classificadas como GRAS (*Generally Recognized as Safe*-

Geralmente Considerado como Seguro), o que os tornam uma alternativa interessante para a substituição de aditivos sintéticos, proporcionando benefícios tanto para o alimento quanto para o consumidor (BURT, 2004; BALAN, 2020).

A sua composição está diretamente relacionada à origem da matéria-prima, ao estágio de desenvolvimento e à parte da planta utilizada na extração, às condições de cultivo e ao processo de extração do óleo (KALEMBA; KUNICKA, 2003). Quimicamente, são constituídos de diferentes componentes como terpenos e seus derivados (carvacrol, timol, eugenol, terpineno, limoneno e carvona), aldeídos, cetonas, álcoois e fenóis, sendo que, geralmente, um deles é o componente majoritário, podendo representar até 80% ou mais da composição do OE. Estes componentes majoritários são os responsáveis por determinar as suas propriedades biológicas (BURT, 2004). A Figura 6 apresenta alguns desses componentes presentes nos OE.

Figura 6. Exemplos de componentes presentes na composição dos OE.



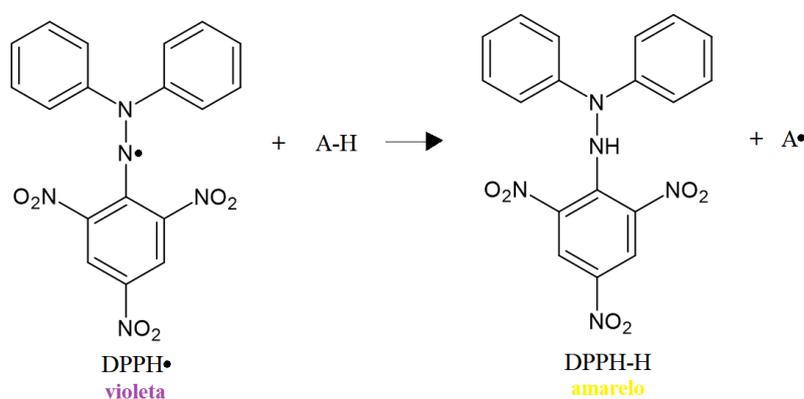
Fonte: adaptado de BURT, 2004.

As atividades biológicas dos OE estão relacionadas, principalmente, com a presença de compostos fenólicos, como timol, carvacrol e eugenol (PINELLI, 2018; RÉ; JORGE, 2012). De acordo com Ré e Jorge (2012), o efeito antioxidante dos OE é atribuído aos grupamentos de hidroxilas em seus compostos fenólicos. Estes compostos participam de mecanismos de defesa contra danos oxidativos causados por espécies reativas de oxigênio,

doando átomos de hidrogênio para os radicais livres, formando radicais estáveis e, consequentemente, evitando o processo oxidativo (RÉ; JORGE, 2012; SOUZA, 2018).

Dentre as diversas metodologias empregadas para avaliar a eficácia da atividade antioxidante dos compostos bioativos, destaca-se o ensaio de sequestro de radical livre do 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). Este ensaio consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical DPPH• – um radical estável de coloração violeta que absorve no comprimento de onda de 515 nm – que na presença de antioxidantes doadores de hidrogênio é reduzido, formando 2,2-difenil-1-picrilhidrazina (DPPH-H), de coloração amarela. Essa redução do radical é monitorada, espectrofotometricamente, pela diminuição da absorbância em um comprimento de onda específico. A Figura 7 mostra um exemplo do mecanismo da reação. Na ausência da atividade antioxidante, não haverá a redução da solução de DPPH e alteração de cor. Assim, a atividade sequestradora de radical DPPH dos compostos será maior quanto maior e mais rápida for a descoloração da solução (MARTINS, 2018).

Figura 7. Mecanismo da reação entre o radical DPPH• e antioxidante "A".



Fonte: adaptado de OLIVEIRA, 2015.

Diversos estudos têm sido desenvolvidos visando verificar a potencialidade dos antioxidantes naturais na elaboração de filmes ativos. Dentre os OE conhecidos por apresentarem um potencial antioxidante significativo estão os de alecrim, orégano, manjerição, sálvia, tomilho, gengibre, cravo-da-índia e canela (SOUZA, 2018; RÉ; JORGE, 2012; BALAN, 2020).

Galindo *et al.* (2019) analisaram o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante *in vitro* pelo método de sequestro de radical livre de DPPH dos óleos essenciais de orégano e alecrim incorporados em filmes comestíveis de quitosana e gelatina obtidos por *casting*. Os resultados demonstraram que ambos os filmes apresentaram atividade antioxidante, sendo que os filmes contendo óleo essencial de orégano exibiram uma maior atividade antioxidante em relação aos filmes com óleo essencial de alecrim. Isso foi justificado devido à presença majoritariamente de compostos fenólicos encontrados no óleo essencial de orégano, como o carvacrol, timol e aos componentes *p*-cimeno e γ -terpineno (GALINDO *et al.*, 2019).

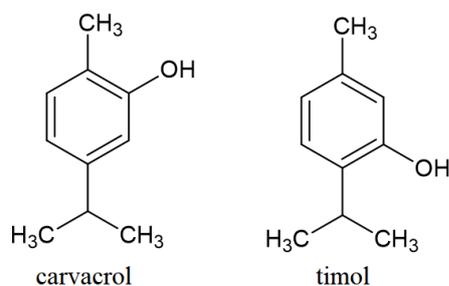
Müller (2016) avaliou a aplicação de filmes biodegradáveis obtidos por extrusão contendo amido de pinhão e de mandioca, acrescidos de poli(adipato-*co*-tereftalato de butileno) (PBAT) e incorporados com extratos de alecrim, chá verde e erva-mate nas concentrações de 0,5, 0,75 e 1,0% em massa, como fontes de compostos ativos na conservação da manteiga orgânica durante 60 dias a 5°C. Os resultados demonstraram que os compostos diminuíram significativamente a oxidação da manteiga orgânica embalada durante o armazenamento, sendo que os melhores resultados foram obtidos para os filmes com 1% de extrato de alecrim, seguidos dos filmes com extrato de erva-mate e com extrato de chá-verde. Além disso, verificou-se que os filmes que apresentaram as melhores ações antioxidantes foram os que tiveram maiores reduções de compostos fenólicos durante o armazenamento, comprovando, desta maneira, que a presença destes compostos pode ser a responsável por impedir e/ou retardar a oxidação da manteiga orgânica (MÜLLER, 2016).

No que se refere às propriedades mecânicas, estudos indicam que a adição de OE pode reduzir a tensão máxima e aumentar a deformação específica de filmes poliméricos, devido às características plastificantes do óleo. Os OE interagem com a matriz polimérica provocando um aumento na mobilidade das cadeias poliméricas em virtude do enfraquecimento das interações intermoleculares (ALVES *et al.*, 2006; ROJAS, 2010; PELISSARI *et al.*, 2009; BALAN, 2020). Somado a estas modificações, os OE tendem a diminuir a permeabilidade e solubilidade em água dos filmes devido à sua natureza hidrofóbica, que pode interromper a penetração das moléculas de água, reduzindo a permeação do vapor (MANSO *et al.*, 2014 *apud* KUAI *et al.*, 2021; MÜLLER, 2016).

2.1.1.2.1 Óleo essencial de orégano (OEO)

Origanum vulgare L., comumente conhecido como orégano, é uma erva perene, aromática e condimentar, pertencente à família *Lamiaceae*, originária da Ásia e Europa mediterrânea (PAULO; BALAN; SHIRAI, 2021). Em sua composição, o OEO é constituído majoritariamente de 85% de dois compostos fenólicos, o carvacrol e o timol (Figura 8). Outros componentes presentes no óleo, em menores quantidades, são os hidrocarbonetos monoterpênicos (α -pineno, β -pineno, *p*-cimeno), sesquiterpenos (β -cariofileno), linalol, terpinen-4-ol (BURT, 2004).

Figura 8. Fórmula estrutural de componentes majoritários de OEO.



Fonte: adaptado de BURT, 2004.

Estes componentes fenólicos (carvacrol e timol) são os principais responsáveis pela atividade antioxidante do OEO devido à presença do grupo hidroxila na sua estrutura. Assim, a inibição da oxidação do alimento ocorre em virtude do átomo de hidrogênio ligado ao oxigênio do grupo fenol que pode ser doado ao radical livre, formando radicais estáveis e, conseqüentemente, evitando o processo oxidativo (RÉ; JORGE, 2012; SOUZA, 2018).

Somado à atividade antioxidante, vários estudos relatam a atividade antimicrobiana do OEO devido à presença dos compostos fenólicos e aos hidrocarbonetos monoterpênicos *p*-cimeno e γ -terpineno (BURT, 2004). Estes compostos agem diretamente na membrana citoplasmática, tornando-a mais permeável e, conseqüentemente, impedindo a sobrevivência de bactérias patogênicas (BURT, 2004; KWON *et al.*, 2017; MEDEIROS *et al.*, 2016, PELISSARI *et al.*, 2006). No estudo realizado por Botre *et al.* (2010), foi observado que OEO incorporado em filme de base celulósica nas concentrações de 25% e 50% (m/m) apresentou efeito inibitório *in vitro* para *Penicillium spp.* e *Staphylococcus aureus* (BOTRE *et al.*, 2010).

Em outro estudo, Kwon *et al.* (2017) investigaram a eficácia de um filme de poli(acetato de vinila) (PVA) contendo OEO como agente antimicrobiano. O filme foi testado para armazenamento de tomates e mostrou-se eficiente perante *Salmonella enterica*, podendo ser utilizado, desta forma, como embalagem de produtos frescos (KWON *et al.*, 2017).

Devido a essas propriedades, a incorporação de OE nos materiais da embalagem torna-se vantajosa em relação às embalagens tradicionais, uma vez que proporcionam maior proteção contra o desenvolvimento de microrganismos e de reações oxidativas, demonstrando assim ser promissora para utilização na indústria alimentar.

2.2 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS

De acordo com a Associação Brasileira de Embalagens (ABRE, 2020) a indústria de plástico foi responsável por 40% do total do mercado brasileiro de embalagens, seguido pelo setor de embalagem de papel/cartão/papelão com 30%, metal com 19%, vidro com 6%, têxteis para embalagens com 3% e madeira com 1%, sendo que a produção de embalagem plástica flexível chegou a 480 mil toneladas no 2º trimestre de 2020.

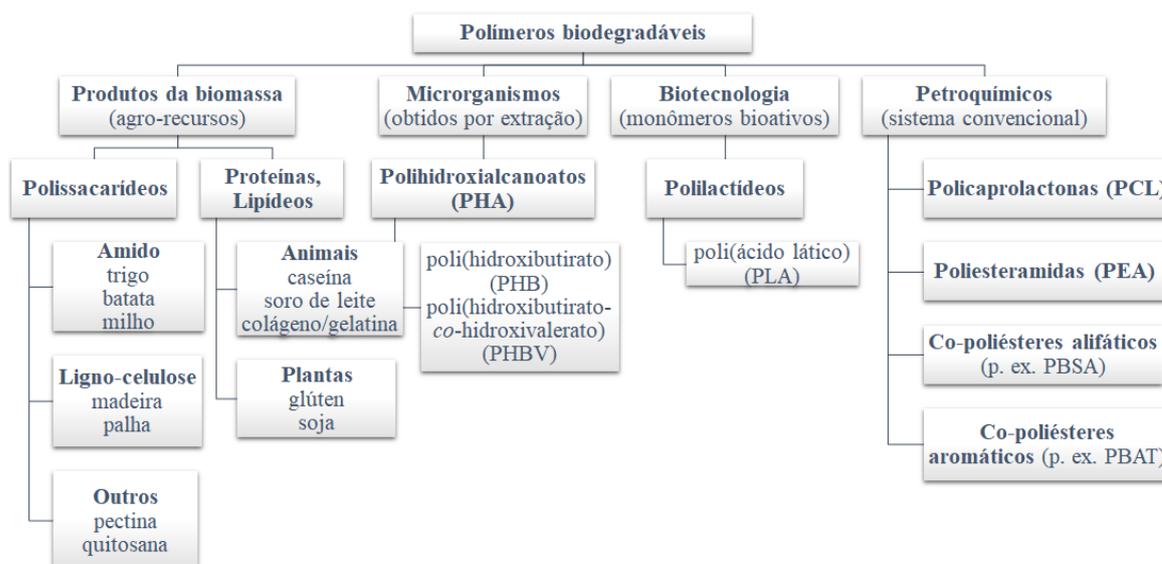
A crescente utilização de materiais plásticos no setor alimentício em comparação com demais materiais se deve às vantagens que esse material apresenta como baixo custo, leveza, flexibilidade, resistência mecânica, propriedades de barreira ao oxigênio e grande facilidade de processamento. Dentre os materiais poliméricos mais utilizados como embalagens de alimentos destacam-se o polietileno de baixa densidade (PEBD), polietileno de alta densidade (PEAD), polipropileno (PP) e o poliestireno (PS) (KUI *et al.*, 2021).

Contudo, esses materiais geram dois grandes problemas: o uso de fonte não-renovável (como o petróleo) para obtenção de sua matéria-prima e geração de resíduos. Isso porque estes materiais se mantêm intactos quando descartados devido a sua alta massa molar média e hidrofobicidade, que dificultam a ação dos microrganismos e de suas enzimas na superfície do polímero. (MARTINS, 2018). Desta forma, com o objetivo de minimizar os impactos ambientais em convergência com as novas exigências dos consumidores por produtos ecologicamente mais corretos, a substituição desses materiais por polímeros que sejam obtidos de fontes renováveis e apresentem propriedades como a biodegradação tornou-se indispensável no setor industrial (SOUZA, 2018).

