

# 13

CAPÍTULO

## ELABORAÇÃO E APLICAÇÃO DE FILME À BASE DE AMIDO NA CONSERVAÇÃO DE QUEIJO MUÇARELA

*Geane Cristiane Balan*

*Claudio Takeo Ueno*

*Marly Sayuri Katsuda*

*Fábio Yamashita*

*Lyssa Setsuko Sakanaka*

### 1 INTRODUÇÃO

Em decorrência da contaminação ambiental oriunda do descarte incontrollável de materiais derivados de petróleo, conhecidos como plásticos, tem aumentado o interesse em materiais biodegradáveis em substituição aos materiais plásticos

convencionais. Nas últimas décadas, estudos relacionados aos filmes à base de biopolímeros têm sido intensamente realizados, uma vez que esses materiais têm o potencial de reduzir o número de embalagens tradicionais e, portanto, a contaminação (ZAMUDIO-FLORES et al., 2009).

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

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

Segundo Mali, Grossmann e Yamashita (2010), a grande tendência na pesquisa e no desenvolvimento das embalagens de amido está voltada para a combinação de amido e poliésteres biodegradáveis, produzidas por meio da tecnologia de coextrusão e sopro. Tal combinação permite a obtenção de materiais com estabilidade às condições ambientais e, mesmo que os poliésteres empregados apresentem valores comerciais acima dos polímeros convencionais, podem ser considerados como uma alternativa viável, já que podem ser usados em processos que permitem a escala industrial. Dentre os polímeros sintéticos biodegradáveis mais promissores e estudados em interações com o amido está o PBAT (poli (butileno adipato cotereftalato)), um poliéster oriundo de reações químicas de monômeros de origem petrolífera.

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

## **2 EMBALAGENS PLÁSTICAS**

Na indústria de alimentos, os plásticos são amplamente empregados em embalagens, devido às suas vantagens em relação aos outros materiais, por possuírem maior durabilidade, custo, na maioria das vezes, acessível, baixo peso, rigidez ou flexibilidade, transparência e boas propriedades de barreira. Além disso, po-

dem ser termossoldados ou impressos, o que se torna um diferencial. Apesar das características positivas relacionadas à utilização de embalagens plásticas, deve se destacar o fato de que apresentam desvantagens significativas, por provirem de fontes não renováveis e se acumularem no meio ambiente, contrariando as atuais expectativas de minimização dos impactos ambientais (PELISSARI, 2009).

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

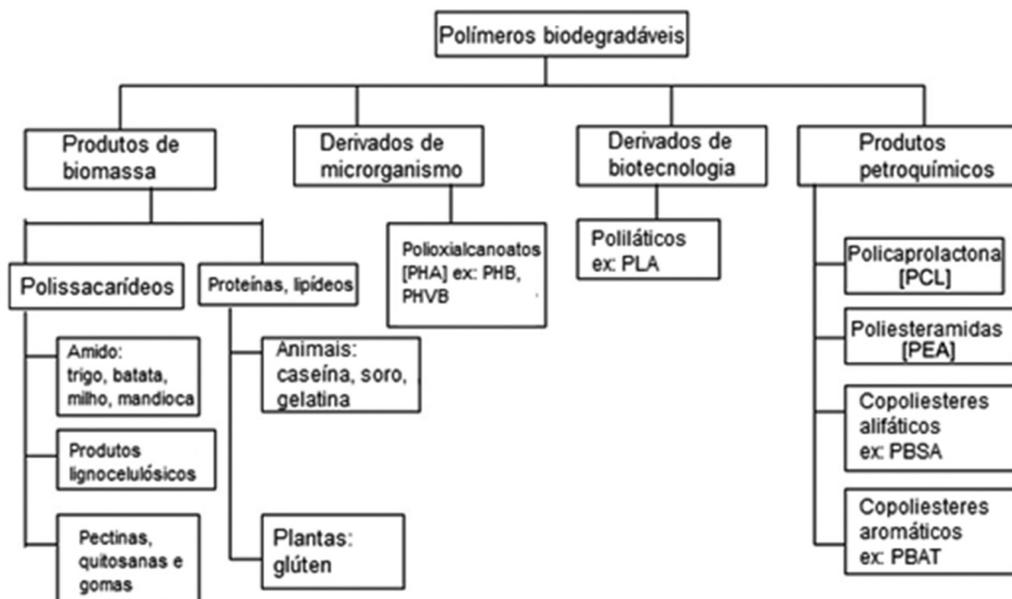
## **2.1 Embalagens biodegradáveis**

Os bioplásticos, de origem renovável, fazem parte de uma nova geração de plásticos com o potencial de reduzir, em grandes proporções, o impacto ambiental em termos de consumo energético e de volume de resíduos produzidos, ou seja, estes se comportam como plásticos tradicionais, porém, com o diferencial de serem totalmente biodegradáveis, dentro de um ciclo de compostagem (ALVES; TOMÁS, 1990).

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

## **2.2 Polímeros biodegradáveis**

De acordo com Avèrous e Boquillon (2004), a maioria dos biopolímeros possui disponibilidade comercial e pode ser adicionado a outros polímeros não biodegradáveis em diferentes áreas industriais, como a de embalagens, sendo classificadas em: produtos de biomassa; derivados de microrganismos; derivados de biotecnologia e de produtos petroquímicos, conforme pode ser observado no esquema apresentado na Figura 13.1.



Fonte: Avèrous e Boquillon (2004).

