



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

DISSERTAÇÃO

**CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE FILMES
ATIVOS ANTIMICROBIANOS ADITIVADOS COM ÓLEOS
ESSENCIAIS E PLASTIFICANTE**

Sheyla Moreira Gonçalves

2016



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

**CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE FILMES
ATIVOS ANTIMICROBIANOS ADITIVADOS COM ÓLEOS
ESSENCIAIS E PLASTIFICANTE**

SHEYLA MOREIRA GONÇALVES

Sob a Orientação da Professora
Nathália Ramos de Melo

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de concentração em Tecnologia de Alimentos.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2016.

664
G635c
T

Gonçalves, Sheyla Moreira, 1984-
Caracterização das propriedades
funcionais de filmes ativos
antimicrobianos aditivados com óleos
essenciais e plastificante / Sheyla
Moreira Gonçalves - 2016.
84 f. : il.

Orientador: Nathália Ramos de Melo.
Dissertação (mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro, Curso de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos.
Bibliografia: f. 61-71

1. Tecnologia de alimentos - Teses.
2. Segurança dos alimentos - Teses. I.
Melo, Nathália Ramos de. 1975-. II.
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Curso de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos. III.
Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

SHEYLA MOREIRA GONÇALVES

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração em Tecnologia de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 23/02/2016

Nathália Ramos de Melo. Dra. UFRRJ
(Orientadora)

Dilma Alves Costa. Dra. UFRRJ

Adriana dos Anjos Silva. Dra. UFF

AGRADECIMENTOS

“Tudo sofre, tudo crê, tudo espera, tudo suporta. O amor jamais acaba; havendo profecias, desaparecerão; havendo línguas, cessarão; havendo ciência, passará. Agora, pois, permanecem a fé, a esperança e o amor, mas o maior destes é o Amor”.

Coríntios 13:1-4-6-7-8-13

Desde minha chegada à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e Universidade Federal Fluminense (Volta Redonda), fui abençoada com a companhia de pessoas que me ajudaram a traçar meus caminhos e me presentearam com suas amizades, companhias e conselhos. Além destas, aqueles que sempre estiveram ao meu lado, mesmo distantes fisicamente. Portanto, gostaria aqui de agradecer-las de todo coração por tudo.

Agradeço primeiramente a Deus que ama, me guarda, orienta e guia todos os meus passos.

Agradeço aos meus familiares, em especial a minha mãe Anita Pereira Gonçalves, a minha irmã e melhor amiga Ana Paula de Oliveira Lopes, ao primo Hércules Borges Camilo, que apesar da distância sempre estiveram presentes em palavras de conforto, me erguendo nas horas de cansaço ou somando os dias de alegrias.

Agradeço à Dra. Nathália Ramos de Melo pela orientação, atenção nos momentos de dúvida, além da paciência, dedicação e amizade.

Agradeço ao Dr. Carlos Wanderlei Piler de Carvalho pela atenção e disponibilidade de ajuda para que eu pudesse concluir minha pesquisa.

Agradeço a CAPES pelo apoio financeiro.

Agradeço à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos e a Universidade Federal Fluminense pela acolhida.

Às amigas queridas do curso de mestrado Natalie, Amanda, Ana Paula e Lívia pela amizade, companheirismo e palavras de apoio nos momentos de sufoco.

Aos meus amados amigos Ana Sílvia e Tarcísio pelo companheirismo, palavras de apoio, conselhos e dias de descontração.

Às meninas do laboratório, em especial a Joyce, Daiane e Lívia pelo auxílio e amizade.

À minha amiga linda Carla Cristina que me presenteou com sua amizade e carinho desde a graduação.

Aos amigos do Alojamento da Pós-Graduação, em especial a Lidia, Nilcileny, Camila Camilo, Sidinei, Davy, e Elias pela amizade, companheirismo e palavras de conforto.

Muito Obrigada.

RESUMO

GONÇALVES, Sheyla Moreira. **Caracterização das propriedades funcionais de filmes ativos antimicrobianos aditivados com óleos essenciais e plastificante**. 2016. 84p Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

O emprego de embalagens ativas incorporadas com antimicrobianos naturais, como os óleos essenciais (OEs) para conservação de alimentos, representa um conceito moderno para a indústria alimentícia. Objetivou-se neste trabalho caracterizar filmes de acetato de celulose (AC) incorporados com OEs e suas combinações e/ou adição de plastificante, avaliando as influências da aditivação no comportamento físico e mecânico destes materiais. Caracterizou-se os filmes quanto à espessura, aspectos visuais, estrutura química, superfície, resistência mecânica, taxa de transmissão ao vapor de água (TTVA) e atividade antimicrobiana. Através da técnica “*casting*” foram obtidos filmes incorporados com 50% (p/v) de OEs de orégano, canela, funcho doce ou suas combinações e/ou glicerol (5, 10, 20 e 30% (p/v)). Tendo como controles filmes contendo somente 50% (p/v) de glicerol, e filme de AC puro, totalizando 41 tratamentos. A incorporação de OEs não modificou a espessura e transparência dos filmes, porém causou redução da TTVA. Os parâmetros de cor L^* , a^* e b^* foram afetados pela incorporação de OEs e/ou glicerol tendo os filmes apresentado-se claros com diferentes cores em comparação com o filme de AC puro. A incorporação da maioria dos OEs causou aumento da resistência à tração (RT), do módulo de elasticidade (ME) e redução do alongamento na ruptura (AR), com exceção para o filme com OE de funcho (OEF) que apresentou poder plastificante diferindo dos demais para todos os parâmetros mecânicos avaliados. A força de perfuração (FP) aumentou para a maioria dos filmes incorporados com OEs, a exceção do filme incorporado com os três OEs. As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) revelaram que a maioria dos OEs e suas combinações não causaram mudanças na superfície e região transversal dos filmes, a exceção do filme com OEF. Nos espectros da espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), notou-se que as interações entre a matriz polimérica e a maioria dos OEs foram semelhantes, com exceção para o filme com OEF. Quanto à eficiência antibacteriana *in vitro*, somente o filme incorporado com OEF não apresentou efetividade contra *Staphylococcus aureus* (Gram +) e *Escherichia coli* (Gram -). Foi observado que o glicerol causou aumento da espessura e TTVA nos filmes de AC, porém, nos filmes ativos com OEs não modificou o parâmetro para maioria dos tratamentos. A transparência não foi afetada para a maioria dos filmes. A adição de glicerol para a maioria dos filmes incorporados com OEs causou redução da RT, do ME e aumento do AR e FP. Pelas imagens do MEV observa-se que o glicerol promoveu o surgimento de estruturas porosas, em rede ou compactas, dependendo do OE e concentração de glicerol. Os espectros da FTIR demonstraram que o glicerol apresentou diferentes interações, dependendo do OE incorporado. A eficiência antibacteriana dos filmes com OE de orégano ou canela ou orégano mais canela foi melhorada com a presença de glicerol, enquanto os demais não sofreram influência. Diante das variações nas propriedades funcionais observadas, verifica-se que com a aditivação dos materiais é necessário caracterização para definir sua aplicabilidade.

Palavras-chave: embalagem ativa, plastificante, aditivos, propriedades físicas e mecânicas, segurança dos alimentos

ABSTRACT

GONÇALVES, Sheyla Moreira. **Characterization of the functional properties of antimicrobial active films additivated with essential oils and plasticizer.** 2016. 84p Dissertation (Master in Science and Food Technology). Instituto de Tecnologia, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

The use of active packaging incorporated with natural antimicrobials as essential oils (EOs) for food preservation is a modern concept for the food industry. The objective of this study was to characterize cellulose acetate film (CA) incorporated with EOs and their combinations and/or added plasticizer, evaluating the influence of additives on the behavior of these materials. It is characterized as the thickness of the films, visual aspect, chemical structure, surface, mechanical strength, water vapor rate of transmission (WVRT) and antimicrobial activity. Through technique "casting" were obtained films incorporated with 50% (w/v) of EOs oregano or cinnamon or sweet fennel or combinations thereof and/or glycerol (5, 10, 20 and 30% (w/v)). Having as controls only films containing 50% (w/v) glycerol, and CA pure film, a total 41 treatments. The incorporation of EOs did not change the thickness and transparency of the films, but it reduced the WVRT. The color parameters L *, a* and b* were affected by the incorporation with EOs and/or glycerol the films exhibited clear with different colors compared with the AC pure film. Incorporating the most EOs cause increased tensile strength (TS) of the modulus of elasticity (ME) and reduced elongation at break (EB), except for the film with fennel EO (FEO) who presented plasticizer power differing from the other for all the evaluated mechanical parameters. The drilling force (DF) has increased to most films EOs incorporated with the exception of the film incorporated with the three EOs. The scanning electron microscopy (SEM) images revealed that most of the EOs and their combinations did not cause changes in the surface and cross-sectional area of the films, except the film with FEO. In the spectra of infrared spectroscopy with Fourier transform (FTIR), it observed that the interactions between the polymer matrix and most EOs were similar except for the film with FEO. As for the antibacterial efficiency *in vitro*, only the film incorporated with FEO showed no efficacy against *Staphylococcus aureus* (Gram +) and *Escherichia coli* (Gram +). It was observed that glycerol causes increased thickness and WVRT the AC films, however, the active films with EOs does not modify the parameter to most treatments. Transparency was not affected for most films. The addition of glycerol for most films incorporated with EOs caused reduction of TS, the ME and increased EB and DF. From the SEM pictures it can be observed that the glycerol promoted the emergence of porous structures, networked or compact, depending on the EO concentration and glycerol. The FTIR spectral showed that glycerol has different interactions, depending on the embedded EOs. The antibacterial efficiency of films with EO oregano or cinnamon or oregano more cinnamon has been improved with the presence of glycerol, while the others were not affected. In the face of changes in functional properties observed, it appears that with the additivation materials it is necessary to characterize them to define their applicability.

Keywords: active packaging, plasticizers, additives, mechanical and physical properties, food security.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Alterações do comportamento mecânico de materiais poliméricos frente à incorporação de diferentes aditivos.....10
- Tabela 2** - Atribuições das bandas referentes ao espectro de FTIR para o filme de acetato de celulose.....20
- Tabela 3** – Transparência dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v).....26
- Tabela 4** - Transparência do filme de acetato de celulose incorporado com 50% (p/v) de glicerol (CT50%) e filmes incorporados apenas com óleos essenciais (50% p/v) de Canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF).....27
- Tabela 5** - Valores médios da avaliação colorimétrica do filme de acetato de celulose incorporado com 50% (p/v) de glicerol (CT50%) e filmes incorporados apenas com óleos essenciais (50% p/v) de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF), quanto aos parâmetros L*, a* e b*.....28
- Tabela 6** - Valores médios da avaliação colorimétrica dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v), quanto ao parâmetro L*.....29
- Tabela 7** - Valores médios da avaliação colorimétrica dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v), quanto ao parâmetro a*.....30
- Tabela 8** - Avaliação colorimétrica dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v), quanto ao parâmetro b*.....31
- Tabela 9** – Espessura média dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v).....32
- Tabela 10** - TTVA dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho

(CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v).....33

Tabela 11 - Valores médios da TTVA do filme de acetato de celulose incorporado com 50% (p/v) de glicerol (CT50%) e filmes incorporados apenas com óleos essenciais (50% p/v) de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF).....34

Tabela 12 - Resistência à tração dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v).....46

Tabela 13 - Resistência à tração do filme de acetato de celulose incorporado com 50% (p/v) de glicerol (CT50%) e filmes incorporados apenas com óleos essenciais (50% p/v) de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF).....48

Tabela 14 - Módulo de elasticidade dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v).....49

Tabela 15 - Módulo de elasticidade do filme de acetato de celulose incorporado com 50% (p/v) de glicerol (CT50%) e filmes incorporados apenas com óleos essenciais (50% p/v) de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF).....50

Tabela 16 - Alongamento na ruptura dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v).....51

Tabela 17 - Alongamento na ruptura do filme de acetato de celulose incorporado com 50% (p/v) de glicerol (CT50%) e filmes incorporados apenas com óleos essenciais (50% p/v) de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF).....52

Tabela 18 - Força de ruptura na perfuração dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v).....53

Tabela 19 - Força de ruptura na perfuração do filme de acetato de celulose incorporado com 50% (p/v) de glicerol (CT50%) e filmes incorporados apenas com óleos essenciais (50% p/v) de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF).....54

Tabela 20 – Valores médios dos halos de inibição para os filmes incorporados com óleos essenciais de: orégano, canela, orégano e canela (OC), orégano e funcho doce (OF), canela e

funcho (CF) e orégano, canela e funcho doce (OCF) contra *S. aureus* e *E. coli in vitro*.....55

Tabela 21 - Atividade antimicrobiana dos filmes de acetato de celulose incorporados com óleo essencial de orégano, canela, orégano e canela (OC), orégano e funcho (OF), canela e funcho (CF) e orégano, canela e funcho (OCF) adicionados de 0, 5 e 30% de glicerol, sendo 0% o controle.....56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura do acetato de Celulose	4
Figura 2 – Estrutura química do glicerol.....	7
Figura 3 – Estruturas químicas de alguns compostos voláteis presentes no óleo essencial de orégano.....	8
Figura 4 – Estrutura química do composto volátil presente no óleo essencial de canela.....	8
Figura 5 - Estruturas químicas dos compostos voláteis presentes no óleo essencial de funcho doce.....	8
Figura 6 - Espectro típico de FTIR do filme de acetato de celulose puro.....	20
Figura 7 - Espectros de FTIR típicos do filme de acetato de celulose puro e filme de acetato de celulose incorporado com 30% de glicerol.....	21
Figura 8 - Espectro de FTIR dos filmes de acetato de celulose adicionados de 50% de glicerol ou OE de canela.....	22
Figura 9 - Espectros de FTIR de filmes de acetato de celulose incorporados com OE de canela e incorporados com OE de canela mais 30% de glicerol.....	22
Figura 10 - Espectro de FTIR de filmes de acetato de celulose incorporados com OE de funcho doce puro e adicionado de glicerol.....	23
Figura 11 - Espectro do filme de acetato de celulose incorporado com combinação de OE de orégano e canela puro e adicionado de glicerol.....	24
Figura 12 - Espectro de FTIR dos filmes de acetato de celulose incorporados com combinação de OE de canela e funcho doce e filmes incorporados com mesmos óleos e adicionados de glicerol.....	24
Figura 13 - FTIR do filme de acetato de celulose: incorporado com OEs (orégano, canela e funcho doce) e incorporado com OE (orégano, canela e funcho doce) adicionado de glicerol.....	25
Figura 14 - MEV dos filmes de acetato de celulose: (A)-filme controle superfície e (A1)-seção transversal; (B)-filme 5% glicerol superfície e (B1)-seção transversal; (C)-filme 10% glicerol superfície e (C1)-seção transversal; (D)-filme 20% glicerol superfície e (D1)-seção transversal; (E)-filme 30% glicerol superfície e (E1)-seção transversal.....	35
Figura 15 - MEV dos filmes de acetato de celulose: (A)-filme 50% glicerol superfície e (A1)-seção transversal; (B)-filmes 50% OE de Canela superfície e (B1)-seção transversal; (C)-filme 50% funcho superfície e (C1)-seção transversal; (D)-filme 50% orégano superfície e (D1)-seção transversal; (E)-filme 50% OF superfície e (E1)-seção transversal.....	37

Figura 16 - MEV dos filmes de acetato de celulose incorporados com óleo essencial de canela com: (A)-0% glicerol superfície e (A1)-seção transversal; (B)-5% glicerol superfície e (B1)-seção transversal; (C)-10% glicerol superfície e (C1)-seção transversal; (D)-20% glicerol superfície e (D1)-seção transversal; (E)-30% glicerol superfície e (E1)-seção transversal.....39

Figura 17 - MEV dos filmes de acetato de celulose incorporados com óleo essencial de orégano com: (A)-0% glicerol superfície e (A1)-seção transversal; (B)-5% glicerol superfície e (B1)-seção transversal; (C)-10% glicerol superfície e (C1)-seção transversal; (D)-20% glicerol superfície e (D1)-seção transversal; (E)-30% glicerol superfície e (E1)-seção transversal.....40

Figura 18 - MEV dos filmes de acetato de celulose incorporados com óleo essencial de funcho doce com: (A)-0% glicerol superfície e (A1)-seção transversal; (B)-5% glicerol superfície e (B1)-seção transversal; (C)-10% glicerol superfície e (C1)-seção transversal; (D)-30% glicerol superfície e (D1)-seção transversal.....41

Figura 19 - MEV dos filmes de acetato de celulose incorporados com combinação dos óleos essenciais de orégano mais canela com: (A)-0% glicerol superfície e (A1)-seção transversal; (B)-5% glicerol superfície e (B1)-seção transversal; (C)-10% glicerol superfície e (C1)-seção transversal; (D)-20% glicerol superfície e (D1)-seção transversal.....42

Figura 20 - MEV dos filmes de acetato de celulose incorporados com combinação dos óleos essenciais de canela mais funcho com: (A)-0% glicerol superfície e (A1)-seção transversal; (B)-5% glicerol superfície e (B1)-seção transversal; (C)-20% glicerol superfície e (C1)-seção transversal; (D)-30% glicerol superfície e (D1)-seção transversal.....43

Figura 21 - MEV dos filmes de acetato de celulose incorporados com combinação dos óleos essenciais de orégano mais funcho com: (A)-0% glicerol superfície e (A1)-seção transversal; (B)-5% glicerol superfície e (B1)-seção transversal; (C)-10% glicerol superfície e (C1)-seção transversal; (D)-30% glicerol superfície e (D1)-seção transversal.....44

Figura 22 - MEV dos filmes de acetato de celulose incorporados com combinação dos óleos essenciais de orégano + canela + funcho com: (A)-0% glicerol superfície e (A1)-seção transversal; (B)-5% glicerol superfície e (B1)-seção transversal; (C)-10% glicerol superfície e (C1)-seção transversal; (D)-20% glicerol superfície e (D1)-seção transversal.....45

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

AC – Acetato de celulose

AR – Alongamento na ruptura

ATR – Reflectância total atenuada

C – Canela

CF – Canela e funcho

CT – Filme controle

F – Funcho doce

FP – Força de Perfuração

FTIR – Espectroscopia de absorção no infravermelho com Transformada de Fourier

ME – Módulo de elasticidade

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

O – Orégano

OC – Orégano e canela

OCF – Orégano, canela e funcho

OE – Óleo essencial

OF – Orégano e funcho

RT – Resistência à tração

T_g – Temperatura de transição vítrea

T_m – Temperatura de fusão cristalina

TTVA – Taxa de transmissão ao vapor de água

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Polímeros Celulósicos	3
2.1.1 Acetato de celulose	3
2.2 Um Método de Elaboração dos Filmes Poliméricos	4
2.3 Materiais Aditivados	5
2.4 Aditivos	6
2.4.1 Plastificantes	6
2.4.2 Óleos essenciais	7
2.5 Propriedades dos Materiais Aditivados	9
2.5.1 Solubilidade	9
2.5.2 Propriedades mecânicas	10
2.5.3 Propriedades de barreira	11
2.5.4 Propriedades óticas	11
2.5.5 Propriedades térmicas	12
2.6 Métodos de Caracterização Polimérica	12
2.6.1 Caracterização da espessura	12
2.6.2 Caracterização das propriedades de barreira	13
2.6.3 Caracterização do aspecto visual	14
2.6.4 Caracterização das propriedades mecânicas	14
2.6.5 Caracterização da superfície e estrutura química	14
2.6.6 Caracterização do índice de cristalinidade	15
3 METODOLOGIA	16
3.1 Material e Métodos	16
3.2 Materiais	16
3.3 Elaboração dos Filmes	16
3.4 Caracterização dos Filmes Ativos	16
3.4.1 Espectroscopia de absorção no infravermelho (FTIR-ATR)	16
3.4.2 O Aspecto visual dos filmes	17
3.4.3 Espessura	17
3.4.4 Taxa de transmissão ao vapor de água (TTVA)	17
3.4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	18
3.4.6 Propriedades mecânicas	18
3.4.6.1 Tração	18
3.4.6.2 Perfuração (Penetração)	18
3.5 Avaliação da Eficiência Antimicrobiana <i>in vitro</i>	19
3.6 Análises Estatísticas	19
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
4.1 Espectroscopia de Absorção no Infravermelho (FTIR-ATR)	21
4.2 Aspecto Visual	25
4.2.1 Transparência	25
4.2.2 Avaliação da cor	27
4.3 Espessura	31
4.4 Taxa de Transmissão ao Vapor de Água (TTVA)	32
4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	34

4.6 Análise Mecânica	46
4.6.1 Resistência à tração (RT)	46
4.6.2 Módulo de elasticidade (Young)	48
4.6.3 Alongamento na ruptura	51
4.6.4 Força de perfuração	52
4.7 Atividade Antimicrobiana <i>in vitro</i>	54
5 CONCLUSÃO	58
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

1 INTRODUÇÃO

A busca dos consumidores por alimentos práticos e convenientes, nutritivos, saudáveis, com menos aditivos, seguros e próximos ao natural têm motivado a indústria alimentícia a buscar tecnologias para produção, armazenamento e conservação de alimentos. Além disso, as mudanças nas vendas e nas práticas de distribuição dos alimentos, como centralização das atividades de venda, compra via internet e internacionalização do comércio, resultam na necessidade de aumentar o tempo de estocagem de diferentes produtos. As alterações nos alimentos de origem mecânica ou microbiológica, além de oferecer risco direto à saúde do consumidor em função de possíveis doenças veiculadas por alimentos, causam preocupações diante das perdas econômicas.

Dentre as tecnologias inovadoras visando atender o mercado alimentício, destaca-se o desenvolvimento de novos materiais a serem utilizados como embalagens ativas, sendo consideradas emergentes e promissoras ao conferir vários benefícios em uma larga escala de produtos. Estas embalagens podem ser capazes de proteger, mas também de interagir com o produto modificando de maneira desejável suas características sensoriais, nutricionais, como também garantir a segurança microbiológica do alimento, estendendo assim sua validade comercial sem comprometer a qualidade.

As embalagens ativas antimicrobianas desenvolvidas, normalmente são incorporadas com compostos naturais como substituintes aos sintéticos, tendo provado ser uma ferramenta útil para conservação dos alimentos, sendo um conceito atraente para os consumidores. Dessa maneira, compostos antimicrobianos naturais, como os OEs têm sido obtidos de diversas fontes na natureza. Estes são substâncias voláteis, compostos por diferentes componentes químicos em diferentes concentrações, o que justifica sua complexidade e diversidade de aplicação. Desde a antiguidade tem sido relatado o uso de OEs como agentes bactericidas, fungicidas, antiparasitários, inseticidas e agentes medicinais.

Para adequação das características desejáveis das embalagens são adicionados compostos que proporcionem seja maior maleabilidade (adição de plastificantes) ou a transmissão de atividade para o material (incorporação de um antimicrobiano). Quando aditivos são incorporados nos materiais poliméricos suas propriedades físicas e mecânicas também podem ser alteradas, uma vez que a natureza química do polímero e do aditivo pode dificultar o processo de homogeneização como facilitar as interações entre ambos os compostos. Além disso, para cada concentração utilizada do aditivo, as propriedades funcionais do polímero podem reagir de maneira diferente.

O desejo de potencializar as funcionalidades desejáveis das embalagens para alimentos associado ao sucesso de aplicação dos filmes produzidos envolve uma cadeia de estratégias, desde a escolha dos aditivos, do material polimérico, até o método de obtenção do produto final. É de fundamental importância conhecer as características do material após a aditivação, visto que pode alterar a rede polimérica.

A utilização das embalagens ativas antimicrobianas para a conservação dos alimentos depende da sua eficiência antimicrobiana que pode ser alterada com a adição de outros coadjuvantes e também de suas características funcionais como: propriedades de barreira à umidade, características óticas, propriedades mecânicas, dentre outras.

Objetivou-se com este trabalho caracterizar filmes ativos antimicrobianos de base celulósica incorporados com OEs e/ou aditivação com plastificante (glicerol) de forma a conhecer suas propriedades e variar suas formulações para adequação a produtos que se deseja embalar. O filme desenvolvido foi caracterizado quanto à espessura, coloração, resistência mecânica, superfície, barreiras, ligações e efetividade antimicrobiana.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Polímeros Celulósicos

Polímeros são macromoléculas formadas por unidades químicas (meros), repetidas regularmente ao longo da cadeia, unidas por ligações covalentes. As propriedades funcionais dos polímeros são dependentes principalmente da massa molar da molécula. Os polímeros podem ser naturais ou sintéticos. Porém, em decorrência da crescente conscientização ecológica mundial, os polímeros naturais vêm ganhando gradativamente importância industrial (MANO e MENDES, 2004; CANEVAROLO JR, 2006).

De acordo com Andrade-Molina e colaboradores (2013), a maioria das embalagens de alimentos é desenvolvida com polímeros não-biodegradáveis (à base de petróleo), o que está se tornando um grave problema ambiental quanto a sua eliminação. A substituição parcial destes materiais por polímeros biodegradáveis de fontes renováveis pode reduzir o impacto gerado ao meio ambiente. Neste contexto, as indústrias têm buscado por modificações de polímeros naturais para obtenção de alternativas com o conceito renovável, como por exemplo, o acetato de celulose obtido por modificação química da celulose.

Os polímeros e resinas permitidos para o desenvolvimento de embalagens para contato com alimentos são determinados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 1999). Dentre estes, a celulose, principal constituinte da parede celular das plantas, é considerada o biopolímero mais abundante e de grande importância na economia mundial. Trata-se de um polímero polissacarídeo linear com várias unidades monossacarídicas (glicose) (HEINZE e LIEBERT, 2012).

Polímeros celulósicos atraem interesse devido às suas aplicações na biomedicina, indústria de embalagem, biofiltração e produção de biocompósitos. Além disso, as propriedades de fibras de celulose, tais como biodegradabilidade, fácil disponibilidade, respeito pelo ambiente, flexibilidade, facilidade de processamento e importantes propriedades físico-mecânicas, têm atraído a atenção de pesquisadores em todo o mundo (THAKUR et al., 2013; THAKUR et al., 2014).

A celulose apresenta baixa solubilidade à maioria dos solventes. Isso se deve à sua estrutura cristalina e cadeia formada por ligações de hidrogênio intermolecular e intramolecular que dificultam o acesso dos solventes. Dessa maneira, a obtenção de derivados de celulose, proporciona o surgimento de polímero solúvel em solventes convencionais, ampliando seu campo de aplicação (YE e FARRIOL, 2007.).

2.1.1 Acetato de celulose

Acetato de celulose (AC) é um éster de celulose, polímero biodegradável abundante adquirido através da acetilação da celulose por anidrido acético e ácido acético, utilizando ácido sulfúrico como catalisador. Para produção do AC, os grupos hidroxilas das unidades glicosídicas da cadeia da celulose são substituídos por grupos acetilas como mostra a Figura 1 (CANEVAROLO JR, 2006; RIMDUSIT et al., 2008; HEINZE e LIEBERT, 2012).

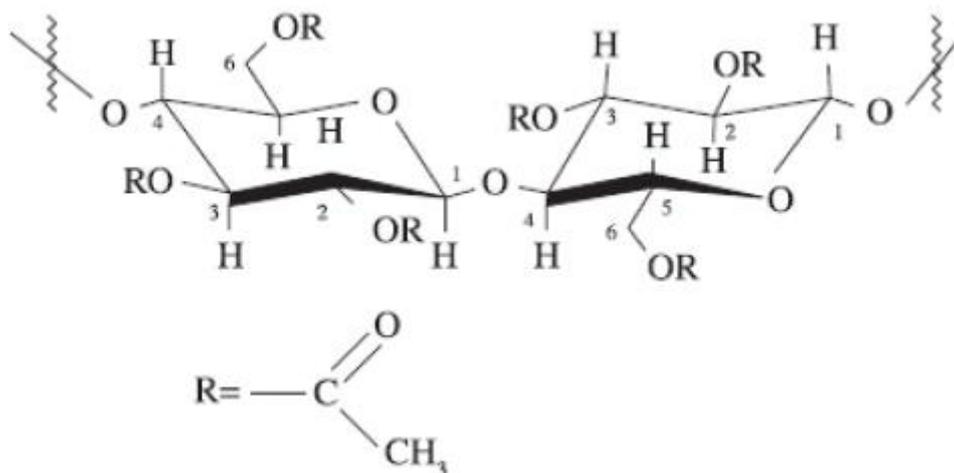


Figura 1. Estrutura do acetato de Celulose
 Fonte: Cerqueira et al., 2010.

AC tem peso específico de $1,32 \text{ g/cm}^3$ e se decompõe a temperatura de $240 \text{ }^\circ\text{C}$. Suas propriedades variam de acordo com o grau de acetilação e com a quantidade e qualidade de plastificante utilizado, mas geralmente é um material duro e compacto. Este apresenta características de custo relativamente baixo, maciez, brilho e sensação natural, o que permite sua utilização na produção de fita adesiva transparente, cabos de ferramentas, armações de óculos, têxteis e materiais relacionados. É um material termoplástico, com boa resistência ao impacto, transparente e boas propriedades elétricas (MILES e BRISTON, 1975; CANEVAROLO JR, 2006).

2.2 Um Método de Elaboração dos Filmes Poliméricos

A capacidade de formação de filme pelos polímeros é devido ao efeito que as moléculas de alto peso molecular possuem em aumentar a viscosidade e conseqüentemente a dificuldade de fluidez das camadas do solvente através da formação de ligações intra e intermoleculares entre as cadeias poliméricas aprisionando o solvente. Dessa maneira, quando o solvente (apropriado) evapora da solução viscosa, resulta na formação de estrutura sólida, o filme. Isso não ocorre nas soluções de substâncias de baixo peso molecular que por sua vez formam cristais ou pós após a evaporação do solvente (MANO e MENDES, 2004; CANEVAROLO JR, 2006).

Uma das técnicas utilizadas para elaboração de filmes poliméricos é a denominada “*casting*”, que consiste no preparo de uma solução filmogênica (com ou sem aditivos), a qual é vertida em superfície adequada e seguida de secagem em condições ambientais controladas. O filme formado após a secagem é então removido do aparato. O controle da altura da camada de solução filmogênica vertida durante a técnica “*casting*” é importante para a uniformidade da espessura do filme produzido. Esta pode interferir diretamente nas propriedades mecânicas e físicas da embalagem elaborada (MORAES et al., 2015).

A extrusão é uma técnica de conformação plástica empregada na indústria de plásticos há bastante tempo sendo utilizada para elaboração de embalagens poliméricas. No entanto, a técnica “*casting*” é muito utilizada na investigação do desenvolvimento de novos filmes poliméricos. O princípio da técnica consiste em submeter uma mistura de materiais à extrusora (molde sob condições controladas) e ao final obter um material com propriedades

uniformes. A uniformidade final é dependente de muitas variáveis como a geometria do parafuso da extrusora, propriedades poliméricas (de atrito, reológicas e térmicas), velocidade do parafuso e o monitoramento da temperatura de trabalho (LYONS et al., 2007; ABEYKOON et al., 2012; VERA-SORROCHE et al., 2013).

2.3 Materiais Aditivados

A crescente busca pelo desenvolvimento de embalagens para alimentos com propriedades particulares tem motivado a pesquisa a avaliar e demonstrar a possibilidade de aplicações de diversos aditivos com intuito de melhorar as características poliméricas a que se deseja como maior maleabilidade, melhora das propriedades físicas e mecânicas ou a transmissão de função ativa para o material.

Aditivos utilizados para incorporação em materiais e objetos ativos destinados a entrar em contato com alimentos, ou para o ambiente que os envolve, devem estar de acordo com disposições comunitárias pertinentes aplicáveis aos alimentos e sujeitas a outras regras que são estabelecidas por medidas específicas (RESOLUÇÃO (EC) No 1935/2004).

Estudos revelam que o material polimérico, o tipo e a concentração do aditivo determinam mudanças nas propriedades dos filmes ou películas desenvolvidas. Por exemplo, para a formação de compósitos com baixa solubilidade pode-se utilizar aditivos com natureza hidrofóbica como óleos essenciais (FERREIRA et al., 2014).

