

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CÂMPUS ILHA SOLTEIRA**

TASCILA FERREIRA DA SILVA SARANTI

**DESENVOLVIMENTO DE NOVOS FILMES COMESTÍVEIS DE GELATINA
CONTENDO NANOEMULSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE PIMENTA PRETA OU
MANJERONA REFORÇADOS COM CLOISITE Na⁺**

Ilha Solteira

2019



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de Ilha Solteira

TASCILA FERREIRA DA SILVA SARANTI

**DESENVOLVIMENTO DE NOVOS FILMES COMESTÍVEIS DE GELATINA
CONTENDO NANOEMULSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE PIMENTA PRETA OU
MANJERONA REFORÇADOS COM CLOISITE Na⁺**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia do
Câmpus de Ilha Solteira – UNESP como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência
dos Materiais.

Área de concentração: Química dos Materiais.

Prof^a. Dra. Marcia Regina de Moura Aouada.

Orientadora

Ilha Solteira

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

S243d Saranti, Tascila Ferreira da Silva.
Desenvolvimento de novos filmes comestíveis de gelatina contendo nanoemulsão de óleo essencial de pimenta preta ou manjerona reforçados com cloisite NA⁺ / Tascila Ferreira da Silva Saranti. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2019
78 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Química dos Materiais, 2019

Orientador: Marcia Regina de Moura Aouada
Inclui bibliografia

1. Filmes comestíveis. 2. Polímeros naturais. 3. Embalagem ativa. 4. Filmes biodegradáveis.


Raiane da Silva Santos

Supervisora-técnica de Seção
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
C102/1 - 9999

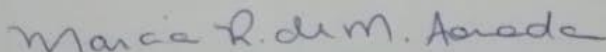
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Desenvolvimento de novos filmes comestíveis de gelatina contendo nanoemulsão de óleos essencial de pimenta preta ou manjerona reforçados com Cloisite-Na+

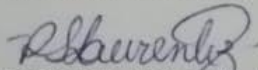
AUTORA: TASCILA FERREIRA DA SILVA SARANTI

ORIENTADORA: MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA

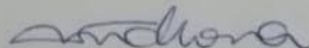
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA DOS MATERIAIS, área: Química dos Materiais pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA
Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira



Profa. Dra. ROSANGELA DA SILVA DE LAURENTIZ
Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira



Profa. Dra. GRASIELE SCARAMAL MADRONA
Departamento de Engenharia de Alimentos / Universidade Estadual de Maringá

Ilha Solteira, 29 de março de 2019

*Dedico este trabalho aos meus amados pais,
Tonico e Glaucia, pelo apoio, carinho e amor
incondicional durante toda a minha existência.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pelo dom da vida, por ter me dado saúde e força para prosseguir.

Agradeço aos meus pais, os meus maiores incentivadores, obrigada por todo amor e carinho.

Ao Leonardo, por me ensinar o real sentido da palavra persistência, e por tantas vezes compreender minha ausência.

À Prof^a. Dra. Márcia Regina de Moura Aouada, pela orientação, por todo conhecimento tão gentilmente compartilhado, pela amizade, paciência e confiança a mim depositada, minha eterna admiração como profissional, mulher e mãe.

À minha amiga e irmã Pamela Thais, minha grande inspiração de ser humano.

Ao professor Dr. Fauze Ahmad Aouada, pela amizade, conhecimento, e principalmente pelo incentivo a superar a nós mesmo.

Aos colegas do GCNH, por todas as risadas, conselhos, correções, ensinamentos, pesagens de WVP, compartilhamento de estufa, e até pelos momentos difíceis, são estes que nos fazem evoluir como ser humano, sem vocês essa jornada seria muito mais difícil.

Aos colegas, funcionários e professores do Departamento de Física e Química, que sempre me ajudaram no decorrer da pesquisa.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, pela oportunidade.

À Embrapa Instrumentação por todo suporte no decorrer desse trabalho. Obrigada Marcos Lorevice, por disponibilizar seu tempo e conhecimento em prol de ajudar o próximo.