**Figura 13.1** Classificação dos polímeros biodegradáveis

## 2.3 Amido

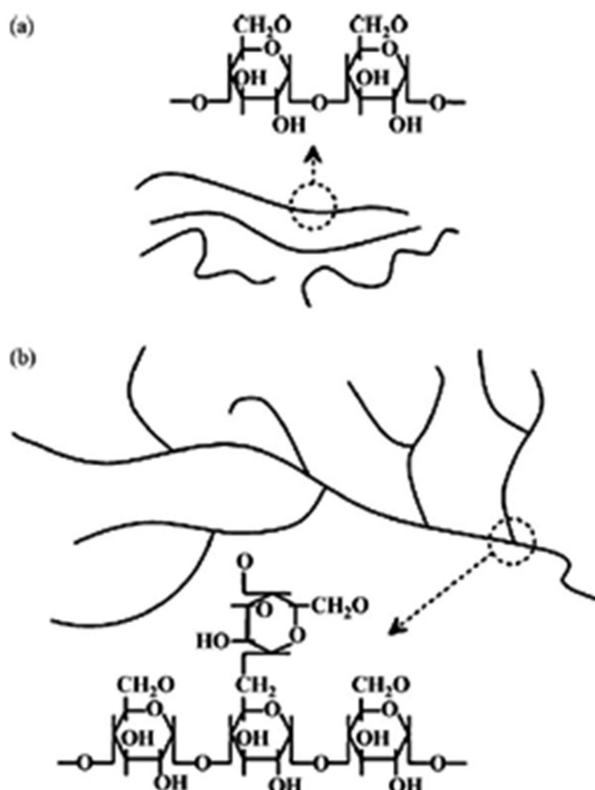
O amido é um polissacarídeo biodegradável, renovável e atóxico. Além de ser uma matéria-prima disponível em quantidade suficiente, os processos industriais permitem que o mesmo seja extraído com elevada pureza. É encontrado em grãos de cereais como arroz, milho, trigo, centeio e cevada, e em tubérculos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

Quanto à sua estrutura química, o grânulo de amido é formado, principalmente, por dois polímeros, a amilose e a amilopectina (Figura 13.2). Os teores variam em função da fonte botânica do amido. A fécula de mandioca apresenta teores em torno de 17% a 20% de amilose (SARMENTO, 1999).

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

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

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



Fonte: <sup>1</sup>Liu et al. (2009) apud Brito (2012)

**Figura 13.2** Estrutura química e representação esquemática da (a) amilose e (b) amilopectina

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

Para a obtenção de um material termoplástico à base de amido, sua estrutura granular semicristalina precisa ser destruída para dar origem a uma matriz polimérica homogênea e essencialmente amorfa (<sup>2</sup>VAN SOEST; Vliegenthart, 1997; <sup>3</sup>SOUZA; ANDRADE, 2000; <sup>4</sup>LIU, 2005 apud MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

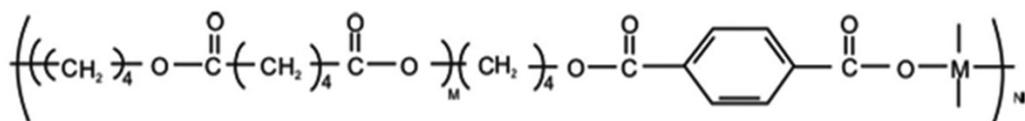
Os fenômenos que possibilitam a destruição da organização dos grânulos de amido são a gelatinização e a fusão. A gelatinização é a transformação irreversível do amido granular em uma pasta viscoelástica, fenômeno que acontece na presença de excesso de água ou de um plastificante e leva à destruição da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

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

## 2.4 PBAT (poli (butileno adipato cotereftalato))

O PBAT (Figura 13.3), um poliéster aromático-alifático biodegradável de nome comercial Ecoflex, é degradado dentro de poucas semanas e tem sua utilização viabilizada pelo processo de extrusão, formando filmes com elevada resistência mecânica (<sup>5</sup>GU et al., 2008 apud OLIVATO, 2010). É produzido pela empresa BASF, pela condensação do ácido 1,4 - benzenodicarboxílico (tereftálico) e o ácido hexanodióico (adípico). O PBAT é biodegradável, e, dentre as diversas aplicações, foi objeto de investigação quando misturado com amido e fibras naturais vegetais (ALVES; TOMÁS, 2007).

- 
- 2 VAN SOEST, J. J. G; Vliegenthart, J. F. G. Crystallinity in starch plastics: consequences for material properties. *Trends in Biotechnology*, Kidlington Oxford, v. 15, n. 6, p. 208- 213, 1997.
  - 3 SOUZA, R. C. R; ANDRADE, C. T. Investigação dos processos de gelatinização e extrusão de amido de milho. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, São Paulo, v. 10, n. 1, p. 24-30, 2000.
  - 4 LIU, Z. Edible films and coatings from starches. In: HAN, J. H. (Ed.). *Innovations in food packaging*, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2005. p. 318-336.
  - 5 GU, S. Y; ZHANG, K; REN, J; ZHAN, H. Melt rheology of polylactide/poly(butylene adipate-co-terephthalate) blends. *Carbohydrate Polymers*, v.74, p. 79-85, 2008.

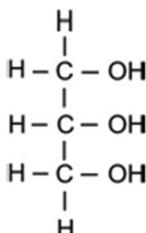


Fonte: Olivato (2010).

**Figura 13.3** Estrutura molecular da unidade monomérica do PBAT

## 2.5 Aditivos

Para a elaboração de filmes poliméricos, há a necessidade de incorporação de plastificantes na mistura. Os plastificantes são substâncias que são incorporadas aos plásticos rígidos, a fim de aumentar sua flexibilidade, maquinabilidade e extensibilidade. Os plastificantes reduzem a temperatura de transição vítrea e aumentam a lubrificação das cadeias, de modo que melhoram o processamento e as características de extrusão, reduzem a temperatura de processamento e a rigidez, além de melhorar a flexibilidade do material (SARANTÓPOULOS et al., 2002). No caso dos filmes à base de amido de mandioca, o plastificante mais utilizado é o glicerol (Figura 13.4).