Teixeira et al. (2014) elaboraram filmes a base de proteínas de peixe incorporados com óleos essenciais de cravo, alho e orégano e verificaram que a aditivação provocou aumento da barreira ao vapor de água, redução da espessura, resistência à tração e módulo de elasticidade dos filmes. Já Rocha et al. (2014) verificaram que filmes desenvolvidos à base de proteínas de anchova incorporados com ácidos benzóico e sórbico apresentaram redução da barreira ao vapor de água além da menor resistência à tração.

Rojas-Graü et al. (2007) relatam que a incorporação de diferentes óleos essenciais em filmes elaborados a partir de alginato e purê de maçã não afetou significativamente suas propriedades de barreira ao vapor de água e oxigênio, porém alterou de maneira significativa as propriedades mecânicas.

Dentre os materiais aditivados, as ditas embalagens ativas para alimentos, são embalagens com tecnologia que permite a interação com modificação nas condições do alimento de forma desejável, sendo importantes para preservar o frescor e obter maior validade comercial dos produtos (SOARES et al., 2009; BARBOSA-PEREIRA et al., 2014; GÓMEZ-ESTACA et al., 2014; GYAWALI e IBRAHIM, 2014; TEIXEIRA et al., 2014).

Estas embalagens podem ser incorporadas com aditivos ou tê-los imobilizados com intuito de promover funções ativas como: absorvedor ou liberador de oxigênio, dióxido de carbono, etileno, umidade, odor e aromas desagradáveis; liberador de etanol, sorbatos, antioxidantes e/ou outros conservantes e compostos antimicrobianos (RESTUCCIA et al., 2010; GIBIS e RIEBLINGER, 2011; SOTO et al., 2011; FABRA et al., 2012; DIAS et al., 2013; HIGUERAS et al., 2014; MARCOS et al., 2014; MURIEL-GALET et al., 2014; SAMSUDIN et al., 2014; SINGH et al., 2014).

O modo de ação do agente ativo depende da forma como este foi adicionado ao material polimérico. Quando há imobilização do composto ativo, este tende a não migrar,

agindo apenas em nível de superfície do alimento, sendo necessário o contato da embalagem com o produto para que ocorra ação. Para os agentes ativos incorporados, quando se trata de compostos voláteis não há a necessidade de contato do alimento com a embalagem para ocorrer a migração. Em contrapartida, os compostos não voláteis incorporados necessitam desse contato. Dessa forma, os agentes ativos incorporados migram e penetram no alimento, atuando na conservação não somente na superfície do produto (DAINELLI et al., 2008; MEDEIROS et al., 2011; CRUZ-ROMERO et al., 2013; CORRALES et al., 2014; MAKWANA et al., 2014).

A qualidade e segurança dos alimentos estão diretamente relacionadas com a contaminação microbiológica, gerando tanto problemas de deterioração e perdas econômicas quanto prejuízo à saúde dos consumidores. Dessa maneira, pesquisas objetivando o desenvolvimento de embalagens com incorporação ou imobilização de compostos antimicrobianos têm sido promissoras (SILVESTRE et al., 2011; CORRADINI et al., 2013).

A escolha do aditivo deve levar em consideração tanto as influências desejáveis sobre o alimento quanto às possíveis consequências sobre as propriedades físicas e mecânicas do material polimérico. Essas consequências dependerão da concentração do aditivo na formulação do filme, da interação com o material polimérico, da sua composição química e do grau de dispersão na embalagem. Além disso, a interação entre diferentes aditivos pode tanto melhorar a ação esperada (sinergismo) quanto prejudicá-la (FERREIRA et al., 2014, KIM e RHEE, 2016). Ma et al. (2015) observaram ação sinérgica na combinação de etil lauroil arginato e óleo essencial de canela incorporados em filmes de quitosana para bactérias gram positivas, enquanto a mesma combinação foi antagonista para bactérias gram negativas.

2.4 Aditivos

2.4.1 Plastificantes

Com a intenção de modificar as propriedades físicas e mecânicas do material polimérico em determinadas condições, adiciona-se plastificantes. Geralmente são líquidos de baixa volatilidade usados para aumentar a flexibilidade e extensibilidade dos filmes através da redução das forças intermoleculares entre cadeias poliméricas. Estes tendem a reduzir o nível energético necessário para dar mobilidade à cadeia polimérica, reduzindo a temperatura de transição vítrea do polímero (CANEVAROLO JR, 2006; AZEREDO, 2012).

Segundo a teoria do gel, a rigidez do polímero é decorrente de suas interações intra e intermoleculares (ligações de hidrogênio e forças de van der Waals). Os plastificantes quebram tais interações aumentando a distância entre as cadeias, o que aumenta a flexibilidade do material. Os compostos mais utilizados compreendem os polióis (glicerol e sorbitol), lipídios e derivados (ácidos graxos, ésteres e fosfolipídios). Dentre os agentes plastificantes, glicerol (Figura 2) é um dos mais usados em biopolímeros (principalmente protéicos), já que se apresenta como hidrossolúvel, polar, não volátil, baixo peso molecular e um grupo hidroxila em cada carbono (CANEVAROLO JR, 2006; MOORE et al., 2006; AZEREDO, 2012; BAO et al., 2014).

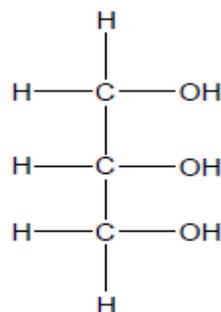


Figura 2. Estrutura química do glicerol.
 Fonte: Rodrigues, 2008.

2.4.2 Óleos essenciais

A consciência do impacto negativo que conservantes sintéticos podem causar à saúde dos consumidores aliado à necessidade de conservação dos alimentos, despertaram interesse entre os pesquisadores para uso de produtos naturais. A utilização de compostos antimicrobianos naturais em alimentos tem ganhado atenção por parte dos consumidores e da indústria alimentícia que busca alternativas para melhorar a segurança e a qualidade dos alimentos (GYAWALI e IBRAHIM, 2014).

Os antimicrobianos naturais para incorporação em embalagens ativas devem ser substâncias GRAS (Geralmente Reconhecidas como Seguras) e adicionados às embalagens de maneira que a quantidade liberada para o alimento seja permitida pelas normas vigentes. A aplicação destes compostos bioativos ainda é limitada, já que a maioria dos resultados obtidos em estudos é baseada apenas em experimentos *in vitro*. Além disso, o conteúdo de compostos fitoquímicos bioativos nos extratos de plantas normalmente variam em qualidade e quantidade havendo necessidade de investigação sobre o isolamento dessas substâncias (NEGI, 2012, HYGREEVA et al., 2014; KUMAR et al., 2014).

Os OEs são compostos voláteis, aromáticos e complexos, extraídos de vegetais por métodos como: hidrodestilação, solvente orgânico (éter etílico e etanol), fluidos supercríticos e destilação a vapor. Os OEs podem ser sintetizados por todas as partes da planta, tais como botões, flores, folhas, caules, ramos, sementes, frutos, raízes, madeira ou cascas, e são armazenadas em células secretoras, cavidades, canais, células epidérmicas ou tricomas glandulares. Os mesmos desempenham um papel importante na proteção de plantas contra ação de bactérias, vírus, fungos, insetos e herbívoros. Estes compostos possuem uma mistura de substâncias que inclui hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis simples, cetonas, fenóis, ácidos orgânicos, aldeídos e ésteres, nos quais, uma substância bioativa é majoritária (MORAIS et al., 2006; BAKKALI et al., 2008; GALVÃO et al., 2008; ROZWALKA et al., 2008; RAUT e KARUPPAYIL, 2014; TIAN et al., 2014).

A atividade antimicrobiana de OEs e extratos de plantas são conhecidos há muito tempo e vários resultados positivos de investigações já foram relatados. A ação antimicrobiana dos terpenóides e compostos fenólicos se dá através de fenômenos como: perturbação da membrana citoplasmática; interrupção da força motriz de prótons, do fluxo de elétrons e do transporte ativo e a inibição da síntese de proteínas. Os OEs mais amplamente incorporados em embalagens de alimentos são: óleo de cravo, manjeriço, orégano, alho, canela, alecrim, funcho doce, entre outros. O uso de óleos comestíveis de origem vegetal em

material de embalagens para contato direto com alimentos no Brasil, é autorizado sem restrições (BRASIL, 2008; SUNG, et al., 2013).

Origanum vulgare conhecido popularmente como orégano, possui compostos voláteis complexos como: carvacrol, cineol, borneol, α -terpineol e timol (Figura 3) que possuem ampla atividade antimicrobiana e antifúngica. Diversos estudos comprovam a atividade antimicrobiana do OE de orégano sobre diferentes microrganismos, além de relatar sua capacidade de incorporação em embalagens ativas (REHDER et al., 2004; SIGNOR et al., 2007; JOUKI et al., 2014; PAVELKOVÁ et al., 2014; TEIXEIRA et al., 2014; WU et al., 2014).

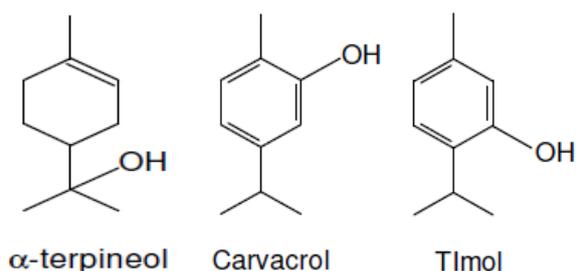
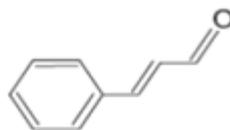


Figura 3. Estruturas químicas de alguns compostos voláteis presentes no OE de orégano. Fonte: Rodrigues, 2002.

O gênero *Cinnamomum*, popular canela, possui como principal agente antimicrobiano o composto volátil cinamaldeído (aldeído cinâmico) (Figura 4) que além da utilização em culinária como condimentos e aromatizante, são estudados na medicina como alternativa de tratamento para algumas doenças como diabetes (SOUZA et al., 2013; ARANCIBIA et al., 2014; IM et al., 2014).



Cinamaldeído

Figura 4. Estrutura química do composto volátil presente no OE de canela. Fonte: Burt, 2004.

O *Foeniculum vulgare* var. dulce, (funcho doce), possui como compostos fenólicos antimicrobianos: limoneno, α -terpineno, α -pineno. Suas eficiências antimicrobianas são relatadas em diversos estudos contra diferentes tipos de bactérias e fungos (TINOCO et al., 2007; CARVALHO et al., 2011; ROBY et al., 2013; SENATORE et al., 2013; DIAO et al., 2014).

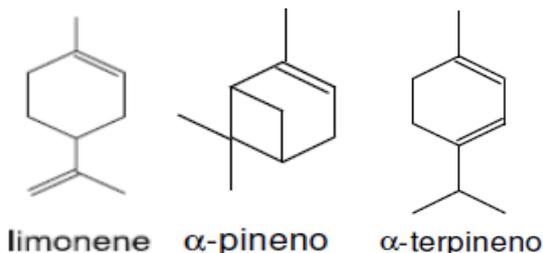


Figura 5. Estruturas químicas de alguns compostos voláteis presentes no OE de funcho. Fonte: Rodrigues, 2002; Burt, 2004.

2.5 Propriedades dos Materiais Aditivados

A utilização de filmes ativos aplicáveis comercialmente como embalagens para alimentos depende principalmente de suas propriedades funcionais como barreira a gases e vapores de água, propriedades mecânicas e reológicas, solubilidade a lipídeos e água e propriedades térmicas. Para tal deve ser considerada tanto a composição química dos polímeros quanto a interação entre a matriz polimérica e o aditivo utilizado. Além disso, o método e condições de obtenção, modo de acondicionamento e espessura dos filmes também influenciam diretamente nas suas propriedades funcionais (ATARÈS et al., 2010; AZEREDO, 2012; GYAWALI e IBRAHIM, 2014).

A capacidade dos polímeros em aceitar determinado aditivo é fundamental não somente para melhorar suas propriedades físicas e mecânicas como as características visuais. Combinações poliméricas com aditivos são realizadas visando a melhoria de algumas características como densidade, rigidez, resistência ao impacto, permeabilidade, resistência a tração, entre outros. Porém, as alterações ocorridas no material polimérico em decorrência da aditivação podem representar tanto melhorias quanto prejuízos às propriedades físicas e/ou mecânicas do produto final (JAWAID e KHALIL, 2011; MONTEIRO et al., 2012; GOWAYED, 2013; SUNG et al., 2013).

Outro fator importante a ser levado em consideração nos materiais poliméricos é o grau de cristalinidade, que consiste no modo como as grandes cadeias estão ordenadas em arranjo perfeito. A região cristalina apresenta cadeias mais ordenadas, adquirindo certo empacotamento, característica contrária à região amorfa. Não existem polímeros totalmente cristalinos (apenas parte da molécula adota a conformação ordenada necessária), apenas semicristalinos e amorfos. Em semicristalinos a fase cristalina é constituída por zonas ordenadas imersas na matriz formada por polímero amorfo. Polímeros com alto grau de cristalinidade tendem a ter uma resistência mecânica maior quando comparados aos amorfos (CARRASQUERO, 2004; CANEVAROLO JR, 2006).

2.5.1 Solubilidade

A solubilidade em água do material polimérico é importante no que se refere ao campo de aplicação já que interfere diretamente nas propriedades mecânicas e de barreira dos filmes. Materiais higroscópicos podem absorver umidade através de ligações de hidrogênio entre as moléculas de água e os grupos oxigenados da cadeia polimérica. Biopolímeros tais como proteínas e polissacarídeos são higroscópicos e hidrofílicos, o que limita a estabilidade das embalagens às condições de umidade elevada, restringindo o campo de aplicações. Além disso, a presença de água pode contribuir para degradação térmica do material, quando estes atingem temperaturas de fusão (MILES e BRISTON, 1975; CANEVAROLO JR, 2006; MARINELLI et al., 2008; THAKUR et al., 2014).

A obtenção de filmes com baixa taxa de permeabilidade ao vapor de água, implica a utilização de material com pouca solubilidade. A presença de ramificações nas cadeias poliméricas tem efeitos significativos sobre suas propriedades de barreira, sendo observada menor solubilidade quando comparados aos polímeros de cadeias lineares. Para obtenção de filmes com baixa solubilidade pode-se utilizar aditivos com natureza hidrofóbica como óleos essenciais (CARRASQUERO, 2004; FERREIRA et al., 2014).

2.5.2 Propriedades mecânicas

Filmes destinados a embalar alimentos devem ser flexíveis e resistentes à ruptura visando reforçar a proteção da superfície alimentar e permitir melhor adaptação as deformação. Dentre as propriedades mecânicas dos filmes poliméricos, as mais investigadas incluem: resistência a tração, módulo de elasticidade (Young), alongamento na ruptura e compressão (CANEVAROLO JR, 2006; MARINELLI et al., 2008).

A resistência a tração consiste no máximo de força que o material pode suportar antes da ruptura. O alongamento da ruptura representa o momento de quebra do material expressando o aumento do comprimento inicial da amostra. O módulo de elasticidade ou módulo de Young representa o grau de rigidez, no qual o filme polimérico possui habilidade de recuperar a sua forma inicial após a retirada do esforço mecânico aplicado. Este parâmetro é importante, pois os níveis de resistência da embalagem podem direcionar melhor sua aplicabilidade. De acordo com a curva de tensão *versus* deformação, os polímeros podem ter diferentes comportamentos. Polímeros frágeis não possuem deformação plástica, havendo rompimento logo após a aplicação do esforço, comportamento contrário dos polímeros com comportamento dúctil (CANEVAROLO JR, 2004).

As propriedades mecânicas podem ser influenciadas por diversos fatores. O peso molecular inicial do material polimérico, o grau de cristalinidade e os componentes do filme influenciam diretamente no comportamento mecânico da embalagem final. A água presente em polímeros higroscópicos pode agir como plastificante o que provoca mudanças na Tg e cristalinidade, alterando as propriedades mecânicas. Portanto, o controle da umidade ambiente pode ser decisiva para obtenção de resultados seguros no momento da caracterização. O efeito da incorporação de compostos sobre as propriedades mecânicas dos filmes dependerá da característica de cada agente ativo e sua interação com a matriz polimérica, como mostra a Tabela 1 (AZEREDO, 2012; SUNG et al., 2013; GYAWALI e IBRAHIM, 2014).

Tabela 1. Alterações do comportamento mecânico de materiais poliméricos frente à incorporação de diferentes aditivos

Base Polimérica	Aditivo	Efeitos	Referências
Queratina, Amido, Quitosana,	Glicerol	Redução da resistência à tração; Aumento do alongamento na ruptura.	MOORE et al., 2006; SRINIVASA et al., 2007; LIU et al., 2013
κ -carragenana, Alginato, Quitosana	Óleos essenciais	Menor resistência à tração e módulo de elasticidade; Maior alongamento na ruptura.	SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2009; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2011; BENAVIDES et al., 2012; SHOJAEI-ALIABADI et al., 2014
Nanocompósitos de metilcelulose	Pediocina	Redução da cristalinidade e aumento do alongamento na ruptura.	ESPITIA et al., 2013
Quitosana	Extrato de Uva	Redução da resistência a tração e rigidez.	FERREIRA et al., 2014
Amido de mandioca	Polpa (manga, acerola)	Redução da resistência à tração; Aumento do alongamento a ruptura.	SOUZA, et al., 2012

2.5.3 Propriedades de barreira

A capacidade da embalagem polimérica em permitir ou limitar as trocas entre o alimento e o ambiente são importantes para determinar uma aplicação mais adequada. As propriedades de barreira ao vapor de água e gases do polímero utilizado na elaboração de filmes e embalagens para alimentos devem ser conhecidas antes e após a incorporação de aditivos. Diversos fatores afetam as propriedades de barreira dos materiais poliméricos como: dimensões do permeante, temperatura, teor de umidade nos polímeros, aspectos de cristalinidade, natureza dos aditivos (HENRIETTE, 2012).

Embalagens com baixa transmissão ao oxigênio são utilizadas para evitar a oxidação dos alimentos e aumentar sua validade comercial. A utilização de embalagens com permeabilidade seletiva aos gases respiratórios (O_2 e CO_2) retarda a respiração, amadurecimento, senescência, perda de umidade por transpiração e controle do desenvolvimento microbiano em frutos e hortaliças. Embalagens com baixa transmissão ao vapor de água são interessantes para a conservação de vegetais através da manutenção de alta umidade interna conservando o turgor dos produtos (O'BRIEN et al., 1986; SOUTO et al., 2004; FANTUZZI et al., 2004; UBOLDI et al., 2015).

Polímeros polares como polissacarídeos e proteínas em condições de baixa umidade normalmente apresentam alta permeabilidade ao vapor de água e baixa permeabilidade aos gases devido as interações intermoleculares do tipo ligação de hidrogênio na molécula. Já os polímeros não polares geralmente apresentam excelente barreira para umidade, porém menos efetivo para gases. Adição de compostos lipídicos leva a redução do transporte de umidade através do material polimérico (KREVELEN et al., 2009).

Polímeros com alto teor de umidade pode ter suas propriedades de barreira comprometidas, já que a água atua como plastificante. O grau de cristalinidade assim como a forma e o tamanho dos cristalitos influenciam diretamente na permeabilidade dos filmes poliméricos aos agentes gasosos. As regiões de maior impermeabilidade correspondem aquelas em que os cristalitos estão concentrados enquanto a permeabilidade ocorre nas regiões amorfas (MORALES et al., 2010).

2.5.4 Propriedades óticas

Dentre as propriedades óticas de importância para embalagens de alimentos, destacam-se a cor e opacidade (transparência). Segundo os hábitos de consumo, embalagens com cor forte, elevado brilho ou transparência representam tanto um tipo de informação quanto elo emocional entre o consumidor e o produto, ferramenta bastante explorada pelo *marketing*. A cor e a opacidade estão intimamente relacionadas com a base polimérica utilizada assim como os aditivos incorporados ao material para elaboração dos filmes poliméricos (YOSHIDA E ANTUNES, 2009; ZANELA et al., 2015).

Embalagens são consideradas adequadas visualmente quando apresentam acentuado brilho e transparência, porém quando o produto a ser embalado é sensível às reações de deterioração oxidativa, faz-se necessária barreira a luz (material com opacidade elevada). Substâncias lipídicas podem levar a formação de luz visível que se dispersa através do filme polimérico, causando opacidade (COLTRO e BURATIN, 2004; YOSHIDA e ANTUNES, 2009). Santos (2014) relata o aumento da opacidade de filmes à base de quitosana incorporados com óleos essenciais de copaíba e eucalipto.

2.5.5 Propriedades térmicas

De acordo com o comportamento térmico, os polímeros possuem duas temperaturas importantes: temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura na qual as cadeias poliméricas semicristalinas adquirem mobilidade e mudança conformacional; temperatura de fusão cristalina (T_m), temperatura suficiente para destruir a estrutura regular de empacotamento permitindo a fusão e temperatura de cristalização, na qual as cadeias poliméricas se reorganizam após o estado fundido formando novamente a estrutura cristalina (CARRASQUERO, 2004; CANEVAROLO JR, 2006).

2.6 Métodos de Caracterização Polimérica

A caracterização e detenção de dados sobre as principais propriedades dos materiais poliméricos são de fundamental importância para direcionamento no momento de escolha da base polimérica mais apropriada para determinada função e/ou utilização. A caracterização prevê o comportamento polimérico em diferentes condições de utilização assim como sua vida útil. Para elaborar uma embalagem para acondicionar determinado alimento é necessário que os componentes envolvidos na formulação sejam compatíveis de maneira que apresentem interação satisfatória.

2.6.1 Caracterização da superfície e estrutura química

A elaboração de materiais com características específicas leva a formação de embalagens com mistura complexa de polímeros e aditivos. A detenção de informações sobre características como tipo de ligações de superfície, rugosidade e grau de adesão entre diferentes polímeros são de grande importância para o desempenho industrial do produto final. Dessa maneira, é necessário o desenvolvimento de técnicas que possam caracterizar morfologicamente sua superfície bem como sua estrutura química (PINTO et al., 1999).

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma das técnicas utilizadas para avaliar a topologia e elementos de composição da superfície das amostras. O primeiro MEV foi desenvolvido em 1942 por Zworykin e colaboradores. Nessa técnica a imagem é formada em função da posição do feixe de elétrons que varre a superfície do material. A interação entre o feixe de elétrons e os elementos de superfície gera e emite radiação sob a forma de raios-x e elétrons que são processados para formar imagem (CANEVAROLO JR, 2004).

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) é uma ferramenta de caracterização física quantitativa e qualitativa de determinados elementos do material polimérico. Foi inicialmente utilizada em 1940 por cientistas russos, mas somente em 1950 foram comercializados os primeiros equipamentos. Este método varre as frequências específicas de vibração de cada átomo que constituem a molécula, através do sistema infravermelho. Esse equipamento detecta a capacidade que cada substância tem em absorver, transmitir ou refletir a radiação infravermelha. Além da avaliação da estrutura química, essa técnica tem sido utilizada para obter informações sobre degradação, índice de cristalinidade dos materiais poliméricos e grau de interação entre diferentes polímeros na formação dos compósitos (MUSTO et al., 1991; PETIT e MADEJOVA, 2013; YUAN et al., 2015).

2.6.2 Caracterização das propriedades de barreira

A taxa de permeabilidade do material polimérico está relacionada diretamente a sua aplicação como embalagem para alimentos, sendo essencial o conhecimento da sua capacidade de barreira a gases e vapor d'água. Existem várias metodologias disponíveis atualmente para avaliar a taxa de permeabilidade ao vapor de água dos materiais poliméricos.

O método gravimétrico por ganho de peso é uma das técnicas intensamente utilizadas devido ao baixo custo e simples realização. Esta consiste em uma célula contendo substância higroscópica isolada do ambiente pela amostra polimérica em estudo. A célula é acondicionada em ambiente com umidade e temperatura controladas. A taxa de permeabilidade é avaliada através da tomada de peso da célula em intervalos de tempos determinados. A partir de dados de peso e tempo, é possível obter o gráfico de tempo de ensaio (dias) *versus* ganho de peso (g), no qual a parte linear da curva por regressão linear representará o estado estacionário da passagem de vapor d'água através do filme. O coeficiente angular da reta obtido na curva de tempo *versus* ganho de peso representa a massa média de água permeada através da amostra por dia. Este valor quando dividido pela área exposta do filme fornece a taxa de permeabilidade ao vapor d'água dada em $\text{g/m}^2\cdot\text{dia}$ (OLIVEIRA et al., 1996; SOBRAL E OCUNO, 2000; FABRA et al., 2010).

A detecção da taxa de transmissão ao vapor d'água também pode ser realizada por equipamentos com sensor infravermelho. Essa técnica é considerada de maior rapidez que os métodos convencionais gravimétricos, na qual o filme ensaiado é disposto em uma célula de difusão separando-a em região inferior (ambiente seco) e região superior (ambiente úmido). O vapor d'água que permeia através do material ensaiado é levado ao sensor infravermelho junto com o ar seco. Dessa maneira, um sinal elétrico será emitido pelo sensor, com amplitude proporcional à concentração de vapor d'água que passará pelo filme, sendo esta informação utilizada para calcular a taxa de permeabilidade (OLIVEIRA et al., 1996).

A taxa de permeabilidade ao oxigênio do material para embalar alimentos também influencia diretamente no período de validade comercial do produto. A permeabilidade ao oxigênio de um polímero é uma manifestação de processos cinéticos internos que variam com a temperatura. A capacidade de um filme polimérico em permitir a transferência de gases pode ser estimada a partir de medições de gases puros ou medida diretamente por determinação da permeabilidade real do filme para gás. Dentre os equipamentos muito utilizados incluem o Mocon Oxtran 2/20, VAC-V1/V2/V3, VAC-VBS, G2/131, entre outros. Estes determinam a taxa de permeabilidade aos gases através da diferença de pressão entre duas câmaras separadas pela amostra polimérica (O'BRIEN et al., 1986; MARINELLI et al., 2008).

A permeabilidade de filmes poliméricos aos gases também pode ser obtida através do método pelo aumento da concentração do gás em ambiente inerte, o qual consiste de uma câmara de difusão contendo dois corpos de prova dispostos dividindo-a em três câmaras (uma inferior, intermediária e superior). Um fluxo constante de gás é lançado nas câmaras inferior e superior, o qual permeará os dois corpos de prova e se acumulará na câmara intermediária. Alíquotas de gás são retiradas hermeticamente da câmara intermediária e analisadas. A taxa de permeabilidade aos gases será então obtida por meio do coeficiente angular da reta (quantidade de permeante *versus* tempo) que representa o estado estacionário de passagem de massa através da superfície exposta (OLIVEIRA et al., 1996).

2.6.3 Caracterização da espessura

A espessura das embalagens além de influenciar diretamente nas propriedades mecânicas e de barreira, é de fundamental importância para manter a uniformidade do material e direcionar a aplicação do produto final. A caracterização da espessura em embalagens poliméricas normalmente é realizada com auxílio de micrômetros digitais ou analógicos. Esses são capazes de avaliar as dimensões lineares (espessura) do material em escala micrométrica de maneira simples. O micrômetro digital possui uma rosca ajustável, dentro do qual um parafuso micrométrico de alta precisão se desloca, permitindo a leitura da espessura através de sistema de medição angular (nônio) (OLIVEIRA et al., 2006; CRIPPA et al., 2007).

2.6.4 Caracterização do aspecto visual

A cor e opacidade da embalagem definem tanto sua utilização quanto sua aceitabilidade por parte do consumidor. Uma das técnicas mais utilizadas para determinar o aspecto visual dos filmes poliméricos conta com o auxílio de colorímetro/espectrofotômetro. Estes equipamentos avaliam a capacidade que o material em estudo possui em absorver diferentes intensidades de cores (luminosidade e cromaticidade) ou diferentes quantidades de luz (opacidade) (YOSHIDA E ANTUNES, 2009; ZANELA et al., 2015).

2.6.5 Caracterização das propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos polímeros podem ser avaliadas de forma estática ou dinâmica, atingindo ou não a ruptura do material. Os módulos de elasticidade, tensão e deformação no escoamento e tensão máxima são exemplos de parâmetros avaliados sem atingir a ruptura do material polimérico. Parâmetros como tensão e deformação na ruptura e resistência ao impacto por sua vez são determinados no limite da resistência destrutiva do polímero. Essas propriedades mecânicas são avaliadas principalmente pela resistência à tração (TS) e alongamento na ruptura, que definem a resistência e capacidade de estiramento do material antes da ruptura, após aplicação de força (MANO e MENDES, 2004; CANEVAROLO JR, 2006).

A ação mecânica pode ser aplicada de forma rápida ou lenta, dependendo do intervalo de tempo que cada polímero precisa para responder. As ações que envolvem impacto são consideradas rápidas enquanto que as que envolvem fluidez e relaxamento de tensão são consideradas de longa duração. A resposta de cada polímero é única e dependente da sua estrutura química, temperatura, tempo e condições de processamento (BRAGA et al., 2014).

Uma das técnicas mais utilizadas para ensaios mecânicos dos materiais poliméricos utiliza instrumento universal de teste mecânico, texturômetro. A amostra do material polimérico é fixada em ambas as extremidades do equipamento contendo garras. A força é geralmente aplicada por cruzeta motorizada e o alongamento do material é indicado por seu movimento relativo. A carga necessária para levar a deformação do material é medida através de métodos hidráulico, óptico ou eletromecânicos. Através desses equipamentos são obtidas informações sobre a resistência a tração, módulo de elasticidade e alongamento na ruptura, além da força necessária para perfuração do material testado (BRAGA et al., 2014).

2.6.6 Caracterização do índice de cristalinidade

O índice de cristalinidade da embalagem polimérica está diretamente relacionado com propriedades físicas, mecânicas e termodinâmicas de polímeros semicristalinos. À medida que o grau de cristalinidade aumenta propriedades de rigidez, a resistência à fluidez e o módulo elástico aumentam também. Por isso, sua determinação é importante para entender o comportamento do material que está sendo desenvolvido. As técnicas de determinação do índice de cristalinidade polimérica foram se aprimorando ao longo dos anos (MANO e MENDES, 2004; CANEVAROLO JR, 2006).

Um das técnicas mais utilizadas para determinação da cristalinidade polimérica e em especial o tamanho dos cristais é a Difração de raios-x. Trata-se de um método altamente quantitativo que se baseia na medida da distância e dos ângulos entre os planos paralelos dos reticulados cristalinos. Os valores de comprimentos de onda dos raios-x utilizados são aproximados aos das distâncias entre esses planos. Dessa maneira, bandas de radiação de diferentes intensidades são produzidas quando o feixe de raios-X se choca com a estrutura cristalina. A difração de raios-x para caracterização do índice de cristalinidade foi sugerida pelo físico alemão Max von Laue em 1912 e a partir daí vem sendo amplamente utilizada para análise quantitativa de estruturas cristalinas e microcristalinas (SEGMÜLLER et al., 1988; LOUËR et al., 2013; SHIRASAWA et al., 2014).

3 METODOLOGIA

3.1 Material e Métodos

A pesquisa foi realizada no Laboratório Agroindustrial de Embalagens e Tecnologia do Departamento de Engenharia de Agronegócios da Universidade Federal Fluminense *Campus Volta Redonda* – RJ e Embrapa Agroindústria de Alimentos – Rio de Janeiro-RJ.

3.2 Materiais

Para a elaboração dos filmes ativos antimicrobianos utilizou-se Resina de acetato de celulose (Sigma[®]), Acetona PA (Cap-Lab; Brasil), Glicerol PA (Vetec, Brasil), Óleos essenciais (OE) de funcho doce (*Foeniculum vulgare dulce*) (Ferquimia; Espanha), canela (*Cinnamomum cassia*) (Ferquimia; China) e orégano (*Origanum vulgare*) (Ferquimia; Moldávia). Para avaliação da atividade antimicrobiana utilizou-se culturas de *Escherichia coli* (ATCC 11229) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), meio de cultura Ágar Mueller-Hinton (Kasvi) e Peptona caseína (Himedia; Índia).