De acordo com a norma estabelecida pela *American Society for Testing and Materials* (ASTM D-8333), os polímeros biodegradáveis são aqueles que passam por alterações significativas em sua estrutura química como resultado da ação dos microrganismos de ocorrência natural (bactérias, fungos e enzimas) convertendo-se em moléculas simples, como água, gás carbônico, compostos orgânicos e biomassa, concluindo, assim, seu ciclo de vida e minimizando os impactos ao meio ambiente. Entretanto, condições específicas são necessárias para garantir a biodegradação desses polímeros, como pH, umidade, oxigenação e a presença de alguns metais (SINHA RAY; BOUSMINA, 2005).

Dependendo do processo de produção, os polímeros biodegradáveis podem ser divididos em quatro diferentes categorias, como mostrado na Figura 9. A primeira classe refere-se aos polímeros obtidos a partir de biomassa ou agro-recursos, por exemplo, os polissacarídeos, proteínas e lipídios. O segundo tipo são os polímeros obtidos por produção microbiana, como os polihidroxialcanoatos (PHA). O terceiro tipo consiste em polímeros sintetizados quimicamente, porém seus monômeros são obtidos a partir de recursos naturais, por exemplo, poli(ácido láctico) (PLA). O quarto grupo refere-se aos polímeros em que o monômero é obtido por síntese química a partir de recursos fósseis, por exemplo, policaprolactona (PCL) (BORDES; POLLET; AVÉROUS, 2009).

Figura 9. Classificação dos polímeros biodegradáveis.

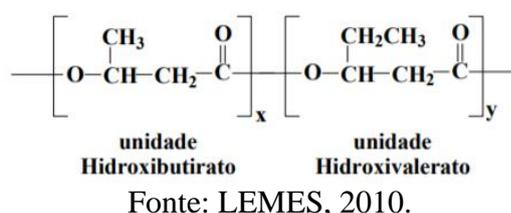


Fonte: adaptado de BORDES; POLLET; AVÉROUS, 2009.

2.2.1 Poli(hidroxibutirato-*co*-hidroxivalerato) – PHBV

O PHBV é um copolímero semicristalino de cadeia linear da classe dos polihidroxicanoatos (PHA), cuja estrutura cristalina é composta por unidades monoméricas de hidroxibutirato (HB) e hidroxivalerato (HV) em menor proporção (LEMES, 2010). A estrutura química da cadeia de PHBV é mostrada na Figura 10.

Figura 10. Estrutura química do copolímero PHBV.



Dependendo da porcentagem de HB e HV, diferentes propriedades de PHBV podem ser obtidas. De modo geral, a fração de HB agrega características de rigidez no material, enquanto a cadeia de HV confere flexibilidade e reduz a temperatura de processamento do polímero (SILVA, 2012).

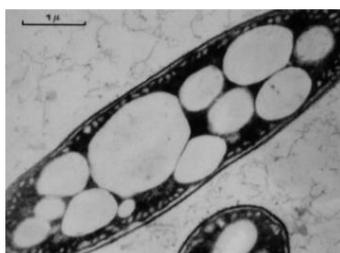
Assim, como os demais PHAs, o PHBV pode ser sintetizado por diversos microrganismos, especialmente bactérias (LENZ; MARCHESSAULT, 2005). A síntese dos PHA pode ocorrer via enzimática ou química. Na síntese enzimática dependendo do substrato de carbono e do metabolismo do microrganismo, diferentes monômeros e conseqüentemente copolímeros podem ser obtidos. Os microrganismos são capazes de produzir os PHAs a partir de várias origens, incluindo açúcares, óleos vegetais, ácidos graxos e carboidratos simples (BORDES; POLLET; AVÉROUS, 2009).

A rota enzimática do PHB consiste em uma etapa fermentativa, onde o microrganismo metaboliza o açúcar disponível no meio e acumula o polímero no interior da célula, como fonte de reserva. O substrato típico para produção do homopolímero PHB é a glicose. Quando é adicionado ácido propiônico ao meio, em condições de limitação de nutrientes, origina-se o copolímero PHBV. A formação de copolímeros com diferentes teores de HV dependerá da proporção glicose/ácido propiônico adicionado. O armazenamento do polímero é feito na forma de grânulos no interior das bactérias, e estes servem como uma reserva intracelular de

alimento e energia a fim de evitar a inanição quando um elemento essencial fica indisponível, como mostra a Figura 11 (HA; CHO, 2002; LENZ; MARCHESSAULT, 2005; BORDES, POLLET; AVÉROUS, 2009).

Após a etapa fermentativa, tem-se a etapa de extração, onde o polímero acumulado é extraído e purificado até a obtenção do produto sólido e seco, que é utilizado nos processos convencionais de transformação de termoplásticos (GONÇALVES, 2009).

Figura 11. Grânulos de PHB no interior das bactérias.



Fonte: LENZ; MARCHESSAULT, 2005.

Este biopolímero tem chamado atenção de pesquisadores, porque além de ser termoplástico de fonte renovável, é biodegradável, biocompatível e apresenta propriedades físicas e mecânicas semelhantes às dos termoplásticos convencionais, como o polipropileno isostático (PP) (Tabela 1), com exceção ao alongamento na ruptura, onde PHBV possui um valor significativamente inferior ao apresentado pelo PP, se mostrando, desta forma, como um material rígido, porém frágil quando comparado com PP (BRANDOLT, 2015; SOUZA JUNIOR, 2017).

As principais aplicações do PHBV encontram-se na área biomédica, como matrizes para liberação controlada de fármacos (micro e nanoesferas), enxertos, válvulas cardíacas, entre outros; na área da agricultura como carregadores de fertilizantes e pesticidas, e na área de alimentos, como embalagens biodegradáveis (AMASS *et al.*, 1998; SIRACUSA *et al.*, 2008; SENHORINI, 2014).

No entanto, a sua aplicabilidade em escala industrial ainda é limitada devido à dificuldade de processamento, elevada rigidez, fragilidade devido à elevada cristalinidade (variando de 50-70%) e o custo elevado de produção em relação a polímeros convencionais (CHEN *et al.*, 2002; SILVA, 2012). Somado a isto, um dos principais problemas para uso

industrial é a sua instabilidade térmica. Em temperaturas próximas de 160°C, estes copolímeros sofrem uma drástica redução na massa molar, ocorrendo a degradação térmica do polímero em temperaturas próximas da sua temperatura de fusão.

Tabela 1. Propriedades físico-químicas e mecânicas do PHBV e do PP.

Propriedades	PHBV (5%mol de HV)	PP
Massa molar ponderal média (g/mol)	115.000	200.000
Densidade (g/cm ³)	1,22	0,905
Temperatura de fusão (°C)	172	176
Temperatura de transição vítrea (°C)	2,5	-10
Cristalinidade (%)	45	70
Alongamento na ruptura (%)	6,0	400

Fonte: adaptado de SOUZA JUNIOR, 2017.

Em função disso, e com o intuito de melhorar as deficiências do PHBV e aumentar sua aplicabilidade, a obtenção de nanocompósitos parece ser uma boa alternativa, visto que a incorporação de pequenas quantidades de nanopartículas de argilas em matrizes poliméricas pode proporcionar melhorias nas propriedades mecânicas, térmicas e de barreira quando comparada ao polímero puro (CHEN *et al.*, 2002; SINGH *et al.*, 2008).

2.3 NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS

Os nanocompósitos poliméricos podem ser definidos como matrizes poliméricas reforçadas com partículas inorgânicas e/ou orgânicas que possuem pelo menos uma de suas dimensões na escala nanométrica, na faixa de 1 a 100 nm. Essas nanopartículas são responsáveis por alterar e melhorar as propriedades da matriz, mesmo quando adicionadas em pequenas quantidades (LEMES, 2010).

Como as partículas se apresentam em escala nanométrica (nanopartículas), estas possuem uma elevada área superficial, o que lhes permitem interagir de forma mais eficaz com a matriz, resultando no aprimoramento das propriedades em comparação aos polímeros

puros e compósitos convencionais, principalmente no que diz respeito às propriedades mecânicas, térmicas e de barreira (SINGH *et al.*, 2008). Devido à elevada área de contato, estas características podem ser alcançadas com pequenas quantidades incorporadas, geralmente menores que 5% em massa de nanopartículas de reforço (SINHA RAY; BOUSMINA, 2005; SINHA RAY; OKAMOTO, 2003).

Diversas nanopartículas de reforço estão sendo utilizadas no desenvolvimento de nanocompósitos poliméricos. De acordo com sua morfologia, podem ser classificadas em: partículas lamelares ou em camadas (montmorilonita, caulinita), esféricas (sílica, óxido de zinco) e cilíndricas ou tubulares (haloisita, nanowhiskers de celulose, nanotubos de carbono). O efeito que cada nanopartícula exerce na matriz polimérica difere em função da sua área específica e suas características químicas, como tipo e quantidade de grupos funcionais que podem interagir com o polímero (KUMAR *et al.*, 2009). Dentre as mais utilizadas destacam-se as nanopartículas de argilas, devido a sua disponibilidade e o baixo custo.

Estudos relatam que incorporação de pequenas quantidades de argila, menores que 5% em massa, quando bem dispersas na matriz polimérica, conferem vantagens significativas em relação à matriz pura e compósitos convencionais, como aumento na resistência à tração, maior módulo de elasticidade, aumento da estabilidade térmica, decréscimo da permeabilidade a gases, aumento da biodegradabilidade dos polímeros biodegradáveis, entre outros (CARLI *et al.*, 2015; PAUL; ROBESON, 2008).

Devido a estas vantagens, as aplicações de nanocompósitos se concentram nas mais variadas áreas industriais. No setor automobilístico, o enfoque é na melhoria de propriedades mecânicas, permitindo a redução da massa do produto; no setor de artigos esportivos, os nanocompósitos são utilizados para conferir leveza e flexibilidade; na área de embalagens de alimentos, o principal objetivo é melhorar as propriedades de barreira a gases e vapor de água, uma vez que tais componentes têm influência direta na qualidade dos produtos embalados (GARCIA, 2003).

Nesse âmbito, a incorporação de nanopartículas de argila lamelares em matrizes poliméricas biodegradáveis torna-se uma alternativa interessante para o desenvolvimento de embalagens, uma vez que permite melhorar o desempenho das propriedades de barreira em comparação ao polímero puro, através da criação de um caminho tortuoso que retarda a difusão de moléculas gasosas através da matriz polimérica (SILVA, 2012; RADAELLI,

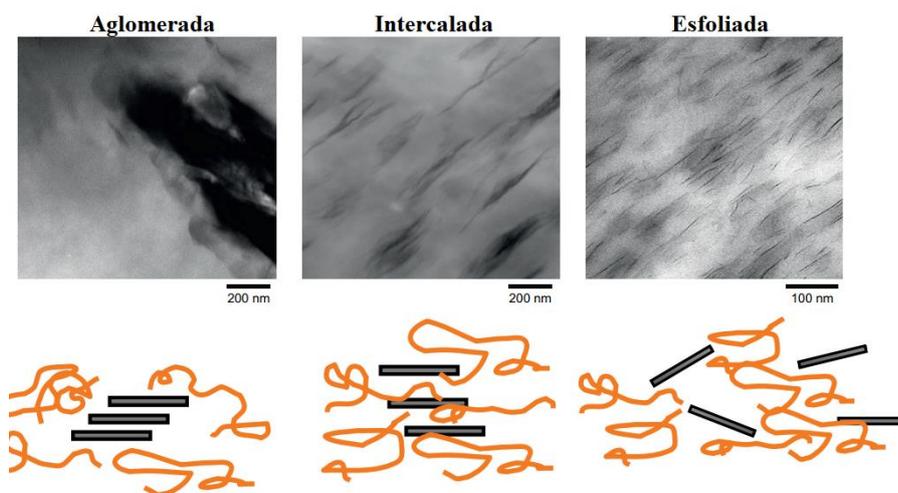
2017). Além disso, proporcionam outros benefícios, como maior rigidez e resistência mecânica, maior temperatura de degradação térmica, baixa inflamabilidade, maior resistência química e estabilidade dimensional (BRANDOLT, 2015; SOUZA, 2018).

De modo geral, as propriedades dos nanocompósitos dependem do tipo e do teor de nanopartículas, o grau de interação polímero-nanopartícula, bem como do tipo de processamento utilizado e do grau de dispersão das nanopartículas na matriz polimérica (PAUL; ROBESON, 2008).

Em relação ao processamento utilizado, os principais métodos de intercalação para a obtenção dos nanocompósitos são: (i) polimerização *in situ*, onde argila é dispersa em um monômero apropriado e a polimerização pode ser iniciada através de calor ou radiação; (ii) preparo em solução (*casting*), no qual a argila é dispersa com o uso de um solvente em que o polímero é solúvel; (iii) processamento no estado fundido, onde a argila é mecanicamente misturada com a matriz polimérica fundida, por métodos convencionais como extrusão e injeção, sem a necessidade de solvente (PAUL; ROBESON, 2008; PAVLIDOU; PAPASPYRIDES, 2008).

Três estruturas podem ser formadas quando argilas lamelares são adicionadas em polímero: aglomerada (microcompósito, imiscível ou convencional), intercalada e esfoliada, conforme observado na Figura 12 (PAUL; ROBESON, 2008).

Figura 12. Ilustração dos diferentes estados de dispersão das nanopartículas com correspondentes resultados de MET.



Fonte: adaptado de PAUL; ROBESON, 2008.