A Universidade Estadual de Maringá, em nome da Prof^a. Dra. Grasi e suas alunas Suelen e Jéssica, o meu muito obrigada por não hesitarem em ajudar.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Pensar é o trabalho mais difícil que existe, e esta é provavelmente a razão por que tão poucos se dedicam a ele. (Henry Ford)

RESUMO

A crescente preocupação em se consumir produtos que sejam ecologicamente corretos tem motivado pesquisas no desenvolvimento de novos materiais. Nesse sentido, filmes à base de polímeros naturais têm sido desenvolvidos com o objetivo de substituir parcialmente a utilização dos polímeros tradicionais. A utilização desses filmes, além de diminuir a geração de resíduos plásticos descartados no meio ambiente, podem ainda exercer a função de embalagem ativa, estendendo a vida útil dos alimentos. O presente trabalho consiste na elaboração de novos filmes comestíveis à base de gelatina e nanoemulsão de óleos essenciais de manjerona e de pimenta-preta. A gelatina é um polímero natural, biocompatível e biodegradável, possuindo boa capacidade de formar filmes flexíveis. Os óleos essenciais de manjerona e de pimenta-preta possuem boa aceitação por parte dos consumidores, além de excelentes propriedades antioxidantes e antimicrobianas. Quando adicionados às matrizes poliméricas em forma de nanoemulsão, pode contribuir para a diminuição da permeabilidade a vapores de água e aumentar a tenacidade dos filmes. Visando a melhoria da resistência mecânica dos filmes, dispersão de argilas vem sendo incorporadas as dispersões filmogênicas. Nesse trabalho, foi utilizada a cloisite Na⁺. Os filmes produzidos foram caracterizados quanto à análise subjetiva, permeabilidade ao vapor de água, propriedade mecânicas, propriedades térmicas, difração de raios-x, ângulo de contato e microestruturais. As nanoemulsões foram caracterizadas quanto ao tamanho de partícula, apresentando diâmetro médio em torno de 250 e 181 nm para pimenta preta, e 82 e 47 nm para manjerona. Em relação à permeabilidade ao vapor de água e aos ensaios mecânicos, foi possível observar que filmes contendo nanoemulsão de menor tamanho apresentaram decréscimo da permeabilidade e incremento na resistência mecânica. Os menores tamanhos de partícula foram obtidos utilizando-se o óleo essencial de manjerona. A adição de argila também contribuiu para aumentar a tensão na ruptura e o ângulo de contato dos filmes, este último por sua vez aumentou a hidrofobicidade superficial dos filmes. O processo de ultrassom submetido à argila aumentou o espaçamento basal entre as plaquetas, conforme apresentado nos resultados de difração de raios-x. Dessa forma, os filmes elaborados com o óleo essencial de manjerona com tamanho de partícula menor e cloisite Na⁺ foram os que reuniram melhores propriedades que possibilitam uma maior aplicação na área de embalagens.

Palavras-chave: Filmes comestíveis. Polímeros naturais. Embalagem ativa. Filmes biodegradáveis.

ABSTRACT

The growing concern to consume products that are ecologically correct has motivated the study in the development of new materials. In this sense, films based in natural polymers have been created with the aim of replacement of the traditional polymers. The use of these films behind to decreasing the generation of plastic waste in the environment, it can still be active packaging, extending the food shelf-life. This present study consists in the elaboration of a film based in gelatin and marjoram and black pepper essential oils nanoemulsions. Gelatin is a natural, biocompatible and biodegradable polymer, it has good flexible and film forming ability. The marjoram and black pepper essential oil has a good acceptance by the consumers, as well as excellent antioxidant and antimicrobial properties. When incorporated to polymer matrices by the nanoemulsions way, they can contributed to the reduction of water vapor permeability and increase film tenacity. By the aim of improve the mechanical proprieties, clay dispersions had been incorporated in the film dispersions. In this study Na^+ cloisite was used. The produced films were characterized by the subjective analysis, water vapor permeability, mechanical properties, thermal properties, x-ray diffusion, contact angle and microstructural. The nanoemulsions characterized by the particle size, presented results between 250 and 181nm to black pepper, and 82 and 47nm to marjoram essential oil. Related to the water vapor permeability and the mechanical proprieties, it was possible to observe that the films carried with lower nanoemultions particles presented a decrease in the permeability and an increment in the mechanical resistance. The lowers particle sizes were obtained by the marjoram essential oil. The nanoclay incorporation also contributed to increase the tension and the contact angle of the films, this last one in its turn increase the films superficial hydrophobicity. The clay submitted to the ultrasound process showing an incensement in the basal spacing between the platelets, as shown in the x-ray diffraction results. Thus, the films elaborated by the addition of lower particle size of marjoram essential oil and incorporated by nanoclay dispersion was the one that getting the best combined proprieties that allow greater application in the packaging area.