Fonte: Olivato (2010).

**Figura 13.4** Estrutura molecular do glicerol

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

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

O BHT foi desenvolvido para a indústria petroquímica, porém, hoje em dia, também é utilizado na indústria alimentícia. É bastante efetivo como antioxidante, porém, é relativamente volátil em altas temperaturas. Os EUA são res-

ponsáveis por aproximadamente 25% das vendas, por causa do seu baixo preço. É utilizado como antioxidante em borracha, gasolina, óleo lubrificante e outros produtos industriais (GAVA, 1998).

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

Os óleos essenciais, por sua vez, são substâncias naturais de origem vegetal classificadas como GRAS (*generally regarded as safe* – geralmente considerado como seguro), o que os torna atrativos ao consumidor por não apresentarem efeito tóxico, mesmo quando empregados em concentrações relativamente elevadas (PEREIRA et al., 2008). Os autores verificaram um ótimo desempenho do óleo essencial de orégano sobre os fungos testados, confirmando a sua eficiência fungicida e/ou fungistática.

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

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

## 2.6 Produção de filmes biodegradáveis

Segundo Sebio (1996), a extrusão é um processo de tratamento térmico do tipo HTST (do inglês, *high temperature in short time*), ou seja, de alta temperatura e curto tempo, que, por uma combinação de calor, umidade e trabalho mecânico, modifica profundamente as matérias-primas, concedendo novas formas e estruturas com novas características funcionais. O processo promove a gelatinização do amido, a desnaturação e reorientação das proteínas, a inativação enzimática, a destruição de substâncias tóxicas, tais como os inibidores das proteases, e a diminuição da contagem microbiana para formar um produto de características físicas e geométricas predeterminadas. Além disso, proporciona a hidratação de amidos e proteínas, homogeneização, desestruturação do grânulo de amido, fusão de gorduras, plastificação e expansão da estrutura alimentar (FELLOWS, 2006).

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

## 2.7 Caracterização dos filmes biodegradáveis

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

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

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

Dentre as funções da embalagem, além de proteger o produto contra danos físicos e mecânicos, precisa protegê-los contra a ação de fatores ambientais como gases, luz, vapor d'água e odores. Dessa forma, a embalagem deve constituir-se numa barreira que impeça, ou dificulte, o contato entre o ambiente externo e o produto em seu interior (SARANTÓPOULOS et al., 2002b).

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

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

## 2.8 Aplicação dos filmes biodegradáveis como embalagem

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

O custo desse tipo de embalagem é mais alto que o das embalagens tradicionais, como as de polietileno. No entanto, o consumidor em geral está mais cons-

ciente em relação à preservação do meio ambiente, aceitando muitas vezes preços mais elevados em favor dessa preservação (MALI, 2002).

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

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

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

#### 3.1 Elaboração dos filmes por extrusão

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

As diferentes composições dos filmes elaborados se encontram na Tabela 13.1.

**Tabela 13.1** Formulações dos filmes elaborados por extrusão

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

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

Os ingredientes foram primeiramente misturados manualmente e peletizados (Figura 13.5A) na mesma extrusora de elaboração dos filmes. Após peletização, foram triturados (Figura 13.5B) e reprocessados para a formação dos filmes (Figura 13.5C). As temperaturas das zonas da extrusora ficaram na faixa de 90 °C a 120 °C e rotação de rosca de 35 rpm.



**Figura 13.5** Etapas do processo de elaboração dos filmes. A: peletes; B: peletes triturados; C: balão formado durante o processo de extrusão-sopro

## 3.2 Caracterização dos filmes

Os filmes foram avaliados verificando a homogeneidade (presença de microbolhas e/ou partículas visíveis a olho nu, cor e/ou zonas de opacidade distintas), manuseabilidade (possibilidade de ser manuseado sem riscos de ruptura) e continuidade. A espessura dos filmes foi determinada utilizando um micrômetro digital (Mitutoyo), e a média aritmética de três pontos foi medida aleatoriamente sobre a superfície do filme para a determinação das propriedades mecânicas, e a de dez pontos, para as propriedades de barreira. Antes das análises de caracterização dos filmes, os mesmos foram condicionados em temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C) e 57% de URE (umidade relativa) por três dias.

### 3.2.1 Caracterização mecânica

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

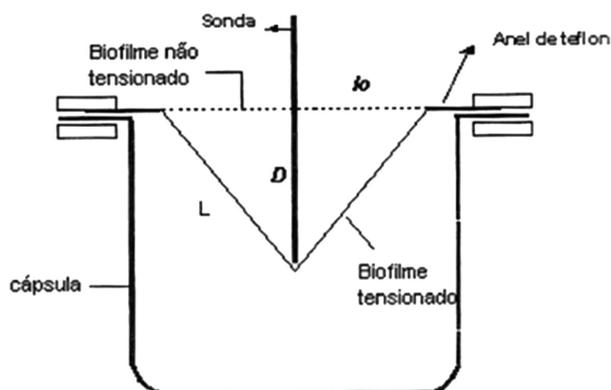
### 3.2.2 Teste de tração

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

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

### 3.2.3 Teste de perfuração

Os filmes foram fixados em uma célula com 60 mm de diâmetro de abertura e perfurados por uma sonda de 5 mm de diâmetro, deslocando-se a 1 mm/s perpendicularmente à superfície do filme (Figura 13.6).



Fonte: Sakanaka (2002).