3.3 Elaboração dos Filmes

Após testes preliminares tendo como referências Santos (2011) e Ventura (2012), sendo realizadas alterações em sua metodologia, os filmes foram elaborados segundo o método "casting", através da dissolução de acetato de celulose em acetona (1:10 p/v). Após a dissolução, à solução filmogênica inicial foi adicionada de Glicerol em diferentes concentrações (5, 10, 20, 30 e 50%) (p/v). As soluções com 5 a 30% de glicerol foram homogeneizadas e adicionadas de OEs específicos e suas combinações na proporção de 50% (p/v). As combinações de OE foram utilizadas na razão de 1:1 ou 1:1:1. A elaboração dos filmes ocorreu em temperatura controlada ($25 \pm 2^\circ\text{C}$).

As soluções filmogênicas finais foram espalhadas em placa de vidro, com auxílio de um bastão de vidro a uma altura pré-determinada e seca à temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) durante 10 min. Após a secagem (evaporação da acetona), os filmes foram destacados das placas e armazenados sob vácuo para posterior análise. Foram obtidos os seguintes tratamentos: Filmes com OE de orégano, OE de funcho doce, OE de canela e as combinações (orégano e funcho doce, orégano e canela, funcho doce e canela, orégano, funcho doce e canela) adicionados de 0, 5, 10, 20 e 30% de glicerol. Como controles foram produzidos filmes sem adição de OE com 0, 5, 10, 20, 30, e 50% de glicerol.

3.4 Caracterização dos Filmes Ativos

3.4.1 Espectroscopia de absorção no infravermelho (FTIR-ATR)

A análise química estrutural dos filmes foi realizada mediante a utilização da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier, com adaptações de Bang e Kim (2012), Moura et al., (2012) e Ramos et al., (2013).

Os espectros dos filmes foram determinados utilizando um equipamento de espectrofotometria de infravermelho com Transformada de Fourier, modelo FT/IR-4700- (Jasco Corporation) sob o modo de reflexão total atenuada (Attenuated total reflection -

ATR), na faixa do comprimento de onda compreendida entre 500-4000 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras.

3.4.2 O aspecto visual dos filmes

O aspecto visual está relacionado com a cor e transparência final dos filmes. Os filmes foram avaliados com auxílio de um colorímetro/espectrofotômetro (Minolta CM-5-ID), onde foi verificado o índice de luminosidade L^* e os índices de cromaticidade a^* e b^* , onde L^* varia de 0 (preto) a 100 (branco), a^* varia do verde ($-a^*$) ao vermelho ($+a^*$) e b^* , varia do azul ($-b^*$) ao amarelo ($+b^*$). A Transparência (opacidade) foi determinada de acordo com a norma ASTM D1746 (ASTM, 1997) com 560 nm de comprimento de onda. Os filmes foram cortados em formato retangular (2 mm X 40 mm) e colocados no lado interno de uma célula espectrofotométrica. A cor e opacidade foram determinadas pela média de três leituras de cada filme, sendo realizadas três repetições.

3.4.3 Espessura

A espessura média dos filmes (μm) foi obtida com o auxílio de um micrômetro digital (datamed). Foram tomadas medidas em dez pontos diferentes em cada filme. A espessura final foi determinada pela média das dez leituras, sendo realizadas três repetições.

3.4.4 Taxa de transmissão ao vapor de água (TTVA)

A avaliação de Taxa de Transmissão ao Vapor de Água (TTVA) foi realizada segundo o método gravimétrico (ASTM E96-95) com modificações de acordo com o método descrito por Ghasemlou et al. (2011). O método é baseado no aumento de peso do sistema montado. Amostras dos filmes foram recortadas com 10 cm de diâmetro, aplicadas em cápsulas contendo CaCl_2 (cloreto de cálcio anidro) e vedadas com parafina. As cápsulas foram acondicionadas em dessecador contendo solução de NaCl (cloreto de sódio) saturada de forma a promover condição controlada de umidade ($75\% \pm 2$) e colocadas à temperatura ambiente (25 ± 2 °C).

As cápsulas foram pesadas em intervalos de tempos pré-determinados (aproximadamente 4 horas - sendo o horário exato registrado) durante sete dias. A capacidade de permeação dos filmes foi determinada por regressão linear entre o ganho de peso (g) e o tempo (h). Dessa maneira, encontrou-se o coeficiente angular da reta (quantidade de água absorvida). A TTVA dos filmes foi determinada segundo a equação 1. Foram realizadas duas repetições em duplicata.

$$TTVA = \frac{G}{t \cdot A} \quad \text{Equação 1}$$

Em que:

TTVA : Taxa de transmissão ao vapor de água expressa em $\text{g.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$;

G/t: Coeficiente angular da reta expresso em g.dia^{-1} ;

A: Área de permeação da amostra expressa em m^2 .

3.4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As análises de superfície dos filmes foram realizadas com auxílio do Microscópio Eletrônico de Varredura Carl Zeiss, modelo EVO MA 10. Amostras de 1,5 x 0,7 cm foram fixadas em suporte específico (“stub”), com o auxílio de fita adesiva de dupla face. Como se trata de material com pouca condutividade, as amostras receberam recobrimento com ouro (Au) em metalizadora EMITEC K550X com corrente de 25 mA/2 min. antes de serem dispostas no MEV para a visualização de sua superfície. A observação em microscópio eletrônico de varredura procedeu em baixo vácuo com 3000 e 6000 Kv de tensão de aceleração, 480 de corrente de filamento e varreduras com ampliações de 5000, 3000, 1000 e 500x. As amostras foram avaliadas em superfície e em nível de espessura (borda de corte).

3.4.6 Propriedades mecânicas

3.4.6.1 Tração

As propriedades mecânicas de resistência à tração (N), alongamento (%) e módulo elástico (Mpa) dos filmes foram determinadas utilizando o Texturômetro TA.XTplus (modelo, Stable Micro Systems, Haslemere, Inglaterra), operando de acordo com o método padrão ASTM D 882-82. Amostras com dimensões de 10 cm de comprimento e 2,5 cm de largura foram fixadas nas garras com separação inicial de 25 mm em texturômetro operado com célula de carga de 0,94 KN e velocidade de 1mm/s. Os testes foram realizados em triplicata e duas repetições. Os resultados foram analisados com auxílio do programa Exponent Texture TEE32 (Stable Micro Systems).

A resistência à tração foi dada pelo programa Exponent Texture TEE32 através da relação da força máxima (N) pela área amostral (mm). O módulo de elasticidade (Young) foi calculado a partir da região linear da curva tensão *versus* deformação. O alongamento na ruptura foi dado pela deformação no momento em que a amostra sofreu ruptura pelo comprimento inicial da amostra, de acordo com a equação 2.

$$R = \frac{L}{C_i} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Em que

R: Alongamento na ruptura expresso em %;

L: Distância no momento da ruptura expressa em mm;

C_i: Comprimento inicial da amostra em mm.

3.4.6.2 Perfuração (Penetração)

Corpos de prova dimensionados com 2,5 x 2,5 mm foram fixados no equipamento (TA.XT plus modelo, Stable Micro Systems, Haslemere, Inglaterra) em plataforma móvel com abertura de 10 mm e perfurados por um sonda de 5 mm de diâmetro, com velocidade de deslocamento de 1 mm/s. As curvas de força *versus* deformação foram obtidas através do programa Exponent Texture TEE32 (Stable Micro Systems) onde foi possível determinar a força (N) necessária para perfuração das amostras. As amostras foram analisadas em triplicata e duas repetições.

3.5 Avaliação da Eficiência Antimicrobiana *in vitro*

A avaliação da eficiência antimicrobiana foi realizada usando a técnica de difusão em ágar segundo Soares et al., (2012) e Moura et al., (2012) com adaptações. Amostras dos filmes (6 mm de diâmetro) foram previamente submetidas à exposição de luz UV em Fluxo laminar vertical (Pachane, modelo PCR 2) para esterilização por 15 minutos. As amostras foram dispostas ao centro de placas de petri contendo meio de cultura sólido (Mueller-Hinton) previamente contaminado com os microrganismos testados a 10^8 UFC/ml (padronizado segundo a técnica de turvação Mc Farland). Foram preparadas placas para *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Escherichia coli* (ATCC 11229), incubadas a temperatura ótima de desenvolvimento de 35 ± 2 °C por 24hs, sendo realizadas duas repetições em triplicata. A eficiência da atividade antimicrobiana foi determinada pela medição dos halos de inibição formados ao redor dos filmes e também pela observação da densidade.

3.6 Análises Estatísticas

Os tratamentos foram dispostos segundo o delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os dados foram interpretados com auxílio do pacote estatístico Xlstat Analysis Solution, versão 7.5. Foram utilizados o teste *Tukey* (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade para avaliar a diferença significativa entre as médias amostrais e teste *Dunnnett's* ao nível de 5% de probabilidade para comparativo com a amostra controle.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Espectroscopia de Absorção no Infravermelho (FTIR-ATR)

A Figura 6 representa o espectro do filme de acetato de celulose puro, sendo que as principais atribuições das bandas para o acetato de celulose encontram-se na Tabela 2, segundo os valores reportados por Meireles (2007), que encontrou valores próximos para acetato de celulose puro de bagaço de cana.

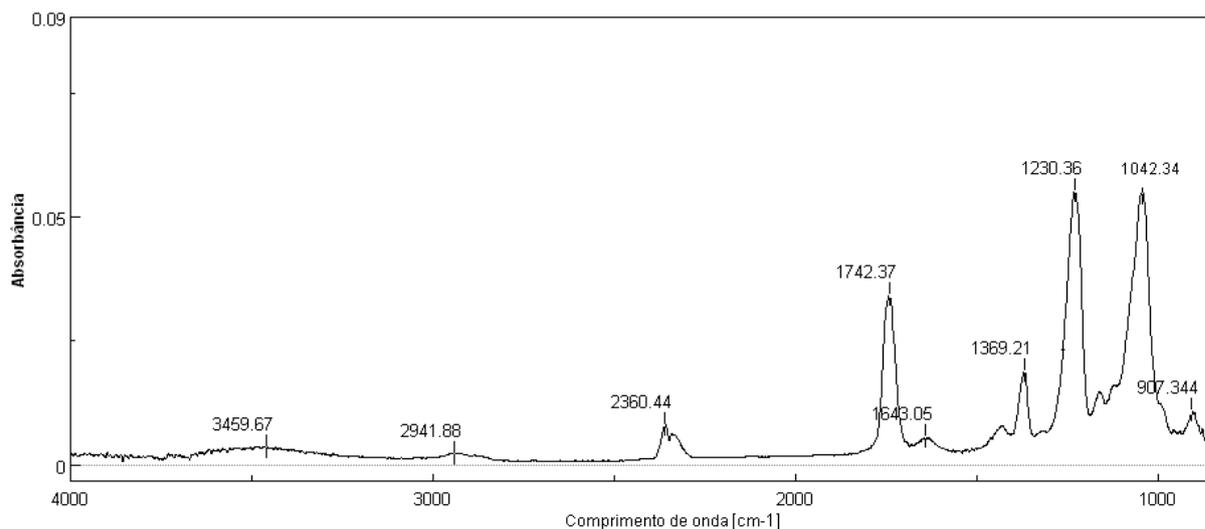


Figura 6. Espectro típico de FTIR do filme de acetato de celulose puro.

O acetato de celulose é um éster resultante da reação de acetilação da celulose por anidrido acético e ácido acético, utilizando ácido sulfúrico como catalisador (CERQUEIRA et al., 2010). Portanto, a presença das bandas em 1742.37 cm^{-1} (alongamento da carbonila do éster) e a banda 3459.67 cm^{-1} (alongamento da OH celulósica) caracterizam o filme analisado como material formulado à base de acetato de celulose.

Tabela 2. Atribuições das bandas referentes ao espectro de FTIR para o filme de acetato de celulose

Bandas (cm^{-1})	Atribuições
3460	Alongamento O-H polimérico
2940-2850	Alongamento CH
2360	Absorção de CO_2
1742	Alongamento da CO do éster
1643	Deformação da água
1430	Deformação assimétrica de CH_2
1369	Deformação simétrica de CH_3
1230	Alongamento C-O do acetato
1162	Alongamento C-O
1042	Alongamento C-O
907	Vibrações de CH_2

Fonte: Meireles, 2007.

A Figura 7 mostra os espectros de comparação entre o filme de acetato de celulose puro com o filme adicionado de 30% de glicerol. Os filmes adicionados de 5, 10 e 20% de glicerol tiveram o mesmo comportamento representado pelo gráfico para 30% de glicerol. Observou-se que com a adição de glicerol houve aumento da banda 2941.88 cm^{-1} (alongamento de CH) e das demais bandas, principalmente a banda 3396.99 cm^{-1}

(alongamento da OH). O glicerol é um álcool com estrutura química contendo grupamentos CH e OH, logo sua incorporação ao acetato de celulose causou aumento das bandas que representam estas atribuições. Portanto, de acordo com as mudanças mostradas pelo espectro, houve interação entre o acetato de celulose e glicerol e permanência do plastificante no filme mesmo após o processo de elaboração.

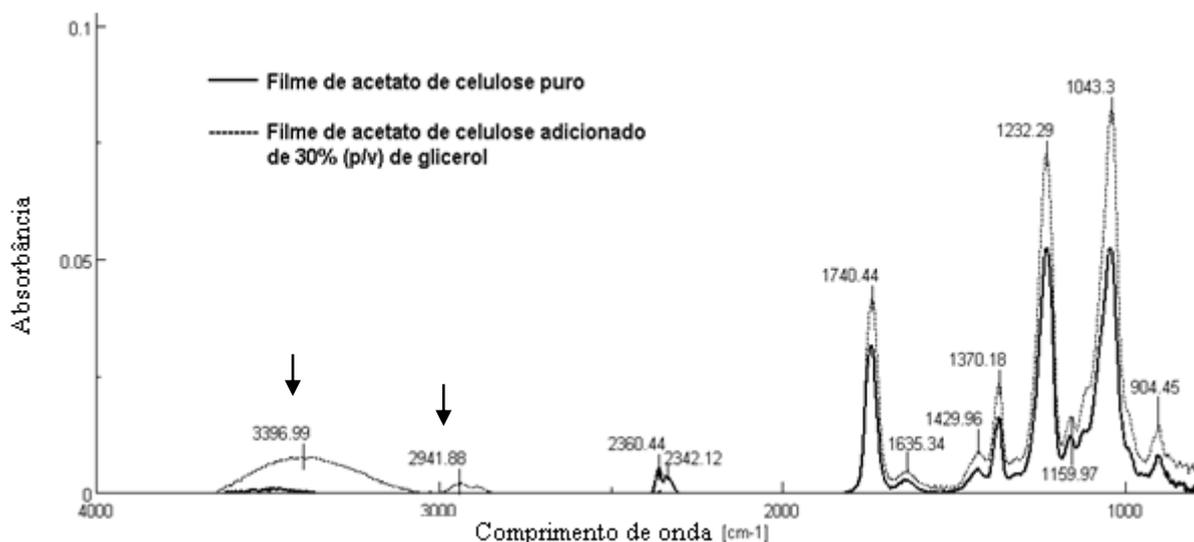


Figura 7. Espectros de FTIR típicos do filme de acetato de celulose puro e filme de acetato de celulose incorporado com 30% de glicerol.

Comparando as possíveis interações ocorridas nos filmes de acetato de celulose adicionados de 50% (p/v) de glicerol ou OE (Figura 8), nota-se que para a maioria dos filmes incorporados com OEs (representados pelo gráfico do filme incorporado com OE de canela), exceto para o filme com OE de funcho, o espectro típico mostra o aumento da banda 1671.98 cm^{-1} . Pontes (2013) encontrou valor próximo para filme de metilcelulose incorporado com OE de orégano e correlacionou com a faixa de detecção dos hidrocarbonetos aromáticos do OE. Todos os OEs utilizados neste trabalho possuem compostos aromáticos com a estrutura química semelhante à reportada no estudo citado. Portanto, a presença dessas substâncias aromáticas mostram o aparecimento dessa banda.

Nota-se que o aumento das demais bandas foi maior para filmes incorporados com a maioria dos OEs, a exceção para o filme adicionado de glicerol e filme incorporado com OE de funcho doce que apresentaram bandas menores. Os compostos fenólicos presentes no OE de funcho doce possuem estrutura química diferente dos demais OEs utilizados, demonstrando característica totalmente apolar, não apresentando nenhum grupo reativo que pudesse interagir com a estrutura do acetato de celulose, o que pode justificar o espectro diferenciado na análise infravermelha. Dessa maneira, pode-se afirmar que a incorporação dos OEs e glicerol ao filme de acetato de celulose foi bem sucedida à medida que os grupos químicos de seus compostos puderam ser detectados na análise infravermelha.

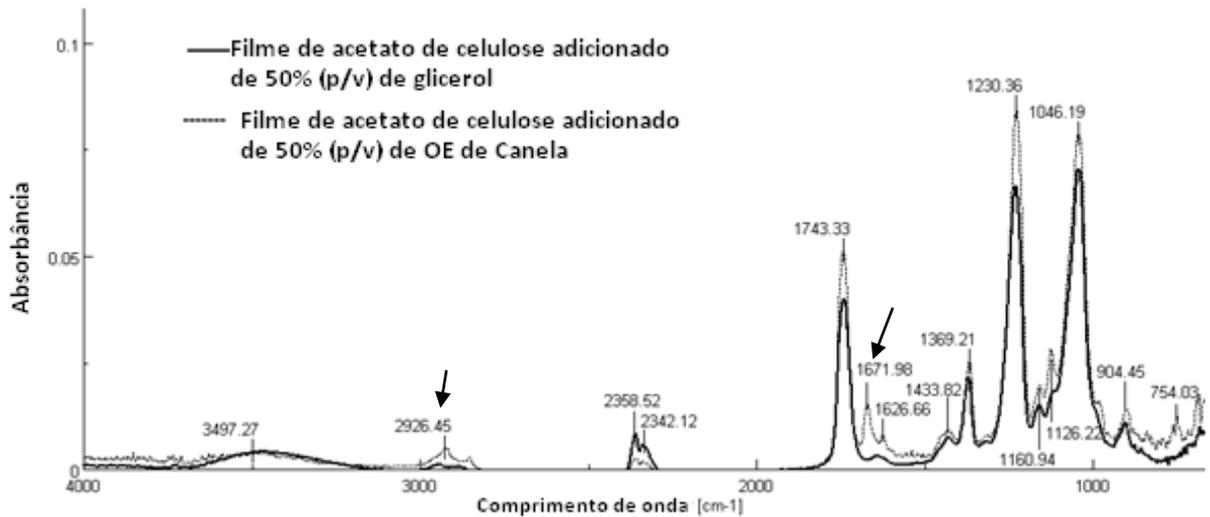


Figura 8. Espectro de FTIR dos filmes de acetato de celulose adicionados de 50% de glicerol ou OE de canela.

O filme incorporado com OE de canela (representado no gráfico) adicionado de glicerol (Figura 9) apresentou bandas semelhantes aos filmes incorporados com OEs de orégano e combinação de orégano e funcho doce adicionados de diferentes concentrações de glicerol. A adição de glicerol causou redução das bandas já existentes no filme incorporado somente com OEs, sendo as bandas 1671.96 cm^{-1} (presença de estruturas aromáticas) e 1047.16 cm^{-1} as mais afetadas, no qual as últimas podem estar relacionadas às vibrações dos grupos metoxil (O-CH_3) comum em ésteres. O OE de canela possui como componente o aldeído cinâmico, que apresenta um único ligante que pode reagir com os grupos polares do acetato de celulose e glicerol. Porém, este único elemento (molécula de oxigênio) que poderia realizar as interações se encontra ligado a uma molécula de carbono formando o grupamento carbonila. Portanto a dupla ligação entre o oxigênio e carbono não permite que o oxigênio possa fazer interações fortes com os demais aditivos. Isto pode justificar a redução das bandas observadas, pois as menores interações não são tão perceptíveis pela análise infravermelha. Já as bandas 3373.85 cm^{-1} (alongamento OH) e 2932.23 cm^{-1} (alongamento CH) apresentaram ligeiro aumento em decorrência da adição de glicerol aos filmes.

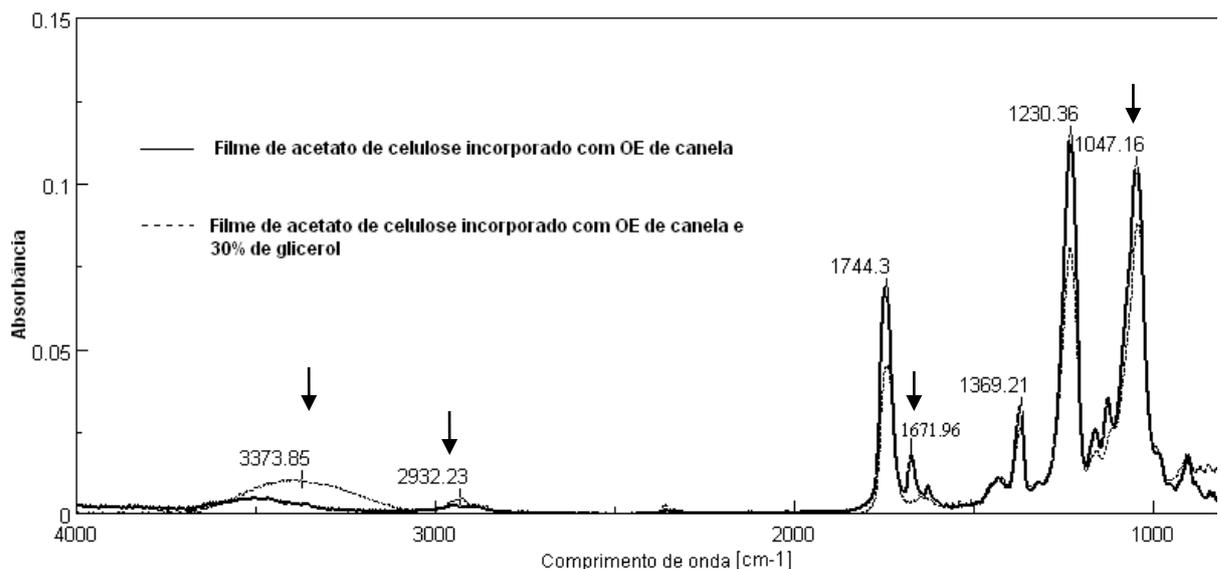


Figura 9. Espectros de FTIR de filmes de acetato de celulose incorporados com OE de canela e incorporados com OE de canela mais 30% de glicerol.

O filme incorporado com OE de funcho doce quando adicionado de glicerol apresentou espectro diferenciado do espectro do filme incorporado somente com OE, como evidenciado na Figura 10. Nota-se que a banda 3411.46 cm^{-1} referente ao alongamento do grupo OH se mostrou maior. Isso deve ter ocorrido em decorrência dos grupos OH contidos na molécula do glicerol. Os compostos voláteis presentes no OE de funcho doce não apresentam em sua estrutura química grupamentos OH disponíveis como os demais OEs, os quais poderiam interagir com os grupos OH do glicerol. Dessa maneira, as moléculas de OH do glicerol podem ter ficado livres em maior quantidade para conseqüente detecção na análise infravermelha. Outro fator que pode estar associado é a possível detecção da estrutura aromática diferenciada apresentada pelos compostos do OE de funcho, as quais podem ser captadas em comprimentos de onda próximos da região do grupamento OH. Outro aspecto que chamou atenção foi a ampliação das bandas contidas na faixa 905.41 cm^{-1} a 645.7 cm^{-1} que podem estar relacionadas ao aumento da quantidade de grupos C-O das acetilas. Esse fato pode ser explicado devido à intensa interação entre os grupos polares do glicerol e acetato de celulose nessa região.

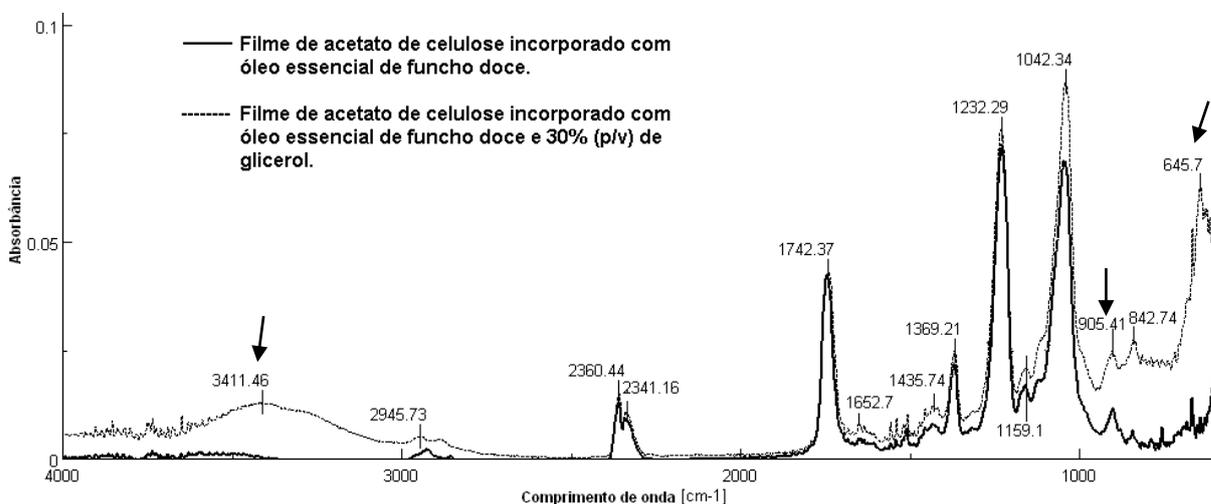


Figura 10. Espectro de FTIR de filmes de acetato de celulose incorporados com OE de funcho doce puro e adicionado de glicerol.

Na Figura 11, a adição de glicerol ao filme incorporado com combinação de OE de canela e orégano causou aumento da banda 1043.3 cm^{-1} (grupo metoxil), o que pode ser justificado pela maior interação entre os grupos CH dos OEs (principalmente orégano) e glicerol com o acetato de celulose, tornando a região mais reativa e mais perceptível pela análise infravermelha. A banda para o alongamento do grupo OH celulósico apareceu com valor de 3364.21 cm^{-1} . Nota-se que a cada tratamento algumas bandas para mesmo grupamento químico aparecem deslocadas, porém dentro da faixa de vibração aceita.

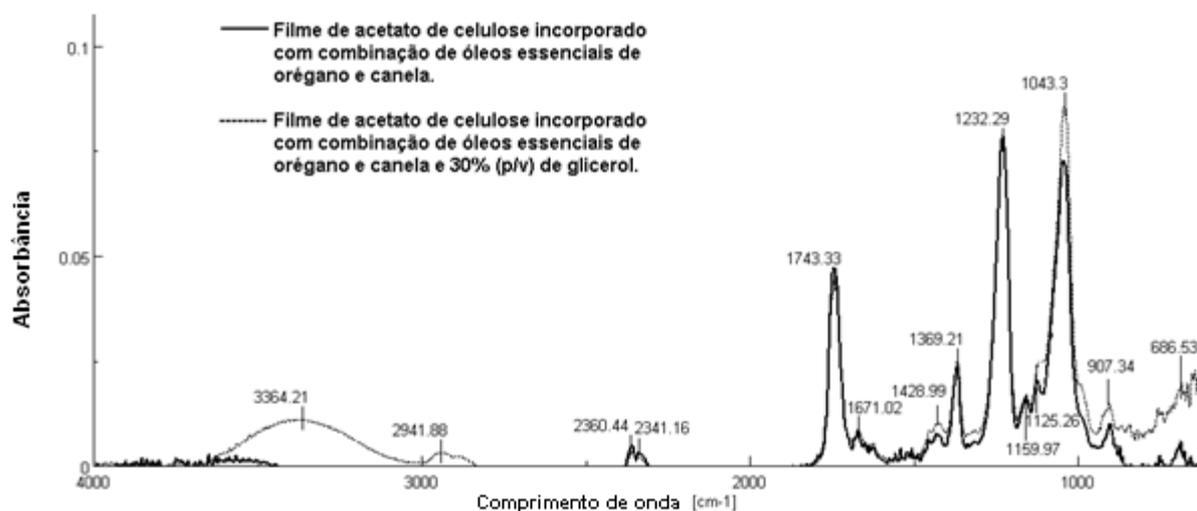


Figura 11. Espectro do filme de acetato de celulose incorporado com combinação de OE de orégano e canela puro e adicionado de glicerol.

A Figura 12 traz os espectros do filme incorporado somente com combinação de OE de canela e funcho doce e do filme incorporado com a mesma combinação de óleos adicionado de glicerol. Nota-se que o glicerol adicionado interagiu com os OEs e a matriz polimérica promovendo aumento das bandas 1232.29 cm^{-1} e 1045.23 cm^{-1} . Neste caso, pode-se sugerir que o aumento de tais bandas seja devido a presença do glicerol, pois os dois OEs utilizados não possuem característica polar como o plastificante. Portanto, a maior interação química gerada nesta região entre o glicerol e acetato de celulose, melhorou a captação pela análise infravermelha.

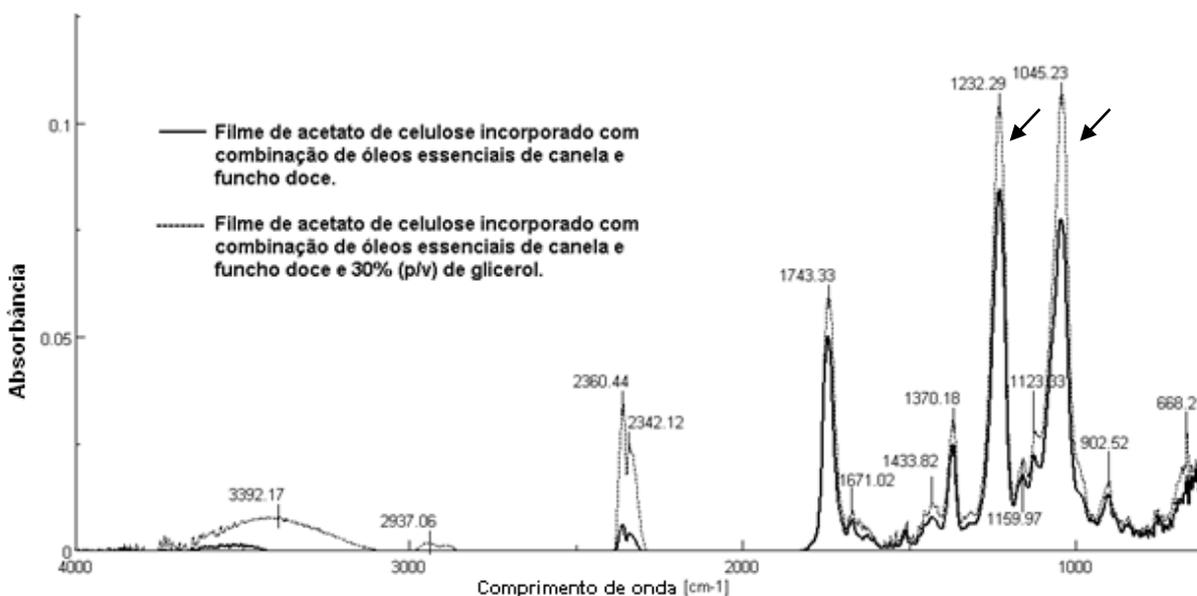


Figura 12. Espectro de FTIR dos filmes de acetato de celulose incorporados com combinação de OE de canela e funcho doce e filmes incorporados com mesmos óleos e adicionados de glicerol.