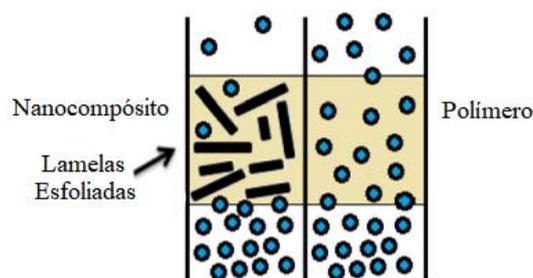
Estruturas aglomeradas são originadas devido às fracas interações entre as nanopartículas e a matriz polimérica, resultando em materiais com baixas propriedades mecânicas. Estruturas intercaladas são constituídas de múltiplas camadas de silicatos bem ordenadas, dispersas pelas cadeias poliméricas, apresentando propriedades superiores às de um compósito convencional. Já as estruturas esfoliadas são obtidas quando as camadas de argila estão completamente separadas e se dispersam na matriz. Estas duas últimas estruturas são as de maior interesse, pois elevam as interações entre o polímero e argila, fazendo que toda área superficial das camadas de argila fique disponível para o polímero, apresentando assim uma melhora significativa nas propriedades físicas e mecânicas do nanocompósito formado (PAVLIDOU; PAPASPYRISDES, 2008).

Diversos estudos têm reportado sobre a influência das nanopartículas de argila nas propriedades dos nanocompósitos à base de PHBV. No estudo de Brandolt (2015), nanocompósitos de PHBV utilizando diferentes filossilicatos – montmorilonita não modificada, montmorilonita modificada organicamente e haloisita – na proporção de 3% m/m e plastificante trietilcitrate (TEC) na proporção de 10% m/m, foram obtidos por meio de processamento no estado fundido e avaliados quanto à influência dos aditivos na matriz do PHBV. Os resultados mostraram um efeito sinérgico entre as argilas e plastificante, melhorando significativamente o desempenho mecânico do PHBV. As argilas aumentaram a compatibilidade de PHBV e TEC, enquanto o TEC promoveu a distribuição das partículas de argila e a redução no tamanho dos aglomerados, o que facilitou a dispersão dentro da matriz polimérica. Além disso, a incorporação dos aditivos permitiu aumentar a janela de processamento do PHBV através da redução da temperatura de transição vítrea e da temperatura de fusão (decorrente ao efeito do plastificante) e do aumento da temperatura de cristalização (comportamento atribuído ao efeito nucleante da argila), evitando assim a degradação térmica e permitindo que o processamento ocorra a uma temperatura mais baixa (BRANDOLT, 2015).

Em termos de propriedade de barreira dos nanocompósitos, entende-se que as lamelas de argilas dispersas na matriz agem como barreiras impermeáveis, reduzindo o volume livre disponível para a passagem das moléculas de gás e forçando-as a percorrer um caminho mais longo e tortuoso através do nanocompósito, dificultando a difusão das

moléculas pela matriz polimérica e, portanto, reduzindo a permeabilidade (RADAELLI, 2017; SOUZA, 2012). Desta forma, a melhoria das propriedades de barreira está intimamente relacionada com a forma das nanopartículas e com seu grau de dispersão, uma vez que quanto maior for o grau de esfoliação das nanopartículas de argila na matriz, menor será a difusão de gases. A Figura 13 ilustra o caminho tortuoso através do material nanocompósito. Este comportamento desempenha um papel fundamental nas embalagens, uma vez que evita que moléculas de gases e vapores de água entrem em contato com o alimento.

Figura 13. Esquema de passagem de vapor e gases em filmes produzidos com e sem argilas lamelares.



Fonte: adaptado de RADAELLI, 2017.

No caso de embalagens ativas, onde seu mecanismo de ação protetor ocorre por meio da difusão dos compostos ativos incorporados na matriz polimérica para os alimentos embalados, essa atuação de barreira também pode ser interessante, uma vez que contribui para que esses ativos não se difundam facilmente pela matriz, permitindo assim um ajuste adequado para a liberação destes, sem que ocorra rapidamente e, portanto, garantindo que a atividade seja mantida por longos períodos (CAMPOS-REQUENA, 2015a; KUAI *et al.*, 2021, COSTA *et al.*, 2020). Quando essa taxa de liberação é muito rápida ou muito lenta, a quantidade ideal para inibir as reações oxidativas não é mantida na superfície do alimento, levando à perda parcial ou total da sua atividade e à formação de produtos de degradação (KUAI *et al.*, 2021).

Campos-Requena *et al.* (2015) utilizaram uma mistura de carcravol e timol, na proporção 50:50, e incorporaram em filmes de PEBD contendo nanopartículas de OMMT com a finalidade de avaliar a atividade antimicrobiana em morangos inoculados com *Botrytis cinerea* (*B. cinérea*). O ensaio foi avaliado com base na área de podridão no fruto após cinco

dias em contato com vapores do filme sem os compostos e contendo 50:50 de cada composto na formulação, em condições ambientais. Os autores observaram que a embalagem contendo filme nanocompósito inibiu o crescimento de patógenos presentes no alimento. Já na embalagem sem nanocompósito, os morangos apresentaram um desenvolvimento fúngico evidente no quinto dia de inoculação. Neste estudo, a morfologia intercalada do nanocompósito proporcionou uma liberação controlada dos compostos ativos, sendo aproximadamente 15% mais lenta do que no filme de PEBD puro. Este resultado confirma que a estrutura intercalada atuou como uma barreira, permitindo uma liberação mais gradual (CAMPOS-REQUENA *et al.*, 2015b).

Na tentativa de desenvolver filmes ativos biodegradáveis, Costa *et al.* (2020) prepararam filmes de PHBV contendo nanopartículas de argilas e óleo essencial de orégano (OEO) como composto antimicrobiano e avaliaram o efeito da adição de três diferentes de tipos de nanopartículas, haloisita (estrutura tubular), caulinita (estrutura lamelar) e sepiolita (estrutura de agulhas), sobre as propriedades físico-mecânicas dos filmes e na taxa de liberação do OEO em meio de ácido acético. Os filmes foram preparados através de mistura do estado fundido, sendo incorporados 3% m/m de argila e 8% m/m de OEO. Os resultados mostraram que a adição de nanopartículas de argilas proporcionou um aumento na estabilidade térmica e na cristalinidade do PHBV. A adição do OEO aos nanocompósitos afetou significativamente na mobilidade das cadeias devido seu efeito plastificante, reduzindo a fragilidade. A combinação dos nanocompósitos com OEO levou a uma redução nos valores de permeabilidade ao oxigênio, variando de 392,39 mLmm/m²d (PHBV puro) para 71,13 mL/m²d (PHBV/OEO/Caulinita) e 85,44 mL/m²d (PHBV/OEO/Sepiolita), o que confirmou o efeito de barreira das nanopartículas de argilas. Além disso, foi observado que o tipo de argila influencia na cinética da liberação do óleo, sendo que as amostras PHBV/OEO/Haloisita e PHBV/OEO/Caulinita apresentaram uma liberação mais lenta quando comparadas ao filme PHBV puro. Já o PHBV/OEO/Sepiolita apresentou um aumento na taxa de liberação do óleo no decorrer de toda a análise. Os autores também observaram que a formulação contendo a combinação sepiolita com OEO se mostrou eficaz no controle de bactérias patogênicas, concluindo assim que esta formulação pode ser adequada para aplicação desejada, garantindo a segurança alimentar enquanto mantém as características sensoriais do alimento (COSTA *et al.*, 2020).

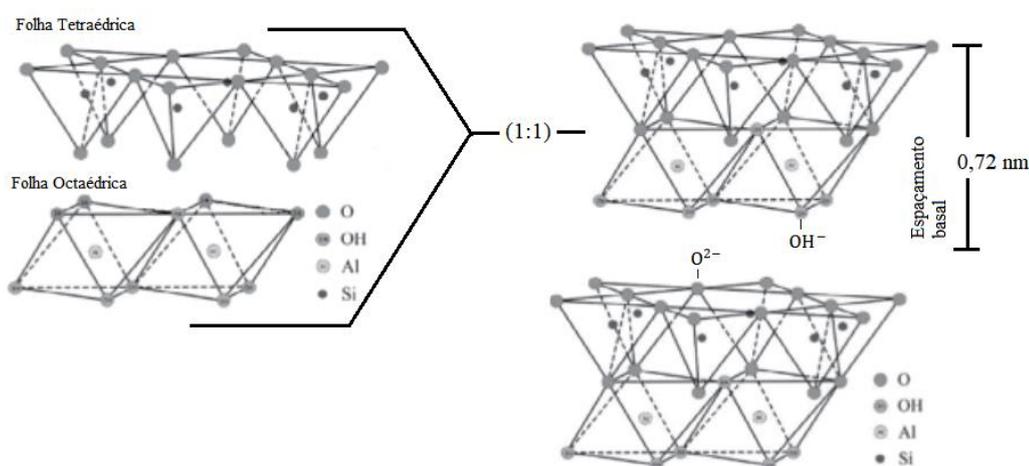
2.3.1 Caulinita

A caulinita, $(Al_4(Si_4O_{10})(OH)_4)$ é um aluminossilicato lamelar natural do tipo 1:1 que apresenta dois tipos de superfícies. Um lado da lamela é formado por uma folha tetraédrica, constituída de silício coordenado tetraedricamente por átomos de oxigênio (SiO_4), e outro por uma folha octaédrica, constituída por alumínio coordenado octaedricamente a oxigênio e grupamentos hidroxila ($Al_2(OH)_6$). Dessa forma, o lado da folha que contém o alumínio é recoberto com grupamentos OH e o outro, que contém silício, é recoberto com átomos de oxigênio (COELHO; SANTOS; SANTOS, 2007), conforme representado na Figura 14.

A distância interplanar basal (distância entre dois planos de oxigênio equivalentes em camadas sucessivas) é de 7,2 Å ou 0,72 nm e possui baixa capacidade de troca catiônica, em torno de 15 a 20 meq/100 g quando comparada com outros argilominerais do tipo 2:1, como por exemplo, a montmorilonita (100 meq/100 g) (COELHO; SANTOS; SANTOS, 2007; CHENG; ZHOU; LIU, 2019).

A caulinita é um dos poucos entre os argilominerais lamelares que possuem lamelas assimétricas e eletricamente neutras, possuindo ânions (OH^-) de um lado e de outro (O^{2-}), como ilustrado na Figura 14. Essa estrutura cristalina confere um caráter hidrofílico às caulinitas (COELHO; SANTOS; SANTOS, 2007).

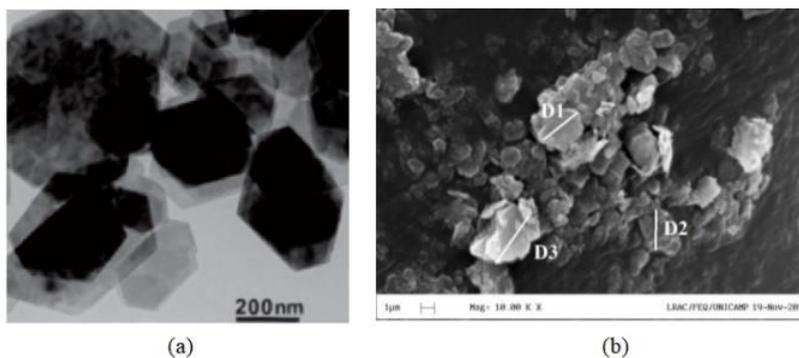
Figura 14. Representação esquemática da estrutura cristalina da caulinita.



Fonte: adaptado de COELHO; SANTOS; SANTOS, 2007.

A Figura 15 apresenta as morfologias da caulinita obtidas por MET e MEV. Nas micrografias é possível observar que a caulinita apresenta em sua estrutura cristais lamelares de perfil pseudo-hexagonais, de espessura da ordem de 40 a 100 nm (COELHO; SANTOS; SANTOS, 2007).

Figura 15. Morfologia da caulinita obtida por (a) MET e (b) MEV.



Fonte: COELHO; SANTOS; SANTOS, 2007 e MACÊDO JUNIOR, 2011.

Este argilomineral lamelar possui uma vasta aplicação, podendo ser utilizada como matéria prima nas indústrias de papel, cerâmica branca, borrachas, tintas, cosméticos, plásticos, catalisadores para indústria química, adsorvente de metais pesados, na indústria farmacêutica, entre outros (CHENG; ZHOU; LIU, 2019).

Neste âmbito, filmes de PHBV contendo óleo essencial de orégano e nanopartículas de argila caulinita são uma opção promissora para estudos de embalagens ativas, produzindo materiais inovadores com propriedades únicas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido paralelamente às atividades de pesquisa de tese de doutorado de Costa (2020) bem como às atividades do grupo de pesquisa científica orientada pela professora Dr^a Larissa Nardini Carli. Deste modo, algumas etapas do processamento e fragmentação das amostras foram anteriormente executadas por outros membros do grupo de pesquisa. No entanto para melhor compreensão da etapa de conformação dos filmes desenvolvido neste trabalho, essa etapa foi adicionada como complemento à metodologia.

3.1 MATERIAIS

Para a preparação das composições, foram utilizados o poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) (PHBV) – ENMAT Y1000, com densidade de 1,25 g/cm³ e teor de valerato de 3,4 mol% e uma massa molar viscosimétrica média de 450000 g/mol (BRANDOLT et al., 2019), fornecido por Ningbo Tianan Biologic Material Co. Ltd.; nanopartículas de argila caulinita – formato lamelar, com capacidade de troca catiônica (CTC) igual a 12 meq/g (determinada experimentalmente) e densidade de 2,2 g/cm³ (COSTA *et al.*, 2020), adquirido por Sigma Aldrich e o óleo essencial de orégano, com temperatura de ebulição em 239 °C e densidade de 0,939 g/mL a 25 °C, adquirido por Sigma Aldrich. Além disso, para os ensaios de liberação de óleo essencial e atividade antioxidante foram utilizados o isoctano (Dinâmica) e o DPPH (Sigma Aldrich).