**Figura 13.6** Esquema do sistema de determinação da força da deformação em teste de ruptura

O filme foi tensionado até sua ruptura, com a finalidade de determinar a quantidade de força necessária para a perfuração do mesmo, utilizando o texturômetro TA.TX2 Stable Micro Systems (Surrey, Inglaterra) do laboratório de ciência e tecnologia de alimentos da UEL. Curvas de força *versus* deformação foram registradas, sendo que N (força de perfuração) corresponde ao ponto máximo da curva.

$$\frac{\Delta L}{L_o} = \frac{(D^2 + L_o^2)^{1/2} - L_o}{L_o} \quad \text{Equação (13.1)}$$

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

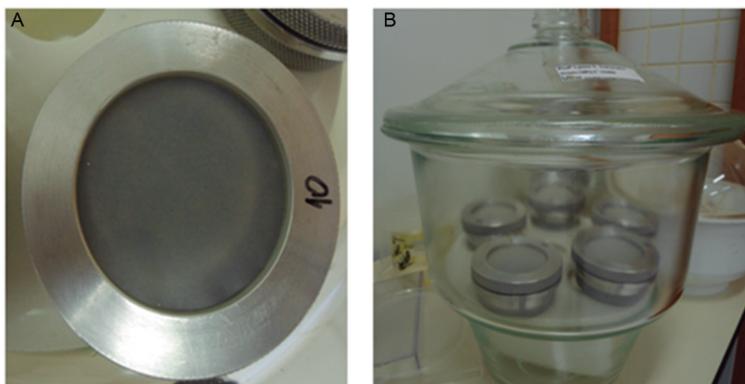
### 3.2.4 PVA (permeabilidade ao vapor de água)

As análises de permeabilidade de vapor d'água foram feitas segundo descrito em Sarantópoulos et al. (2002), baseado na norma E 96-95 da ASTM (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, 1996). Cada amostra foi fixada na abertura circular (60 mm) da cápsula de permeabilidade, de modo a garantir que a migração de umidade ocorra exclusivamente através do filme. Periodicamente, foram feitas pesagens da cápsula com o filme em balança analítica até a obtenção de uma taxa constante de ganho de peso. O ganho de peso (g) foi graficado em função do tempo (s) e, da reta obtida por regressão linear no regime constante, foi determinado o coeficiente angular (g/t) e calculada a TVPA (taxa de permeabilidade ao vapor de água). A determinação da PVA foi feita de acordo com a Equação (13.2):

$$PVA = (g/t) \cdot (e/A \cdot \Delta P) \quad \text{Equação (13.2)}$$

Onde g/t é o coeficiente angular (g/dia), A é a área de permeação (m<sup>2</sup>), e é a espessura média dos filmes (m), ΔP é a diferença de pressão de vapor de água (kPa) entre as superfícies do corpo de prova.

Os testes de PVA foram realizados nas seguintes condições iniciais de URE: 0% a 75%; 33% a 64% e 64% a 100%, proporcionadas com o uso de soluções saturadas – MgCl<sub>2</sub> (33% URE); NaNO<sub>2</sub> (64% URE), NaCl (75% URE), água pura (100% URE) e sílica gel (0% URE). As cápsulas de permeabilidade foram deixadas dentro de dessecadores e pesadas durante sete dias. A análise foi realizada em triplicata. O esquema do teste é mostrado na Figura 13.7.



**Figura 13.7** Análise de permeabilidade de vapor de água. A: vista superior da cápsula de permeabilidade; B: vista do dessecador contendo as cápsulas de PVA

### 3.2.5 Solubilidade

A solubilidade dos filmes em água é uma importante propriedade para determinar a aplicabilidade destes como embalagem na maioria dos casos de alimentos com alta atividade de água. Há o interesse em reduzir a transferência de água entre o produto e o meio externo, e como essa propriedade está relacionada com a solubilidade do filme, filmes com alta solubilidade podem comprometer suas propriedades mecânicas e de barreira. A matéria solúvel em água foi determinada seguindo o método usado por Carvalho (1997). O sistema funciona com agitação lenta e constante de 60 rpm do filme imerso em água, e após essa condição, foi determinado o conteúdo de matéria seca não solubilizada dos filmes, por secagem em estufa, por 24 horas a 105 °C. Essa análise foi realizada em duas condições, a 25±2 °C/24 horas e a 60±5 °C/30 minutos. A análise foi realizada em triplicata. A solubilidade (Solub.) foi calculada de acordo com a Equação (13.3).

$$\text{Solub. (\%)} = \frac{m_i}{m_f} \times 100 \quad \text{Equação (13.3)}$$

Onde:

$m_i$  = massa seca inicial do filme (g);

$m_f$  = massa seca final do filme (g);

### 3.2.6 Teste de opacidade

A opacidade dos filmes foi determinada pela utilização de um colorímetro Minolta modelo CRIO, do laboratório de tecnologia de alimentos da UEL. A

opacidade foi mensurada a partir da relação entre o componente de luminosidade (L) de leituras feitas sobre fundo branco e preto, e o cálculo foi feito por meio da Equação (13.4). As análises foram feitas com oito repetições.

$$Y(\%) = L_b/L_p \times 100 \quad \text{Equação (13.4)}$$

Onde:

L<sub>p</sub>: opacidade sobre o fundo preto;

L<sub>b</sub>: opacidade sobre fundo branco.