A interação decorrente da adição de glicerol ao filme de acetato de celulose incorporado com os três OEs (orégano, canela e funcho doce) provocou um aumento considerável nas bandas 3362.28 cm^{-1} (alongamento do grupo OH) e 1042.34 cm^{-1}

(alongamento da carbonila) (Figura 13). Dessa maneira, considera-se que o aumento dessas bandas se deve a intensa interação dos constituintes dos OEs com os grupos químicos do glicerol e acetato de celulose, tendo como consequência os maiores valores apresentados dentre os tratamentos analisados. Como o filme aqui representado (acetato de celulose) teve a incorporação de três OEs contendo diferentes compostos fenólicos com particularidades em estrutura química, associado a adição de glicerol (polar), o resultado foi um espectro que demonstra intensa interação a nível de alongamento OH, CH e C=O. A maior intensidade das bandas citadas pode ser justificada pela intensa interação entre OE de orégano e glicerol e/ou orégano e acetato de celulose e/ou glicerol e acetato de celulose.

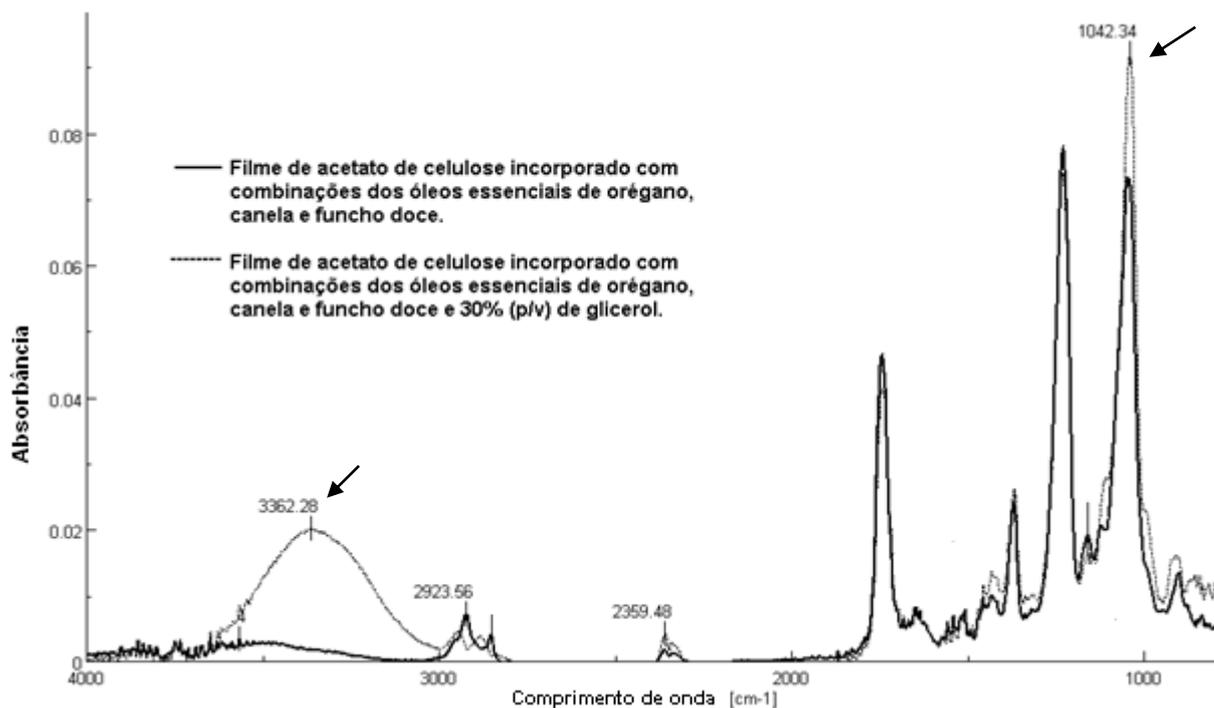


Figura 13. FTIR do filme de acetato de celulose: incorporado com OEs (orégano, canela e funcho doce) e incorporado com OE (orégano, canela e funcho doce) adicionado de glicerol.

4.2 Aspecto Visual

4.2.1 Transparência

A transparência da embalagem para alimentos é um dos fatores determinantes para o consumidor na hora da compra. Poder ver e avaliar as condições do produto acondicionado em uma embalagem passa credibilidade e segurança. A transparência dos filmes foi avaliada segundo a quantidade de luz que os mesmos foram capazes de absorver (medida de absorbância) nos comprimentos de onda na região do visível (560 nm). Portanto, quanto maior a quantidade de luz absorvida, maior foi considerada a opacidade do material (Fabra et al., 2009), sendo considerado com menor transparência. Os valores obtidos dos tratamentos avaliados estão representados na Tabela 3.

Tabela 3. Transparência dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v)

		Transparência (Absorbância em 560nm)				
Filme % Glic.	0%	5%	10%	20%	30%	
CT	92,850± 0,15 ^{aA}	93,479± 0,50 ^{aA}	94,813 ±0,91 ^{aA}	94,126 ± 0,73 ^{aA}	92,693 ± 1,80 ^{aA}	
C	92,554±0,52 ^{aA}	92,894±0,31 ^{abA}	95,301±0,63 ^{aA}	93,067±1,38 ^{aA*}	95,112±0,96 ^{aA*}	
O	93,046±0,01 ^{aA}	93,166±0,42 ^{abA}	95,496±1,33 ^{aA}	94,328±0,55 ^{aA}	95,661±1,51 ^{aA}	
F	92,848±0,11 ^{aA}	91,972±1,11 ^{abA}	87,540±3,71 ^{aAB}	79,797±1,12 ^{b*B*}	91,819±0,56 ^{aA}	
OC	92,507±0,08 ^{aA}	91,902±1,52 ^{abA}	93,243±0,57 ^{aA}	95,053±0,66 ^{aA}	94,176±1,61 ^{aA}	
CF	92,873±0,07 ^{aA}	93,996±1,11 ^{aA}	87,457±2,46 ^{aA}	89,380±1,90 ^{aA}	90,983±2,60 ^{aA}	
OF	89,749±2,82 ^{aA}	89,421±0,64 ^{b*A}	93,827±0,14 ^{aA}	93,463±0,62 ^{aA}	92,667±0,65 ^{aA}	
OCF	92,681±0,26 ^{aAB}	93,312±0,94 ^{abAB}	95,112±1,02 ^{aA}	91,755±0,39 ^{aB}	92,041±1,17 ^{aB}	

*Médias seguidas das mesmas letras na mesma coluna (minúsculas) e mesma linha (maiúsculas) não diferem entre si ($p>0,05$) pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. Médias seguidas de * apresentam diferença significativa do filme controle (CT 0, 5, 10, 20 e 30% (coluna) e concentrações 0% (linha)) pelo teste Dunnett's.

Observando as comparações em colunas (mesma concentração de glicerol com diferentes OEs), nota-se que não houve diferença significativa ($p>0,05$) na maioria das comparações (0,10 e 30%). Os filmes sem adição de glicerol (coluna 0%) não apresentaram diferença ($p>0,05$) para transparência. Pontes (2013) também observou que a incorporação de OEs não modificou a transparência em filmes de metilcelulose.

A maioria dos filmes adicionados de 5% de glicerol (coluna 5%) apresentou diferença ($p<0,05$) quando incorporados com OEs, os quais tiveram redução da transparência, exceto o filme CF 5% que apresentou transparência semelhante ao filme CT5%. O filme OF5% foi o único a apresentar diferença ($p<0,05$) para o filme controle 5% demonstrando maior transparência. Quando incorporados com 20% de glicerol (coluna 20%), o filme F 20% se destacou pela maior transparência com diferença para o filme controle 20%.

Os valores obtidos nas linhas da Tabela 3, os quais evidenciam o efeito das diferentes concentrações de glicerol em filmes incorporados com mesmo OE ou combinações, demonstram que apenas os filmes incorporados com funcho (F) e combinação de orégano, canela e funcho (OCF) apresentaram diferença ($p<0,05$). Nota-se que para o filme F, os valores de absorbância vão reduzindo numericamente até apresentar diferença estatística em nível de 20% de glicerol. Porém, ao adicionar 30% de glicerol ao filme em questão, houve ligeira redução da transparência. A presença do glicerol até a concentração de 20% pode ter sido suficiente para reduzir as ligações intermoleculares entre o OE e a rede polimérica, pois a estrutura química dos compostos aromáticos presentes no OE de funcho são pobres em moléculas polares que poderiam interagir com o glicerol e acetato de celulose. Isso pode ter tido como consequência cadeias mais afastadas permitindo assim a maior passagem de luz através da rede polimérica, tendo maior transparência.

Efeito contrário foi observado para o filme OCF que apresentou redução numérica de transparência até obter diferença significativa ($p<0,05$) na concentração de 10% de glicerol,

com menor transparência apresentada. Porém, nas concentrações de 20% e 30% de glicerol, o filme passou a se comportar com maior transparência. Segundo Fabra et al. (2009), a presença de substâncias imiscíveis e heterogêneas na matriz polimérica podem afetar o comportamento do material frente a incidência de luz e comprometer a transparência dos filmes.

A Tabela 4 compara os filmes adicionados apenas de 50% de glicerol ou óleo(s) essencial (is).

Tabela 4. Transparência do filme de acetato de celulose incorporado com 50% (p/v) de glicerol (CT50%) e filmes incorporados apenas com óleos essenciais (50% p/v) de Canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF).

Filme	Transparência (Absorbância em 560nm)
CT 50%	95,067 ± 0,15 ^a
C 0%	92,554±0,52 ^{ab}
O 0%	93,046±0,01 ^{ab}
F 0%	92,848±0,11 ^{ab}
OC 0%	92,507±0,08 ^{ab}
CF 0%	92,873±0,07 ^{ab}
OF 0%	89,749±2,82 ^{b*}
OCF 0%	92,681±0,26 ^{ab}

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si ($p>0,05$) pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. Médias seguidas de * apresentam diferença significativa do filme controle (CT 50%) pelo teste Dunnett's.

Houve diferença ($p<0.05$) entre os tratamentos, no qual o filme de acetato com 50% de glicerol (CT 50%) se destacou pela menor transparência, enquanto o filme OF0% se mostrou mais transparente e diferente do filme controle 50% (CT). Portanto, os resultados apontam que os filmes avaliados apresentaram pouca transparência, incluindo o filme controle puro (apenas acetato de celulose) que se mostrou bastante opaco. As estruturas químicas polares presentes no glicerol e maioria dos OEs podem ter interagido entre si e com as cadeias poliméricas causando aumento da cristalinidade dos filmes, contribuindo assim para alteração de seus aspectos visuais, que se mostraram mais opacos.

4.2.2 Avaliação da cor

Os valores de comparação dos parâmetros de cor (L^* , a^* , e b^*) entre os filmes adicionados de 50% de glicerol ou OEs estão evidenciados na Tabela 5.

Tabela 5. Valores médios da avaliação colorimétrica do filme de acetato de celulose incorporado com 50% (p/v) de glicerol (CT50%) e filmes incorporados apenas com óleos essenciais (50% p/v) de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF), quanto aos parâmetros L*, a* e b*

Coordenadas de Cor			
Filme	a*	b*	L*
CT 50%	0,192±0,03 ^b	0,312±0,09 ^{cd}	98,056±0,15 ^a
C 0%	-0,073±0,04 ^{c*}	0,746±0,03 ^{b*}	97,057±0,26 ^{ab}
O 0%	-0,007±0,00 ^{bc}	0,154±0,00 ^d	97,236±0,00 ^{ab}
F 0%	-0,007±0,06 ^{bc}	0,169±0,11 ^d	97,159±0,05 ^{ab}
OC 0%	-0,094±0,00 ^{c*}	0,616±0,10 ^{bc}	96,994±0,03 ^{ab}
CF 0%	-0,053±0,00 ^{c*}	0,389±0,01 ^{bcd}	97,159±0,03 ^{ab}
OF 0%	0,492±0,10 ^{a*}	1,939±0,19 ^{a*}	95,762±1,17 ^{b*}
OCF 0%	-0,024±0,01 ^{bc*}	0,233±0,08 ^{cd}	97,089±0,11 ^{ab}

*Médias seguidas das mesmas letras na mesma coluna não diferem entre si ($p>0,05$) pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. Médias seguidas de * apresentam diferença significativa do filme controle (CT 50%) pelo teste Dunnett's.

Houve diferença ($p<0,05$) para os três parâmetros de cor avaliados. Para a coordenada a* (índice de cromaticidade que varia do vermelho (a*+) ao verde (a*-)), os filmes C0%, O0%, F0%, OC0%, CF0% e OCF0% apresentaram coloração verde enquanto os filmes OF0% e CT50% se mostraram avermelhados, sendo que o OE de orégano + funcho proporcionou uma coloração vermelha mais acentuada ao filme quando comparado ao tratamento com incorporação apenas de 50% de glicerol (CT 50%).

Para o parâmetro b* (índice de cromaticidade que varia do amarelo (b*+) ao azul (b*-)), todos os filmes apresentaram valores para coloração amarela com destaque para o filme OF0%, que apresentou maior valor enquanto os filmes O0% e FO0% tenderam a reduzir a intensidade da cor. Os valores de luminosidade (L*) revelam que todos os filmes apresentaram-se com coloração clara, onde o filme CT50% teve o maior valor enquanto o filme OF0% se comportou com menor luminosidade.

A Tabela 6 apresenta os valores médios de luminosidade (L*) para as comparações que avaliam a possível influência do glicerol e/ou óleo (s) essencial (is) sobre o filme de acetato de celulose.

Tabela 6. Valores médios da avaliação colorimétrica dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v), quanto ao parâmetro L*.

Filme \ % Glic.	Luminosidade (L*)				
	0%	5%	10%	20%	30%
CT	96,751±0,50 ^{aA}	97,413±0,20 ^{abA}	97,994±0,37 ^{aA}	97,980±0,26 ^{aA}	97,093±0,73 ^{aA}
C	97,057±0,26 ^{aA}	97,163±0,14 ^{abA}	98,089±0,25 ^{aA}	97,167±0,57 ^{aA}	98,016±0,37 ^{aA}
O	97,236±0,00 ^{aA}	97,287±0,18 ^{abA}	98,189±0,52 ^{aA}	97,717±0,22 ^{aA}	98,268±0,61 ^{aA}
F	97,159±0,05 ^{aA}	96,777±0,46 ^{abA}	94,833±1,63 ^{aA}	90,778±0,42 ^{ab*}	96,768±0,23 ^{aA}
OC	96,994±0,03 ^{aA}	96,698±0,62 ^{abA}	97,290±0,22 ^{aA}	98,014±0,27 ^{aA}	97,649±0,64 ^{aA}
CF	97,159±0,03 ^{aA}	97,548±0,45 ^{aA}	94,753±1,04 ^{aA}	95,608±0,81 ^{aA}	96,297±1,10 ^{aA}
OF	95,762±1,17 ^{aA}	95,678±0,27 ^{b*A}	97,527±0,06 ^{aA}	97,357±0,26 ^{aA}	97,059±0,26 ^{aA}
OCF	97,089±0,11 ^{aAB}	97,249±0,41 ^{abAB}	97,994±0,43 ^{aA}	96,703±0,18 ^{ab}	96,768±0,49 ^{aAB}

*Médias seguidas das mesmas letras na mesma coluna (minúsculas) e mesma linha (maiúsculas) não diferem entre si ($p>0,05$) pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. Médias seguidas de * apresentam diferença significativa do filme controle (CT 0, 5, 10, 20 e 30% (coluna) e concentrações 0% (linha)) pelo teste Dunnett's.

Comparando as colunas, houve diferença ($p<0,05$) apenas para os filmes contendo 5% de glicerol em sua formulação. O filme CF5% apresentou maior valor para luminosidade enquanto o filme OF5% se mostrou menos luminoso com diferença significativa para o filme controle (CT5%). Avaliando a influência das diferentes concentrações de glicerol nos filmes com o mesmo tipo de OE ou combinação (sentido linha da tabela), apenas os filmes F e OCF apresentaram diferença de luminosidade. O filme F20% (Funcho com 20% de glicerol) apresentou o menor valor para o parâmetro avaliado diferindo do filme controle (CT20%).

Os valores médios para avaliação do efeito do glicerol e OEs sobre o índice de cromaticidade (a^*) dos filmes de acetato de celulose estão dispostos na Tabela 7.

Tabela 7. Valores médios da avaliação colorimétrica dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v), quanto ao parâmetro a*.

Filme \ %Glic.	Índice de Cromaticidade a*				
	0%	5%	10%	20%	30%
CT	0,006±0,00 ^{bB}	0,082±0,05 ^{cdB}	0,107±0,04 ^{cdB}	0,767±0,04 ^{abcdA*}	0,719 ± 0,10 ^{aA*}
C	-0,073±0,04 ^{bC}	-0,084±0,01 ^{dC}	0,142±0,05 ^{bcdB}	0,596±0,03 ^{cdA*}	0,299 ±0,10 ^{b*B*}
O	-0,007±0,00 ^{bC}	0,039±0,02 ^{cdBC}	0,557±0,21 ^{abc*A*}	0,749±0,04 ^{bcdA*}	0,481±0,11 ^{abAB*}
F	-0,007±0,06 ^{bD}	0,380±0,03 ^{abcC*}	1,061±0,05 ^{a*A*}	1,020±0,03 ^{a*A*}	0,593±0,03 ^{abB*}
OC	-0,094±0,00 ^{bB}	0,431±0,06 ^{abcA*}	-0,068±0,02 ^{dB}	0,519±0,05 ^{dA*}	0,338±0,09 ^{abA*}
CF	-0,053±0,00 ^{bB}	0,606±0,19 ^{ab*A*}	0,629±0,12 ^{ab*A*}	0,839±0,09 ^{abA*}	0,621±1,06 ^{abA*}
OF	0,492±0,10 ^{a*BC}	0,219±0,05 ^{bcd*C*}	0,646±0,02 ^{ab*AB}	0,826±0,02 ^{abcA*}	0,598±0,00 ^{abAB}
OCF	-0,024±0,01 ^{bAB}	0,819±0,19 ^{a*A*}	0,648±0,09 ^{ab*A*}	0,696±0,09 ^{bcdA*}	0,658±0,05 ^{abA*}

*Médias seguidas das mesmas letras na mesma coluna (minúsculas) e mesma linha (maiúsculas) não diferem entre si ($p>0,05$) pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. Médias seguidas de * apresentam diferença significativa do filme controle (CT 0, 5, 10, 20 e 30% (coluna) e concentrações 0% (linha)) pelo teste Dunnett's.

Para os filmes sem adição de plastificante (coluna 0%), apenas o tratamento OF0% apresentou coloração avermelhada, assim como o filme controle (CT0%), enquanto os demais tiveram cor verde. Dentre os filmes contendo 5% e 10% de glicerol, apenas os tratamentos C5% (canela 5% de glicerol) e OC10% tiveram coloração esverdeada, contrário dos demais com coloração vermelha. Os filmes com 20 e 30% de glicerol apresentaram-se todos vermelhos com diferença significativa entre os tratamentos.

Percebe-se que a adição apenas de glicerol aos filmes de acetato de celulose (linha CT da tabela), causou aumento da coloração vermelha com valor significativo da cor a partir de 20% de glicerol. Vale ressaltar que o filme produzido sem a adição de glicerol e óleo essencial (CT0%) se apresentou com coloração avermelhada tendendo à escala de cinza. Todos os filmes que apresentaram coloração esverdeada com a incorporação somente de OEs (coluna 0%) tenderam a mudar a cor para vermelho quando adicionados de glicerol.

O filme OF foi o único tratamento com incorporação de OE que apresentou coloração vermelha mesmo sem a presença do glicerol, e este quando adicionado ao filme de acetato de celulose promoveu aumento da cor vermelha. Portanto, os valores mostraram que a presença do glicerol e OEs foi determinante para modificar e definir a coloração de todos os filmes quanto ao parâmetro a*.

Os resultados da avaliação dos efeitos dos aditivos utilizados sobre o comportamento dos filmes de base celulósica quanto ao índice de croma b* estão dispostos na Tabela 8, na qual todos os filmes apresentaram coloração amarela com diferença significativa ($p<0,05$), a exceção dos filmes controle CT (sentido linha 1 na tabela) e filmes com 30% de glicerol (coluna 30%).

Tabela 8. Avaliação colorimétrica dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v), quanto ao parâmetro b*.

Filme \ %Glic.	Índice de Cromaticidade b*				
	0%	5%	10%	20%	30%
CT	0,216±0,04 ^{cdB}	0,114± 0,05 ^{eB}	0,158± 0,04 ^{dB}	1,412± 0,15 ^{bA}	1,271 ± 0,24 ^{aA}
C	0,746±0,03 ^{b*CD}	0,472±0,10 ^{deD}	1,371±0,15 ^{bcd*BC}	2,263±0,20 ^{abA}	1,561±0,17 ^{aAB}
O	0,154±0,00 ^{dB}	0,143±0,07 ^{eB}	1,779±0,42 ^{bc*A*}	1,469±0,13 ^{bA*}	1,260±0,31 ^{aA*}
F	0,169±0,11 ^{dB}	0,856±0,10 ^{cdeB}	2,601±0,58 ^{ab*A*}	3,443±0,07 ^{a*A*}	1,100±0,05 ^{aB}
OC	0,616±0,10 ^{bc*C}	1,642±0,10 ^{abc*A*}	0,700±0,24 ^{cdB}	1,241±0,11 ^{bAB*}	1,260±0,14 ^{aAB*}
CF	0,389±0,01 ^{bcdB}	1,982±0,15 ^{ab*A*}	3,327±0,23 ^{a*A*}	2,868±0,65 ^{abA*}	2,119±0,56 ^{aA*}
OF	1,939±0,19 ^{a*A}	1,263±0,12 ^{bcd*B*}	1,162±0,03 ^{cd*BC*}	1,673±0,08 ^{bAB}	1,021±0,02 ^{aC*}
OCF	0,233±0,08 ^{cdB}	2,447±0,41 ^{a*A*}	1,962±0,90 ^{abc*A*}	1,904±0,49 ^{bA*}	1,748±0,44 ^{aA*}

*Médias seguidas das mesmas letras na mesma coluna (minúsculas) e mesma linha (maiúsculas) não diferem entre si ($p>0,05$) pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. Médias seguidas de * apresentam diferença significativa do filme controle (CT 0, 5, 10, 20 e 30% (coluna) e concentrações 0% (linha)) pelo teste Dunnett's.

Os filmes adicionados somente de diferentes OEs ou combinações (coluna 0%) apresentaram diferença ($p<0,05$) entre si e com filme controle (CT0%). O maior valor encontrado para a coloração amarela foi para o filme OF0%, enquanto os menores foram para O0% e F0%. Nota-se, portanto, que a associação dos dois OEs (orégano e funcho) somou valor maior para a cor, caracterizando sinergismo entre ambos. O OE de canela foi o único que quando adicionado individualmente ao filme de acetato de celulose causou aumento significativo na cor amarela diferindo do filme controle.

Nota-se sinergismo para todas as combinações de OEs para a concentração de 5% de glicerol. Todas as combinações diferiram do filme controle com maior valor encontrado para o filme com a combinação dos três OEs (OCF5%). Houve diferença significativa para as concentrações de 10 e 20% de glicerol com maior valor encontrado para CF10% e F20% para a coloração amarela.

A incorporação apenas de glicerol ao filme de acetato de celulose (linha CT na tabela) causou modificações na coloração do filme controle (CT0%), sendo observado aumento da cor amarela a partir da concentração de 20% de glicerol. Todos os demais tratamentos apresentaram diferença significativa para a coloração amarela com tendência a aumentar os valores com a adição de glicerol à formulação dos filmes. Portanto, o glicerol quando adicionado individualmente aos filmes de acetato de celulose não modificou a coloração. Somente em associação com os OEs o plastificante foi capaz de aumentar os valores para amarelo de todos os tratamentos.

4.3 Espessura

No presente estudo, verificou-se que a adição de glicerol ou glicerol e OEs contribuíram para aumento da espessura dos filmes de acetato de celulose, exceto para os incorporados com óleo essencial de canela e combinação de orégano e canela que não apresentaram diferença ($p>0,05$), como evidenciado no sentido linha da Tabela 9. Farias et al. (2012) também verificaram o aumento da espessura de filmes de amido de mandioca em função da incorporação de diferentes concentrações de glicerol.

Tabela 9. Espessura média dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v)

Filme	% Glic.	Média de Espessura (μm)				
		0%	5%	10%	20%	30%
CT		41,30 \pm 2,68 ^{aB}	52,43 \pm 1,95 ^{bAB}	50,17 \pm 3,63 ^{aAB}	56,07 \pm 2,03 ^{bA}	55,47 \pm 0,96 ^{b*A}
C		54,47 \pm 3,50 ^{aA}	55,30 \pm 2,35 ^{abA}	56,03 \pm 1,96 ^{aA}	63,03 \pm 1,86 ^{abA}	66,03 \pm 1,98 ^{abA}
O		52,67 \pm 1,54 ^{aB}	53,93 \pm 0,48 ^{bAB}	59,87 \pm 1,96 ^{aAB}	57,70 \pm 2,41 ^{abAB}	61,57 \pm 1,32 ^{abA}
F		47,50 \pm 1,77 ^{aC}	54,63 \pm 2,24 ^{abBC}	55,00 \pm 1,06 ^{abBC}	56,10 \pm 0,95 ^{bB*}	67,97 \pm 2,82 ^{ab*A}
OC		51,50 \pm 5,60 ^{aA}	54,17 \pm 1,42 ^{abA}	61,47 \pm 3,76 ^{aA}	56,67 \pm 3,76 ^{bA}	59,97 \pm 3,21 ^{abA}
CF		50,60 \pm 2,36 ^{aB}	54,80 \pm 1,40 ^{abAB}	62,53 \pm 2,83 ^{aAB}	59,60 \pm 2,99 ^{abAB}	67,60 \pm 3,71 ^{ab*A}
OF		59,13 \pm 1,12 ^{aB}	61,67 \pm 1,53 ^{a*AB}	65,07 \pm 0,07 ^{aAB}	64,47 \pm 0,34 ^{ab*AB}	68,53 \pm 3,68 ^{ab*A}
OCF		55,37 \pm 1,34 ^{aD}	59,03 \pm 0,43 ^{abCD}	62,53 \pm 0,37 ^{aBC}	65,87 \pm 0,07 ^{a*B*}	71,13 \pm 1,57 ^{a*A}

*Médias seguidas das mesmas letras na mesma coluna (minúsculas) e mesma linha (maiúsculas) não diferem entre si ($p>0,05$) pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. Médias seguidas de * apresentam diferença significativa do filme controle (CT 0, 5, 10, 20 e 30% (coluna) e concentrações 0% (linha)) pelo teste Dunnett's.

Ao comparar os filmes incorporados com diferentes OEs e mesma concentração de glicerol, pode-se ter uma noção da ação individual de cada óleo ou combinação deste com o plastificante. A coluna 0% mostra que a adição apenas de OEs não apresentou diferença estatística e significativa ($p>0,05$) na espessura dos diferentes tratamentos quando comparados entre si e ao filme controle 0% (filme de acetato de celulose puro). Resultado semelhante foi reportado por Pontes (2013), que não observou diferença significativa na espessura de filmes de metilcelulose incorporados com OEs de cravo e orégano.

Houve diferença significativa ($p<0,05$) no aumento de espessura entre os demais filmes adicionados de glicerol, com exceção para os filmes com 10% de plastificante (coluna 10%). Portanto, o aumento da espessura dos filmes deve estar associado à presença do glicerol ou devido à ação conjunta entre os OEs e o plastificante. Dessa maneira, a presença de tais aditivos pode ter provocado efeito plastificante com conseqüente desarranjo e quebra das interações intra e intermoleculares do material polimérico provocando afastamento das cadeias, a qual se manifestou como aumento da espessura dos filmes.

A comparação entre os filmes adicionados somente de 50% (p/v) de glicerol e os filmes incorporados apenas com OEs (50% p/v) não apresentou diferença significativa ($p>0,05$), o que significa que ambas as substâncias tiveram ação semelhante no aumento da espessura. O valor médio para a espessura entre todos os filmes incorporados com 50% de cada aditivo foi de $53,16 \pm 2,26 \mu\text{m}$.

4.4 Taxa de Transmissão ao Vapor de Água (TTVA)

Os resultados para a taxa de transmissão ao vapor de água dos filmes de acetato de celulose incorporados com diferentes OEs e/ou diferentes concentrações de glicerol estão descritos na Tabela 10.

Tabela 10. TTVA dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v)

TTVA (g.m-2. dia-1)					
Filme\%Glic	0%	5%	10%	20%	30%
CT	258,091±3,92 ^{aBC}	270,176±0,94 ^{aABC}	316,636±8,58 ^{aA*}	257,829±13,60 ^{aBC}	308,265±10,35 ^{aAB*}
C	181,391±9,89 ^{b*A}	210,218±9,52 ^{abcA}	194,156±22,13 ^{b*A}	173,229±10,93 ^{a*A}	198,970±15,64 ^{ab*A}
O	144,610±15,17 ^{b*B}	185,733±16,74 ^{abc*AB}	172,078±3,29 ^{b*AB}	236,849±13,34 ^{aA}	180,187±6,17 ^{b*AB}
F	155,545±11,98 ^{b*B}	177,519±6,12 ^{bc*AB}	172,549±3,29 ^{b*AB}	199,650±3,76 ^{aAB}	214,247±0,78 ^{ab*A}
OC	168,834±6,12 ^{b*A}	264,735±41,43 ^{abA}	217,386±4,91 ^{b*A}	253,225±15,27 ^{aA}	197,767±31,49 ^{ab*A}
CF	168,782±13,50 ^{b*A}	182,385±9,52 ^{bc*A}	175,112±6,74 ^{b*A}	174,484±17,94 ^{a*A}	192,849±16,63 ^{ab*A}
OF	146,023±7,80 ^{b*A}	174,171±5,80 ^{c*A}	191,331±3,92 ^{b*A}	191,174±27,93 ^{aA}	199,336±28,14 ^{ab*A}
OCF	176,839±7,45 ^{b*A}	183,850±14,96 ^{abc*A}	187,198±7,53 ^{b*A}	200,644±2,56 ^{aA}	225,967±26,73 ^{abA}

*Médias seguidas das mesmas letras na mesma coluna (minúsculas) e mesma linha (maiúsculas) não diferem entre si ($p>0,05$) pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. Médias seguidas de * apresentam diferença significativa do filme controle (CT 0, 5, 10, 20 e 30% (coluna) e concentrações 0% (linha)) pelo teste Dunnett's.

Os valores obtidos mostram que para todas as concentrações de glicerol (colunas), com exceção para 20%, a incorporação dos OEs causou ligeira redução da taxa de transmissão ao vapor de água dos filmes avaliados. A coluna 0% evidencia redução da TTVA para os filmes incorporados somente com OEs e combinações. Espítia (2009) relata que a incorporação de OEs de orégano, canela e capim limão em filmes de acetato de celulose não apresentou diferença significativa para TTVA. Segundo Pontes (2013), este fato pode estar associado à homogeneidade insuficiente dos OEs na matriz polimérica. Dessa maneira, de acordo com os resultados obtidos, os OEs utilizados para produção dos filmes avaliados neste trabalho devem ter alcançado homogeneidade suficiente para que pudessem interagir quimicamente com cadeia polimérica hidrofílica e melhorar suas propriedades de barreira ao vapor de água.

A adição somente de glicerol ao filme de acetato de celulose nas concentrações de 10 e 30% (sentido linha) apresentou diferença ($p<0,05$) para o aumento da taxa de transmissão ao vapor de água em comparação com o filme controle. Jost et al. (2014) também observaram que filmes de alginato adicionados de glicerol tiveram sua taxa de permeabilidade ao oxigênio e água aumentada. Porém, nesse trabalho a concentração de 20% de glicerol causou redução da permeabilidade ao vapor de água. Isso deve ter ocorrido devido ao efeito antiplastificante causado pelo glicerol incorporado que, mesmo diminuindo as ligações intermoleculares na cadeia pode ainda oferecer possibilidades de ligações. Shimazu et al. (2007) avaliaram o efeito antiplastificante do glicerol sobre as propriedades de sorção de umidade em filmes de amido de mandioca e relatam que, dependendo da concentração do plastificante, ao invés de aumentar a hidrofílicidade do material, pode causar efeito contrário. Portanto, as interações entre os aditivos e a matriz polimérica podem ter proporcionado menor característica polar, o que pode ter sido causado devido à baixa concentração de ligações tipo hidrogênio na rede polimérica aditivada.