3.2 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os filmes de PHBV e suas formulações foram preparados previamente através da mistura no estado fundido e fragmentados utilizando um moinho de facas, de acordo com a metodologia descrita por Costa *et al.* (2020). A Tabela 2 apresenta a composição de cada filme e a legenda usada em cada condição, que será utilizada ao longo do trabalho.

Os filmes poliméricos utilizados neste trabalho foram obtidos através de moldagem por compressão (SL-11 Solab Equipamentos). Cerca de 3,5 g de cada composição foram colocados sob filme de poliéster Filipaper, usado como desmoldante e, então, pré-aquecidos a

190 °C durante 90 s sem aplicação de pressão, até a fusão do material. Em seguida, mantendo a temperatura, foi aplicada uma pressão de 1 t durante 30 s para a formação dos filmes. A aparência final dos filmes foi homogênea e translúcida, conforme Figura 16.

Tabela 2. Composição das misturas e filmes produzidos.

Legenda	Teor de PHBV (%)	Teor de argila Cau (%)	Teor de Óleo de orégano (%)
PHBV	100	-	-
PHBV/OEO	92	-	8
PHBV/Caulinita	97	3	-
PHBV/Caulinita/OEO	89	3	8

Fonte: Autor próprio.

Figura 16. Aparência dos filmes após moldagem por compressão.



Fonte: Autor próprio.

3.3 TEOR DE ÓLEO NOS FILMES

Os filmes foram caracterizados através de análise termogravimétrica (TGA) a fim de compreender a degradação térmica do filme de PHBV bem como estimar o teor de OEO presente nos filmes. Para isso, as amostras foram examinadas em equipamento Perkin Elmer TGA 8000, na faixa de 30 a 700°C a uma taxa de aquecimento de 20 °C/min sob atmosfera de argônio (20 mL/min).

O teor de óleo presente em cada amostra foi determinado através da perda de massa dos filmes até 215°C, associada à volatilização do óleo de orégano. A porcentagem de incorporação foi calculada de acordo com a equação:

$$\text{Teor de óleo} = \frac{\text{Percentual do óleo volatilizado até 215°C} \times 100}{\text{Percentual teórico de óleo incorporado}}$$

3.4 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA

Um parâmetro importante a se considerar em embalagens para alimentos é a resposta do polímero quanto à permeabilidade ao vapor de água, uma vez que é considerada uma das propriedades responsáveis por manter o frescor e conservar a qualidade destes produtos por mais tempo (UGALDE, 2014).

A determinação da permeabilidade ao vapor de água dos filmes foi realizada em triplicata, pelo método gravimétrico, através da avaliação do ganho de massa do conjunto dessecante cloreto de cálcio anidro (CaCl_2), filme polimérico e a célula de permeação, até massa constante. Os filmes preparados foram cortados em gabaritos de mesma área (0,069 m²) e espessura homogênea (0,00019 m) e, então, posicionados e selados na parte superior da célula de permeação, cujo em seu interior continha 5 g de CaCl_2 .

Em seguida, os conjuntos foram acondicionados em um dessecador contendo uma solução saturada de cloreto de sódio (umidade relativa de 75% a 25°C) e as medidas de variação de massa foram obtidas periodicamente até 16 dias. A Figura 17 mostra o esquema referente à preparação do sistema para a determinação das propriedades de barreira ao vapor de água.

Com os dados obtidos, foi plotado o gráfico de ganho de massa (g) em função do tempo (s) e, da reta obtida por regressão linear, foi determinado o coeficiente angular, o qual indica a quantidade de água ganha pelo tempo. A taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) foi calculada conforme a equação:

$$\text{TPVA} = \frac{w/t}{A}$$

Sendo:

TPVA = taxa de permeabilidade ao vapor de água ($\text{g.s}^{-1}.\text{m}^{-2}$)

w/t = coeficiente angular da curva de ganho de massa em função do tempo, obtido por regressão linear (g.s^{-1})

A = área útil do filme (m^2)

Em seguida, a permeabilidade ao vapor de água foi calculada a partir da equação:

$$PVA = \frac{TPVA}{\left[\frac{p_s \times (UR_1 - UR_2)}{e} \right]} = \frac{TPVA}{\left[\frac{1753,55}{e} \right]}$$

Sendo:

PVA = permeabilidade ao vapor de água ($\text{g.s}^{-1}.\text{m}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$)

e = espessura média do corpo de prova (m)

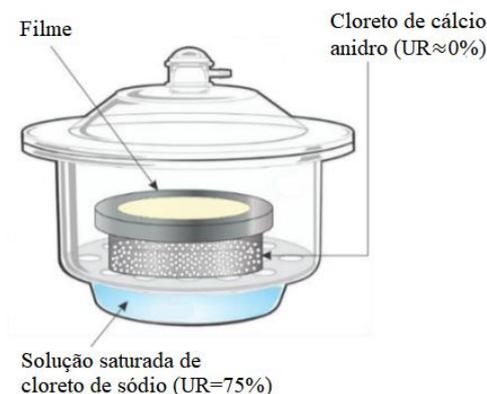
p_s = pressão de saturação de vapor à temperatura de ensaio (Pa)

UR_1 = umidade relativa no interior do dessecador (%)

UR_2 = umidade relativa no interior da célula (%)

Para o termo $[p_s \times (UR_1 - UR_2)]$ foi considerado o valor de 1753,55 Pa, conforme o trabalho de Mali *et al.* (2004).

Figura 17. Desenho esquemático do conjunto (célula, filme e cloreto de cálcio) utilizado na análise das propriedades de barreira ao vapor de água dos filmes ativos.



Fonte: Autor próprio.

3.5 ESTUDO DA LIBERAÇÃO DO ÓLEO DE ORÉGANO

Os estudos de liberação de OEO foram realizados com a finalidade de conhecer o comportamento de liberação do óleo nos diferentes filmes, comparando os sistemas PO e POC, em meio que simula o ambiente de acondicionamento de alimentos. O isoctano foi escolhido como meio simulador alimentar, representando alimentos gordurosos, uma vez que a embalagem proposta pode ser usada para retardar o processo oxidativo em matrizes alimentares lipídicas, de acordo com o Regulamento da Comissão (UE) nº 10/2011.

O OEO apresenta bandas de absorção na região do ultravioleta, sendo possível a utilização da técnica de espectrofotometria no ultravioleta visível (UV-Vis) para sua quantificação. Uma solução de 0,02 mg/mL de OEO em isoctano foi preparada e submetida a análise entre 350 e 240 nm em um espectrofotômetro UV-Vis 1800 – Shimadzu para determinação do comprimento de onda a ser feita a quantificação. As diluições foram analisadas e o OEO foi quantificado na região do comprimento de onda de 274 nm. A curva de calibração foi obtida pela regressão linear da curva de concentração *versus* absorbância.

Para o estudo cinético, cerca de 150 mg de cada composição dos filmes foram imersas em 30 mL de isoctano como meio simulador, como mostrado na Figura 18.

Figura 18. Ensaio de liberação para as composições de PHBV contendo OEO.



Fonte: Autor próprio.

O ensaio foi mantido em agitação contínua de 100 rpm em um agitador orbital em temperatura ambiente. Periodicamente, alíquotas de 2 mL foram retiradas em intervalos de tempo de 0,5h, 1h, 2h, 3h, 4h, 5h, 6h, 24h, 30h e 48h, sendo substituídas com volume igual de solvente, e os dados posteriormente corrigidos. Os ensaios foram conduzidos em triplicata. O sobrenadante foi recolhido e quantificado utilizando a técnica de espectrofotometria, de acordo com a curva de calibração previamente construída. Os dados foram expressos como a percentagem de liberação cumulativa e, posteriormente, plotado em um gráfico em função do tempo.

3.5.1 Avaliação do comportamento cinético de liberação do OEO

Para a análise do perfil da cinética de liberação do OEO em isoctano foi utilizado o arquivo suplementar para o Microsoft Excel *DDSolver* onde os dados experimentais foram ajustados de acordo com modelos matemáticos específicos no estudo de liberação controlada, tais como: modelo de ordem zero, primeira ordem, Higuchi e Korsmeyer-Peppas, como mostrado na Tabela 3.

Tabela 3. Modelos e respectivas equações para descrever os perfis de liberação controlada.

Modelos	Equações
Ordem Zero	$Q = K_0 \cdot t$
Primeira Ordem	$\ln Q = K_1 \cdot t$
Higuchi	$Q = K_H \cdot t^{\frac{1}{2}}$
Korsmeyer-Peppas	$Q = k \cdot t^n$

Q: percentual cumulativo de composto liberado no tempo t; K_0, K_1, K_H : constantes características de cada modelo; k: constante relacionada às características estruturais e geométricas da matriz, n: expoente da difusão que caracteriza o mecanismo de transporte da liberação do composto.

Fonte: Adaptado de GALLO, 2019.

O modelo de ordem zero é conhecido pela cinética de liberação ideal para compostos ativos, pois a liberação independe da concentração do composto, resultando em uma ação prolongada (SINGHVI; SINGH, 2011). Já o modelo de primeira ordem apresenta um perfil de liberação do composto proporcional à quantidade interna na matriz, de tal modo que a quantidade do composto ativo liberada diminui com o tempo de liberação. O modelo de Higuchi, por sua vez, é utilizado quando n (expoente de difusão) assume o valor de 0,5, o que se relaciona com o transporte do composto através da difusão e dilatação da matriz polimérica, mostrando que a liberação é, principalmente, dependente do tempo, ou seja, a taxa de liberação está relacionada com a taxa de difusão do composto ativo (SILVA *et al.*, 2012a).

Já o modelo matemático de Korsmeyer-Peppas é utilizado para interpretar e descrever a liberação do composto ativo quando o mecanismo que prevalece não é bem conhecido ou resulta na combinação de dois processos independentes: um devido ao transporte correspondente às leis de Fick e outro referente aos fenômenos de relaxamento da matriz. Os valores de n são utilizados para caracterizar diferentes mecanismos de liberação. Quando $n = 0,43$, o mecanismo de liberação dominante é a difusão Fickiana; $0,43 < n < 0,85$ indica o mecanismo de difusão anômalo (difusão e erosão); e $n = 0,85$ corresponde a cinética de liberação à dilatação do material (SIEPMANN; PEPPAS, 2012).

3.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS FILMES PELO MÉTODO DPPH

A determinação da atividade antioxidante pelo método 2,2-difenil-1-picrilhidrazina (DPPH) foi baseada de acordo com a metodologia descrita por Brand-Williams *et al.* (1995), utilizando o radical livre DPPH• que sofre redução pelos antioxidantes, resultando na mudança de coloração violeta para amarela.

Para o ensaio, cerca de 150 mg de cada composição dos filmes foram deixadas por 48 horas em 30 mL de isoctano para liberação do óleo. Após esse período, uma alíquota de 0,05 mL foi retirada e misturada com 1,45 mL de solução de DPPH também em isoctano (0,1 mmol/L). A análise foi feita em triplicata e para fins comparativos, uma solução denominada “branco” foi preparada, contendo 0,05 mL de isoctano mais 1,45 mL de solução de DPPH em isoctano.

Após 30 minutos de reação, tanto a solução denominada “branco” quanto as amostras foram medidas no espectrofotômetro UV-Vis 1800 – Shimadzu, na faixa de 800 a 300 nm, onde a absorção do comprimento de onda de 510 nm foi analisada.

A atividade antioxidante foi calculada conforme a equação:

$$\% \text{ Inibição DPPH} = \left[\frac{\text{ABS}_{\text{DPPH}} - \text{ABS}_{\text{amostra}}}{\text{ABS}_{\text{DPPH}}} \right] \times 100$$

Onde,

ABS_{DPPH} = Absorbância da solução de DPPH em isoctano

$\text{ABS}_{\text{amostra}}$ = Absorbância da amostra.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

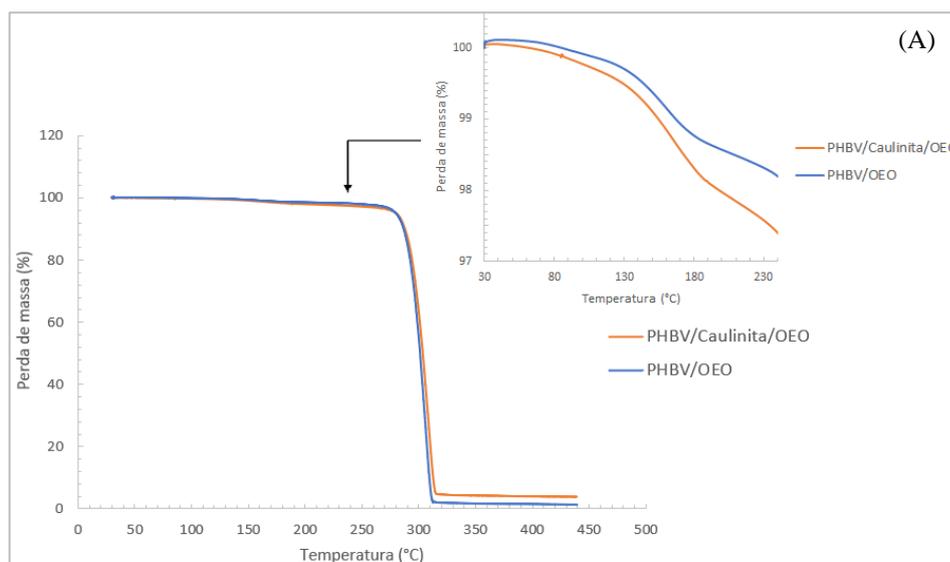
4.1 TEOR DE ÓLEO NOS FILMES

Neste trabalho, a análise termogravimétrica (TGA) foi realizada com o objetivo de quantificar o teor de óleo presente nos filmes produzidos. Os resultados do TGA para os filmes de PHBV/OEO e PHBV/Caulinita/OEO são mostrados na Figura 19 (A) e as curvas da derivada da perda de massa (DTG) são apresentadas na Figura 19 (B).