### 3.2.7 Isotermas de sorção

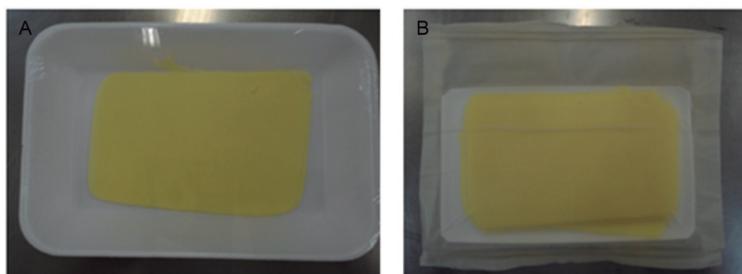
As amostras foram cortadas de forma aleatória em pequenos pedaços, e condicionadas por sete dias em dessecador contendo cloreto de cálcio anidro (UR aproximadamente zero). Em seguida, foram pesadas (0,5 g) em pesa-filtros previamente tarados, e colocadas no equipamento Aqua Sorp Isotherm Generator marca Decagon Devices (EUA). O equipamento registra valores de pesagens sucessivas até atingirem o equilíbrio a uma dada umidade relativa, gerando as curvas de sorção e dessorção. O conteúdo de umidade da amostra no equilíbrio foi calculado através do aumento da massa da amostra seca após equilíbrio a dada umidade relativa e foi expresso em g de água/g de massa seca. O ensaio foi realizado em duplicata para cada formulação, e as isotermas foram obtidas pela plotagem da umidade atingida pelas amostras no equilíbrio *versus* a umidade relativa. Para a modelagem dos dados, utilizou-se o modelo de GAB (Guggenheim-Anderson-deBôer), conforme Equação (13.5):

$$X_w = \frac{c \cdot k \cdot m_0 \cdot a_w}{[(1 - k \cdot a_w) \times (1 - k \cdot a_w + c \cdot k \cdot a_w)]} \quad \text{Equação (13.5)}$$

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

## 3.3 Armazenamento do queijo muçarela

Uma vez confeccionados os filmes, os mesmos foram cortados e selados. O queijo muçarela foi fatiado e adquirido no comércio local de Londrina, embalado em bandejas de poliestireno expandido com filme de PVC (poli- cloreto de vinila) e com os filmes dos tratamentos F1, F2 e F3, contendo 50 g de queijo. As embalagens foram armazenadas em uma BOD, a  $8 \pm 1$  °C e URE de 55% durante dez dias, tempo de vida de prateleira em supermercados (Figura 13.8).



**Figura 13.8** Fotografias das embalagens. A: embalagem de PVC; B: embalagem de filme biodegradável

### 3.3.1 Determinação de perda de massa

A perda de massa durante a armazenagem foi calculada em porcentagem em relação ao peso inicial do queijo, pela Equação (13.6), em triplicata.

$$\% \text{ perda de massa} = (m_i - m_f) / m_i \times 100 \quad \text{Equação (13.6)}$$

Onde:

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

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

### 3.3.2 Análises físico-químicas

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

### 3.3.3 Análise microbiológica

A contagem de microrganismos mesófilos, nas amostras no tempo 0 e após dez dias de armazenamento, foram inoculadas em PCA (*plate count agar*), e incubadas a 37 °C por 48 horas, segundo Vanderzant e Splittstoesser (1992).

Para a contagem de bolores e leveduras, foi feita com inoculação em ágar batata dextrose e incubadas por 3 a 5 dias a 25 °C, segundo Siqueira (1995).

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

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

Para de determinação de *E.coli*, foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos, com combinação seriada de três tubos contendo caldo LST (lauril sulfato triptose), caldo VB (verde bile brilhante) e caldo EC (*E.coli*) Medium. Como não houve crescimento com formação de gás, a análise foi finalizada.

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

### 3.4 Análise estatística

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

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos contrastes do teste de comparação de médias de Tukey para os ensaios de tração e perfuração estão demonstrados na Tabela 13.2. Houve diferença significativa a  $p \leq 0,05$  entre pelo menos dois tratamentos para todas as respostas do teste de tração, e não houve diferença significativa ( $p \geq 0,05$ ) entre os tratamentos para todas as respostas do teste de perfuração, para todas as condições testadas.

**Tabela 13.2** Teste de comparação de médias de Tukey para os ensaios de tração e perfuração

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

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

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

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

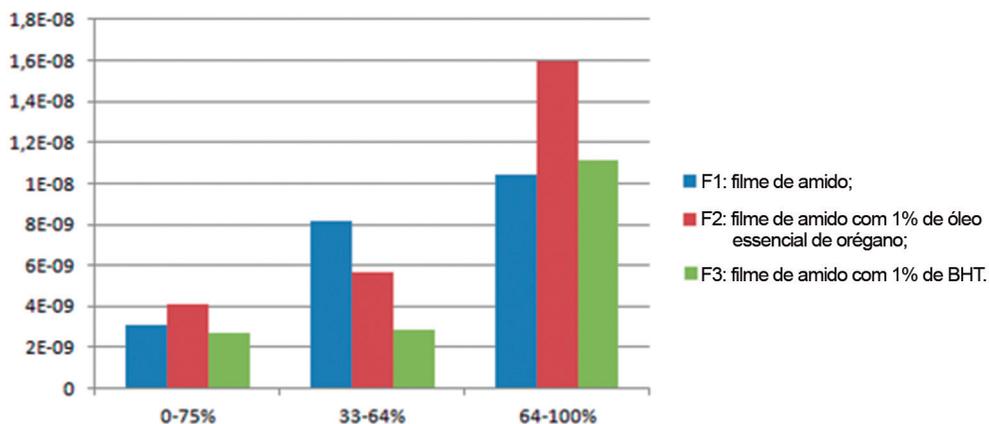
Dias (2011) encontrou resultados de tensão na ruptura de 2,98 MPa nos filmes com incorporação de 1% de BHT, enquanto o presente trabalho apresentou 3,25 MPa. Isso se explica devido Dias (2011) trabalhar com uma formulação contendo uma proporção amido:PBAT de 60:40, enquanto que, neste trabalho, a proporção foi de 80:20. Comportamentos semelhante foi observado com relação aos resultados de força na ruptura em testes de perfuração.