O aumento da concentração de glicerol nos demais tratamentos, a exceção dos filmes incorporados com OE de orégano (O) e funcho (F) não causou diferença ($p > 0,05$). Isso significa que mesmo com a presença do glicerol, os OEs foram homogeneizados o suficiente para reduzir a hidrofilicidade dos filmes, melhorando suas propriedades de barreira ao vapor de água. O mesmo comportamento foi observado na comparação entre o filme com 50% (p/v) de glicerol e os filmes incorporados com 50% (p/v) de cada OE e combinações destes (Tabela 11). Nota-se, portanto que os filmes incorporados somente com OEs e combinações apresentaram melhores propriedades de barreira em função do aumento da característica hidrofóbica das cadeias poliméricas.

Tabela 11. Valores médios da TTVA do filme de acetato de celulose incorporado com 50% (p/v) de glicerol (CT50%) e filmes incorporados apenas com óleos essenciais (50% p/v) de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF)

Filme	Média TTVA (g.m-2. dia-1)
CT 50%	238,157 ± 7,01 ^{a*}
C 0%	181,391 ± 9,88 ^{ab*}
O 0%	144,610 ± 15,17 ^{b*}
F 0%	155,545 ± 11,98 ^{b*}
OC 0%	168,834 ± 6,12 ^{b*}
CF 0%	168,782 ± 13,49 ^{b*}
OF 0%	146,023 ± 7,79 ^{b*}
OCF 0%	176,839 ± 7,42 ^{ab*}

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. Médias seguidas de * apresentam diferença significativa do filme controle (CT 50%) pelo teste Dunnett's.

4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens obtidas sobre a superfície e a região transversal dos filmes adicionados apenas de glicerol estão dispostas na Figura 14. Na figura 14A representando o filme controle (acetato de celulose puro), observa-se uma superfície lisa e homogênea assim como a figura 14A1 que representa a região transversal do filme avaliado. A partir da adição de glicerol, observa-se que as imagens de superfície (figura 14B, C e D) referente aos filmes com 5, 10 e 20% de glicerol, respectivamente, já se apresentam com pequenas e uniformes depressões, enquanto a figura 14E referente ao filme adicionado de 30% de glicerol, já mostra uma superfície com microporos.

Nas imagens das seções transversais dos filmes adicionados de glicerol (figuras 14B1, C1, D1 e E1) referente aos filmes adicionados de 5, 10, 20 e 30% de glicerol, respectivamente, nota-se a presença de pequenos poros. Portanto, a presença de glicerol no filme de acetato de celulose possivelmente modificou a rede polimérica, favorecendo o aparecimento dos microporos.

De acordo com os resultados apresentados na avaliação mecânica (Tabela 12), o filme incorporado com 30% de glicerol apresentou redução numérica dos valores para resistência à tração (mas em relação ao filme controle ainda é maior), enquanto os filmes com 5, 10 e 20% de glicerol mostraram maior resistência. Portanto, a presença destes microporos na superfície e região transversal pode ser reflexo da falta de interação interfacial entre o acetato de celulose e glicerol, tornado o material mais vulnerável às forças no ensaio mecânico, resultando no decréscimo da resistência à tração.

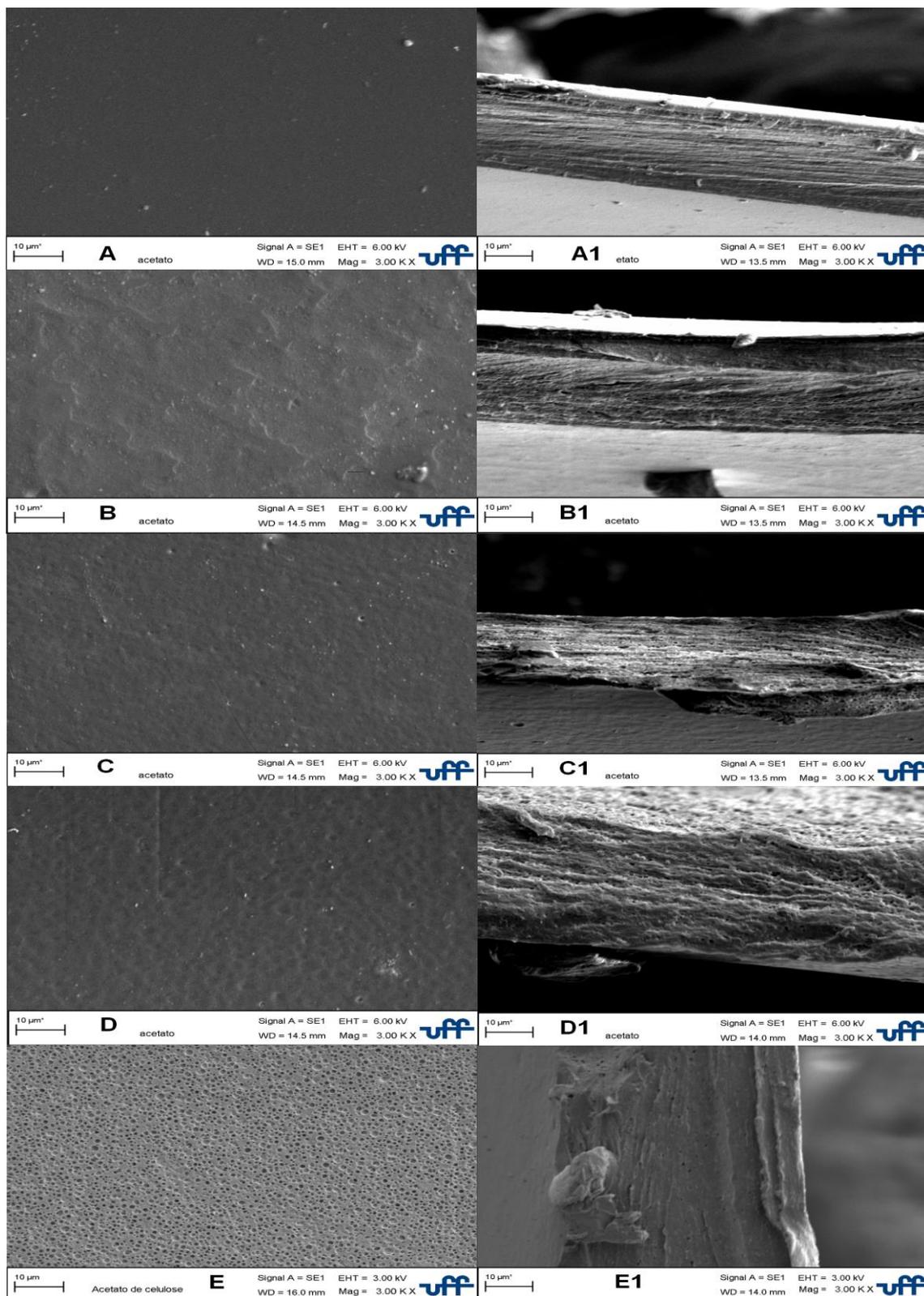


Figura 14. MEV dos filmes de acetato de celulose: (A)-filme controle superfície e (A1)-seção transversal; (B)-filme 5% glicerol superfície e (B1)-seção transversal; (C)-filme 10% glicerol superfície e (C1)-seção transversal; (D)-filme 20% glicerol superfície e (D1)-seção transversal; (E)-filme 30% glicerol superfície e (E1)-seção transversal.

A Figura 15 apresenta as imagens de MEV dos filmes incorporados com 50% de glicerol ou OEs. As figuras 15A e 15A1 são referentes à superfície e região transversal do filme incorporado apenas com 50% de glicerol, respectivamente. Nota-se que o glicerol promoveu o aparecimento de pequenos poros vistos tanto na superfície quanto no interior do filme. Para a análise de resistência à tração (Tabela 12), esta concentração de glicerol apresentou diferença ($p < 0.05$) em relação às demais concentrações evidenciando um filme com menor resistência, a qual pode ter sido influenciada pela estrutura porosa.

As figuras 15B e 15B1 apresentam uma superfície e interior com aspectos homogêneos e lisos e referem-se ao filme incorporado com OE de canela (C). Esta mesma característica foi apresentada pelos OEs de orégano mais canela (OC), orégano mais canela e funcho (OCF) e canela mais funcho (CF). Dessa maneira, nota-se que a incorporação desses OEs aos filmes de acetato de celulose não modificou o aspecto das imagens observado no filme de acetato de celulose puro (Figuras 14A e 14A1).

O filme incorporado com OE de funcho doce (F), representado pelas figuras 15C e 15C1 apresentou superfície lisa, porém com pequenos espaços no interior do filme observados na região transversal. A estrutura porosa evidenciada pelo filme incorporado com OE de funcho pode estar associada ao fato de que os componentes de tal OE não apresentam estrutura química propícia à interação com a matriz polimérica. Portanto, estando o OE não ligado quimicamente, o mesmo pode ter ficado aprisionado na rede polimérica formando “bolsões” visualizados como espaços no interior do filme. Dashipour et al. (2015) observaram que a incorporação de OE de *Zataria multiflora* em filmes de carboximetilcelulose promoveu o surgimento de estruturas porosas observadas ao MEV. Os autores relataram que essa característica pode ter ocorrido devido à evaporação dos OEs durante a secagem dos filmes ou possível aprisionamento de bolhas de ar durante a homogeneização da solução filmogênica.

A superfície do filme incorporado com OE de orégano representado pela figura 3D evidencia uma estrutura irregular, enquanto seu interior (figura 15D1) se mostra homogêneo e uniforme. A figura 15E que representa o filme incorporado com combinação dos OEs de orégano e funcho (OF) apresenta uma superfície totalmente irregular e heterogênea. Na imagem da região transversal (figura 15E1) nota-se a presença de pequenos espaços assim como nos filmes adicionados de 50% de funcho doce e 50% de glicerol. Portanto, nas comparações disposta na figura 15, a presença do glicerol ou OE de funcho doce determinou o surgimento de filme com estrutura irregular e dotada de microporos.

Correlacionando com as características mecânicas (Tabela 12), os filmes C, O, OC, CF e OCF que aqui se mostraram mais uniformes e homogêneos apresentaram maior resistência à tração quando comparados ao filme controle (acetato de celulose puro). Ou seja, quanto mais homogênea a estrutura, maior foi a resistência do material à tração. O filme OF apesar de apresentar região transversal porosa (poucos), a superfície não mostrou a mesma característica, o que também apresenta coerência com a resposta ao esforço mecânico, onde o filme se mostrou resistente. Já o filme incorporado com OE de funcho que aqui se apresentou com interior poroso (muitos poros), na análise mecânica demonstrou menor resistência à tração.

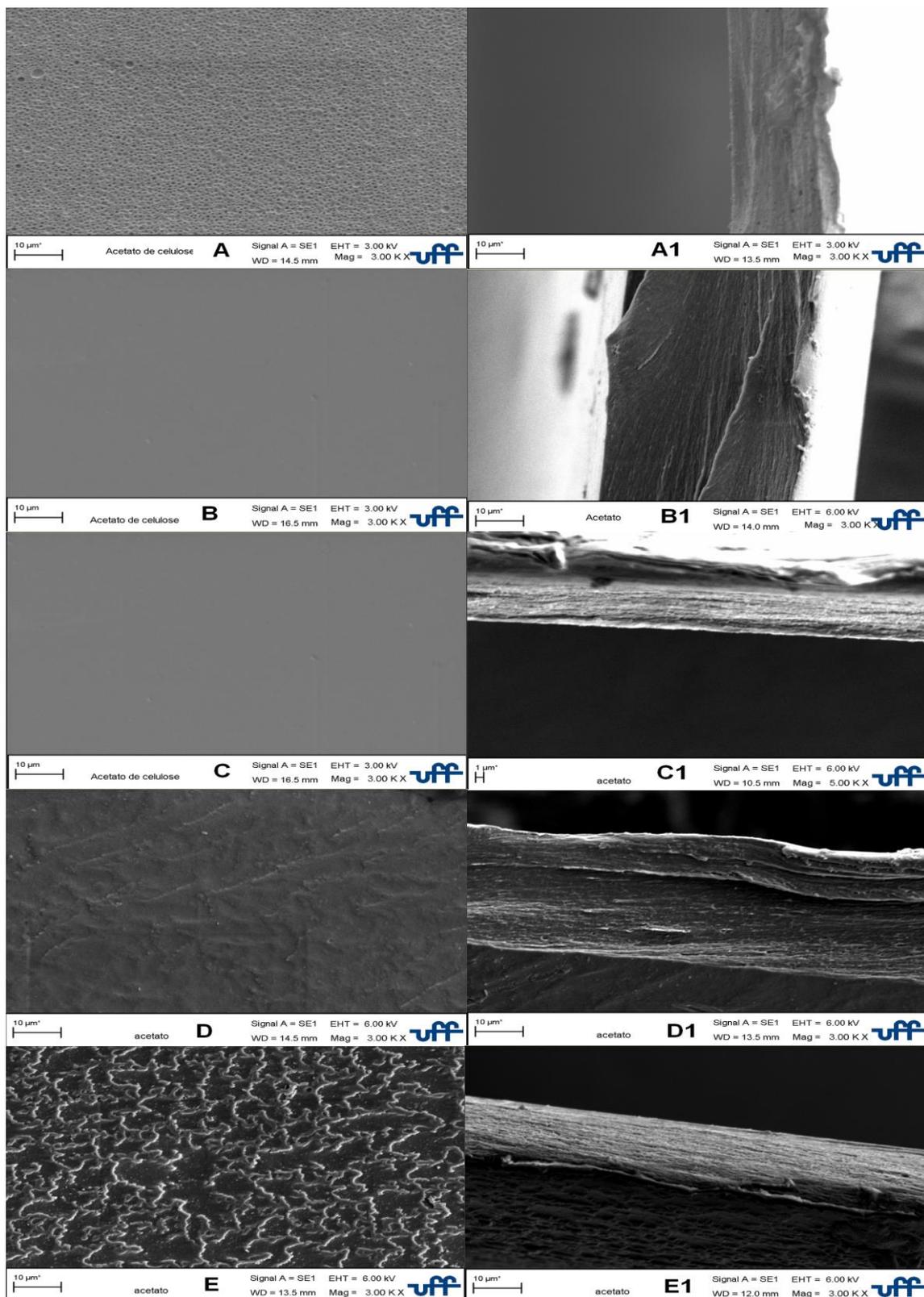


Figura 15. MEV dos filmes de acetato de celulose: (A)-filme 50% glicerol superfície e (A1)-seção transversal; (B)-filmes 50% OE de Canela superfície e (B1)-seção transversal; (C)-filme 50% funcho superfície e (C1)-seção transversal; (D)-filme 50% orégano superfície e (D1)-seção transversal; (E)-filme 50% OF superfície e (E1)-seção transversal.

As imagens dos filmes de acetato de celulose incorporados com OE de canela e adicionados de diferentes concentrações de glicerol estão dispostas na Figura 16. Nota-se que a adição de glicerol nas concentrações de 5, 10 e 30% (figuras 16B, 16C e 16E, respectivamente) modificou a superfície dos filmes. Na concentração de 5% de glicerol (figura 16B) a superfície se mostrou irregular e heterogênea. Já na concentração de 10% de glicerol (figura 16C), surgiram estruturas arredondadas na superfície do filme. Pontes (2013) encontrou estruturas semelhantes na superfície de filmes de metilcelulose incorporados com OEs no qual chamou de gotículas de OE. Dessa maneira, na concentração de 10% de glicerol, parte do OE deve não ter conseguido obter homogeneização suficiente, ficando disperso na superfície do filme.

O filme adicionado de 30% de glicerol apresentou superfície irregular com cavidades e poros de diferentes tamanhos (figura 16E). Já o filme adicionado de 20% de glicerol apresentou superfície mais compacta com pequenas depressões espalhas ao longo do material. As figuras 16B1, 16C1, 16D1 e 16E1 mostram que a adição de glicerol provocou o surgimento de pequenos poros na região interna destes filmes, sendo que os mais porosos foram os filmes adicionados de 5 e 30% de glicerol representados pelas figuras 16B1 e 16E1, respectivamente.

Na avaliação mecânica (Tabela 12), os filmes com OE de canela apresentaram redução da resistência diante da incorporação de glicerol para 5 e 10%, porém teve leve aumento na concentração de 20%, o que coincide com as imagens mostradas (figura 16), onde o filme com 20% de glicerol apresentou superfície mais homogênea e interior mais uniforme. Já na concentração de 30% de glicerol, a resistência voltou a reduzir devido a presença de estrutura de maior porosidade.

A Figura 17 representa as modificações causadas pelo glicerol adicionado em filmes de acetato de celulose incorporados com OE de orégano. As imagens mostram com a adição de glicerol (figura 17B), a superfície do filme começa a se reorganizar de maneira que as estruturas se afastam, com formação de cavidades (figuras 17C, 17D e 17E) e microporos ao final dos 30% de glicerol. As regiões transversais se apresentam porosas, sendo os mais porosos os filmes com adição de 10 e 20% de glicerol (figuras 17C1 e 17D1). Tal fato pode ter influenciado a resposta dos filmes diante do esforço mecânico (Tabela 12). Nota-se que a resistência do material em questão apresentou variações para cada concentração de glicerol coincidindo com as variações da estrutura dos filmes, as quais aparentaram crescente nível de reorganização da rede polimérica para cada imagem mostrada.

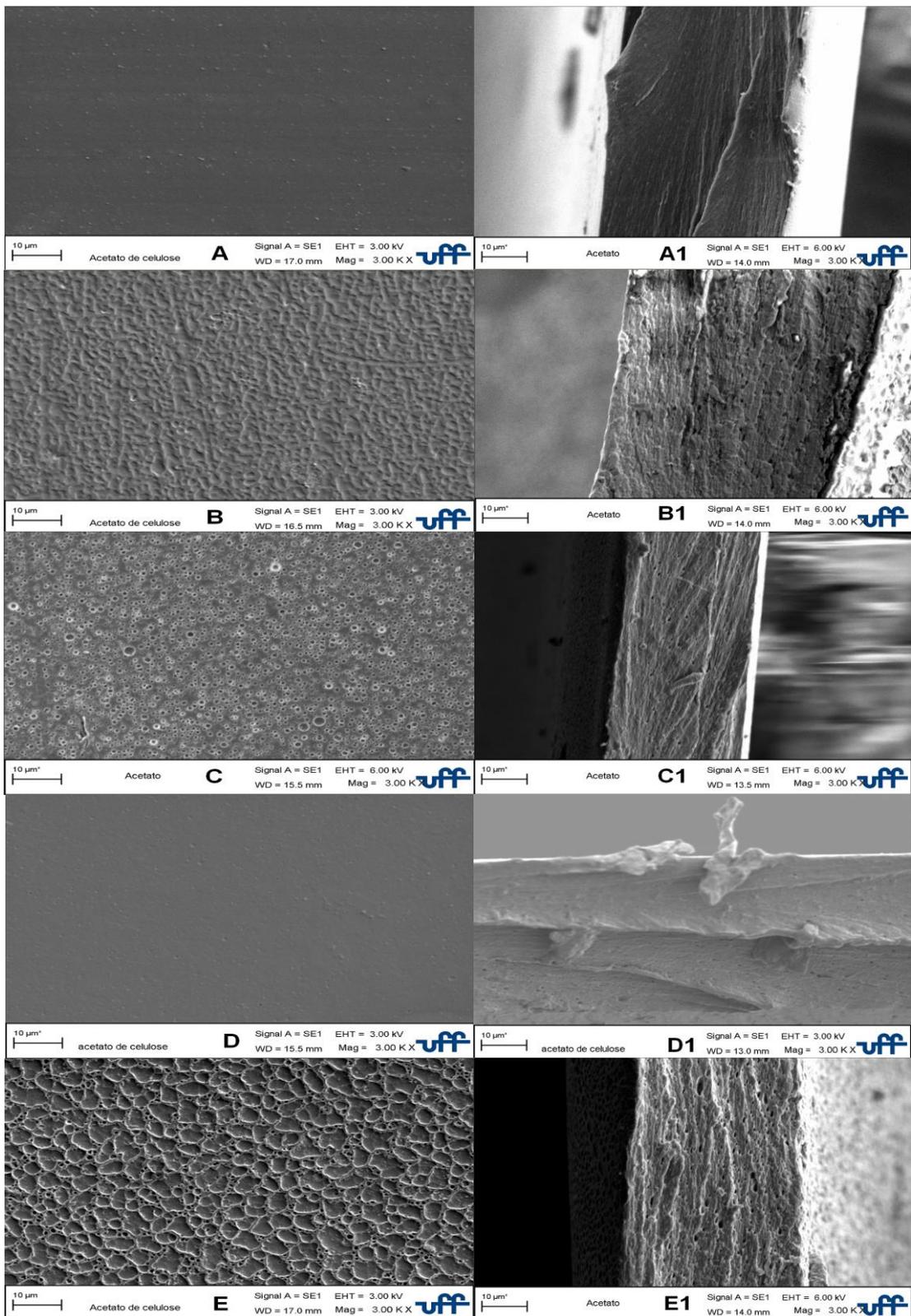


Figura 16. MEV dos filmes de acetato de celulose incorporados com óleo essencial de canela com: (A)-0% glicerol superfície e (A1)-seção transversal; (B)-5% glicerol superfície e (B1)-seção transversal; (C)-10% glicerol superfície e (C1)-seção transversal; (D)-20% glicerol superfície e (D1)-seção transversal; (E)-30% glicerol superfície e (E1)-seção transversal.

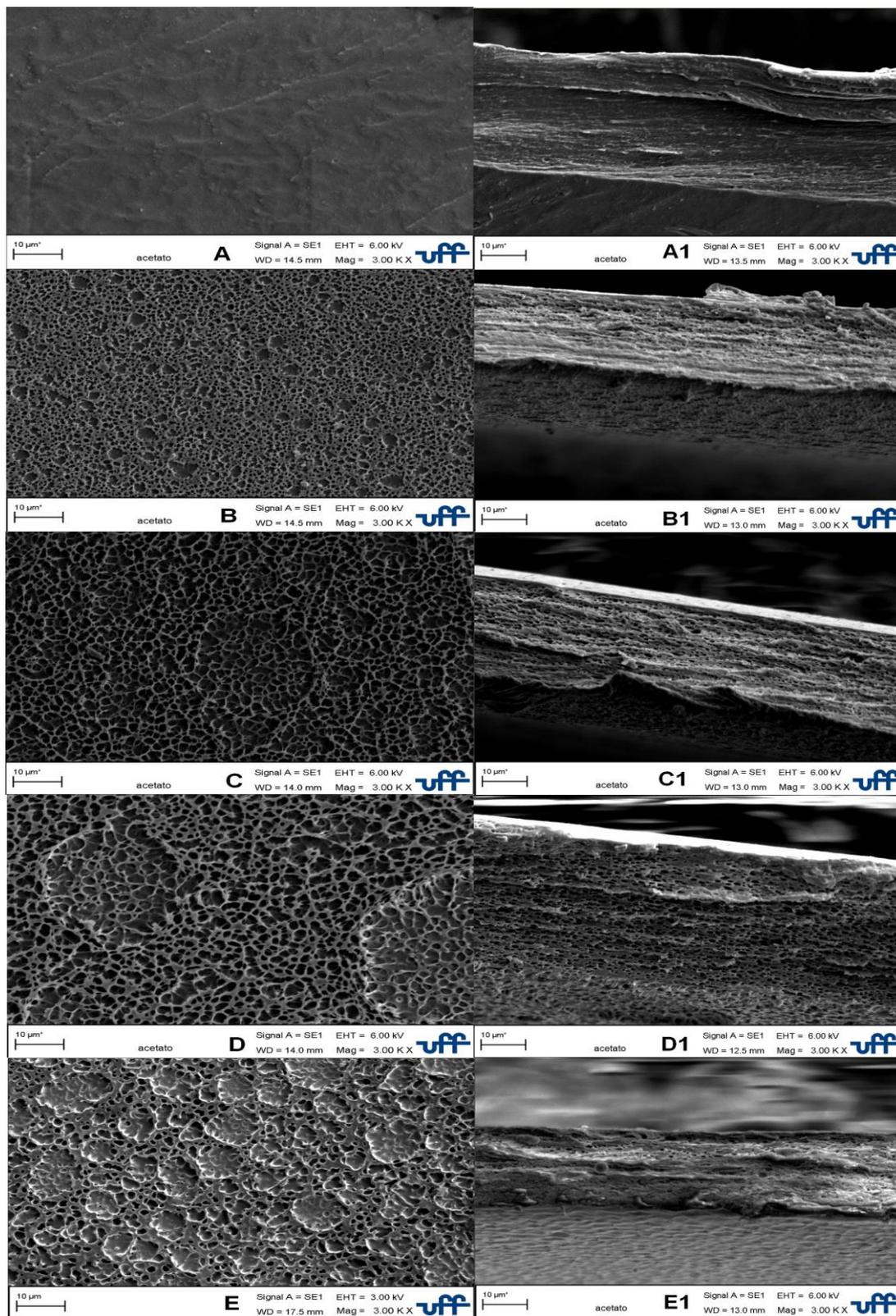


Figura 17. MEV dos filmes de acetato de celulose incorporados com óleo essencial de orégano com: (A)-0% glicerol superfície e (A1)-seção transversal; (B)-5% glicerol superfície e (B1)-seção transversal; (C)-10% glicerol superfície e (C1)-seção transversal; (D)-20% glicerol superfície e (D1)-seção transversal; (E)-30% glicerol superfície e (E1)-seção transversal.

Os efeitos da adição de glicerol aos filmes de acetato de celulose incorporados com OE de funcho doce estão dispostos na Figura 18. Nota-se que a adição de glicerol só não modificou a estrutura do filme para a concentração de 20%, sendo igual à superfície e região transversal do filme incorporado apenas com OE de funcho doce (figuras 18A e 18A1). Para região transversal, o filme adicionado de 30% de glicerol (figura 18D1) foi o único a não se apresentar poroso, evidenciando uma estrutura mais homogênea. Este comportamento foi confirmado pela resistência mecânica dos filmes, onde a partir de 10% de glicerol o filme se mostrou mais resistente (Tabela 12). A partir da concentração de 10% de glicerol, as cadeias do acetato de celulose se reorganizaram tomando nova forma a cada concentração do plastificante.

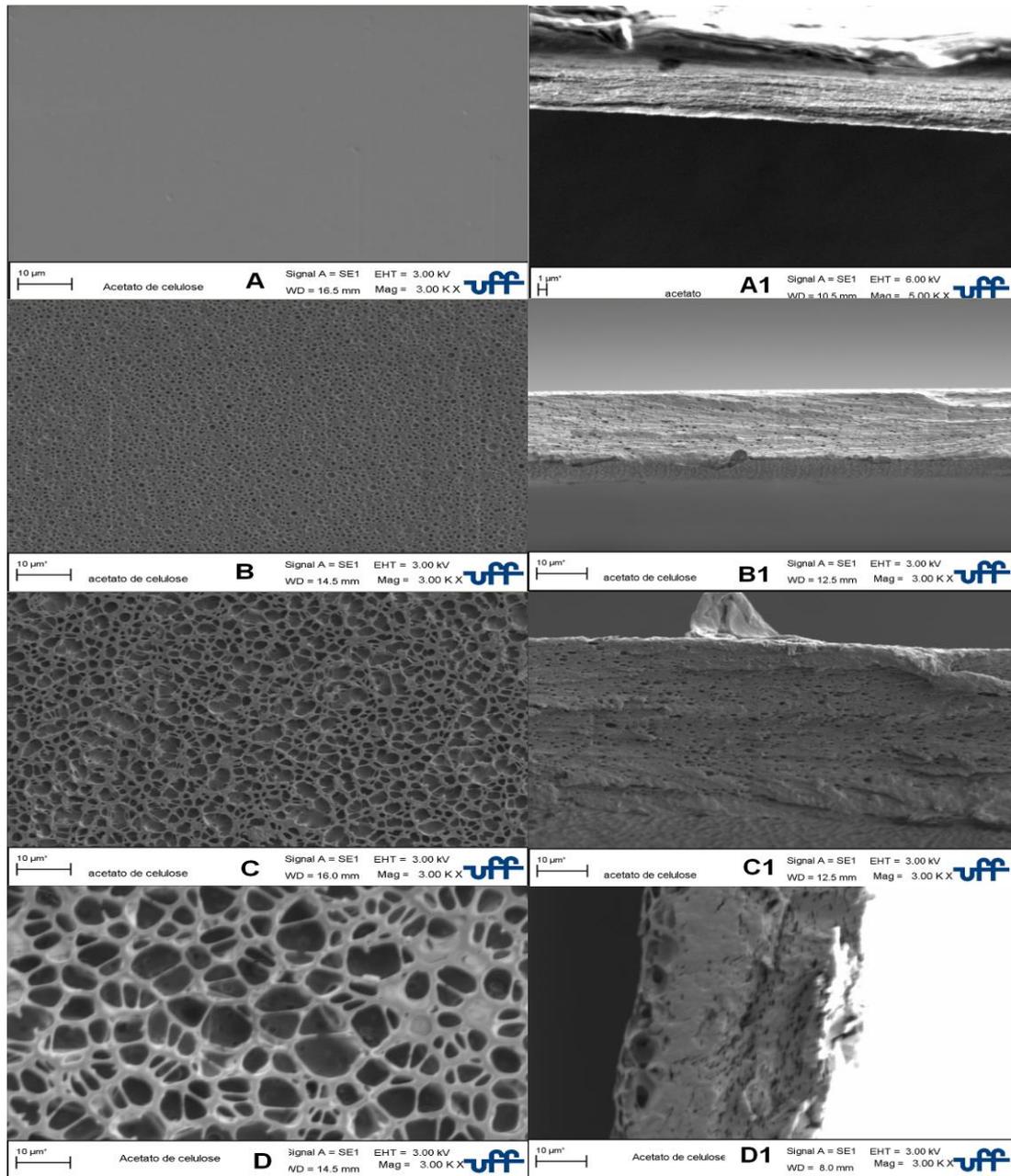


Figura 18. MEV dos filmes de acetato de celulose incorporados com óleo essencial de funcho doce com: (A)-0% glicerol superfície e (A1)-seção transversal; (B)-5% glicerol superfície e (B1)-seção transversal; (C)-10% glicerol superfície e (C1)-seção transversal; (D)-30% glicerol superfície e (D1)-seção transversal.

Para os filmes incorporados com combinação dos OEs de orégano e canela, a Figura 19 dispõe sobre as modificações causadas pela adição de diferentes concentrações de glicerol. A adição de glicerol modificou a superfície para todas as concentrações, sendo que na concentração de 10% (figura 19C) a estrutura começa a se rearranjar de maneira que, quando chega às concentrações de 20% de glicerol (figura 19D), a superfície se mostra mais homogênea com algumas depressões. Mesmo comportamento foi apresentado pelo filme com 30% de glicerol. Para as regiões transversais, nota-se que a adição de glicerol causou o aparecimento de estrutura porosa para todas as concentrações, sendo que os filmes contendo 20 e 30% de glicerol apresentaram maior quantidade de poros, o que pode justificar a menor resistência mecânica apresentada pelo filme com 30% do plastificante (Tabela 12).