Baseado na literatura, sabe-se que o polímero PHBV apresenta degradação na faixa de 285-319 °C (COSTA *et al.*, 2020). Já os óleos essenciais são formados por compostos sensíveis ao calor, umidade e oxigênio, sofrendo volatilização em temperaturas altas (HIJO *et al.*, 2014).

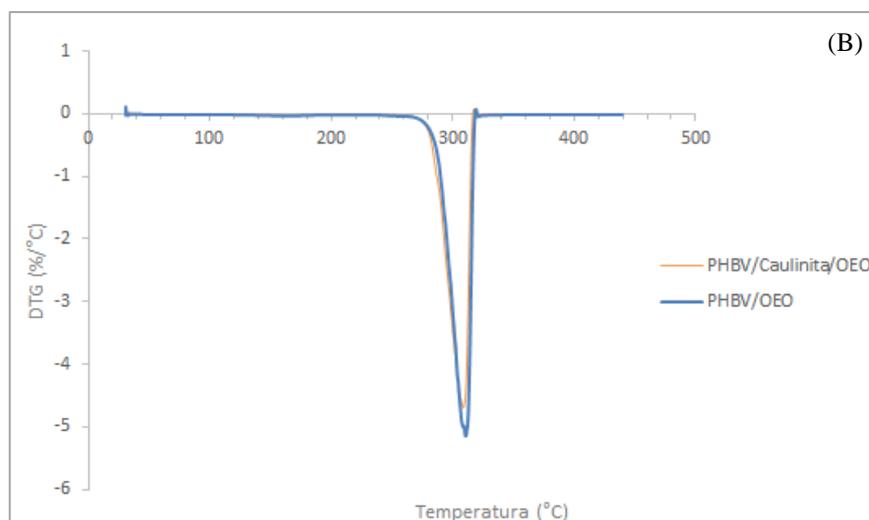
Na Figura 19 (A) é possível observar duas perdas de massa principais. Uma perda de massa referente ao percentual de óleo nos estágios iniciais da análise, até a temperatura em torno de 215°C, correspondente à volatilização do óleo, e a outra referente à degradação do PHBV em torno de 300 °C. A perda de massa principal, referente ao polímero, pode ser melhor visualizada quando observada a DTG de ambas as curvas, na Figura 19 (B).

Figura 19 (A). Termograma dos filmes contendo óleo de orégano. Em detalhe, ampliação dos termogramas na temperatura de degradação do óleo.



Fonte: Autor próprio.

Figura 19 (B). Curva obtida pela análise de TGA: curva de DTG *versus* temperatura.



Fonte: Autor próprio.

Deste modo, com base na análise de TGA, foi possível quantificar o teor do óleo de orégano nos filmes através da diferença entre o percentual de massa no início da análise e o percentual observado em 215°C, referente à volatilização do óleo. Estes resultados estão expostos na Tabela 4.

Tabela 4. Determinação teor de óleo essencial de orégano presente nos filmes.

Amostra	% massa a 215°C	Teor de OEO (%)
PHBV/OEO	98,45	1,55
PHBV/Caulinita/OEO	97,78	2,22

Fonte: Autor próprio.

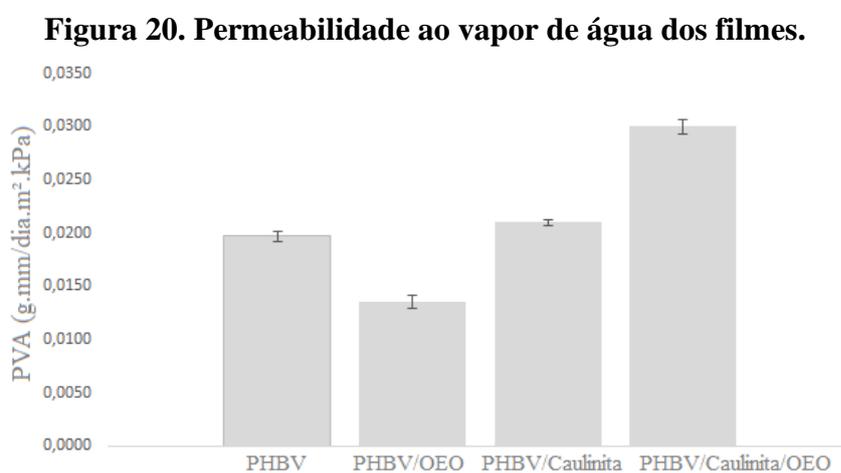
O valor encontrado para o teor de óleo incorporado no filme contendo apenas o óleo (PHBV/OEO) foi de 1,55%, enquanto no filme PHBV/Caulinita/OEO foi de 2,22%. Comparando estes resultados com os valores encontrados no artigo de Costa *et al.* (2020), de 4,95% para PHBV/OEO e 4,74% para PHBV/Caulinita/OEO, é possível observar uma redução significativa no teor de óleo nesses filmes. Essa diferença pode ser explicada devido a volatilização parcial do óleo. Como alguns filmes foram produzidos no primeiro semestre de

2018 pelo grupo de pesquisa e utilizados neste trabalho, pode-se observar que certa quantidade de óleo foi perdida durante este período armazenado.

4.2 PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA

A permeabilidade dos filmes foi estudada a fim de verificar a influência da argila e do óleo de orégano nas propriedades de barreira ao vapor de água, característica que está diretamente relacionada a sua aplicação, já que para muitos alimentos o aumento na quantidade de água pode causar reações enzimáticas, favorecer o crescimento de microrganismos e alterar as características de textura do alimento, levando a sua deterioração e limitando o seu tempo de prateleira. Um filme muito permeável poderá ser indicado para embalagens de vegetais frescos, enquanto um filme com boa propriedade de barreira poderá ser indicado para produtos desidratados.

A Figura 20 ilustra os efeitos da incorporação da argila e do OEO sobre os valores de permeabilidade ao vapor de água do filme puro. O filme PHBV apresentou o valor de $0,0197 \pm 0,0005$ (g.mm/dia.m².kPa).



Fonte: Autor próprio.

De acordo com Sarantópoulos *et al.* (2002), a permeabilidade de vapores e gases envolve três etapas: (i) sorção das moléculas do permeante na superfície do filme; (ii) difusão do permeante através do filme em decorrência de uma diferença de concentração e (iii)

dessorção e evaporação das moléculas do permeante na outra superfície do filme. Este fenômeno depende da espessura do filme e das características moleculares do polímero formador do filme (SARANTÓPOULOS *et al.*, 2002).

O filme contendo óleo (PHBV/OEO) apresentou uma melhor barreira de proteção, apresentando um valor de $0,0135 \pm 0,0006$ (g.mm/dia.m².kPa). Este comportamento pode ser justificado, em parte, pelo aumento da cristalinidade dos filmes PHBV/OEO em comparação com filme controle. No trabalho de Costa *et al.* (2020) foi observado que filme PHBV/OEO apresentou 84% de grau de cristalinidade, comparado à cristalinidade de 66% encontrada para o filme de PHBV puro. Esse alto grau de cristalinidade pode ter efeito de barreira, uma vez que a presença de domínios cristalinos pode dificultar ou até mesmo impedir a difusão das moléculas de vapor de água (KANEHASHI *et al.*, 2010).

Além disso, como o OEO possui um caráter hidrofóbico, a incorporação dessa substância na matriz polimérica aumenta a hidrofobicidade do filme, proporcionando menor adsorção e difusão de vapor de água, conferindo assim menor valor de permeabilidade (TONGNUANCH *et al.*, 2015). Este comportamento também foi observado por Pelissari (2009) em seu trabalho envolvendo filmes à base de amido de mandioca, quitosana e glicerol contendo óleo essencial de orégano, onde o aumento da concentração de óleo essencial diminuiu significativamente a permeabilidade do filme ao vapor de água (PELISSARI, 2009).

Da mesma forma, era esperado que a incorporação de nanopartículas de argila diminuísse a permeabilidade do filme, através do efeito de barreira. No entanto para análise proposta foi observado resultado oposto. Para os filmes PHBV/Caulinita e PHBV/Caulinita/OEO foram observados valores de permeabilidade ao vapor de água próximos ao polímero puro, de $0,0210 \pm 0,0003$ (g.mm/dia.m².kPa) e $0,0300 \pm 0,0007$ (g.mm/dia.m².kPa), respectivamente.

Esse efeito pode ter ocorrido devido ao grau de dispersão das nanopartículas de argila e a matriz polimérica. Uma vez que não houve tratamento químico nas nanopartículas, pode ser que ao serem incorporadas em um polímero, essas cargas fiquem aglomeradas devido à baixa afinidade com a matriz polimérica orgânica, prejudicando assim efeito de barreira. De acordo com as análises de dispersão obtida por MEV no trabalho de Costa *et al.* (2020), é possível observar diversos aglomerados ao longo da matriz nos nanocompósito de

PHBV/Caulinita, permitindo a passagem de vapor de água e, portanto, prejudicando o efeito de barreira esperado.

Além disso, por ser hidrofílica, a caulinita apresenta uma maior afinidade com moléculas de água, permitindo assim à célula de permeabilidade uma maior absorção de água (SILVA *et al.*, 2012).

Estes comportamentos observados tanto para as amostras de PHBV/OEO como de PHBV/Caulinita/OEO também podem ser explicados pelo fato que neste trabalho foram utilizados tanto filmes preparados anteriormente como filmes recém-processados. Os filmes recém-processados apresentam uma matriz polimérica mais definida, com a presença de um maior teor de OEO incorporado, dificultando a passagem de vapor de água, como no caso do filme de PHBV/OEO. Já os filmes de PHBV/Caulinita/OEO como observado anteriormente na análise de TGA e comparada com o valor encontrado no estudo de Costa *et al.* (2020), uma certa quantidade de óleo foi evaporada ao longo do tempo, provocando assim modificações estruturais na matriz polimérica devido à presença de espaços vazios que antes eram ocupados pelo óleo, facilitando assim a transmissão de vapor de água através do material (ALVES *et al.*, 2007).

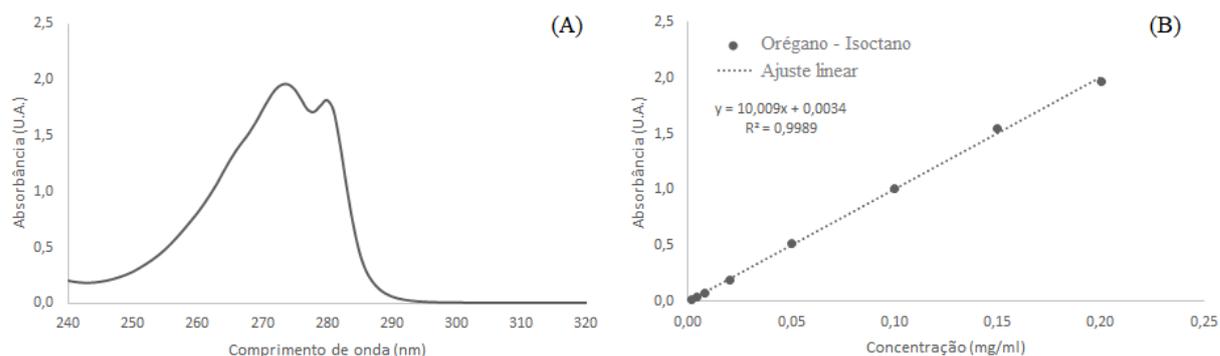
De modo geral, os valores encontrados neste trabalho foram semelhantes com os valores de filmes de polímeros sintéticos comerciais, como polietileno de baixa densidade (0,00385 – 0,00582 g.mm/dia.m².kPa) e polietileno de alta densidade (0,000987 – 0,00237 g.mm/dia.m².kPa) (KELLER; KOUZES, 2017).

4.3 ENSAIO DE LIBERAÇÃO DO ÓLEO DE ORÉGANO

O estudo de liberação *in vitro* foi realizado por um período de 48 h, sendo a liberação quantificada por espectrofotometria. Este ensaio foi conduzido com o objetivo de entender o comportamento da liberação do OEO em isoctano, ambiente simulador de alimentos gordurosos. Inicialmente, conforme mencionado na metodologia, foi realizado um espectro do OEO em isoctano para determinar a absorção máxima. O espectro do OEO para a concentração de 0,02 mg/mL em isoctano encontra-se apresentada na Figura 21 (A). A partir da absorção máxima, diversas diluições foram propostas e uma curva de calibração de concentração *versus* absorbância foi construída, obtendo a equação de reta indicada na Figura

21 (B). Através da equação da reta foi possível estimar a concentração de OEO em cada alíquota, no decorrer do ensaio de liberação.

Figura 21. Espectro UV do óleo essencial de orégano (A) e a curva analítica do óleo essencial de orégano em isoctano (B).