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

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

De acordo com a Figura 13.9, que demonstra os resultados da PVA, os filmes que foram conduzidos em condições de diferença de pressão de vapor de água de  $\Delta P$  (0% a 75%) apresentaram comportamentos semelhantes. O tratamento F3 apresentou o menor valor para a PVA em condição de diferença de pressão de vapor de água de  $\Delta P$  (33% a 64%) e valor de PVA intermediário quando expostos a um ambiente de maior umidade relativa ( $\Delta P$  64% a 100%).

Nessa mesma condição, percebe-se na Figura 13.9 que o tratamento F2 demonstrou o maior valor de PVA, e esse comportamento sugere que o óleo essencial adicionado pode ter se ligado à matriz em decorrência do processamento térmico, assim como observado por Madsen e Bertelsen (1995), pois, pela possível ação plastificante, a matriz menos densa aumenta a mobilidade das moléculas de água sorvidas na estrutura dos filmes.



**Figura 13.9** Gráfico dos valores das médias da PVA (g/Pa.m.s) dos tratamentos conduzidos em três condições de diferença de pressão de vapor de água de  $\Delta P$  (0% a 75%),  $\Delta P$  (33% a 64%) e  $\Delta P$  (64% a 100%)

Conhecer a PVA dos materiais ajuda a definir sua aplicabilidade, como, por exemplo, filmes muito permeáveis podem ser utilizados para embalar produtos frescos (MULLER; YAMASHITA; LAURINDO, 2008; AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, 1995).

O BHT possivelmente interagiu mais com as cadeias de amido, e, devido à menor presença de grupos hidroxilas livres, há redução da PVA. O comportamento oposto foi observado por Pelissari (2009), em que a PVA diminuiu de 10 para  $6,2 \times 10^{-9}$  g/Pa/m.s., obtida em filmes com 1% de óleo essencial de orégano e quitosana, sendo esse o menor valor entre os tratamentos.

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

Não houve diferença significativa ( $p \geq 0,05$ ) entre os tratamentos para todas as respostas do teste de solubilidade, para todas as condições testadas. Os resultados da solubilidade estão mostrados na Tabela 13.3.

**Tabela 13.3** Média dos valores de solubilidade nas duas condições de temperatura testadas

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

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

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

Nos resultados dos contrastes do teste de comparação de médias de Tukey para o teste de opacidade demonstrados na Tabela 13.4, houve diferença significativa a  $p \leq 0,05$  entre pelo menos dois tratamentos para todas as respostas do teste.

**Tabela 13.4** Teste de comparação de médias de Tukey para os ensaios de opacidade

Formulações	Opacidade (%)
F1	51,41 <sup>b</sup>
F2	57,27 <sup>a</sup>
F3	56,00 <sup>a</sup>

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

Os tratamentos F2 e F3, correspondentes aos filmes contendo óleo essencial e BHT, respectivamente, apresentaram maior opacidade do que o tratamento F1, sem aditivo. Esse resultado provavelmente se deve ao caráter hidrofóbico dos aditivos. Dias (2011) apresentou trabalho com opacidade de 64,27%, maior que a do referido trabalho, e isso ocorreu devido à maior concentração do polímero PBAT, com proporção de 40% e adição de BHT. No trabalho de Brito (2013), encontrou-se 58,41% de opacidade em filmes com óleo essencial adicionado de gelatina.

Não houve diferença significativa ( $p \geq 0,05$ ) entre os tratamentos para todas as respostas das isotermas de sorção para todas as condições testadas. A Tabela 13.5 relaciona os parâmetros obtidos dos modelos de GAB para os filmes produzidos.

**Tabela 13.5** Parâmetros dos modelos de GAB<sup>a</sup> para os filmes desenvolvidos

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

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

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

Os parâmetros obtidos dos modelos de GAB para os filmes produzidos estão descritos na Tabela 13.5. O valor da monocamada ( $m_0$ ) indica a quantidade máxima de água que pode ser adsorvida em uma camada única por grama de filme seco, sendo uma medida do número de sítios de sorção. Geralmente, os valores para monocamada são maiores nos filmes contendo mais glicerol, pois este tem maior afinidade pela água (OLIVATO, 2010).

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

A constante  $C$  está relacionada ao calor de sorção da monocamada (constante Guggenheim), e  $k$ , à constante relacionada ao calor de sorção das multicamadas. As constantes  $C$  e  $k$  são parâmetros que independem da composição do material e determinam a curvatura das isotermas em elevadas atividades de água (OLIVATO, 2010; COSTA, 2008).

Costa (2007) encontrou um valor para  $k$  de 0,974 para formulação de amido:PBAT (80:20%), valor similar quando comparado ao apresentado pelo presente trabalho, em torno de 1,035. Os valores encontrados para a constante  $C$  são mais baixos do que os relatados encontrados por outros autores (OLIVATO, 2010; PELISSARI, 2009; COSTA, 2007). A curva na Figura 13.10 representa um exemplo de isoterma de sorção dos filmes.