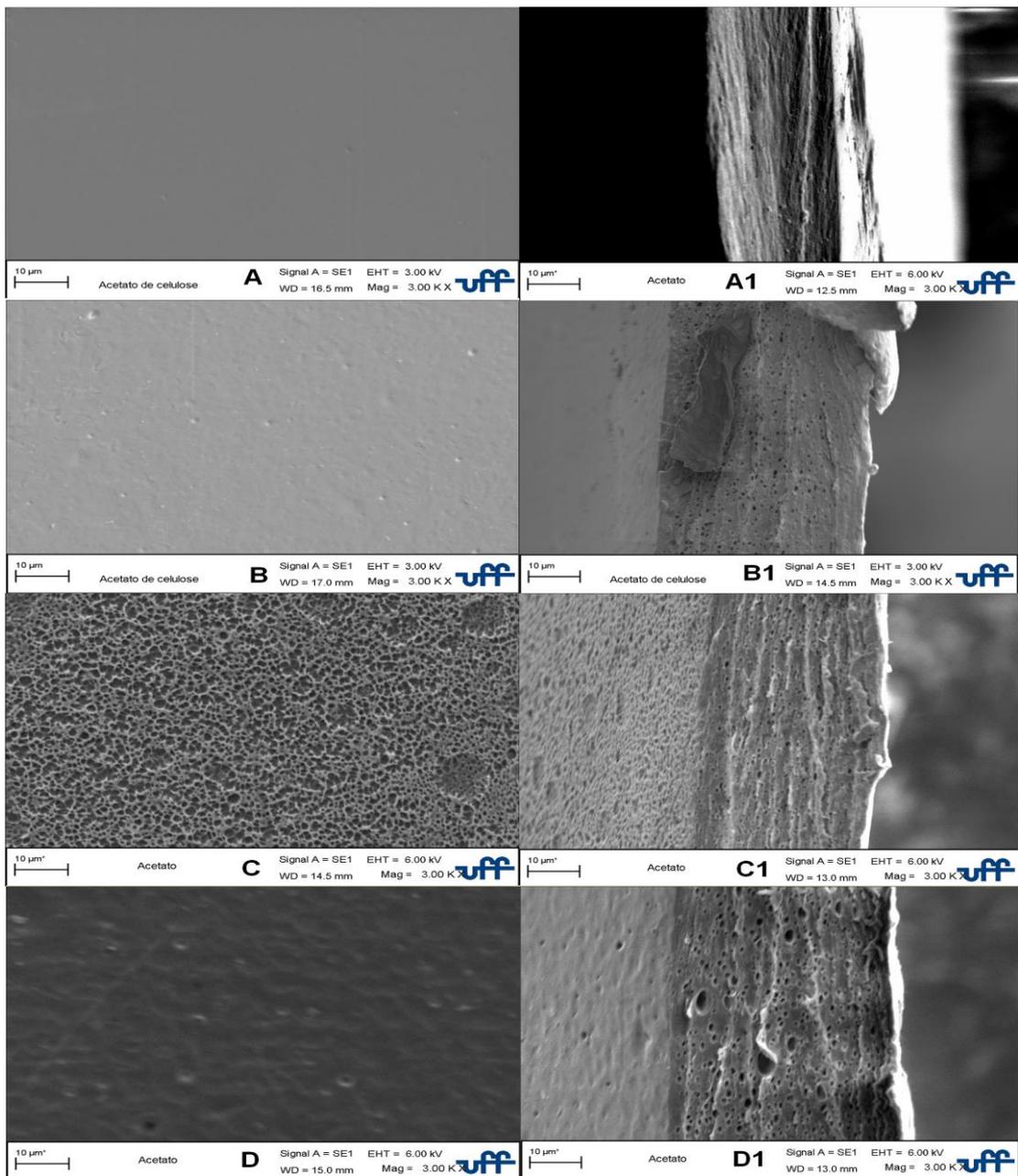


Figura 19. MEV dos filmes de acetato de celulose incorporados com combinação dos óleos essenciais de orégano mais canela com: (A)-0% glicerol superfície e (A1)-seção transversal; (B)-5% glicerol superfície e (B1)-seção transversal; (C)-10% glicerol superfície e (C1)-seção transversal; (D)-20% glicerol superfície e (D1)-seção transversal.

A Figura 20 mostra os efeitos que a adição de glicerol gerou nos filmes de acetato de celulose incorporados com combinação dos OEs de canela e funcho doce. A superfície e região transversal do filme com 10% de glicerol foram semelhantes às do filme sem glicerol (figura 20A e 20A1). Os filmes com 5 e 30% (figuras 20B e 20D) de glicerol apresentaram superfície com aspecto de rede, enquanto o filme com 20% (figura 20C) apresentou superfície mais homogênea e irregular. A exceção do filme com 10% de glicerol, todas as demais regiões transversais se mostraram porosas. Verificou-se na avaliação mecânica que dentre os filmes adicionados de glicerol, o filme com 10% do plastificante (Tabela 12) se destacou por apresentar maior resistência ao esforço mecânico aplicado.

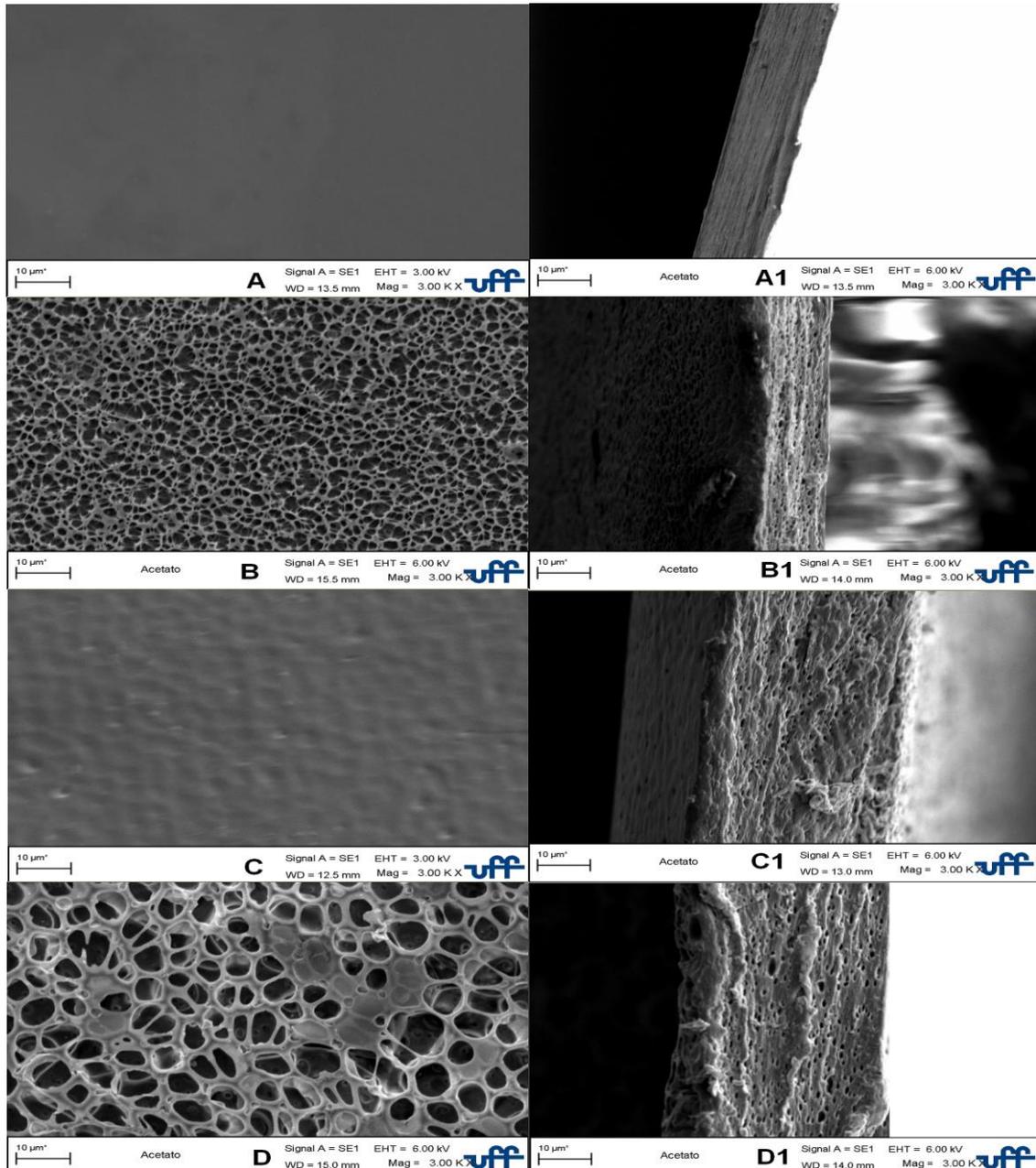


Figura 20. MEV dos filmes de acetato de celulose incorporados com combinação dos óleos essenciais de canela mais funcho com: (A)-0% glicerol superfície e (A1)-seção transversal; (B)-5% glicerol superfície e (B1)-seção transversal; (C)-20% glicerol superfície e (C1)-seção transversal; (D)-30% glicerol superfície e (D1)-seção transversal.

A adição de glicerol aos filmes incorporados com combinação de OEs de orégano e funcho doce causou modificações nas superfícies dispostas na Figura 21. Nota-se que o filme quando incorporado com 5% de glicerol (figura 21B) apresentou uma superfície mais homogênea e lisa, diferente do filme contendo somente OE (figura 21A). A superfície do filme com adição de 10% de glicerol (figura 21C) apresentou irregularidade e homogeneidade semelhante ao filme adicionado de 20% de glicerol, enquanto na concentração de 30% (figura 21D) apareceu estrutura semelhante à rede. A adição de glicerol promoveu porosidade a todos os filmes (figura 21B1, 21C1 e 21D1). O filme com 30% de glicerol apresentou a menor resistência mecânica (Tabela 12), característica que coincide com a estrutura em rede e porosa apresentada pelas figuras 21D e 21D1.

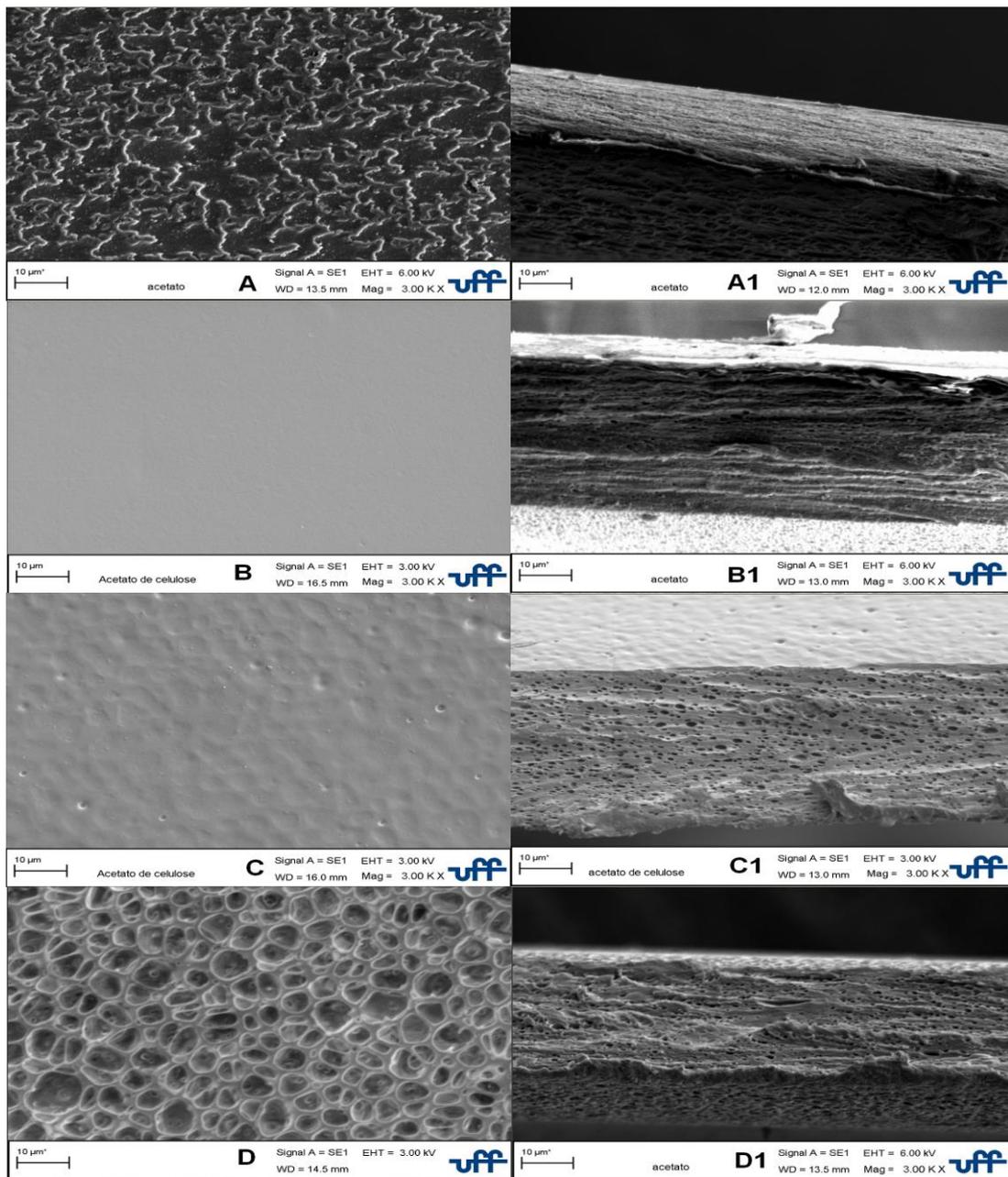


Figura 21. MEV dos filmes de acetato de celulose incorporados com combinação dos óleos essenciais de orégano mais funcho com: (A)-0% glicerol superfície e (A1)-seção transversal; (B)-5% glicerol superfície e (B1)-seção transversal; (C)-10% glicerol superfície e (C1)-seção transversal; (D)-30% glicerol superfície e (D1)-seção transversal.

A adição de 5% de glicerol (figura 22B) ao filme de acetato de celulose incorporado com combinação dos OEs de orégano, canela e funcho doce provocou o surgimento de uma superfície com aspecto de rede, como visto na Figura 22. Já na concentração de 10% de glicerol (figura 22C) nota-se a presença de estruturas circulares reticuladas ao longo da superfície do filme. Já nas concentrações de 20% de glicerol (figura 22D) a superfície se apresenta mais compacta com pequenas depressões dispersas ao longo do filme. A mesma característica foi observada para o filme adicionado de 30% de glicerol. As regiões transversais se apresentaram porosas para todas as concentrações de glicerol, o que justifica a menor resistência mecânica (Tabela 12) apresentada para todas as concentrações de glicerol quando comparadas ao filme controle (OCF0%).

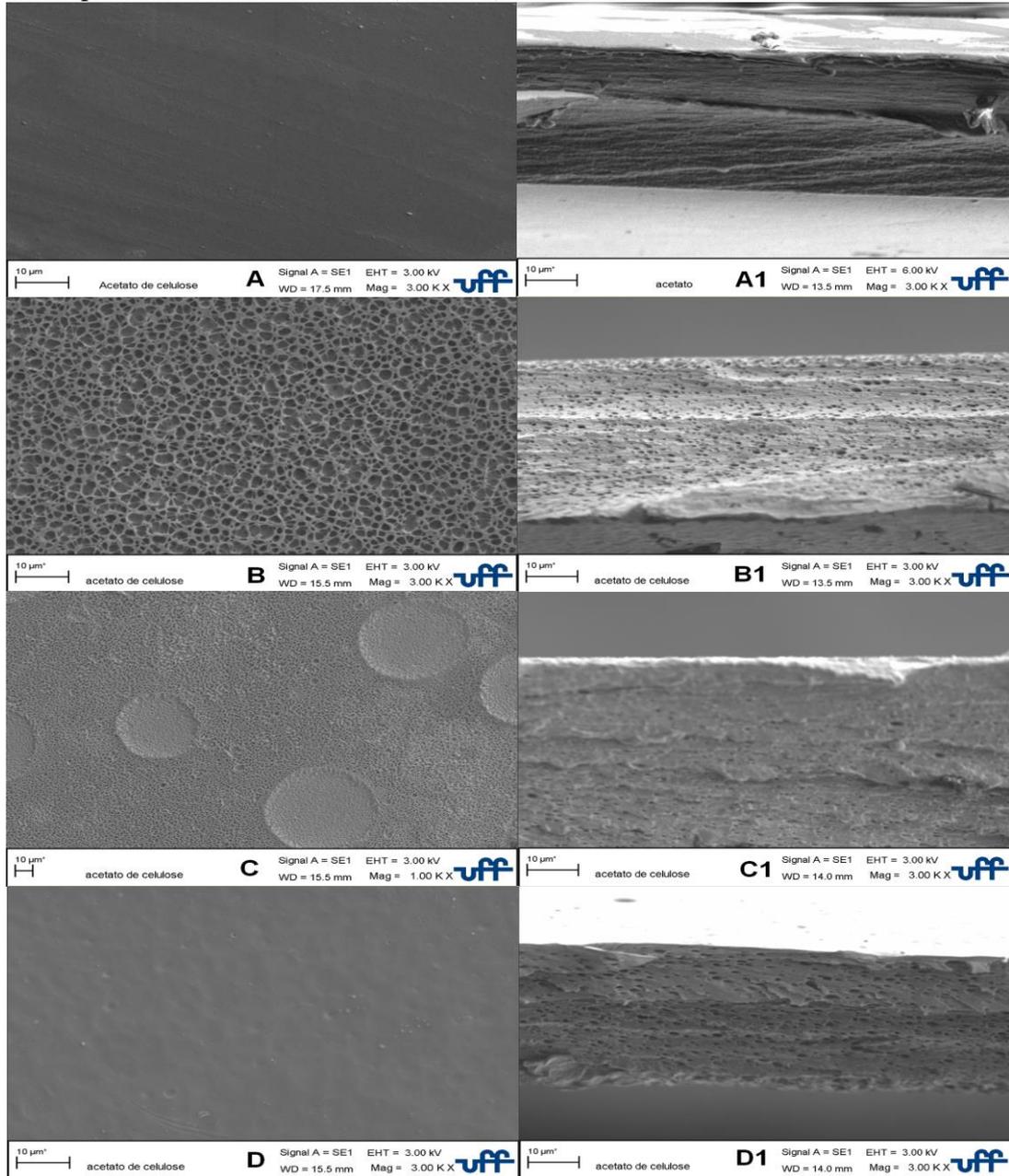


Figura 22. MEV dos filmes de acetato de celulose incorporados com combinação dos óleos essenciais de orégano + canela + funcho com: (A)-0% glicerol superfície e (A1)-seção transversal; (B)-5% glicerol superfície e (B1)-seção transversal; (C)-10% glicerol superfície e (C1)-seção transversal; (D)-20% glicerol superfície e (D1)-seção transversal.

4.6 Análise Mecânica

4.6.1 Resistência à tração (RT)

Valores médios para a análise de resistência à tração dos filmes de acetato de celulose incorporados com glicerol e/ou OE estão dispostos na Tabela 12. De acordo com os dados mostrados, os filmes incorporados apenas com OE (coluna 0%), apresentaram diferença significativa ($p < 0.05$) entre todos os tratamentos e com o filme controle. A adição dos OE causou aumento na resistência à tração da maioria dos filmes com exceção para o filme F 0%. A incorporação de OE ao filme deveria ter causado redução da resistência à tração como reportado em estudos na literatura (ESPÍLIA et al., 2009; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2009; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2011; BENAVIDES et al., 2012; TEIXEIRA et al., 2014), os quais relatam que o OE pode agir como plastificante e afetar negativamente esta propriedade mecânica. Porém, quando a quantidade de interações é baixa, a pouca mobilidade resultante pode favorecer melhor ordenação entre as cadeias poliméricas resultando em aumento da cristalinidade e conseqüente aumento da resistência mecânica. Dessa maneira, o único OE que reduziu a resistência à tração com diferença para o filme controle foi o OE de funcho doce (F).

A adição de OE ao filme provoca aumento de sua característica hidrofóbica e reduz o conteúdo de umidade, sendo que a água pode agir como plastificante. Em adição, o tipo de OE utilizado tem papel fundamental no comportamento do material polimérico, sendo que o OE de funcho doce neste trabalho se destacou como o único capaz de plastificar o filme de acetato de celulose. A natureza da matriz polimérica também deve ser considerada uma vez que a dispersão do aditivo dependerá do nível e tipo de interação entre ambos. Portanto, para este parâmetro avaliado, nota-se que a natureza do OE associado ao acetato de celulose determinou o comportamento de resistência à tração dos filmes analisados.

Tabela 12. Resistência à tração dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v).

Filme % Glic	Resistência à Tração (N)				
	0%	5%	10%	20%	30%
CT	46,739±0,77 ^{cd}	50,281±0,16 ^{aC*}	55,388±0,42 ^{aAB*}	57,535 ± 0,11 ^{aA*}	53,859 ± 0,20 ^{aB*}
C	54,416±1,27 ^{a*A}	48,137±1,48 ^{aAB}	43,405±0,20 ^{b*B*}	46,281±2,82 ^{b*AB}	41,886±0,01 ^{c*B*}
O	50,695±0,45 ^{abc*A}	43,209±0,45 ^{b*B*}	49,812±0,48 ^{c*A}	46,211±0,13 ^{b*AB*}	49,929±1,26 ^{b*A}
F	29,920±0,22 ^{d*B}	29,465±0,55 ^{d*B}	35,295±1,03 ^{de*A*}	37,055±0,10 ^{cd*A*}	37,530±0,16 ^{d*A*}
OC	54,910±1,02 ^{a*A}	49,991±0,49 ^{aB*}	38,180±0,43 ^{d*D*}	43,109±0,07 ^{bc*C*}	34,782±0,051 ^{de*E*}
CF	52,803±0,12 ^{ab*A}	36,873±0,34 ^{c*C*}	44,710±0,93 ^{c*B*}	36,858±0,02 ^{d*C*}	37,380±0,55 ^{d*C*}
OF	50,182±0,51 ^{abc*A}	49,323±0,10 ^{aA}	32,232±0,46 ^{c*BC*}	34,445±0,20 ^{d*B*}	31,602±0,78 ^{c*C*}
OCF	49,307±1,09 ^{bc*A}	44,488±0,14 ^{b*B*}	42,957±0,68 ^{c*BC*}	40,303±0,42 ^{bcd*D}	41,505±0,19 ^{c*CD*}

*Médias seguidas das mesmas letras na mesma coluna (minúsculas) e mesma linha (maiúsculas) não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. Médias seguidas de * apresentam diferença significativa do filme controle (CT 0, 5, 10, 20 e 30% (coluna) e concentrações 0% (linha)) pelo teste Dunnett's.

A comparação entre os filmes adicionados de 5% de glicerol (coluna 5%) e OE mostra que a presença dos óleos causou redução do parâmetro mecânico avaliado, com exceção para os filmes C5%, OC5% e OF5% que não apresentaram diferença significativa ($p>0.05$) do filme controle (CT5%). Para as concentrações de 10, 20 e 30% de glicerol, a incorporação de todos os OEs e combinações causaram redução significativa na resistência à tração dos filmes quando comparados aos respectivos filmes controles. Dessa maneira, a combinação dos OEs com o glicerol pode ter causado maior efeito plastificante final, levando a redução desta propriedade mecânica.

A incorporação apenas de glicerol ao filme de acetato (linha CT) causou aumento da resistência à tração, sendo os maiores valores médios para as concentrações de 10 e 20% de glicerol. Todos os tratamentos com glicerol apresentaram diferença em relação ao filme controle. A literatura relata que a presença de plastificante leva ao desarranjo da rede polimérica conferindo maior flexibilidade ao material e consequentemente redução da resistência à tração (MOORE et al., 2006; LIU et al., 2013). Porém, quando a quantidade final de plastificante no material polimérico é baixa ou alta, pode haver poucas ou interações excessivas, respectivamente, entre a rede do polímero e o plastificante modificando a flexibilidade dos filmes (REIS et al., 2014).

Os filmes incorporados com OE de canela quando adicionados de diferentes concentrações de glicerol (linha C), apresentaram diferença significativa ($p<0.05$) com aumento do parâmetro avaliado. Dessa maneira observa-se que o poder plastificante final foi maior com a combinação dos dois compostos. Para o filme incorporado com OE de orégano, apenas as concentrações de 5 e 20% de glicerol diferiram do filme controle (C0%), apresentando maior flexibilidade.

Em contradição à maioria dos tratamentos, o filme com OE de funcho (linha F), quando adicionado de glicerol acima de 10%, se mostrou menos flexível com impacto positivo sobre sua resistência à tração. Os demais tratamentos (OC, CF, OF e OCF) se comportaram com maior flexibilidade e menos resistentes a partir da adição de glicerol das diferentes concentrações.

Nota-se que o OE de funcho doce tem efeito plastificante sobre os filmes de acetato de celulose, mas quando em presença de glicerol a partir da concentração de 10% apresenta efeito contrário (sentido linha tabela 12). Diferente da molécula de glicerol polar, a estrutura química dos compostos presentes no OE de funcho não possui grupamentos hidroxilas (OH) disponíveis em sua molécula para interação com o acetato de celulose. Logo, o OE de funcho incorporado pode ter ocupado espaço entre as cadeias de acetato de celulose, porém não interagiu quimicamente, o que pode ter refletido em aumento da maleabilidade dos filmes. No entanto, a presença do glicerol ao filme de acetato de celulose pode ter causado mobilidade das cadeias poliméricas, facilitando a incorporação do OE de funcho. Dessa maneira, a maior quantidade de interações nas cadeias poliméricas decorrente da adição dos dois compostos químicos deve ter somado maior resistência final nos filmes.

De acordo com o evidenciado na Tabela 12, até a concentração de 30% de glicerol, os filmes se mostraram mais resistentes em comparação ao filme de acetato de celulose puro (CT0%). Porém, vale ressaltar que em comparação com os valores de resistência apresentados pelos filmes com 10 e 20% de glicerol, o filme com 30% já manifesta redução dos valores para o parâmetro avaliado. Porém, como observado na Tabela 13, na concentração de 50% de glicerol, os filmes adquiriram alta flexibilidade manifestando menor resistência à tração. Isso

demonstra que as concentrações de 5, 10, 20 e 30% de glicerol pode não ter sido suficiente para plastificar os filmes.

Tabela 13. Resistência à tração do filme de acetato de celulose incorporado com 50% (p/v) de glicerol (CT50%) e filmes incorporados apenas com óleos essenciais (50% p/v) de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF).

Filme	Resistência à Tração (N)
CT 50%	38,994± 0,22 ^d
C 0%	54,416±1,27 ^{ab*}
O 0%	50,695±0,45 ^{abc*}
F 0%	29,920±0,22 ^{e*}
OC 0%	54,910±1,02 ^{a*}
CF 0%	52,803±0,12 ^{abc*}
OF 0%	50,182±0,51 ^{bc*}
OCF 0%	49,307±1,09 ^{c*}

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si ($p>0,05$) pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. Médias seguidas de * apresentam diferença significativa do filme controle (CT 50%) pelo teste Dunnett's.

A Tabela 13 revela que os 50% de glicerol tiveram melhor ação plastificante sobre a maioria dos filmes que os 50% dos diferentes OEs e combinações. O filme incorporado com OE de funcho apresentou resistência menor que o filme com 50% de glicerol, o que pode ter ocorrido devido o menor caráter polar da estrutura química dos compostos do OE de funcho. Portanto, o poder plastificante do óleo essencial de funcho doce foi maior do que o glicerol neste trabalho. Nota-se que o aumento da flexibilidade dos filmes de acetato de celulose, a exceção do filme com OE de funcho doce, foi observado quando da ação do glicerol adicionado.

4.6.2 Módulo de elasticidade (Young)

Os valores médios do módulo de elasticidade indicam o grau de rigidez do filme, sendo que quanto maior o módulo maior será a rigidez do material. A Tabela 14 dispõe os resultados que evidenciam diferença significativa entre os filmes incorporados somente com OEs e filme de acetato de celulose puro (CT0%) (coluna 0%).

Nota-se que a incorporação dos OEs causou ligeiro aumento no módulo de elasticidade dos tratamentos, à exceção do filme incorporado com OE de funcho (F0%) que diferiu com o filme controle e demais tratamentos apresentando menor valor para o parâmetro avaliado. Dessa maneira, o OE de funcho doce foi o único que causou redução da rigidez do filme de acetato de celulose.

Tabela 14. Módulo de elasticidade dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v).

		Módulo de Elasticidade (Young) (Mpa)				
Filme \ %Glic	0%	5%	10%	20%	30%	
CT	4,974±0,03 ^{dE}	5,324±0,01 ^{bD*}	6,262±0,01 ^{aB*}	6,625 ± 0,02 ^{aA*}	6,052 ± 0,02 ^{aC*}	
C	5,941±0,01 ^{a*A}	5,581±0,01 ^{a*B*}	4,910±0,00 ^{bc*D*}	5,171±0,04 ^{b*C*}	4,890±0,01 ^{c*D*}	
O	6,097±0,05 ^{a*A}	4,913±0,01 ^{c*E*}	5,575±0,01 ^{abB*}	5,051±0,01 ^{b*D*}	5,409±0,01 ^{b*C*}	
F	4,385±0,01 ^{c*A}	3,677±0,06 ^{c*B*}	3,190±0,06 ^{c*C*}	4,083±0,09 ^{d*A}	4,406±0,05 ^{d*A}	
OC	5,741±0,00 ^{bc*A}	5,643±0,01 ^{a*B*}	3,687±0,01 ^{de*E*}	5,040±0,01 ^{b*C*}	4,232±0,01 ^{c*D*}	
CF	5,772±0,02 ^{bc*A}	4,249±0,00 ^{d*B*}	4,610±0,38 ^{bcd*B*}	4,643±0,02 ^{c*B*}	4,265±0,03 ^{de*B*}	
OF	5,810±0,03 ^{b*A}	5,278±0,01 ^{bA}	4,032±0,30 ^{de*B*}	4,123±0,01 ^{d*B*}	3,984±0,01 ^{f*B*}	
OCF	5,563±0,07 ^{c*A}	5,215±0,06 ^{bb*}	4,916±0,01 ^{bc*BC*}	4,620±0,01 ^{c*C*}	4,867±0,03 ^{c*C*}	

*Médias seguidas das mesmas letras na mesma coluna (minúsculas) e mesma linha (maiúsculas) não diferem entre si ($p>0,05$) pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. Médias seguidas de * apresentam diferença significativa do filme controle (CT 0, 5, 10, 20 e 30% (coluna) e concentrações 0% (linha)) pelo teste Dunnett's.

A comparação entre os filmes adicionados de 5% de glicerol e incorporados com diferentes OEs (coluna 5%) revela que a presença dos OEs de canela (C) e combinação de orégano mais canela (OC), causou aumento do módulo de elasticidade com diferença para os demais filmes e filme controle (CT5%). Os filmes incorporados com OE de orégano (O), canela mais funcho (CF) e funcho (F) apresentaram redução dos valores médios, sendo o menor valor para o filme com funcho que novamente se mostrou menos rígido. Já os filmes incorporados com as combinações OF e OCF não diferiram do filme controle, sendo os únicos a não modificarem o valor de módulo para o filme de acetato com 5% de glicerol.

Para os filmes com 10% de glicerol, a presença da maioria dos OEs, com exceção do filme O10%, causou redução dos valores para módulo de elasticidade. O destaque para o filme com menor valor foi novamente para o filme incorporado com funcho doce (F10%). Todos os tratamentos com 20 e 30% de glicerol e OEs apresentaram redução do módulo de elasticidade quando comparados ao filme controle (CT20 e CT30%) com diferença significativa ($p<0,05$) entre os tipos de filmes.

A avaliação do efeito da incorporação apenas de glicerol ao filme de acetato de celulose (linha CT) revelou que a presença do plastificante proporcionou aumento do módulo de elasticidade, sendo o maior valor observado para o filme com 20% de glicerol. Houve diferença na comparação do efeito da adição de diferentes concentrações de glicerol em todos os filmes incorporados com OEs e suas combinações (linhas). Observa-se que para os filmes C, O, OC, CF, e OCF houve redução dos valores de módulo de elasticidade para todas as concentrações de glicerol com diferença entre os tratamentos e com os filmes controle (filmes 0%). Já o filme OF só apresentou redução significativa a partir da adição de 10% de glicerol. Para o filme F, a adição de 5 e 10% de glicerol causou redução do módulo de elasticidade enquanto que as concentrações de 20 e 30% causaram ligeiro aumento dos valores sem diferença para o filme controle (F0%).