Keywords: Edible films. Natural polymers. Active Packaging. Biodegradable films.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Embalagem convencional de hambúrguer -----	21
Figura 2. Classificação dos biopolímeros -----	24
Figura 3. Representação da estrutura tridimensional do colágeno -----	25
Figura 4. Estrutura química do limoneno -----	28
Figura 5. Estrutura química do terpineno-4-ol -----	30
Figura 6. Estrutura da Montmorilonita -----	31
Figura 7. A) Suspensão de óleo essencial e Tween 80 [®] sendo agitada no Ultra-Turrax [®] . B) Equipamento T25 Ultra-Turrax [®] -----	34
Figura 8. Ultrassom de ponta utilizado para a dispersão da cloisite Na ⁺ -----	36
Figura 9. A) Célula de Teflon [®] utilizada para análise de WVP desmontada B) Célula de Teflon [®] utilizadas para análise de WVP montada C) Célula de Teflon [®] utilizada para análise de WVP vista lateralmente. -----	40
Figura 10. Molde para corte de corpo de prova com dimensões específicas -----	41
Figura 11. Comparativo dos valores de tamanho médio de partícula das nanoemulsões dos óleos de pimenta-preta e manjerona -----	45
Figura 12. Valores de tensão máxima na ruptura dos filmes testados -----	50
Figura 13. Valores de deformação na ruptura dos filmes testados -----	51
Figura 14. Curva de TG dos filmes GE, GEDA, GEP4, GEP4DA, GEM4, GEM4DA -----	53
Figura 15. Curva de DTG dos filmes GE, GEDA, GEP4, GEP4DA, GEM4, GEM4DA -	53
Figura 16. Ilustração do ângulo de contato para uma gota molhante sobre uma superfície sólida -----	56
Figura 17. Gota de líquido padrão sobre a superfície dos filmes GEDA em A , GEM4 em B , em t=0s. -----	58
Figura 18. Possíveis estruturas formadas em nanocompósitos de polímero e argila -----	58
Figura 19. Difrátogramas de raios-x de MMT e dos filmes GE e GEDA -----	59
Figura 20. Difrátogramas de raios-x de MMT e dos filmes GEP4 e GEP4DA -----	60
Figura 21. Difrátogramas de raios-x de MMT e dos filmes GEM4 e GEM4DA -----	60
Figura 22. Micrografias obtidas por MEV da superfície dos filmes, A do filme GE e C do filme GEDA ; das fraturas criogênicas B do filme GE , e D do filme GEDA -----	62

Figura 23. Micrografias obtidas por MEV, da superfície dos filmes, **A** do filme **GEM4** e **C** do filme **GEM4DA**; das fraturas criogênicas **B** do filme **GEM4**, e **D** do filme **GEM4DA** - 63

Figura 24. Micrografias obtidas por MEV, da superfície dos filmes, **A** do filme **GEP4** e **C** do filme **GEP4DA**; das fraturas criogênicas **B** do filme **GEP4**, e **D** do filme **GEP4DA** ----- 65

Figura 23. Micrografias obtidas por MEV, da superfície dos filmes, **A** do filme **GEM4** e **C** do filme **GEM4DA**; das fraturas criogênicas **B** do filme **GEM4**, e **D** do filme **GEM4DA** - 63

Figura 24. Micrografias obtidas por MEV, da superfície dos filmes, **A** do filme **GEP4** e **C** do filme **GEP4DA**; das fraturas criogênicas **B** do filme **GEP4**, e **D** do filme **GEP4DA** ----- 65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Velocidade de rotação e tempo utilizados no preparo das nanoemulsões -----	35
Tabela 2. Siglas utilizadas para cada filme preparado -----	36
Tabela 3. Resultados da avaliação subjetiva dos filmes -----	47
Tabela 4. Valores de permeabilidade ao vapor de água dos filmes -----	48
Tabela 5. Temperaturas inicial e final de degradação dos filmes -----	55
Tabela 6. Ângulo de contato médio observado para cada tipo de filme -----	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASTM (American Society for Testing and Materials)

DA (Dispersão de argila)

DLS (espalhamento Dinâmico da Luz)

DSC (Calorimetria Exploratória Diferencial)