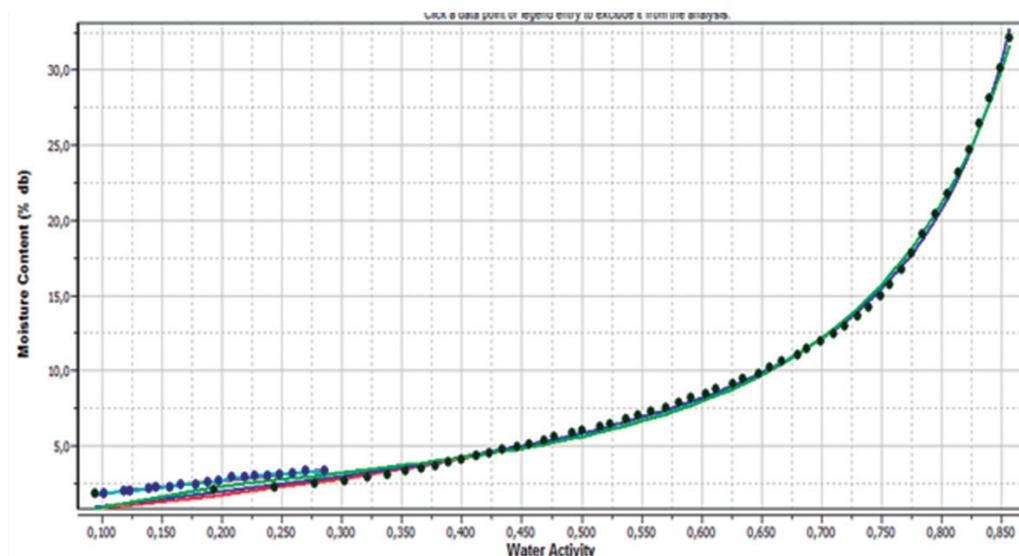
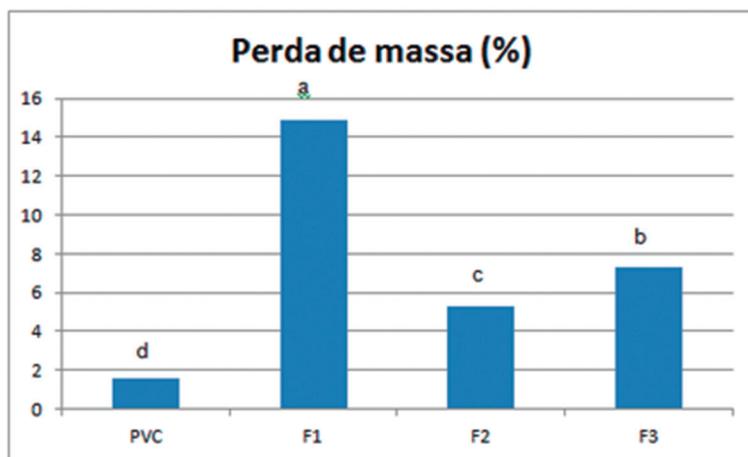


Figura 13.10 Isoterma de sorção dos filmes ajustados pelo modelo de GAB

A Figura 13.11 mostra os valores das médias da perda de massa durante o armazenamento do queijo muçarela. O tratamento F1 apresentou a maior perda

de massa, em torno de 14,8%, que se explica por ser um filme de apenas amido e PBAT, apresentando maior permeabilidade aos vapores de água, permitindo maior interação com o meio. Os tratamentos F2 e F3 se mostraram eficazes, ou seja, apresentaram uma menor perda de massa, enquanto o PVC (poli-cloreto de vinila) apresentou uma perda de massa próximo de 2%, resultado já esperado, pois filmes de PVC apresentam uma baixa permeabilidade.



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

**Figura 13.11** Gráfico dos valores das médias da perda de massa durante o armazenamento

Os resultados do teste de comparação de médias de Tukey para a análise de umidade, proteína e cinzas estão descritos na Tabela 13.6, e observa-se que houve diferença significativa a  $p \leq 0,05$  entre pelo menos dois tratamentos para todas as respostas do teste.

**Tabela 13.6** Médias das análises físico-químicas do queijo muçarela

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

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

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

Os resultados das análises microbiológicas do queijo muçarela no tempo zero ( $F_0$ ) e dos quatro tratamentos (Tabela 13.7) após dez dias foi ausente para as análises de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. Para os microrganismos mesófilos, houve um crescimento de  $1,4 \times 10$  UFC/g para o tempo zero, o que pode ser explicado devido à alta umidade do queijo. Houve um crescimento de  $1,2 \times 10$  UFC/g no uso do filme de PVC, pois as bandejas embaladas com PVC apresentaram a formação de gotículas de água ao longo do armazenamento, devido à sua menor PVA, o que elevou o conteúdo de umidade no interior dessas bandejas, favorecendo o crescimento de microrganismos, mesmo antes da deterioração do queijo. Mali Grossmann e Yamashita (2010) também observaram a formação de gotículas em bandejas comparando o comportamento de filmes à base de amido de inhame com filmes de PVC. Em relação aos tratamentos F1, F2 e F3, houve um crescimento de microrganismos mesófilos provavelmente em função da permeabilidade dos filmes, corroborando com os dados de permeabilidade ao vapor de água. A porosidade dos filmes pode ter permitido a passagem de micro-organismos do ambiente para o interior das embalagens.

De acordo com normas estabelecidas pela Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), a Resolução RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001, estabeleceu-se ausência para *Salmonella* spp. em 25 g de produto, e o presente trabalho está de acordo com as normas estabelecidas pela Anvisa.

**Tabela 13.7** Contagem em *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., microrganismos mesófilos e bolores e leveduras em queijo muçarela armazenado durante dez dias

Formulações	<i>Escherichia coli</i> (NMP/ml)	<i>Salmonella</i> spp. (ausência/ presença em 25 g)	Micro-organismos mesófilos (UFC/g)	Bolores e leveduras (UFC/g)
$F_0$	Ausente	Ausente	$1,4 \times 10$	Ausente
PVC	Ausente	Ausente	$1,2 \times 10$	Ausente
F1	Ausente	Ausente	$2,4 \times 10^3$	$1,2 \times 10$
F2	Ausente	Ausente	$2,7 \times 10^3$	$1,2 \times 10$
F3	Ausente	Ausente	$2,0 \times 10^3$	$1,2 \times 10$

Legenda:  $F_0$ : amostras no tempo zero; PVC: poli-cloreto de vinila; F1: filme de amido; F2: filme de amido com 1% de óleo essencial de orégano; F3: filme de amido com 1% de BHT.