Portanto, os valores apresentados demonstram que a ação conjunta do glicerol e OEs causou redução do módulo de elasticidade para a maioria dos filmes, com exceção para o filme incorporado com OE de funcho doce que recuperou o valor de módulo apresentado pelo filme controle (F0%) quando nas concentrações de 20 e 30% de glicerol. Ou seja, estas concentrações de glicerol associadas ao OE tiveram ação antagonista, sendo que, enquanto o óleo reduz o módulo de elasticidade, o glicerol aumenta os valores tornando o material mais rígido. Dessa maneira, pode-se afirmar que para as concentrações de glicerol citadas, a ação do plastificante sobre as características de rigidez do material se sobressaiu.

A Tabela 15 dispõe sobre os valores do módulo de elasticidade para comparação do efeito da adição somente de 50% de cada composto (glicerol e óleos essenciais) sobre as propriedades de rigidez do filme de acetato de celulose. Os valores citados anteriormente (tabela 14) para os filmes contendo somente glicerol até a concentração de 30% revelam que os filmes apresentam-se mais rígidos. Porém, assim como para resistência à tração, vale ressaltar (tabela 12) que quando os filmes foram adicionados de 30% de glicerol, os valores para o módulo de elasticidade já mostram tendência a reduzir. Dessa maneira, nota-se que para a concentração de 50% de glicerol (Tabela 15) houve redução do módulo de elasticidade, ou seja, a ação plastificante foi observada apenas para esta concentração.

Tabela 15. Módulo de elasticidade do filme de acetato de celulose incorporado com 50% (p/v) de glicerol (CT50%) e filmes incorporados apenas com óleos essenciais (50% p/v) de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF).

Filme	Módulo de Elasticidade (Young) (Mpa)
CT 50%	4,856± 0,04 ^d
C 0%	5,941±0,01 ^{ab*}
O 0%	6,097±0,05 ^{a*}
F 0%	4,385±0,01 ^{e*}
OC 0%	5,741±0,00 ^{bc*}
CF 0%	5,772±0,02 ^{bc*}
OF 0%	5,810±0,03 ^{b*}
OCF 0%	5,563±0,07 ^{c*}

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si ($p>0,05$) pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. Médias seguidas de * apresentam diferença significativa do filme controle (CT 50%) pelo teste Dunnett's.

Nota-se que a maioria dos OEs causou aumento do módulo de elasticidade com diferença significativa para o filme adicionado somente de 50% de glicerol (CT50%). Ou seja, a maioria dos OEs, nessa concentração de 50%, tornou o filme mais rígido quando comparado ao filme adicionado somente de glicerol.

O filme incorporado com OE de funcho doce foi o único que apresentou redução do módulo com diferença para o filme com 50% de glicerol. Dessa maneira, estes resultados confirmam que 50% de OE de funcho doce tiveram maior efeito plastificante quando comparado aos 50% de glicerol e demais OEs sobre o filme de acetato de celulose. Os valores médios apresentados para o módulo de elasticidade são coerentes e confirmam as características apresentadas pelos filmes para resistência à tração.

4.6.3 Alongamento na ruptura

O alongamento reflete o grau de flexibilidade e extensibilidade dos filmes, ou seja, reflete o quanto o material será capaz de esticar antes da ruptura. Para este parâmetro, é observado na Tabela 16 que houve diferença ($p < 0.05$) entre a maioria dos tratamentos avaliados. O alongamento dos filmes foi afetado apenas com a incorporação dos OEs (coluna 0%) de funcho doce (F0%) e canela (C0%). Estes óleos causaram aumento no alongamento dos filmes sendo o maior valor médio para o filme com óleo de funcho doce. Dessa maneira, o OE de funcho como citado anteriormente proporcionou maior efeito plastificante tornando o material mais flexível.

Teixeira et al. (2014) relatam que filmes de proteína de peixe apresentaram aumento do alongamento na ruptura quando incorporados com OEs de orégano, cravo e alho. Bastos et al. (2016) verificaram que a incorporação dos OEs de capim limão, alecrim e manjerição causou aumento do alongamento na ruptura de filmes de acetato de celulose na concentração de 20%. Os autores relatam que os OEs agiram como plastificantes aumentando a flexibilidade dos filmes.

Tabela 16. Alongamento na ruptura dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v).

		Alongamento na Ruptura (%)				
Filme	%Glic	0%	5%	10%	20%	30%
CT		6,779±0,25 ^{cA}	8,835±0,02 ^{deA}	7,993±0,45 ^{eA}	8,153 ± 0,68 ^{eA}	9,323 ± 1,05 ^{cA}
C		15,933±0,75 ^{b*A}	17,019±0,35 ^{b*A}	17,221±0,18 ^{b*A}	15,424±1,11 ^{c*A}	15,013±0,67 ^{abc*A}
O		7,705±0,85 ^{eA}	7,076±0,66 ^{eA}	9,381±0,28 ^{deA}	10,400±0,95 ^{dA}	14,099±3,09 ^{abc*A}
F		20,349±0,75 ^{a*B}	28,645±0,79 ^{a*A*}	12,540±0,44 ^{c*C*}	20,520±0,29 ^{b*B}	9,991±0,33 ^{bcC*}
OC		7,838±0,10 ^{cC}	15,647±0,37 ^{b*B*}	13,319±0,29 ^{c*B*}	26,264±0,85 ^{a*A*}	16,363±0,88 ^{abc*B*}
CF		7,524±0,12 ^{cC}	11,555±0,09 ^{cd*A*}	8,200±0,05 ^{eBC}	12,823±0,79 ^{cd*A*}	10,373±0,66 ^{bcAB*}
OF		9,088±0,26 ^{eB}	10,544±0,72 ^{dB}	20,688±1,09 ^{a*A*}	20,248±0,13 ^{b*A*}	19,981±0,55 ^{a*A*}
OCF		8,241±0,33 ^{eE}	14,317±0,27 ^{bc*C*}	11,992±0,25 ^{cd*D*}	22,424±0,20 ^{ab*A*}	17,125±0,27 ^{ab*B*}

*Médias seguidas das mesmas letras na mesma coluna (minúsculas) e mesma linha (maiúsculas) não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. Médias seguidas de * apresentam diferença significativa do filme controle (CT 0, 5, 10, 20 e 30% (coluna) e concentrações 0% (linha)) pelo teste Dunnett's.

Avaliando o impacto gerado pela incorporação dos OEs nos filmes de acetato de celulose adicionados de 5% de glicerol (coluna 5%) observa-se que, a exceção dos filmes O5% e OF5%, a presença dos OEs causaram aumento significativo no alongamento quando comparados ao filme controle (CT5%). O filme incorporado com OE de funcho apresentou o maior valor para o parâmetro avaliado.

Para 10% de glicerol, apenas os filmes O10% e CF10% não causaram aumento no alongamento dos filmes em comparação ao filme controle. O maior valor adquirido para o parâmetro avaliado nesta concentração de glicerol foi para o filme OF10%. Os valores médios

mostram que a incorporação de OEs aos filmes de acetato com 20% de glicerol afetou o alongamento de forma positiva, sendo o filme O20% o único a não apresentar diferença do filme controle. Já para os tratamentos 30% de glicerol, os filmes F30% e CF30% não diferiram do filme controle, enquanto os demais apresentaram aumento do alongamento, sendo o maior valor para o filme OF30%.

A incorporação de diferentes concentrações de glicerol ao filme de acetato de celulose puro (linha CT) e filmes incorporados com OEs de canela (linha C) e orégano (linha O) não afetou o alongamento dos filmes avaliados. O filme incorporado com OE de funcho (linha F) apresentou aumento do alongamento quando adicionado de 5% de glicerol, o que evidencia uma maior plastificação do material. Porém, quando adicionado de 10, 20 e 30% houve tendência a reduzir os valores do alongamento, o que demonstra um material menos flexível devido à presença de maiores concentrações de glicerol. Os demais tratamentos (OC, CF, OF e OCF) apresentaram aumento do alongamento quando adicionados das diferentes concentrações de glicerol.

A Tabela 17 dispõe sobre a possível influência causada pela presença de glicerol (50%) ou OEs (50%) no alongamento na ruptura dos filmes de acetato de celulose. A adição de glicerol ou OEs de orégano (O), orégano com canela (OC), canela com funcho (CF), orégano com funcho (OF) e orégano com canela e funcho (OCF) não diferiram, ou seja, o efeito sobre o filme de acetato de celulose foi estatisticamente igual para todos os tratamentos.

Tabela 17. Alongamento na ruptura do filme de acetato de celulose incorporado com 50% (p/v) de glicerol (CT50%) e filmes incorporados apenas com óleos essenciais (50% p/v) de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF).

Filme	Alongamento na Ruptura (%)
CT 50%	6,614± 0,60 ^c
C 0%	15,933±0,75 ^{b*}
O 0%	7,705±0,85 ^c
F 0%	20,349±0,75 ^{a*}
OC 0%	7,838±0,10 ^c
CF 0%	7,524±0,12 ^c
OF 0%	9,088±0,26 ^c
OCF 0%	8,241±0,33 ^c

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si ($p>0,05$) pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. Médias seguidas de * apresentam diferença significativa do filme controle (CT 50%) pelo teste Dunnett's.

Os filmes incorporados com OEs de funcho ou canela apresentaram aumento do alongamento, representando os únicos óleos capazes de modificar os valores do parâmetro avaliado.

4.6.4 Força de perfuração

A força necessária para a ruptura na perfuração dos filmes de acetato de celulose incorporados com glicerol e/ou OEs estão dispostos na Tabela 18. A adição somente de OEs

ao filme (coluna 0%) causou redução na força necessária pra ruptura do material na perfuração, sendo o menor valor médio fornecido pelo filme OC0%.

Tabela 18. Força de ruptura na perfuração dos filmes de acetato de celulose Controle (CT), incorporados com óleos essenciais de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF) e/ou diferentes concentrações de glicerol (0, 5, 10, 20 ou 30% p/v).

Filme \ %Glic	Força de Perfuração (N)				
	0%	5%	10%	20%	30%
CT	14,690±0,09 ^{aAB}	15,610±0,26 ^{bAB}	16,505±0,38 ^{cA*}	16,110±0,43 ^{dAB}	14,480±0,27 ^{cB}
C	8,960±0,12 ^{c*D}	21,575±0,04 ^{a*C*}	26,120±0,52 ^{a*B*}	25,960±0,58 ^{a*B*}	30,510±0,15 ^{a*A*}
O	9,305±0,25 ^{c*D}	10,050±0,21 ^{d*D}	11,590±0,06 ^{d*C*}	20,470±0,03 ^{b*B*}	19,195±0,15 ^{c*A*}
F	12,950±0,19 ^{ab*C}	14,905±0,06 ^{bB*}	21,335±0,02 ^{b*A*}	21,765±0,41 ^{b*A*}	22,630±0,24 ^{b*A*}
OC	6,085±0,38 ^{d*C}	7,265±0,25 ^{c*C}	8,930±0,02 ^{e*C*}	12,050±1,00 ^{e*B*}	16,975±0,34 ^{d*A*}
CF	9,095±0,15 ^{c*B}	8,500±0,18 ^{c*B}	9,780±0,27 ^{e*B}	16,670±1,50 ^{cdA*}	18,525±0,08 ^{c*A*}
OF	11,170±0,53 ^{b*A}	10,500±0,46 ^{d*A}	10,355±0,15 ^{de*A}	10,205±0,40 ^{e*A}	10,890±0,08 ^{f*A}
OCF	12,325±0,36 ^{b*C}	12,160±0,35 ^{c*C}	17,440±0,06 ^{cA*}	13,060±0,47 ^{deC}	14,900±0,14 ^{eB*}

*Médias seguidas das mesmas letras na mesma coluna (minúsculas) e mesma linha (maiúsculas) não diferem entre si ($p>0,05$) pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. Médias seguidas de * apresentam diferença significativa do filme controle (CT 0, 5, 10, 20 e 30% (coluna) e concentrações 0% (linha)) pelo teste Dunnett's.

Os filmes adicionados de 5% de glicerol e diferentes OEs (coluna 5%) apresentaram diferença para o filme controle (CT5%), exceto para o filme com OE de funcho. O filme incorporado com OE de canela (5%) apresentou aumento da força de perfuração, enquanto os demais se mostraram menos resistentes diante da presença dos OEs.

Houve diferença entre os filmes adicionados de 10, 20 e 30% de glicerol mais OEs (coluna 10, 20 e 30%) e seus respectivos filmes controle (CT10, 20 e 30%), exceto para o filme OCF 10, 20 e 30% e CF20%. Para as três concentrações de glicerol, o filme incorporado com OE de canela (C10, 20 e 30%) se destacou por apresentar a maior força necessária para ruptura na perfuração.

A adição somente de glicerol ao filme de acetato de celulose (linha CT) só apresentou diferença apenas para o filme com 10% do plastificante, que exigiu uma maior força para seu rompimento na perfuração. Nota-se que a maioria dos filmes incorporados com OEs (linhas) tiveram sua força de perfuração aumentada diante da adição de glicerol em diferentes porcentagens. O filme OF foi o único tratamento em que a adição de glicerol não influenciou estatisticamente nos valores do parâmetro avaliado.

A Tabela 19 apresenta os dados de comparação entre os filmes incorporados com 50% de glicerol ou OEs. Dessa maneira, os valores dispostos revelam que houve diferença ($p<0,05$), sendo que todos os filmes incorporados apenas com 50% de OEs apresentaram força de perfuração menor que o filme incorporado apenas com 50% de glicerol. Portanto, o glicerol promoveu maior resistência à perfuração ao filme de acetato de celulose que os OEs.

Tabela 19. Força de ruptura na perfuração do filme de acetato de celulose incorporado com 50% (p/v) de glicerol (CT50%) e filmes incorporados apenas com óleos essenciais (50% p/v) de canela (C), Orégano (O), Funcho (F), Orégano + Canela (OC), Canela + Funcho (CF), Orégano + Funcho (OF) e Orégano + Canela + Funcho (OCF).

Filme	Força de Perfuração (N)
CT 50%	15,335± 0,19 ^a
C 0%	8,960±0,12 ^{d*}
O 0%	9,305±0,25 ^{cd*}
F 0%	12,950±0,19 ^{b*}
OC 0%	6,085±0,38 ^{e*}
CF 0%	9,095±0,15 ^{d*}
OF 0%	11,170±0,53 ^{bc*}
OCF 0%	12,325±0,36 ^{b*}

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si ($p>0,05$) pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. Médias seguidas de * apresentam diferença significativa do filme controle (CT 50%) pelo teste Dunnett's.

4.7 Atividade Antimicrobiana *in vitro*

Foi verificada diferença ($p<0,05$) para a atividade antimicrobiana *in vitro* contra as bactérias *Staphylococcus aureus* (Gram +) e *Escherichia coli* (Gram -) para os filmes ativos antimicrobianos incorporados com OEs de canela, orégano e combinações de orégano e canela (OC), canela e funcho (CF), orégano e funcho (OF), orégano, canela e funcho (OCF). O mesmo não foi observado para o filme incorporado com OE de funcho doce que não manifestou inibição para os dois micro-organismos, não estando representado na Tabela 20. Como sugerido pelas análises de MEV e FTIR, há a possibilidade de não interação entre o OE de funcho e a matriz polimérica, resultando em possível aprisionamento do OE na rede de acetato de celulose, o que pode ter impedido sua migração e possível ação contra o desenvolvimento dos micro-organismos testados. Para *S. aureus* o filme incorporado com OE de orégano apresentou maior efeito antimicrobiano seguido do filme incorporado com combinação dos óleos de orégano e canela.

O menor poder de inibição foi observado para os filmes incorporados com combinações de orégano e funcho (OF), canela e funcho (CF) e orégano com canela e funcho (OCF). Como o OE de funcho doce não apresentou atividade antimicrobiana quando incorporado individualmente, a presença deste nas demais combinações pode ter influenciado negativamente na ação dos demais OEs. Estudos realizados com a utilização direta do OE de funcho doce contra *S. aureus* comprovam sua atividade antimicrobiana (ROBY et al., 2013; SENATORE et al., 2013). Dessa maneira, pode-se inferir que a incorporação do OE de funcho doce ao filme de acetato de celulose deve ter impedido sua liberação ou a quantidade liberada não foi suficiente para promover a inibição frente à concentração microbiana utilizada.

Tabela 20. Valores médios dos halos de inibição para os filmes incorporados com óleos essenciais de: orégano, canela, orégano e canela (OC), orégano e funcho doce (OF), canela e funcho (CF) e orégano, canela e funcho doce (OCF) contra *S. aureus* e *E. coli in vitro*.

Atividade antimicrobiana (halo de inibição - cm)		
Filmes	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Orégano	0,762 ± 0.06 ^a	0.373 ± 0.01 ^b
Canela	0,546 ± 0.04 ^b	0,583 ± 0.02 ^a
OC	0,652 ± 0.05 ^{ab}	0.550 ± 0.02 ^a
OF	0,337 ± 0,04 ^c	0,200 ± 0.00 ^c
CF	0,200 ± 0,00 ^c	0.378 ± 0.01 ^b
OCF	0,214 ± 0,01 ^c	0.200 ± 0.00 ^c

*Médias seguidas de mesmas letras na mesma coluna não diferem entre si (p>0.05) pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância.

Para *E. coli*, os filmes incorporados com OE de canela ou combinação de orégano e canela (OC) apresentaram os maiores efeitos antimicrobianos, enquanto os menos efetivos foram os filmes incorporados com combinação de OE de orégano e funcho (OF) ou orégano, canela e funcho doce (OCF). Lopes et al. (2014) avaliaram a eficiência antimicrobiana de aldeído cinâmico incorporado em filme de base celulósica contra *S. aureus* e *E. coli* e verificaram redução do crescimento de *S. aureus* nas concentrações de 5, 10 e 20% (p/v) do agente antimicrobiano. No entanto, para *E. coli* os filmes não apresentaram atividade antimicrobiana, evidenciando apenas diferenciação na concentração das colônias.

Diferentes efeitos antimicrobianos são relatados para os OEs, o que pode estar associado à composição química de cada composto. Além disso, a estirpe microbiana também deve ser considerada. Estudos relatam que os micro-organismos gram-positivos são mais sensíveis aos OEs que os gram-negativos. Segundo os autores, isso se deve ao fato de os micro-organismos gram-negativos possuírem parede celular com membrana externa que dificulta a penetração de OEs (BURT, 2004; GUTIÉRREZ et al., 2009; LEE e WON, 2015). Este aspecto foi observado para o filme ativo antimicrobiano incorporado com OE de orégano que foi mais efetivo contra o desenvolvimento de *S. aureus* (gram +) do que para *E. coli* (gram -). Porém, o filme ativo antimicrobiano incorporado com OE de canela não apresentou diferença de efetividade entre as diferentes bactérias.

A Tabela 21 evidencia as possíveis conseqüências da adição de glicerol sobre a ação dos filmes ativos antimicrobianos incorporados com OEs contra o desenvolvimento de *S. aureus* e *E. coli*. Foram analisadas apenas os filmes com as concentrações, mínima e máxima (5 e 30%,) de glicerol utilizadas neste estudo.

Para o filme incorporado com OEs de orégano, o maior efeito antimicrobiano contra *S. aureus* foi apresentado pelo filme adicionado de 5% de glicerol, que diferiu dos demais tratamentos. Portanto, a adição de 5% de glicerol melhorou a ação antimicrobiana do OE, enquanto que a concentração de 30% de glicerol não diferiu do filme controle (orégano 0%).

A análise mecânica e imagens da microscopia eletrônica de varredura (MEV) evidenciam o maior efeito plastificante para os filmes adicionados com 5% de glicerol. Portanto, a rede polimérica hidrofílica deve ter permitido maior saída dos OEs hidrofóbicos

través da estrutura porosa apresentada pelas imagens fornecidas pela MEV. Já na concentração de 30% de glicerol, os filmes ativos antimicrobianos se mostraram com superfície mais compacta, o que pode ter influenciado na quantidade de OE migrado.

Para *E. coli*, a adição de glicerol melhorou a ação antimicrobiana do OE e consequentemente favoreceu o aumento do efeito inibitório para as concentrações de 5 e 30% de glicerol, não diferindo entre si. Porém, nota-se que para a concentração de 30% de glicerol, há uma redução numérica do efeito antimicrobiano, o que pode estar relacionado com a estrutura mais compacta apresentada pelo filme antimicrobiano quando analisado ao microscópio eletrônico de varredura.

Tabela 21. Atividade antimicrobiana dos filmes de acetato de celulose incorporados com óleo essencial de orégano, canela, orégano e canela (OC), orégano e funcho (OF), canela e funcho (CF) e orégano, canela e funcho (OCF) adicionados de 0, 5 e 30% de glicerol, sendo 0% o controle.

Atividade antimicrobiana (halo de inibição - cm)				
Micro-organismos	Filme/% glicerol	Orégano 0%	Orégano 5%	Orégano 30%
<i>Staphylococcus aureus</i>		0.762 ± 0.06 ^b	1.090 ± 0.07 ^{a*}	0.789 ± 0.02 ^b
<i>Escherichia coli</i>		0.373 ± 0.01 ^b	0.453 ^a ± 0.02 ^{a*}	0.427 ± 0.02 ^{a*}
		Canela 0%	Canela 5%	Canela 30%
<i>Staphylococcus aureus</i>		0.546 ± 0.04 ^b	0.491 ± 0.04 ^b	1.131 ± 0.03 ^{a*}
<i>Escherichia coli</i>		0.583 ± 0.02 ^b	0.707 ± 0.01 ^{a*}	0.753 ± 0.01 ^{a*}
		OC 0%	OC 5%	OC 30%
<i>Staphylococcus aureus</i>		0.652 ± 0.05 ^a	0.740 ± 0.02 ^a	0.678 ± 0.03 ^a
<i>Escherichia coli</i>		0.550 ± 0.02 ^a	0.433 ± 0.02 ^{b*}	0.421 ± 0.01 ^{b*}
		OF 0%	OF 5%	OF 30%
<i>Staphylococcus aureus</i>		0.337 ± 0.04 ^a	0.256 ± 0.03 ^a	0.290 ± 0.01 ^a
<i>Escherichia coli</i>		0.220 ± 0.02 ^a	0.203 ± 0.03 ^a	0.203 ± 0.03 ^a
		CF 0%	CF 5%	CF 30%
<i>Staphylococcus aureus</i>		0.200 ± 0.02 ^a	0.203 ± 0.03 ^a	0.203 ± 0.03 ^a
<i>Escherichia coli</i>		0.378 ± 0.01 ^a	0.324 ± 0.02 ^a	0.259 ± 0.00 ^{b*}
		OCF 0%	OCF 5%	OCF 30%
<i>Staphylococcus aureus</i>		0.214 ± 0.01 ^a	0.375 ± 0.01 ^a	0.314 ± 0.07 ^a
<i>Escherichia coli</i>		0.200 ± 0.02 ^a	0.203 ± 0.03 ^a	0.203 ± 0.03 ^a

*Médias seguidas de mesmas letras na mesma linha não diferem entre si ($p > 0.05$) pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância. Médias seguidas de * diferem do filme controle (0%) pelo teste Dunnett.

A adição de glicerol ao filme incorporado com OE de canela favoreceu aumento do efeito antimicrobiano na concentração de 30% para *S. aureus* e nas concentrações de 5 e 30% para *E. coli*. Nas imagens fornecidas pela MEV referentes a estes filmes observa-se a presença de poros, que pode ter facilitado maior migração do OE da matriz polimérica para o meio contendo os micro-organismos.

O filme incorporado com combinação de OE de orégano e canela não apresentou diferença ($p > 0.05$) para a inibição de *S. aureus* após a adição de glicerol. Já para *E. coli*, a adição do plastificante favoreceu menor ação antimicrobiana para todas as concentrações.

A presença do glicerol nos filmes incorporados com combinações de OEs de orégano e funcho (OF) ou orégano, canela e funcho (OCF) não modificou a ação inibitória apresentada pelos respectivos filmes controle. Já o filme incorporado com combinação de OE de canela e funcho só apresentou diferença para *E. coli*, sendo observado redução da atividade antibacteriana na concentração de 30% de glicerol. Como citado anteriormente, a presença do OE de funcho doce nas combinações com os demais OEs teve efeito negativo sobre a atividade antimicrobiana dos filmes ativos, não melhorando esse aspecto sob a presença de rede polimérica mais porosa quando da adição do plastificante.

Dentre os filmes ativos antimicrobianos analisados nota-se que a adição do plastificante causou mudanças positivas na inibição do desenvolvimento microbiano apenas para os filmes incorporados com os óleos essenciais individualmente. Dessa maneira, a presença do glicerol como mostrado nas imagens da análise ao MEV causou modificações na matriz polimérica permitindo variações de migração dos OEs para o meio contendo os microorganismos. Porém, nos filmes incorporados com as combinações dos OEs este aspecto não foi observado. Portanto, podem ter ocorrido interações entre os OEs e o glicerol, dificultando ou mantendo o mesmo nível de liberação dos agentes antimicrobianos para o meio de cultura.

5 CONCLUSÃO

A adição de OEs e/ou glicerol aos filmes de acetato de celulose modificou a maioria de suas propriedades funcionais. A espessura dos filmes apresentou aumento diante da adição somente de glicerol ou quando o plastificante foi adicionado aos filmes contendo OEs. Já os filmes incorporados somente com OE não apresentaram alterações para espessura.

O filme de AC puro (filme controle 0%) já se apresentou com pouca transparência. A incorporação somente de OEs e combinações não alterou estatisticamente este parâmetro, tendo todos os filmes evidenciado valores altos em absorbância, o que traduz-se em pouca transparência, pois quanto maior a quantidade de luz absorvida menor foi a transparência do material.

A luminosidade (L^*) foi semelhante para a maioria dos filmes, sendo que todos os filmes avaliados se mostraram claros. O parâmetro a^* que representa a variação de cor do vermelho ao verde, foi afetado por todos os aditivos. O OEs quando adicionados sem glicerol aos filmes, favoreceu o surgimento de coloração verde para a maioria dos óleos, exceto para o filme incorporado com OE de orégano e funcho doce (OF) que apresentou coloração vermelha, assim como os filmes incorporados somente com glicerol. A presença do glicerol nos filmes incorporados com OEs causou a mudança da cor verde para vermelha em todos os tratamentos. Os filmes avaliados para o parâmetro b^* (representa a variação de cor do amarelo ao azul) se mostraram com cor amarela apresentando mudanças de intensidades de acordo com o OE utilizado e/ou presença de glicerol.

A taxa de transmissão ao vapor de água (TTVA) foi reduzida quando da incorporação somente de OEs. Isso pode ser explicado através das imagens fornecidas pela MEV, onde as superfícies dos filmes se mostraram mais compactas ou com presenças de poucas estruturas em forma de poros, que não foram suficientes para modificar este parâmetro. Dessa maneira, a adição de OEs melhorou as propriedades de barreira à umidade dos filmes de acetato de celulose. A maioria dos filmes incorporados com OEs não foi afetada pela adição de glicerol. Isso significa que mesmo com a adição do plastificante, os filmes se mostraram com alta hidrofobicidade garantindo melhor barreira ao vapor de água.

As propriedades mecânicas para resistência à tração, módulo de elasticidade e alongamento na ruptura foram afetadas por ambos os aditivos e coerentes com as imagens mostradas no MEV. A incorporação somente de OEs causou aumento da rigidez do material para a maioria dos filmes, exceto o filme incorporado com OE de funcho doce que apresentou menor rigidez. A adição somente de glicerol só alcançou a plastificação esperada na concentração de 50% (p/v) causando redução da rigidez dos filmes avaliados. Os filmes incorporados com OEs tiveram sua rigidez reduzida quando adicionados de glicerol. As imagens do MEV juntamente com os valores médios da avaliação mecânica sugerem que 50% de OE de funcho doce teve maior efeito plastificante sobre os filmes de AC do que os 50% de glicerol (mesma concentração de diferentes aditivos).

A menor rigidez do filme incorporado com OE de funcho pode estar associada a sua não interação química com acetato de celulose, no qual o OE pode ter ocupado espaço entre a rede de acetato de celulose como observado na MEV, aumentando assim a distância entre as cadeias poliméricas, e conseqüentemente reduzindo a rigidez do material. A força de perfuração foi aumentada para a maioria dos filmes quando adicionados de OEs e/ou glicerol.

As imagens do MEV evidenciam que a incorporação apenas de OEs aos filmes favoreceu o aparecimento de estrutura mais homogênea semelhante ao filme controle (acetato de celulose puro). O filme incorporado com OE de funcho apresentou estrutura diferenciada com presença de poros na região transversal, o que pode estar associada ao possível aprisionamento do OE entre as cadeias do acetato de celulose formando espécies de “bolsões”, já que tal OE demonstrou não ter tido interação química com a base polimérica. A adição somente de glicerol causou o aparecimento de poros, sendo mais evidenciada na superfície e região transversal na concentração de 50% (p/v). A adição do plastificante aos filmes contendo OEs favoreceu o aparecimento de estrutura porosa na maioria dos filmes, o que justifica o reflexo negativo nas propriedades mecânicas avaliadas.

Os espectros de FTIR indicaram que houve interação entre a matriz polimérica e os aditivos incorporados. O filme incorporado apenas com OE de funcho doce mostrou espectro semelhante ao espectro fornecido pelo filme de acetato de celulose adicionado apenas de 30% (p/v) de glicerol. As bandas que caracterizaram esta semelhança podem estar associadas à propriedade plastificante de ambas as substâncias.

Quanto à atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* (Gram +) e *Escherichia coli* (Gram -), a maioria dos filmes apresentaram-se eficientes. Somente o filme incorporado com OE de funcho doce não apresentou inibição para as bactérias avaliadas. Isso pode ter ocorrido devido ao fato do possível aprisionamento do OE de Funcho na rede de acetato de celulose, como sugerido pelas análises FTIR e MEV. Logo, sem a possibilidade de liberação da matriz polimérica, o OE de funcho, pode não ter migrado para o meio contendo os microrganismos. A adição de glicerol afetou positivamente a ação antibacteriana dos filmes de orégano ou canela para ambos os micro-organismos testados, porém esse aspecto foi observado para o filme incorporado com OE de orégano e canela apenas para o *S. aureus*. Os demais filmes incorporados com combinações de OE com a presença do óleo de funcho doce (OF, CF e OCF) não tiveram sua efetividade modificada diante da presença do glicerol.

Portanto, a maioria dos filmes elaborados com incorporação somente de OEs apresentou boa barreira à umidade, resistentes, luminosos, pouco transparentes e eficientes contra o desenvolvimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Dessa maneira, os filmes desenvolvidos, a exceção do tratamento com OE de funcho, uma vez que demonstraram atividade antimicrobiana, podem ser utilizados para conservação de alimentos.

Notou-se que as alterações provocadas pelo glicerol na matriz polimérica para a maioria dos parâmetros avaliados foram mais evidentes quando associados aos OEs do que quando adicionado individualmente ao filme de acetato de celulose. Portanto, além de fornecer maior flexibilidade aos filmes de acetato de celulose incorporados com OEs, a utilização do glicerol mostrou que pode potencializar o efeito antimicrobiano para os filmes com OE de orégano ou canela ou orégano e canela.

O trabalho conduzido, portanto, permite concluir que a aditivação dos filmes de acetato de celulose com OEs e/ou glicerol causou alterações na matriz polimérica sendo refletida pela maioria dos parâmetros avaliados. Observou-se também que dependendo da análise conduzida, a natureza química hidrofílica ou hidrofóbica do plastificante e OEs, respectivamente, se mostraram mais evidentes. A caracterização dos filmes também demonstrou que dependendo do OE utilizado, a interação com o plastificante forneceu repostas diferentes para os filmes analisados. Isso reafirma que a estrutura química dos

diferentes aditivos e da matriz polimérica é de fundamental importância para definir as propriedades funcionais dos materiais.