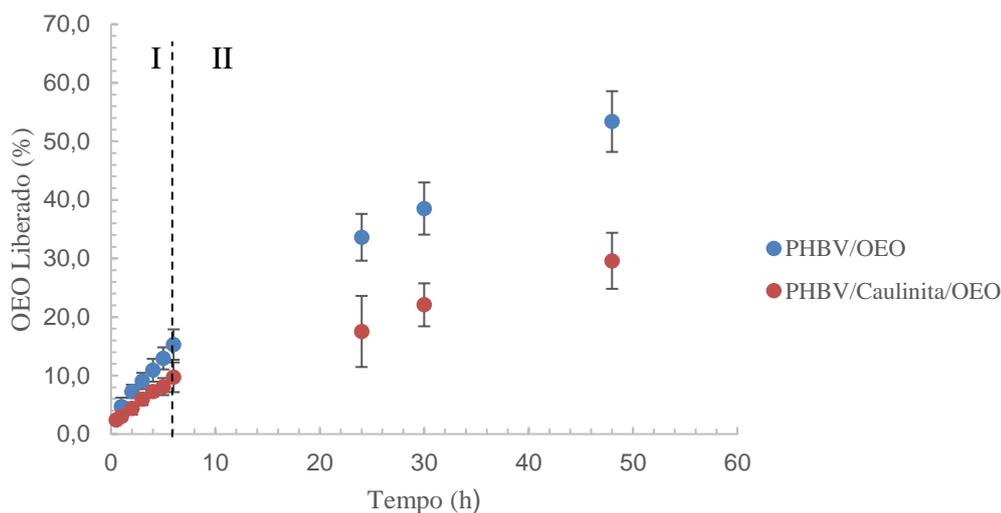
Fonte: Autor próprio.

A Figura 22 apresenta os resultados quanto ao perfil de liberação de OEO a partir dos filmes de PHBV/OEO e PHBV/Caulinita/OEO em isoctano. Como pode ser observado, as curvas de liberação apresentam regiões distintas. Na primeira região, estimada até o tempo de 6 h, uma grande quantidade de OEO é cedida ao meio simulador. Inicialmente, certa quantidade de OEO se encontra na superfície mais externa do filme, caracterizando em uma liberação inicial acelerada do composto ativo. Nas primeiras 6 h de análise, cerca de $15,3\% \pm 2,6\%$ e $9,7\% \pm 2,5\%$ de óleo foram liberados dos filmes de PHBV/OEO e PHBV/Caulinita/OEO, respectivamente. Após a difusão do OEO aderido à parte exterior de filme, ainda há OEO dentro da matriz polimérica, o qual se difunde para meio, o que, por sua vez, explica o aparecimento da região II. Esta região está associada à difusão do composto ativo localizado na parte mais interna da matriz polimérica, levando a tempos mais prolongados com menor taxa de liberação (HUANG; BRAZEL, 2001).

De modo geral, é possível observar que os perfis de liberação dos filmes de PHBV/OEO e PHBV/Caulinita/OEO foram semelhantes. A liberação do OEO no meio é gradual ao longo de 48 h de análise. Entretanto, conforme os últimos dias de liberação, a barra de erro aumenta, aproximando ligeiramente os resultados. Esse aumento da barra de erro era

esperado, pois à medida que aumenta o tempo de análise, tem-se mais manuseio da amostra e reposição do meio, interferindo diretamente na dispersão dos resultados.

Figura 22. Curvas de liberação do óleo nos filmes: PHBV/OEO e PHBV/Caulinita/OEO.



Fonte: Autor próprio.

O perfil de liberação do PHBV/OEO exibiu uma maior porcentagem de óleo liberado durante o ensaio, alcançando um valor de aproximadamente $53,4\% \pm 5,2\%$ de liberação após 48 h.

A cinética de liberação do filme de PHBV/Caulinita/OEO foi mais lenta quando comparada com a de PHBV/OEO. Em 48 h, o filme PHBV/Caulinita/OEO liberou cerca de $29,6\% \pm 4,8\%$ de óleo para o meio. Este comportamento pode ser explicado tanto pela dispersão das nanopartículas de argila no polímero quanto pela interação caulinita/polímero e caulinita/óleo. Como mencionado anteriormente, é possível que os filmes contendo caulinita não apresentem uma boa dispersão na matriz polimérica, formando estruturas aglomeradas. Entretanto, é possível que haja uma interação entre a caulinita e o OEO, fazendo com que o óleo fique protegido pelas lamelas da argila.

Com isso, a liberação do OEO no meio de liberação seria maior nos filmes sem argila (PHBV/OEO) e menor nos filmes em que a nanopartícula está presente (PHBV/Caulinita/OEO). Esse mesmo efeito foi observado no trabalho de Costa *et al.* (2020), onde a incorporação das nanopartículas de caulinita foi o suficiente para dificultar a liberação

do óleo para o meio quando comparado com o filme contendo apenas óleo (COSTA *et al.*, 2020).

4.3.1 Aplicação de modelos cinéticos às curvas de liberação do óleo de orégano

A seleção de um modelo adequado é essencial para o entendimento da cinética de liberação de determinado ativo em um meio específico para sua aplicação. Para isso, o software *DDSolver* fornece uma série de critérios estatísticos para avaliar a qualidade do ajuste a um modelo cinético, incluindo a média erro quadrática (RMSE), desvio padrão residual (RMSE_root), coeficiente de correlação (R_obs_pre), coeficiente de determinação (Rsqr), coeficiente ajustado de determinação (Rsqr_adj), critério de informação Akaike (AIC) e critério de seleção do modelo (MSC). Dentre esses critérios, os mais utilizados no campo de identificação do modelo de liberação são o Rsqr, AIC e MSC (ZHANG *et al.*, 2010).

Para modelos de liberação com o mesmo número de parâmetros, o Rsqr pode ser utilizado para descrever o modelo mais adequado. Valores de Rsqr próximos de 1 indicam que o modelo é adequado (ZHANG *et al.*, 2010).

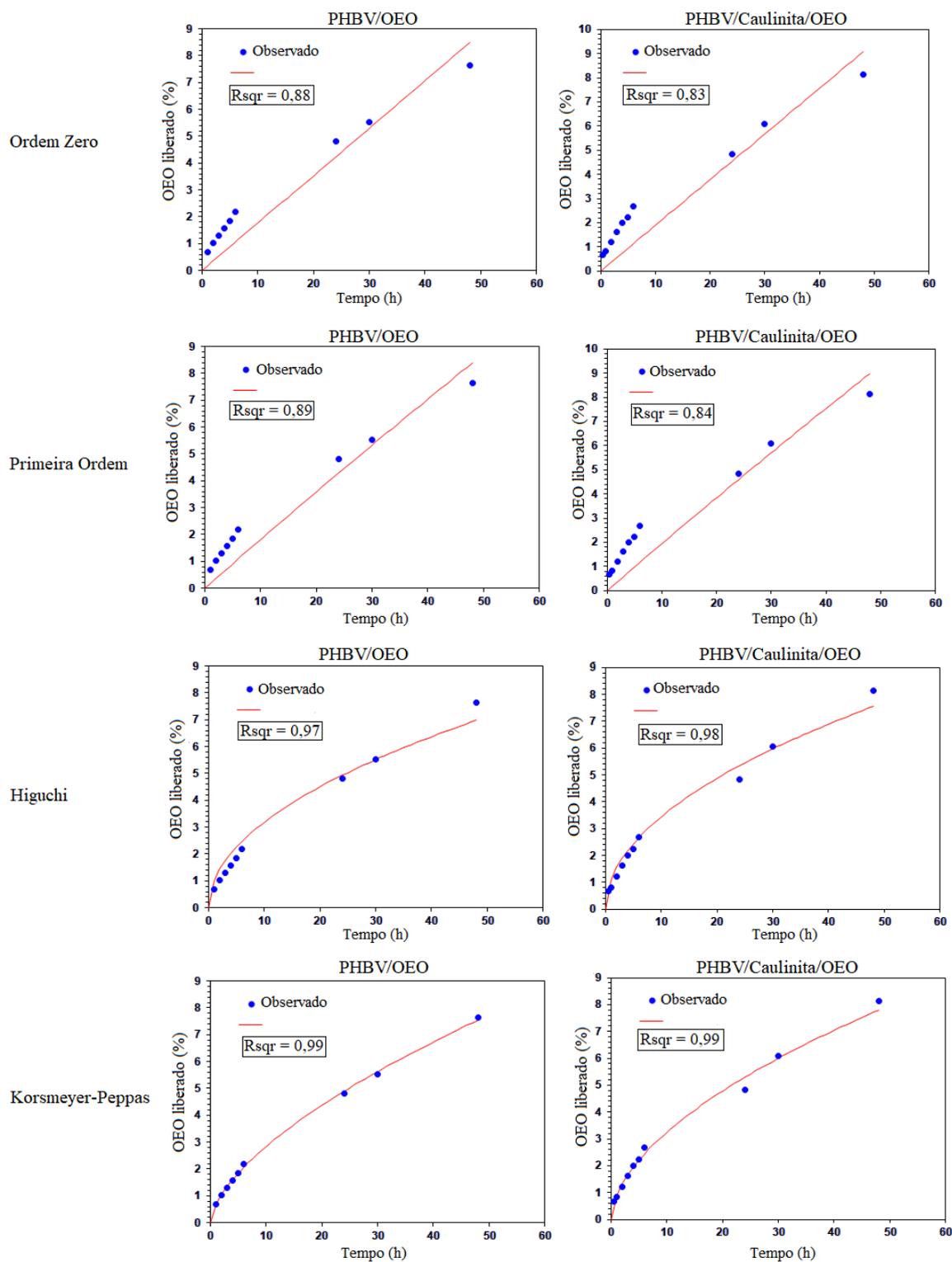
O parâmetro AIC indica o quanto o modelo foi ajustado para se parecer com os dados experimentais. Assim, quanto menor o valor de AIC, mais preciso é o modelo (MOTULSKY; CHRISTOPOULOS, 2003 *apud* SISWANTO *et al.*, 2015).

Já para o MSC, ao comparar diferentes modelos, o modelo mais adequado será aquele de maior valor de MSC, indicando que houve um melhor ajuste dos dados. Em geral, o modelo é apropriado quando MSC é maior ou igual a 2 (ZHANG *et al.*, 2010).

Os perfis de liberação foram avaliados comparando os dados experimentais obtidos a quatro diferentes modelos matemáticos, usando o *DDSolver*: Ordem zero, Primeira ordem, Higuchi e Korsmeyer-Peppas. Os resultados são apresentados na Figura 23.

Na Figura 23, os pontos em azul indicam os valores experimentais encontrados no ensaio de liberação de cada formulação no meio e as linhas em vermelho indicam os valores preditos, de acordo com o modelo matemático. A escolha do modelo cinético foi realizada considerando os parâmetros Rsqr, AIC e MSC. Os valores de Rsqr estão indicados na Figura 23.

Figura 23. Gráficos da liberação obtidos automaticamente no software do Excel “*DDSolver*”.



Fonte: Autor próprio.

No modelo de ordem zero, é possível observar que os valores preditos não se assemelham aos valores reais porque este modelo é baseado na taxa de liberação constante. Logo, este modelo não descreve o perfil de liberação destes filmes. Assim como o modelo de ordem zero, o modelo de primeira ordem não descreve as curvas experimentais, pois este compreende que a liberação ocorre proporcionalmente à quantidade de óleo no interior da matriz polimérica. O modelo de Higuchi também não se mostrou adequado para descrever as curvas experimentais, sendo que o tratamento de n (expoente de difusão) = 0,5 é o limite superior para propor a cinética como um processo de difusão através da matriz.

Assim, de acordo com os dados obtidos após a aplicação dos modelos matemáticos, o modelo de Korsmeyer-Peppas foi o que descreveu melhor as curvas experimentais para os dois filmes e, conseqüentemente, apresentou o melhor coeficiente de determinação ($R_{sqr} = 0,99$ para PHBV/OEO e PHBV/Caulinita/OEO). Neste modelo, quando o parâmetro n é $\leq 0,43$ indica um perfil de liberação por processo de difusão; $n = 0,85$ indica o relaxamento (erosão) do polímero; enquanto n com valor entre 0,43 e 0,85 indica um mecanismo de transporte não Fickiano, correspondente a um comportamento anômalo, ocorrendo os processos de difusão bem como de relaxamento (GALLO, 2019). A Tabela 5 apresenta o parâmetro n dos filmes produzidos obtidos a partir do modelo de Korsmeyer-Peppas.

Tabela 5. Valores de n obtidos pelo modelo de Korsmeyer-Peppas.

Parâmetro	PHBV/OEO	PHBV/Caulinita/OEO
n	0,62	0,56

Fonte: Autor próprio.

Os parâmetros estatísticos dos diferentes modelos estão apresentados na Tabela 6. Confirmando a avaliação dos perfis de liberação da Figura 23, o modelo de Korsmeyer-Peppas é o modelo mais adequado para este estudo, apresentando o valor mais próximo de 1 para R_{sqr} , menores valores de AIC e os maiores valores de MSC para ambos os filmes, como mostrado na Tabela 6. Os demais modelos não apresentaram valores satisfatórios para a adequação dos dados obtidos à cinética de liberação.

Tabela 6. Parâmetros estatísticos gerados nos modelos matemáticos.

Modelo	Parâmetros estatísticos					
	Rsqr		AIC		MSC	
	PHBV/ OEO	PHBV/Caulinita/ OEO	PHBV/ OEO	PHBV/Caulinita/ OEO	PHBV/ OEO	PHBV/Caulinita/ OEO
Ordem Zero	0,88	0,83	52,05	50,04	1,96	1,60
Primeira Ordem	0,94	0,87	45,61	47,62	2,67	1,84
Higuchi	0,97	0,98	39,72	27,40	3,33	3,86
Korsmeyer- Peppas	0,99	0,99	11,76	21,28	6,43	4,48

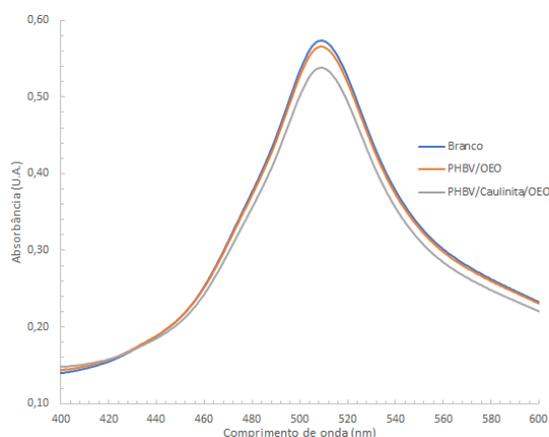
Fonte: Autor próprio.