Para bolores e leveduras, não houve crescimento no tempo zero e para os filmes com PVC, enquanto para os tratamentos F1, F2 e F3, houve um crescimento  $1,2 \times 10$  UFC/g. Marin (2006), ao armazenar alface americana utilizando filmes de amido, também observou crescimento de bolores e leveduras ( $>10^3$  UFC/g) no final de nove dias de armazenamento. Em trabalho de Olivato, Mali e Grossmann (2006) embalsamaram queijo prato em filmes à base de amido de inhame e, a partir do 14º dia de armazenamento, mostraram contaminação com mesófilos, bolores e leveduras acima de  $10^3$  UFC/g de produto. Comparando com o presente trabalho, pode-se dizer que o crescimento microbiano foi inferior até o 10º dia de armazenamento.

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

## 5 CONCLUSÃO

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

## REFERÊNCIAS

ALVES, M. M.; TOMÁS, R. Embalagens biodegradáveis. In: CASTRO, A. G.; POUZADA, A. S. *Embalagens para a indústria alimentar*. Lisboa: Instituto Piaget, 1990. p. 373-380. 2003.

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

AMIDOS: fontes, estruturas e propriedades funcionais. Disponível em: <[http://www.insumos.com.br/aditivos\\_e\\_ingredientes/lutens/124.pdf](http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/lutens/124.pdf)>. Acesso em: 23 out. 2011.

ASSOCIATION OF ANALYTICAL COMMUNITIES. **Official methods of analysis**. 16. Ed. Arlington: AOAC International, 1995. v. 12.

ARAÚJO, J. M. A. Antioxidantes. In: \_\_\_\_\_. **Química de alimentos: teoria e prática**. 3. Ed. Viçosa: UFV, 2004. p. 69-95.

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

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Resolução RDC n. 12, de 02/01/2001.

**Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 jan. 2001.

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

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

CARVALHO, R. A. Desenvolvimento e caracterização de biofilmes à base de gelatina. 128 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Departamento de Engenharia de alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas/SP, 1997.

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

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

COSTA, D. L. M. G. **Produção por extrusão de filmes de alto teor de amido termoplástico de mandioca com poli(butileno adipato co-tereftalato) (PBAT)**. 2008. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia em Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

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

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

FRANCO, C. M. L. et al. Introdução. In:\_\_\_\_\_. **Propriedades gerais do amido**. v. 1. Campinas: Fundação Cargill, 2001<sup>a</sup>. 221 p. (Cultura de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas).

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

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

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Water and glycerol as plasticizer affect mechanical and water vapor barrier properties of na edible wheat luten film. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 1, p. 206-211, 1993.

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

- MALI, S. **Produção caracterização e aplicação de filmes plásticos biodegradáveis à base de amido de cará.** Tese (Doutorado em Ciência Agrária de Alimentos) – Centro de Ciência Agrária, Universidade Estadual de Londrina, 2002. 150 f.
- MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Effects of yam starch films on storability and quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, 2003. p. 7055-7011.
- MALI, S. et al. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. **Carbohydrate Polymers**, vol. 60, n. 3, p. 283-289, 2005.
- MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.
- MARIN, T. Embalagem ativa para alface-americana (*Lactuca sativa* L.) minimamente processado. Dissertação (Mestrado em Ciência de alimentos) – Centro de Ciência Agrária, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2006. 57 f.
- MULLER, C. M. O.; YAMASHITA, F.; LAURINDO, J. B. Evaluation of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of 7/7 cassava starch films through a solubility approach. **Carbohydrate Polymers**, London, v. 72, p. 82-87, 2008.
- OLIVATO, J. B.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeito de embalagem biodegradável de amido no armazenamento de queijo processado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 81-88, jan./mar. 2006
- OLIVATO, J. B. Compatibilizantes na extrusão reativa de blendas amido/poli (butileno adipato co-tereftalato) para produção de filmes biodegradáveis. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010. 99 f.
- OLIVATO, J. B. et al. Effect of organic acids as additives on the performance of thermoplastic starch/polyester blown films. **Carbohydrate Polymers**, n. 90, p. 159-164, 2012.
- PELISSARI, F. M. **Produção e caracterização de filmes de amido de mandioca, quitosana e glicerol com incorporação de óleo essencial de orégano.** 2009. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.
- PEREIRA, L. H. G. **Obtenção e estudo das propriedades físico-químicas de amidos de mandioca (*Manihot esculenta*) oxidados e ácido-modificados.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação. Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2008. 108 f.
- RIBEIRO, E. P. Queijos. In: AQUARONE, E. **Biotechnology Industrial**. São Paulo: Blucher, 2001. p. 225-253.
- SAKANAKA, L. S. **Estudo das condições de armazenamento sobre as propriedades mecânicas e de barreira de filmes de gelatina reticulada.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Engenharia de alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. 2002. 140 f.

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

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

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

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

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

SILVA, N. et al. Contagem de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*. In: \_\_\_\_\_. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2007. p. 119-135. v. 3.

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

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

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. **TACO: Tabela brasileira de composição de alimentos**. 4. ed. Campinas: UNICAMP, 2011.

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

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

VILPOUX, O.; AVEROUS, L. Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas. In: CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F. (Coord.). **Tecnologias, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2003. p. 500-530. v. 3.

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

ZAMUDIO-FLORES, P. B. et al. Effect of oxidation level on the dual modification of banana starch: the mechanical and barrier. **Journal of Applied Polymer Science**, by Wiley & Sons, v. 112, n. 2, p. 822-829, 2009.