Por conseguinte, os filmes incorporados somente com OEs são particularmente adequados para embalar alimentos que requerem maior proteção contra forças mecânicas, menores trocas de umidade, sensíveis à luz e susceptíveis ao desenvolvimento de determinadas bactérias. Por outro lado, os filmes adicionados de OEs e glicerol são mais indicados para embalar alimentos que necessitam de menor proteção às ações externas, predispostos ao desenvolvimento das bactérias testadas, sensíveis à luz e eu requerem maiores trocas de vapores de água.

Diante do descrito pode-se dizer que os materiais poliméricos aditivados visando uma aplicação específica sofrem alterações em decorrência da presença dos aditivos, alterações tais que podem ser tanto de melhorias das propriedades físico-químicas quanto de apelo visual. Sendo assim, os materiais tradicionais que sofrem alterações na sua composição ou materiais que estão em desenvolvimento necessitam ser caracterizadas permitindo melhor definição de sua aplicabilidade.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEYKOON, C.; MARTIN, P.J.; KELLY, A.L.; BROWN, E.C. A review and evaluation of melt temperature sensors for polymer extrusion. **Sensors and Actuators A**, v.182, p.16-27, 2012.
- ANDRADE-MOLINA, T.P.C; SHIRAI, M.A.; GROSSMANN, M.V.E.; YAMASHITA, F. Active biodegradable packaging for fresh pasta. **LWT - Food Science and Technology**, v.54, p.25-29, 2013.
- ARANCIBIA, M.; GIMÉNEZ, B.; LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; GÓMEZ-GUILLÉN, M.C.; MONTERO, P. Release of cinnamon essential oil from polysaccharide bilayer films and its use for microbial growth inhibition in chilled shrimps. **LWT - Food Science and Technology**, v.59, p.989-995, 2014.
- AZEREDO, H.M.C. **Fundamentos de estabilidade de alimentos**. 2^a ed. rev. e ampl. Brasília, DF-Embrapa, 2012.
- ATARÈS, L.; JÉSUS, C.D.E.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Characterization of SPI-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. **Journal Food Engineering**, v.99, p.384-391, 2010.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p.446-475, 2008.
- BANG, G.; KIM, S.W. Biodegradable poly (lactic acid)-based hybrid coating materials for food packaging films with gas barrier properties. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v.18, p.1063-1068, 2012.
- BAO, C.Y.; LONG, D.R.; VERGELATI, C. Miscibility and dynamical properties of cellulose acetate/plasticizer systems. **Carbohydrate Polymers**, 2014.
- BARBOSA-PEREIRA, L.; AURREKOETXEA, G.P.; ANGULO, I.; PASEIRO-LOSADA, P.; CRUZ, J.M. Development of new active packaging films coated with natural phenolic compounds to improve the oxidative stability of beef. **Meat Science**, v.97, p. 249-254, 2014.
- BASTOS, M.S.R.; LAURENTINO, L.S.; CANUTO, K.M.; MENDES, L.G.; MARTINS, C.M.; SILVA, S.M.F.; FURTADO, R.F.; KIM, S.; BISWAS, A.; CHENG, H.N. Physical and mechanical testing of essential oil-embedded cellulose ester films. **Polymer Testing**, v.49, p.156-161, 2016.
- BENAVIDES, S.; VILLALOBOS-CARVAJAL, R.; REYES, J.E. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. **Journal of Food Engineering**, v.110, p.232-239, 2012.
- BRAGA, D.F.O., SILVA, A.C.F., MOREIRA, P.M.G.P. Mechanical properties. **Woodhead Publishing**, p.141–197, 2014.

BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 17, de 17 de março de 2008. Dispõe sobre Regulamento Técnico sobre lista positiva de aditivos para materiais plásticos destinados à elaboração de embalagens e equipamentos em contato com alimentos. **Diário Oficial da União**; Poder Executivo, de 18 de março de 2008.

BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 105, de 19 de maio de 1999. Aprova os Regulamentos Técnicos: Disposições gerais para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos. **Diário Oficial da União**; Poder Executivo, de 20 de maio de 1999.

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

CANEVALORO JR, S.V. **Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. 2ª edição. São Paulo, SP. Artliber Editora, 2006.

CANEVALORO JR, S.V. **Técnicas de caracterização de polímeros**. 1ª edição. São Paulo, SP. Artliber Editora, 2004.

CARRASQUERO, F.L. **Fundamentos de polímeros**. VI Escuela Venezolana para la Enseñanza de la Química, Mérida, Edición: 2004.

CARVALHO, L. M., OLIVEIRA, I. R., CARNELOSSI, M. A. G., NUNES, R. S. Caracterização da produtividade do funcho (*Foeniculum vulgare* Mill.) no sertão de Sergipe. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 527-532, 2011.

CERQUEIRA, D.A.; RODRIGUES FILHO, G.; CARVALHO, R.A.; VALENTE, A.J.M. Caracterização de acetato de celulose obtido a partir do bagaço de cana-de-açúcar por 1H-RMN. **Polímeros**, São Carlos, v.20, p.85-91, 2010.

COLTRO, L.; BURATIN, A.E.EP. Garrafas de PET para Óleo Comestível - Avaliação da Barreira à Luz. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.14 (3), p. 206-211, 2004.

CORRADINI, C.; ALFIERI, I.; CAVAZZA, A.; LANTANO, C.; LORENZI, A.; ZUCCHETTO, N.; MONTENERO, A. Antimicrobial films containing lysozyme for active packaging obtained by sol-gel technique. **Journal of Food Engineering**, v.119, p. 580-587, 2013.

CORRALES, M.; FERNÁNDEZ, A.; HAN, J.H. Antimicrobial Packaging Systems. In: CORRALES, M.; FERNÁNDEZ, A.; HAN, J.H. **Innovations in Food Packaging** (Second Edition). Baltimore, Elsevier Science & Technology Books. p.133-170, 2014.

CRIPPA, A., SYDENSTRICKER, T. H. D., AMICO, S. C. Desempenho de Filmes Multicamadas em Embalagens Termoformadas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.17 (3), pp.188-193, 2007.

CRUZ-ROMERO, M.C.; MURPHY, T.; MORRIS, M.; CUMMINS, E.; KERRY, J.P. Antimicrobial activity of chitosan, organic acids and nano-sized solubilisates for potential use in smart antimicrobially-active packaging for potential food applications. **Food Control**, v.34, p.393-397, 2013.

SANTOS, D.C. Embalagem primária antifúngica incorporada com combinações de óleos essenciais. **Monografia** (Curso de Engenharia de Agronegócios) - Universidade Federal Fluminense. 2011. p.36.

DAINELLI, D.; GONTARD, N.; SPYROPOULOS, D.; BEUKEN, E.Z.D.; TOBBACK, P. Active and inteligente food packaging: legal aspects and safety concerns. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, p.103-112, 2008.

DIAO, W.R.; HU, Q.P.; ZHANG, H.; XU, J.G. Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). **Food Control**, v.35, p.109-116, 2014.

DIAS, V.M.; MEDEIROS, S.H.; SOARES, F.F.N.; MELO, R.N.; BORGES, V.S.; CARNEIRO, S.D.J.; PEREIRA, K.A.T.M.J. Development of low-density polyethylene films with lemon aroma. **LWT - Food Science and Technology**, v.50, p.167-171, 2013.

EC (European Commission). Regulation (EC) n° 1935/2004 of the European Parliament and of the Council of 27 October 2004: on materials and article intended 49 to come into contact with food and repealing Directives 80/590/EEC and 89/109/EEC. **Official Journal of the European Union**, 338, p.4-17, 2004.

ESPITIA, P.J.P.; BOTTI, L.C.M.; SOARES, N.F.F.; SALGADO, J.J.; HOYOS, J.A.; SILVA, W.A.; MELO, N.R.; PEREIRA, O.L. Efeito da incorporação de óleos essenciais nas propriedades mecânicas, de barreira ao vapor de água e caracterização estrutural de embalagens ativas celulósicas. **Anais do 10º Congresso Brasileiro de Polímeros – Foz do Iguaçu, PR, 2009.**

ESPITIA, P.J.P.; SOARES, N.F.F.; TEÓFILO, R.F.; COIMBRA, J.S.R.; VITOR, D.M.; BATISTA, R.A.; FERREIRA, S.O.; ANDRADE, N.J.; MEDEIROS, E.A.A. Physical-mechanical and antimicrobial properties of nanocomposite films with pediocin and ZnO nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v.94, p.199-208, 2013.

FABRA, M.J.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; GAY, J.P.; DEBEAUFORT, F. Influence of temperature and NaCl on the release in aqueous liquid media of aroma compounds encapsulated in edible films. **Journal of Food Engineering**, v.108, p.30-36, 2012.

FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Influence of calcium on tensile, optical and water vapour permeability properties of sodium caseinate edible films. **Journal of Food Engineering**, v.96, p.356-364, 2010.

FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Microstructure and optical properties of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. **Food Hydrocolloids**, v.23(3), p.676-683, 2009.

FANTUZZI, E.; PUSCHMANN, R.; VANETTI, M.C.D. Microbiota contaminante em repolho minimamente processado. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.24(2), p.207-211, 2004.

FARIAS, M.G.; FAKHOURI, F.M.; CARVALHO, C.W.P.; ASCHERI, J.L.R. Caracterização físico-química de filmes comestíveis de amido adicionado de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). **Química Nova**, v.35(3), p.546-552, 2012.

- FERREIRA, A.S.; NUNES, C.; CASTRO, A.; FERREIRA, A.; COIMBRA, M.A. Influence of grape pomace extract incorporation on chitosan films properties. **Carbohydrate Polymers**, v.113, p.490-499, 2014.
- GALVÃO, E.L.; SILVA, D.C.F; SILVA, J.O.; MOREIRA, A.V.B.; SOUSA, E.M.B.D. Avaliação do potencial antioxidante e extração subcrítica do óleo de linhaça. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.28, p.551-557, 2008.
- GHASEMLOU, M.; KHODAIYAN, F.; OROMIEHIE, A.; YARMAND, M.S. Characterization of edible emulsified films with low affinity to water based on kefir and oleic acid. **International Journal of Biological Macromolecules**. v.49, p.378-884, 2011.
- GIBIS, D.; RIEBLINGER, K. Oxygen scavenging films for food application. **Procedia Food Science** **1**, p.229-234, 2011.
- GÓMEZ-ESTACA, J.; LOPEZ-DE-DICASTILLO, C.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; CATALÁ, R.; GAVARA, R. Advances in antioxidant active food packaging. Review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 35, p.42-51, 2014.
- GOWAYED, Y. Types of fiber and fiber arrangement in fiber-reinforced polymer (FRP) composites. *Developments in Fiber-Reinforced Polymer (FRP) Composites for Civil Engineering*. **Elsevier Science & Technology Books**, p.3–17, 2013.
- GUTIERREZ, J.; BARRY-RYAN, C.; BOURKE, P. Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: Efficacy, synergistic potential and interactions with food components. **Food Microbiology**, v.26, p.142-150, 2009.
- GYAWALI, R.; IBRAHIM, S.A. Natural products as antimicrobial agents. review. **Food Control**, v.46, p.412-429, 2014.
- HEINZE, T.; LIEBERT, T. Celluloses and polyoses/hemicelluloses. In K. Maty-jaszewski, & M. Möller (Eds.). **Polymer science: A comprehensive reference**, p.83-152. Amsterdam: Elsevier, 2012.
- HIGUERAS, L.; LÓPEZ-CARBALLO, G.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; CATALÁ, R.; GAVARA, R. Antimicrobial packaging of chicken fillets based on the release of carvacrol from chitosan/cyclodextrin films. **International Journal of Food Microbiology**, 2014. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.07.018.
- HYGREEVA, D.; PANDEY, M.C.; RADHAKRISHNA, K.. Potential applications of plant based derivatives as fat replacers, antioxidants and antimicrobials in fresh and processed meat products. review. **Meat Science**, v.98, p.47–57, 2014.
- IM, K.K.; ISSAC, A.; NINAN, E.; KUTTAN, R.; MALIAKEL, B. Enhanced anti-diabetic activity of polyphenol-rich de-coumarinated extracts of *Cinnamomum cassia*. **Journal of functional foods**, v.10, p.54–64, 2014.
- JAWAID, M.; KHALIL, H.P.S.A. Cellulosic/synthetic fibre reinforced polymer hybrid composites: A review. **Carbohydrate Polymers**, v.86, p.1-18, 2011.

JOUKI, M.; YAZDI, F.T.; MORTAZAVI, S.A.; KOOCHEKI, A. Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. **Food Hydrocolloids**, v.36, p.9-19, 2014.

KUMAR, V.; MATHELA, C.S.; TEWARI, G.; SINGH, D.; TEWARI, A.K.; BISHT, K.S. Chemical composition and antifungal activity of essential oils from three Himalayan Erigeron species. **LWT - Food Science and Technology**, v.56, p.278-283, 2014.

KIM, S.A.; RHEE, M.S. Highly enhanced bactericidal effects of medium chain fatty acids (caprylic, capric, and lauric acid) combined with edible plant essential oils (carvacrol, eugenol, b-resorcylic acid, *trans*-cinnamaldehyde, thymol, and vanillin) against *Escherichia coli* O157:H7. **Food Control**, Amsterdam, v.60, p.447-454, 2016.

KREVELEN, V.; WILLEM, D.; NIJENHUIS, K.T. **Properties of polymers: their correlation with chemical structure; their numerical estimation and prediction from additive group contributions**. Elsevier, 2009.

LEE, H.; MIN, S.C. Development of antimicrobial defatted soybean meal-based edible films incorporating the lactoperoxidase system by heat pressing. **Journal of Food Engineering**, v.120, p.183-190, 2014.

LIU, H.; ADHIKARI, R.; GUO, Q.; ADHIKARI, B. Preparation and characterization of glycerol plasticized (high-amylose) starch-chitosan films. **Journal of Food Engineering**, v.116, p.588-597, 2013.

LOPES, F.A.; SOARES, N.F.F.; LOPES, C.C.P.; SILVA, W.A. Desenvolvimento e caracterização de filmes de base celulósica incorporados com aldeído cinâmico. **Brazilian journal of food technology**, v. 17 (1), p.33-40, 2014.

LOUËR, D. **Powder X-Ray Diffraction, Applications**. Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering, from Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry, v.2, p.2253-2262, 2013.

LYONS, J.G.; HALLINAN, M.; KENNEDY, J.E.; DEVINE, D.M.; GEEVER, L.M.; BLACKIE, P.; HIGGINBOTHAM, C.L. Preparation of monolithic matrices for oral drug delivery using a supercritical fluid assisted hot melt extrusion process. **International Journal of Pharmaceutics**, v.329, p.62-71, 2007.

MA, Q.; ZHANG, Y.; ZHONG, Q. Physical and antimicrobial properties of chitosan films incorporated with lauric arginate, cinnamon oil, and ethylenediaminetetraacetate. **LWT - Food Science and Technology**, v.65, p.173-179, 2016.

MAKWANA, S.; CHOUDHARY, R.; DOGRA, N.; KOHLI, P.; HADDOCK, J. Nanoencapsulation and immobilization of cinnamaldehyde for developing antimicrobial food packaging material. **LWT - Food Science and Technology**, v.57, p.470-476, 2014.

MANO, E.B.; MENDES, L.C. **Introdução a polímeros**. 2ª edição revisada e ampliada. São Paulo, SP. Editora Edgard Blucher, 2004.

MARCOS, B.; SÁRRAGA, C.; CASTELLARI, M.; KAPPEN, F.; SCHENNINK, G. ARNAU, J. Development of biodegradable films with antioxidant properties based on

polyesters containing a-tocopherol and olive leaf extract for food packaging applications. **Food packaging and shelf life**, v.1, p.140–150, 2014.

MARINELLI, A.L.; MONTEIRO, M.R.; AMBRÓSIO, J.D. Desenvolvimento de compósitos poliméricos com fibras vegetais naturais da biodiversidade: uma contribuição para a sustentabilidade amazônica. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.18 (2), p.92-99, 2008.

MEDEIROS, E.A.A.; SOARES, N.F.F.; POLITO, T.O.S.; SOUSA, M.M.; SILVA, D.F.P. Sachês antimicrobianos em pós-colheita de manga. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, volume especial, E. p.363-370, 2011.

MEIRELES, C.S. **Desenvolvimento de nanoemulsões de óleos essenciais incorporadas em filme de metilcelulose para uso em alimentos**. Dissertação (mestrado em Química) – Universidade Federal de Uberlândia – Uberlândia, 2007.

MILES, D.C.; BRISTON, J.H. **Tecnologia de Polímeros**. Editora: Poligono / Usp, p.574, 1975.

MONTEIRO, S.N.; CALADO, V.; RODRIGUEZ, R.J.S.; MARGEM, F.M. Thermogravimetric stability of polymer composites reinforced with less common lignocellulosic fibers – an Overview. **J. Mater. Res. Tecnol.**, v.1, p.117-126, 2012.

MOORE, G.R.P.; MARTELLIA, S.M.; GANDOLFOA, C.; SOBRALB, P.J.A.; LAURINDO, J.B. Influence of the glycerol concentration on some physical properties of feather keratin films. **Food Hydrocolloids**, v.20, p.975-982, 2006.

MORAES, J.O; SCHEIBE, A.S.; AUGUSTO, B.; CARCIOFI, M.; LAURINDO, J.B. Conductive drying of starch-fiber films prepared by tape casting: Drying rates and film properties. **LWT - Food Science and Technology**, v.64, p.356-366, 2015.

MORAIS, S.M.; JÚNIOR, F.E.A.C.; SILVA, A.R.A.; NETO, J.S.M. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *Croton* do nordeste do Brasil. **Quim. Nova**, v.29, p.907-910, 2006.

MORALES, A. R.; DA CRUZ, C. V. M.; PERES, L., ITO, E. N. Nanocompósitos de PEAD/PEBDL - avaliação da esfoliação da argila organofílica pela aplicação do modelo de nielsen e das propriedades mecânicas, ópticas e permeabilidade. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.20 (1), p.39-45, 2010.

MOURA, M.R.; MATTOSO, L.H.; ZUCOLOTO, V. Development of cellulose-based bactericidal monocomposites containing silver nanoparticles and their use as active food packaging. **Journal of Food Engineering**, v.109, p.520-524, 2012.

MURIEL-GALET, V.; LÓPEZ-CARBALLO, G.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; GAVARA, R. Characterization of ethylene-vinyl alcohol copolymer containing laurel arginate (LAE) as material for active antimicrobial food packaging. **Food packaging and shelf life**, v.1, p.10-18, 2014.

MUSTO, P.; WU, L.; KARASZ, F. E.; MACKNIGHT, W.J. Fourier transform infrared spectroscopy investigations of polybenzimidazole/ poly(bisphenol-A carbonate) blends. **Polymer**, v.32 (1), p.3-11, 1991.

NEGI, P.S. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. review. **International Journal of Food Microbiology**, v.156, p.7–17, 2012.

O'BRIEN, K.C.; KOROS, W.J.; BARBARI, T.A. A new technique for the measurement of multicomponent gas transport through polymeric films. **Journal of Membrane Science**, v.29, pp.229-238, 1986.

OLIVEIRA, L.M.; ALVES, R.M.V.; SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; PADULA, M.; GARCIA, E.E.C.; COLTRO, L. Ensaios para avaliação de embalagens plásticas flexíveis. **Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL)** Centro de Tecnologia de Embalagem (CETEA), Campinas, 1996.

OLIVEIRA-JR, L.F.G.; SILVA, M.G.; OLIVEIRA, J.M.; SANTOS, F.A.; VARGAS, H. Efeito de absorvedor de etileno no armazenamento de mamão (*carica papaya* L.), em diferentes temperaturas, investigado por laser fotoacústico e colorímetro de Hunter. **Revista cereas**, v.53, p.487-494, 2006.

PAVELKOVÁ, A.; KAČÁNIOVÁ, M.; HORSKÁ, E.; ROVNÁ, K.; HLEBA, L.; PETROVÁ, J. The effect of vacuum packaging, EDTA, oregano and thyme oils on the microbiological quality of chicken's breast. **Anaerobe**, v.29, p.128-133, 2014.

PETIT, S.; MADEJOVA, J. Fourier Transform Infrared Spectroscopy. **Developments in Clay Science**, v.5, p.213-231, 2013.

PINTO, G.V.V.V.; ABREU, C.A.M.; KNOECHELMANN, A.; ALMEIDA, Y.M.B. Caracterização Físico-Química da Superfície de Filmes de Poli (Tereftalato de Etileno). **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, p.184-188, 1999.

PONTES, S.F.O. **Desenvolvimento de nanoemulsões de óleos essenciais incorporadas em filme de metilcelulose para uso em alimentos**. Tese (doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa – Viçosa, 2013.

RAMOS, O.R.; REINAS, I.; SILVA, S.I.; FERNANDES, J.C.; CERQUEIRA, M.A.; PEREIRA, R.N.; VICENTE, A.A.; POÇAS, M.F.; PINTADO, M.E.; MALCATA, F.X. Effect of whey protein purity and glycerol content upon physical properties of edible films manufactures therefrom. **Food Hydrocolloids**, v.30, 110-122, 2013.

RAUT, J.S.; KARUPPAYIL, S.M. A status review on the medicinal properties of essential oils. review. **Industrial Crops and Products**, v.62, p.250–264, 2014.

REHDER, V.L.G.; MACHADO, A.L.M.; DELARMELENA, C.; SARTORATTO, A.; FIGUEIRA, G.M.; DUARTE, M.C.T. Composição química e atividade antimicrobiana de óleos essencial de *Origanum applii* e *Origanum vulgare*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.6, p.67-71, 2004.

REIS, L.C.B.; SOUZA, C.O.; SILVA, J.B.A.; MARTINS, A.C.; NUNES, I.L.; DRUZIAN, J.I. Active biocomposites of cassava starch: The effect of yerba mate extract and mango pulp as antioxidant additives on the properties and the stability of a packaged product. **Food and bioproducts processing**, p.1-10, 2014.

RESTUCCIA, D.; SPIZZIRRI, U.G.; PARISI, O.I.; CIRILLO, G.; CURCIO, M.; IEMMA, F.; PUOCI, F.; VINCI, G.; PICCI, N. New EU regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications. Review. **Food Control**, v.21, p. 1425-1435, 2010.

RIMDUSIT, S.; JINGJID, S.; DAMRONGSAKKUL, S.; TIPTIPAKORN, S.; TAKEICHI, T. Biodegradability and property characterizations of methyl cellulose: Effect of nanocompositing and chemical crosslinking. **Carbohydrate Polymers**, v.72, p.444-455, 2008.

ROBY, M.H.H.; SARHAN, M.A.; SELIM, K.A.H.; KHALEL, K.I. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). **Industrial Crops and Products**, v.44, p.437-445, 2013.

ROCHA, M.; LOIKO, M.R.; TONDO, E.C.; PRENTICE, C. Physical, mechanical and antimicrobial properties of Argentine anchovy (*Engraulis anchoita*) protein films incorporated with organic acids. **Food Hydrocolloids**, v.37, p.213-220, 2014.

RODRIGUES, E.G. Valorização do glicerol por oxidação catalítica. **Dissertação** (Mestrado integrado em Engenharia Química). Universidade do Porto – Portugal, 2008.

RODRIGUES, M.R.A. Estudo dos óleos essenciais presentes em manjerona e orégano. **Dissertação** (mestrado em Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre, 2002.

ROJAS-GRAU, M.A.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; OLSEN, C.; FRIEDMAN, M.; HENIKA, P.R.; MARTÍN-BELLOSO, O.; PAN, Z.; MCHUGH, T.H. Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate–apple puree edible films. **Journal of Food Engineering**, v.8, p.634-641, 2007.

ROZWALKAI, L.C.; LIMA, M.L.R.Z.C.; MIO, L.L.M.; NAKASHIMA, T. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, p.301-307, 2008.

SAMSUDIN, H.; SOTO-VALDEZ, H.; AURAS, R. Poly(lactic acid) film incorporated with marigold flower extract (*Tagetes erecta*) intended for fatty-food application. **Food Control**, v.46 p.55-66, 2014.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHÁFER, M. Effect of essential oils on properties of film forming emulsions and films based on hydroxypropylmethylcellulose and chitosan. **Journal of Food Engineering**, v.105, p.246-253, 2011.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; VARGAS, M.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHIRALT, A.; CHÁFER, M. Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. **Food Hydrocolloids**, v.23, p.2102-2109, 2009.

SANTOS, F.M.S. Utilização de quitosana no revestimento de filés de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) e na preparação de filmes incorporados com óleos essenciais. **Tese**

(Doutorado em bioquímica e fisiologia) - Universidade Federal de Pernambuco - Recife, 2014.

SEGMÜLLER, A.; NOYAN, I. C.; SPERIOSU, V. S. X-ray diffraction studies of thin films and multilayer structures. **Prog. Crystal Growth and Charact.**, v.18, p.21-66, 1988.

SENATORE, F.; OLIVIERO, F.; SCANDOLERA, E.; TAGLIALATELA-SCAFATI, O.; ROSCIGNO, G.; ZACCARDELLI, M.; FALCO, E. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of anethole-rich oil from leaves of selected varieties of fennel [*Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare* var. *azoricum* (Mill.) Thell]. **Fitoterapia**, v.90, p.214–219, 2013.

SHIMAZU, A.A.; MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E. Plasticizing and antiplasticizing effects of glycerol and sorbitol on biodegradable cassava starch films. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28 (1), p.79-88, 2007.

SHIRASAWA, T.; TAKAHASHI, T. Surface X-ray Diffraction; **Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering**, p.1-6, 2014.

SHOJAEE-ALIABADI, S.; HOSSEINI, H.; MOHAMMADIFAR, M.A.; MOHAMMADI, A.; GHASEMLOU, M.; SEYEDE HOSSEINI, S.M.; KHAKSAR, R. Characterization of κ -carrageenan films incorporated plant essential oils with improved antimicrobial activity. **Carbohydrate Polymers**, v.101, p.582-591, 2014.

SIGNOR, D.; KOVALSKY, A.P.J.; ALVES, M.A.; LIMA, F.L.; BIASI, L.A. Nota científica. Estaquia herbácea de orégano. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.8, p.431-434, 2007.

SILVESTRE, C., DURACCIO, D., CIMMINO, S. Food packaging based on polymer nanomaterials. **Progress in Polymer Science**, v.36, p.1766-1782, 2011.

SINGH, R.; GIRI, S.K.; KOTWALIWALE, N. Shelf-life enhancement of green bell pepper (*Capsicum annuum* L.) under active modified atmosphere storage. **Food packaging and shelf life I**, p.101-112, 2014.

SOARES, N.F.F.; MOREIRA, F.K.V.; FIALHO, T.L.; MELO, N.R. Triclosan-based antibacterial paper reinforced with nano-montmorillonite: a model nanocomposite for the development of new active packaging. **Polymers Advanced Technologies**, v.23, p.901-908, 2012.

SOARES, F.F.N.; SILVA, A.W.; PIRES, S.C.A.; CAMILLOTO, P.G.; SILVA, S.P. Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. **Revista Ceres**, v. 56(4), p.370-378, 2009.

SOBRAL, P.J.A.; OCUNO, D. Permeabilidade ao vapor de água de biofilmes à base de proteínas miofibrilares de carne. **Braz. J. Food Technol.**, v.3, p.11-16, 2000.

SOUTO, R.F.; DURIGAN, J.F.; SOUZA, B.S; DONADON, J.; MENEGUCCI, J.L.P. Conservação pós-colheita de abacaxi ‘pérola’ colhido no estágio de maturação “pintado” associando-se refrigeração e atmosfera modificada. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 26 (1), p.24-28, 2004.

- SOUZA, A.C.; GOTO, G.E.O.; MAINARDI, J.A.; COELHO, A.C.V.; TADINI, C.C. Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil: Antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties. **LWT - Food Science and Technology**, v.54, p.346-352, 2013.
- SOUZA, C.O.; SILVA, L.T.; DRUZIAN, J.I. Estudo comparativo da caracterização de filmes biodegradáveis de amido de mandioca contendo polpas de manga e de acerola. **Quim. Nova**, v.35, p.262-267, 2012.
- SRINIVASA, P.C.; RAMESH, M.N.; THARANATHAN, R.N. Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. **Food Hydrocolloids**, v.21, p.1113-1122, 2007.
- SUNG, S.Y.; SIN, L.T.; TEE, T.T.; BEE, S.T.; RAHMAT, A.R.; RAHMAN, W.A.W.A.; TAN, A.C.; VIKHRAMAN, M. Antimicrobial agents for food packaging applications. **Trends in Food Science & Technology**, v.33, p.110-123, 2013.
- TEIXEIRA, B.; MARQUES, A.; PIRES, C.; RAMOS, C.; BATISTA, I.; SARAIVA, J.A.; NUNES, M.L. Characterization of fish protein films incorporated with essential oils of clove, garlic and origanum: Physical, antioxidant and antibacterial properties. **LWT - Food Science and Technology**, v.59, p.533-539, 2014.
- THAKUR, M.K.; GUPTA, R.K.; THAKUR, V.K. Surface modification of cellulose using silane coupling agent. **Carbohydrate Polymers**, v.111, p.849-855, 2014.
- THAKUR, V.K.; THAKUR, M.K.; GUPTA, R.K. Graft copolymers from cellulose: Synthesis, characterization and evaluation. **Carbohydrate Polymers**, v.97, p.18-25, 2013.
- TIAN, J.; ZENG, X.; FENG, Z.; MIAO, X.; PENG, X.; WANG, Y. *Zanthoxylum molle* Rehd. essential oil as a potential natural preservative in management of *Aspergillus flavus*. **Industrial Crops and Products**, v.60, p.151-159, 2014.
- TINOCO, M. T.; MARTINS, M. R.; CRUZ-MORAIS, J. Actividade antimicrobiana do óleo essencial do *Foeniculum vulgare* Miller. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 30 (1), p. 448-454, 2007.
- UBOLDI, E.; ZANOLETTI, M.; FRANZETTI, L.; LIMBO, S. Master bag low-oxygen packaging system: Quality evolution of ground beef patties during storage, blooming and display presentation. **Food Packaging and Shelf Life**, v.5, p.75-82, 2015.
- YE, D.; FARRIOL, X. Preparation and characterization of methylcelluloses from some annual plant pulps. **Industrial Crops and Products**, v.26, p.54-62, 2007.
- WU, J.; GE, S.; LIU, H.; WANG, S.; CHEN, S.; WANG, J.; LI, J.; ZHANG, Q. Properties and antimicrobial activity of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin-chitosan films incorporated with oregano essential oil for fish preservation. **Food packaging and shelf life II**, p.7-16, 2014.
- YOSHIDA, C.M.P.; ANTUNES, A.J. Aplicação de filmes protéicos à base de soro de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29(2), 420-430, 2009.

YUAN, C.; LIU, B.; LIU, H. Characterization of hydroxypropyl- β -cyclodextrins with different substitution patterns via FTIR, GC-MS, and TG-DTA. **Carbohydrate Polymers**, v.118, p.36-40, 2015.

VENTURA, L.A.F. Desenvolvimento de filme ativo antibacteriano incorporado com óleos essenciais. **Monografia** (Curso de Engenharia de Agronegócios) - Universidade Federal Fluminense. 2012. p.36

VERA-SORROCHE, J.; KELLY, A.; BROWN, E.; COATES, P.; KARNACHI, N.; HARKIN-JONES, E.; LI, K.; DENG, J. Thermal optimisation of polymer extrusion using in-process monitoring techniques. **Applied Thermal Engineering**, v.53, p.405-413, 2013.

ZANELA, J.; REIS, M.O.; DIAS, A.P.; MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E.; YAMASHITA, F. Sheets of cassava starch - poly (vinyl alcohol) produced by extrusion: effect of formulation on the color and opacity. **Polímeros**, v.25(3), p.326-329, 2015.