Deste modo, pelos resultados obtidos da Figura 23 e pelos valores descritos na Tabela 6, pode-se observar que a liberação destes filmes ocorre principalmente por processos de difusão do óleo e o relaxamento ou erosão da matriz polimérica. Ou seja, à medida que a matriz é degradada, a liberação do óleo para o meio é favorecida.

4.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS FILMES PELO MÉTODO DE DPPH

A atividade antioxidante dos filmes pelo método de DPPH pode ser observada na Figura 24.

Figura 24. Gráfico de absorbância *versus* comprimento de onda.



Fonte: Autor próprio.

Durante a análise foi possível observar que os filmes produzidos apresentaram uma diminuição da absorbância ao comprimento de onda de 510 nm, caracterizando assim uma redução na quantidade de radical livre de DPPH• na solução, conforme apresentado na Tabela 7.

Os resultados da atividade antioxidante estão demonstrados de duas maneiras: uma, indicando a porcentagem de DPPH• livre na solução e a outra, a quantidade que foi consumida de DPPH• pela ação antioxidante do OEO.

Tabela 7. Atividade antioxidante dos filmes de PHBV contendo OEO.

Amostras	Média das absorbâncias em 510 nm	%DPPH presente na solução	% Inibição de DPPH
Branco	0,573 ± 0,003	100,00	0,00
PHBV/OEO	0,566 ± 0,003	98,72	1,28
PHBV/Caulinita/OEO	0,538 ± 0,003	93,89	6,11

Fonte: Autor próprio.

De acordo com Ré e Jorge (2012), o OEO apresenta em sua constituição grupamentos capazes de doar átomos de hidrogênio para os radicais livres, formando radicais estáveis e, conseqüentemente, evitando a oxidação (RÉ, JORGE, 2012). Os resultados indicam que houve uma redução de DPPH livre para 98,72% e 93,89% nos filmes de PHBV/OEO e PHBV/Caulinita/OEO, respectivamente, quando comparados à solução inicial contendo 100% de DPPH radical. Isso indica uma inibição de 1,28% do agente oxidante pelos filmes de PHBV/OEO e uma redução de 6,11% de atividade oxidante nos filmes de PHBV/Caulinita/OEO.

Essa maior atividade antioxidante detectada nos filmes de PHBV/Caulinita/OEO pode estar relacionada pela possível interação entre a caulinita e o óleo. Como discutida nos ensaios de permeabilidade, a caulinita pode ter protegido o óleo durante o processamento e armazenamento, fazendo com que este apresentasse uma maior atividade antioxidante diante do DPPH.

Os valores de percentual de inibição do DPPH parecem baixos quando comparado a outros estudos. Na literatura, são considerados filmes com atividade antioxidante aqueles que

apresentam porcentagens de inibição em torno de 60% de DPPH, como observado no trabalho Caetano *et al.*, (2018). Esses autores estudaram filmes à base de amido de mandioca com 2% m/V de OEO e 3% m/V de extrato de resíduo de abóbora e encontraram valores de 60,49% de inibição do DPPH, caracterizando assim estes filmes como bioativos (CAETANO *et al.*, 2018).

Em outro estudo realizado por Garrido-Miranda *et al.* (2018), um filme de PHB com amido termoplástico incorporado com 2,5% em massa de eugenol apresentou uma inibição de 92,8% de DPPH (GARRIDO-MIRANDO *et al.*, 2018).

Embora as porcentagens de inibição de DPPH encontradas para os filmes produzidos neste trabalho foram inferiores à encontrada na literatura, pode-se dizer que os materiais exibiram uma tendência de atividade antioxidante, devido à redução da concentração de DPPH na solução. Os valores podem não ter sido mais satisfatórios devido ao baixo teor de OEO presente nos filmes e à baixa liberação do OEO no meio de isoctano após 48h. Sendo assim, uma alternativa para melhorar a atividade antioxidantes destes filmes seria produzir materiais com um teor de OEO adequado à aplicação.

CONCLUSÃO

No presente trabalho foi avaliado o efeito da caulinita em conjunto com óleo essencial de orégano em filmes à base de PHBV no que se diz respeito às propriedades de barreira e à atividade antioxidante. Para isso, foram realizadas ensaio de permeabilidade ao vapor de água e atividade antioxidante pelo método de DPPH. Ensaios de liberação do OEO em isoctano também foram propostos para os filmes de PHBV/OEO e PHBV/Caulinita/OEO, de modo a compreender a diferença na cinética de dissolução entre os materiais.

Por meio da análise termogravimétrica foi possível verificar que o teor de óleo nos filmes foi relativamente baixo quando comparado com o artigo de Costa *et al.* (2020). Essa diferença percentual pode ser justificada devido à volatilização parcial do óleo durante um longo período de armazenamento.

Os filmes de PHBV/OEO demonstraram um bom desempenho quanto à permeabilidade ao vapor d'água, observando que a incorporação do OEO no filme de PHBV proporciona uma redução na permeação de moléculas gasosas de água, conseqüentemente diminuindo a permeação de umidade para o interior da embalagem. Já para os filmes de PHBV/Caulinita e PHBV/Caulinita/OEO, não houve melhoria significativa nos valores de permeabilidade ao vapor de água quando comparada com o polímero puro. Tal comportamento pode ser justificado pela baixa interação da nanopartícula com a matriz organofílica, gerando pontos de aglomeração de caulinita.

O estudo de liberação do óleo em isoctano mostrou que os filmes PHBV/OEO e PHBV/Caulinita/OEO apresentaram uma liberação gradual durante a análise de 48 h. Sendo que o sistema PHBV/Caulinita/OEO foi o que exibiu uma cinética de liberação mais lenta, fornecendo assim um controle mais adequado para a liberação do composto ativo no meio.

Além disso, esse sistema se mostrou adequado à atividade antioxidante, mesmo com baixos teores de OEO incorporado. Os resultados encontrados poderiam ser melhorados, ajustando o teor de óleo presente nos filmes.

Desta forma, visando aplicação em embalagem ativa, onde espera-se atingir uma liberação gradual do composto ativo permitindo que durante todo o tempo de prateleira o alimento possa ter contato com o composto ativo, impedindo reações de oxidação, esses materiais apresentam potencial aplicação. A presença do óleo proporciona atividade

antioxidante nos filmes e a utilização de nanopartículas de caulinita faz com que o óleo não seja liberado com grande facilidade para o meio, permitindo assim que a atividade do óleo seja mantida por longos períodos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRE – **Associação Brasileira de Embalagens**. Estudo ABRE macroeconômico da embalagem e cadeia de consumo. Disponível em: <https://www.abre.org.br/dados-dosetor/ano2019/>. Acesso em: 12 julho 2021.

ALVES, A. C. de S. B.; GARCIA, S. M. da S.; FONSECA, V. C.; VINHAS, G. M.. Avaliação das propriedades mecânicas de filmes de PHB/PEG aditivados com óleo essencial de alecrim. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS, 22., 2016, Natal. Anais [...]. [s. L.]: 22º CBECiMat, 2016. p. 8733-8743.

ALVES, V.D. et. al. Effect of glycerol and amylose enrichment on cassava starch film properties. **Journal of Food Engineering**, 78, 941-946, 2007.

AMASS, W.; AMASS, A.; TIGHE, B. A review of biodegradable polymers: uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blend of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies. **Polymer International**. v. 47, p. 89-144, 1998.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIAL (ASTM). ASTM D 883 – 00. Standard Terminology Relating to Plastics. West Conshohocken, PA, 2000.

ARAÚJO, Luis Otavio de. **Embalagens ativas: Síntese de filmes antimicrobianos à base de Polietileno de baixa densidade e zeólita A contendo prata**. 2019. 60 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2019.

AZEREDO, Henriette Monteiro Cordeiro de. **Fundamentos de estabilidade de alimentos**. 2. ed. Brasília: Técnica, 2012. 326 p. Embrapa.

BARÃO, Mariana Zanon. **Dossiê Técnico – Embalagens para produtos alimentícios**. Instituto de Tecnologia do Paraná – TECPAR. Agosto/2011.

BARON, Lana Flávia *et al.* Oxidação de lipídeos e as implicações na nutrição e saúde de animais de produção. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, [S.L.], v. 37, n. 1, p. 26597, 29 abr. 2020. Cadernos De Ciência E Tecnologia. <http://dx.doi.org/10.35977/0104-1096.cct2020.v37.26597>.

BITENCOURT, C.M.; FÁVARO-TRINDADE, C.s.; SOBRAL, P.J.A.; CARVALHO, R.A.. Gelatin-based films additivated with curcuma ethanol extract: antioxidant activity and physical properties of films. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 40, p. 145-152, out. 2014. Elsevier BV.

BORDES, P.; POLLET, E.; AVÉROUS L.. Nano-biocomposites: Biodegradable polyester/nanoclay systems. **Progress in Polymer Science**, 2009. 34(2): p. 125-155

BRAGA, L. R.; SILVA, F. M. Embalagens ativas: uma nova abordagem para embalagens alimentícias. **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, v. 8, n. 4, p. 170-186, out./dez. 2017.

BRANDOLT, S. D. F. **Influência do uso de plastificante nas propriedades térmicas e mecânicas de nanocompósitos de poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato)**. 2015. 63 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2015.

BOTRE, Diego Alvarenga; SOARES, Nilda de Fatima Ferreira; ESPITIA, Paula Judith Perez; SOUSA, Solange de; RENHE, Isis Rodrigues Toledo. Avaliação de filme incorporado com óleo essencial de orégano para conservação de pizza pronta. **Ceres**, Viçosa, v. 57, n. 3, p. 283-291, jun. 2010.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. **Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 223–253, 2004.

CAETANO, Karine dos Santos; LOPES, Nathalie Almeida; COSTA, Tania Maria Haas; BRANDELLI, Adriano; RODRIGUES, Eliseu; FLÔRES, Simone Hickmann; CLADERA-OLIVERA, Florencia. Characterization of active biodegradable films based on cassava starch and natural compounds. **Food Packaging And Shelf Life**, [S.L.], v. 16, p. 138-147, jun. 2018. Elsevier BV.

CAMPOS-REQUENA, V. H. et al. Polymer/clay nanocomposite films as active packaging material: Modeling of antimicrobial release. **European Polymer Journal**, v. 71, p. 461–475, out. 2015a.

CAMPOS-REQUENA, V. H. et al. The synergistic antimicrobial effect of carvacrol and thymol in clay/polymer nanocomposite films over strawberry gray mold. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 1, p. 390–396, nov. 2015b.

CARLI, L. N.; DAITX, T. S.; GUÉGAN, R.; GIOVANELA, M.; CRESPO, J. S.; MAULER, R. S. Biopolymer nanocomposites based on poly(hydroxybutyrate-cohydroxyvalerate) reinforced by a non-ionic organoclay. **Polymer International**. v. 64, 2015, p. 235-241.

CASTRO, Frederico Vicente Ribeiro de. **Eficácia de um filme ativo na oxidação lipídica de alimentos com alto teor de gordura**. 2018. 82 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia Humana e Ambiente, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2018.

CHEN, G. X. et al. Structure and mechanical properties of poly(hydroxybutyrate-cohydroxyvalerate) (PHBV)/clay nanocomposites. **Journal of Materials Science Letters**, v.21, p.1587-1589. 2002

CHENG, Hongfei; ZHOU, Yi; LIU, Qinfu. Kaolinite Nanomaterials: preparation, properties and functional applications. **Nanomaterials From Clay Minerals**, [S.L.], p. 285-334, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-814533-3.00006-5>.

COELHO, Antonio Carlos Vieira; SANTOS, Pérsio de Souza; SANTOS, Helena de Souza. Argilas especiais: argilas quimicamente modificadas - uma revisão. **Química Nova**, [S.L.], v. 30, n. 5, p. 1282-1294, out. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422007000500042>.

COMMISSION REGULATION (EU). No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food.

COSTA, Renata C. da; DAITX, Tales S.; MAULER, Raquel S.; SILVA, Natália M. da; MIOTTO, Marília; CRESPO, Janaina S.; CARLI, Larissa N.. Poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate)-based nanocomposites for antimicrobial active food packaging containing oregano essential oil. **Food Packaging And Shelf Life**, [S.L.], v. 26, p. 100602, dez. 2020. Elsevier BV.

GALINDO, Marcella Vitoria; PAGLIONE, Isabela dos Santos; BALAN, Geane Cristiane; SAKANAKA, Lyssa Setsuko; SHIRAI, Marianne Ayumi. Atividade antimicrobiana e antioxidante de filmes comestíveis de gelatina e quitosana adicionados de óleos essenciais. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 26, n. 0, p. 1-9, mar. 2019.

GALLO, Thais Cristina Benatti. **Transferência de massa e cinética de liberação de óleo essencial de orégano encapsulado pelos métodos de gelificação iônica e coacervação complexa**. 2019. 109 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto, 2019.

GARCIA, E. E. C. (2003) Nanocompósitos: Novas Opções em Materiais de Embalagem. **CETEA**, 15.

GARRIDO-MIRANDA, Karla A.; RIVAS, Bernabé L.; RIVERA, Mónica A. Pérez; SANFUENTES, Eugenio A.; PEÑA-FARFAL, Carlos. Antioxidant and antifungal effects of eugenol incorporated in bionanocomposites of poly(3-hydroxybutyrate)-thermoplastic starch. **Lwt**, [S.L.], v. 98, p. 260-267, 2018. Elsevier BV.

GONÇALVES, S. P. C. **Biodegradação de filmes de PHBV, PCL, PP e blendas pela ação de microrganismos de solo**. 2009. 157f. Tese (Doutorado em Microbiologia Aplicada) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro. Rio Claro, 2009.

HA, C.-S.; CHO, W.-J. Miscibility, properties, and biodegradability of microbial polyester containing blends. **Progress in Polymer Science**. v. 27, 2002, p. 759-809.

HUANG, X.; BRAZEL, C. S. On the importance and mechanisms of burst release in matrix-controlled drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v. 73, n. 2-3, p. 121-136, 2001.

JORGE, Neuza. Embalagens para alimentos. **São Paulo: Cultura Acadêmica**, 2013. 194 p.

KANEHASHI, S. et al. Analysis of permeability; solubility and diffusivity of carbon dioxide; oxygen; and nitrogen in crystalline and liquid crystalline polymers. **Journal of Membrane Science**, v. 365, n. 1, p. 40–51, 1 dez. 2010

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. **Current Medicinal Chemistry**. 2003, 10, 813-829.

KELLER, Paul E.; KOUZES, Richard. **Water Vapor Permeation in Plastics**. 2017. Pacific Northwest National Laboratory. Disponível em: https://www.pnnl.gov/main/publications/external/technical_reports/PNNL-26070.pdf. Acesso em: 03 fev. 2022.

KWON, S.; CHANG, Y.; HAN, J. Oregano essential oil-based natural antimicrobial packaging film to inactivate Salmonella enterica and yeasts/molds in the atmosphere surrounding cherry tomatoes. **Food Microbiology**, V. 65, p. 114- 121, 2017.

KUAI, Lingyun; LIU, Fei; CHIOU, Bor-Sen; AVENA-BUSTILLOS, Roberto J.; MCHUGH, Tara H.; ZHONG, Fang. Controlled release of antioxidants from active food packaging: a review. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 120, p. 106992, jun. 2021. Elsevier BV.

KUMAR, S.; MAITI, P. Understanding the controlled biodegradation of polymers using nanoclays. **Polymer**. v. 76, 2015, p. 25-33.

LANDIM, Ana Paula Miguel; BERNARDO, Cristiany Oliveira; MARTINS, Inayara Beatriz Araujo; FRANCISCO, Michele Rodrigues; SANTOS, Monique Barreto; MELO, Nathália Ramos de. Sustentabilidade quanto às embalagens de alimentos no Brasil. **Polímeros**, [S.L.], v. 26, p. 82-92, 19 jan. 2016. FapUNIFESP (SciELO).

LEMES, A.P., **Nanocompósitos de poli(3-hidroxi-butirato-co-3-hidroxi-valerato) e nanotubos de carbono**. 2010. 176 f. Tese (Doutorado em Química), Departamento de Físico-Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

LENZ, R. W.; MARCHESSAULT, R. H. Bacterial Polyesters: Biosynthesis, Biodegradable Plastics and Biotechnology. **Biomacromolecules**. v. 6, 2005.

LIMA, Marília Silva Duarte de. **Estudo da influência da incorporação do óleo essencial de cravo em filme de Poli (Cloro de Vinila)**. 2018. 84 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência de Materiais, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

LIMA JÚNIOR, Reginaldo Gomes de; VINHAS, Glória Maria; SOUTO-MAIOR, Rosa Maria; SANTOS, Andreina Maria Pinheiro; SANTOS, Edval José Pinheiro; ALMEIDA, Yêda Medeiros Bastos de. Desenvolvimento e caracterização de filmes à base de Poli(3-hidroxi-butirato) aditivado com ZnO nano. **Brazilian Journal Of Food Technology**, [S.L.], v. 19, 2016. FapUNIFESP (SciELO).

MACÊDO NETO, José Costa de. **Produção e caracterização de nanocompósitos poliméricos obtidos por polimerização em emulsão utilizando caulinita amazônica**. 2011. 269 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

MALI, Suzana; KARAM, Laura Beatriz; RAMOS, Luiz Pereira; GROSSMANN, Maria Victória E.. Relationships among the Composition and Physicochemical Properties of Starches with the Characteristics of Their Films. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 52, n. 25, p. 7720-7725, 10 nov. 2004. American Chemical Society (ACS).

MARTINS, Cristiana Sofia de Figueiredo. **Filme Ativo com Extrato de Chá Verde na Preservação de Alimentos Suscetíveis à Oxidação Lipídica**. 2018. 93 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Segurança Alimentar, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2018.

MEDEIROS, E.A.A.; CARDOSO, R.R.; BOGGIONE, D.M.G.; ALVES, R.B.T.; ÂNGULO, J.D.V.; SOARES, N.F.F. Atividade antimicrobiana de filme de acetato de celulose incorporado com óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) em queijo minas frescal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 25., 2016, Gramado.

MEDEIROS, João Augusto Salviano de. **Filme biodegradável incorporado com óleo essencial de orégano encapsulado**. 2017. 62 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Materiais, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2017.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do dpph•: Estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [S.L.], v.17, n. 1, p 36–44, 2015. FapUNIFESP (SciELO).

PESQUISA FAPESP. São Paulo: FAPESP, n. 281, jul. 2019. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/planeta-plastico/>. Acesso em: 10 julho 2021.

MÜLLER, Priscila Schultz. **Desenvolvimento de embalagem ativa biodegradável de amido de pinhão e de mandioca com antioxidantes e antimicrobianos naturais para conservação de manteiga orgânica**. 2016. 177 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

PAUL, D.R., ROBESON, L.M., Polymer nanotechnology: Nanocomposites. **Polymer**. v. 49, 2008, p. 3187-3204.

PAULO, Ana Flávia Sampaio; BALAN, Geane Cristiane; SHIRAI, Marianne Ayumi. ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO (*ORIGANUM VULGARE* L.) NA PRODUÇÃO DE FILMES ATIVOS BIODEGRADÁVEIS. **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Volume 4**, [S.L.], p. 430-443, 2021. Editora Científica Digital.

PAVLIDOU, S.; PAPASPYRIDES, C.D. A review on polymer-layered silicate nanocomposites. **Progress in Polymer Science**. v. 33, 2008, p.1119 – 1198.

PELISSARI, F. M.; GROSSMANN M. V. E.; YAMASHITA, F.; PINEDA, E. A. G. Antimicrobial, Mechanical, and Barrier Properties of Cassava Starch-Chitosan Films Incorporated with Oregano Essential Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 2009, 57, 7499.

PINELLI, Juliana Junqueira. **Uso de nanoemulsões de óleos essenciais no controle Clostridium sporogenes em mortadela**. 2018. 115 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.

PORTAL WWF, 2019. Disponível em: < <https://www.wwf.org.br/?70222/Brasil-e-o-4-paisdo-mundo-que-mais-gera-lixo-plastico> > Acesso em: 10 julho 2019.

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

SARANTÓPOULOS, Claire; LS, Cofcewiz. Embalagens ativas para produtos perecíveis. **Boletim Tecnológico e Desenvolvimento de Embalagens**, v. 28, n. 3, p. 1-12, 2016.

SENHORINI, Grece Aparecida. **Partículas de PHBV ou alginato de sódio contendo o atraente floral pDimetoxibenzeno e/ou cucurbitacinas: desenvolvimento, caracterização e potencial aplicação no controle à praga Diabrotica spedosa**. 2014. 178 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

SIEPMANN, J.; PEPPAS, N. A. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. SUPPL., p. 163–174, 2012.

SILVA, A. C.; LOPES, C. M.; FONSECA, J.; SOARES, M. E.; SANTOS, D.; SOUTO, E. B.; FERREIRA, D. Risperidone Release from Solid Lipid Nanoparticles (SLN): Validated HPLC Method and Modelling Kinetic Profile. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 8, n. 4, p. 307–316, 2012a.

SILVA, Eduardo M.; COUTINHO, M Goretti F.; COSTA, Raquel B.; CARVALHO, Laura H. de; CANEDO, Eduardo L.. Influência da concentração e purificação da argila na estrutura e permeação ao vapor de água de nanocompósitos PEBDL/bentonita. **Polímeros**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 108-114, 18 dez. 2012. FapUNIFESP (SciELO).

SILVA, Emilene Rita Pimentel da. **Formulação e caracterização de um nanocompósito polimérico eco-amigável**. 2012. 64 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia e

Ciência dos Materiais, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2012.

SILVA, Luciana Tosta. **Eficácia da atividade antioxidante e caracterização de embalagens ativas biodegradáveis formuladas com amido de mandioca e derivados de cacau e café.** 2009. 148 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência de Alimentos, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2009.

SILVA, Maira Oliveira. **Atividade antioxidante e composição de oligossacarídeos em subproduto obtido do processamento industrial da goiaba (*Psidium guajava*).** 2015. 130 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.

SINGHVI, G.; SINGH, R. Review: In-vitro drug release characterization models. **International Journal of Pharmaceutical Studies and Research**, v. II, n. I, p. 77– 84, 2011.

SINHA RAY, S., BOUSMINA, M., Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21st century materials world. **Progress in Materials Science**. v. 50, 2005, p. 962-1079.

SINHA RAY, S., OKAMOTO, M., Polymer/layered silicate nanocomposites: a review from preparation to processing. **Progress in Polymer Science**. v. 28, 2003, p. 1539-1641.

SISWANTO, Agus; FUDHOLI, Achmad; NUGROHO, Akhmad Kharis; MARTONO, Sudiby. IN VITRO RELEASE MODELING OF ASPIRIN FLOATING TABLETS USING DDSOLVER. **Indonesian Journal Of Pharmacy**, [S.L.], v. 26, n. 2, p. 94, 4 abr. 2015. Universitas Gadjah Mada.

SIRACUSA, V.; ROCCULI, P.; ROMANI, S.; ROSA, M. D. Biodegradable polymers for food packaging: a review. **Trends in Food Science & Technology**. v. 19, 2008, p. 634-643

SOARES, Denise Josino; TAVARES, Tarliane Martins; BRASIL, Isabella Montenegro; FIGUEIREDO, Raimundo Wilane de; SOUSA, Paulo Henrique Machado de. PROCESSOS OXIDATIVOS NA FRAÇÃO LIPÍDICA DE ALIMENTOS. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, [S.L.], v. 30, n. 2, p. 263-272, 31 dez. 2012. Universidade Federal do Paraná.

SOARES, Nilda de Fátima Ferreira; SILVA, Washington Azevêdo da; PIRES, Ana Clarissa dos Santos; CAMILLOTO, Geany Peruch; SILVA, Paula Santiago. Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. **Ceres**, Viçosa, v. 56, n. 4, p. 370-378, ago. 2009.

SOUZA, Victor Gomes Lauriano de. **Desenvolvimento de bio-nanocompósitos de quitosano/montmorilonita incorporados com extratos naturais como embalagens ativas para alimentos.** 2018. 203 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2018.

SOUZA JUNIOR, Osvaldo Francisco de. **Desenvolvimento e caracterização de blendas poliméricas de PHBV e EVA com alto teores de acetato de vinila (VA)**. 2017. 130 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

RADAELLI, Gislaine. **Estudo da permeabilidade a gases de nanocompósitos de poliolefina**. 2017. 47 f. TCC (Graduação) - Curso de Química Industrial, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

RAMALHO, Valéria Cristina; JORGE, Neuza. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, [S.L.], v. 29, n. 4, p. 755-760, jul. 2006. FapUNIFESP (SciELO).

RÉ, P.V del; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [S.L.], v. 14, n. 2, p. 389-399, 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-05722012000200021>.

REIS, Letícia Caribé Batista. **Formulação e caracterização de filmes biodegradáveis de fécula de mandioca incorporados com polpa de manga e extrato de erva-mate, e seu efeito na preservação de alimentos**. 2011. 151 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência de Alimentos, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2011.

ROJAS, I.M. **Efecto del tipo y contenido de aceites esenciales sobre las propiedades mecánicas y barrera de películas comestibles basadas en zeína**. Trabajo Fin de Carrera (Ingeniero Agrícola en Industrias Agrarias y Alimentarias) – Departamento de Química Aplicada – Universidad Publica de Navarra, 2010. 171 p.

ROSAS, Michele Ribeiro. **Desenvolvimento de embalagem biodegradavel contendo compostos bioativos das cascas de Euphorbia umbellata (PAX) BRUYNS (JANAÚBA)**. 2019. 79 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia em Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2019.

TONGNUANCHAN, Phakawat; BENJAKUL, Soottawat; PRODPRAN, Thummanoon; NILSUWAN, Krisana. Emulsion film based on fish skin gelatin and palm oil: physical, structural and thermal properties. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 48, p. 248-259, 2015. Elsevier BV.

UGALDE, Mariane Lobo. **Biofilmes ativos com incorporação de óleos essenciais**. 2014. 162 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada, Erechim, 2014.

VAZ, Lincoln Pontes. **Caracterização físico-química de manteiga da terra durante o armazenamento controlado**. 2015. 74 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

YILDIRIM, Selçuk; RÖCKER, Bettina. Active Packaging. **Nanomaterials For Food Packaging**, [S.L.], p. 173-202, 2018.

ZHANG, Yong; HUO, Meirong; ZHOU, Jianping; ZOU, Aifeng; LI, Weize; YAO, Chengli; XIE, Shaofei. DDSolver: an add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles. **The Aaps Journal**, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 263-271, 6 abr. 2010. Springer Science and Business Media LLC.