DRX (Difratometria de raios-x)

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária)

GE (Filme de Gelatina)

MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura)

mw (massa molar da água)

OE (óleo essencial)

rpm (rotações por minuto)

SAXS (espalhamento de raios-x a baixo ângulo)

TG (Thermalgravimetric analysis – Análise termogravimétrica)

WVP (water vapor permeability - permeabilidade ao vapor de água)

WVTR (velocidade de transmissão do vapor de água)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	19
2.1	EMBALAGENS COMESTÍVEIS.....	19
2.1.1	Propriedades dos filmes comestíveis.....	19
2.1.1.1	<i>Propriedades de barreira.....</i>	<i>19</i>
2.1.1.2	<i>Propriedades mecânicas.....</i>	<i>20</i>
2.1.1.3	<i>Propriedades antimicrobianas e antioxidantes.....</i>	<i>22</i>
2.1.1.4	<i>Propriedades organolépticas.....</i>	<i>23</i>
2.2	BIOPOLÍMEROS.....	23
2.2.1	Gelatina.....	24
2.3	ÓLEO ESSENCIAL.....	26
2.3.1	Óleo essencial de pimenta-preta.....	27
2.3.2	Óleo essencial de manjerona.....	29
2.4	CLOISITE NA ⁺	30
3	OBJETIVOS.....	33
3.1	OBJETIVO GERAL.....	33
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
4	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	34
4.1	MATERIAL.....	34
4.2	MÉTODOS.....	34
4.2.1	Preparo das nanoemulsões.....	34
4.2.2	Preparo da dispersão de argila.....	35
4.2.3	Preparo das dispersões filmogênicas.....	36
4.2.4	Caracterizações.....	37
4.2.4.1	<i>Caracterizações das nanoemulsões.....</i>	<i>37</i>
4.2.4.1.1	<i>Determinação de tamanho médio.....</i>	<i>38</i>
4.2.4.2	<i>Caracterizações da dispersão de argila.....</i>	<i>38</i>
4.2.4.2.1	<i>Determinação de tamanho médio e potencial zeta.....</i>	<i>38</i>
4.2.4.3	<i>Caracterizações dos filmes.....</i>	<i>38</i>
4.2.4.3.1	<i>Análise subjetiva.....</i>	<i>38</i>
4.2.4.3.2	<i>Espessura dos filmes.....</i>	<i>39</i>

4.2.4.3.3	<i>Permeabilidade ao vapor de água (WVP)</i>	39
4.2.4.3.4	<i>Propriedades mecânicas</i>	41
4.2.4.3.5	<i>Análise Termogravimétrica</i>	42
4.2.4.3.6	<i>Difração de raios-X (DRX)</i>	42
4.2.4.3.7	<i>Ângulo de Contato</i>	43
4.2.4.2.8	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	43
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1	CARACTERIZAÇÕES DAS NANOEMULSÕES	44
5.1.1	Determinação de tamanho médio	44
5.2	CARACTERIZAÇÃO DA DISPERSÃO DE ARGILA	46
5.2.1	Determinação de tamanho médio e potencial zeta	46
5.3	CARACTERIZAÇÕES DOS FILMES	47
5.3.1	Análise subjetiva	47
5.3.2	Permeabilidade ao vapor de água (WVP)	48
5.3.4	Propriedades mecânicas	49
5.3.5	Análise Termogravimétrica	52
5.3.6	Ângulo de Contato	55
5.3.7	Difração de raios-X (DRX)	58
5.3.8	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	61
6	CONCLUSÃO	66
	REFERÊNCIAS	68

1 INTRODUÇÃO

Os plásticos são materiais utilizados em diversas áreas industriais, desde a produção de peças automobilísticas à fabricação de brinquedos infantis. No setor de embalagens, o uso dos plásticos se destaca, especialmente para suprir o mercado de embalagens destinadas à indústria de alimentos (BENDAHOU, 2015).

Os plásticos petroquímicos são amplamente utilizados por possuírem baixa massa molecular e custo relativamente baixo, além da facilidade de implementação. No entanto, sua aplicação tem uma significativa desvantagem: o impacto ambiental. Plásticos oriundos de fonte fóssil podem permanecer por centenas de anos na natureza, gerando um grande acúmulo de resíduos. Além disso, o petróleo é um material de fonte não renovável e já tem começado a se esgotar. Nos próximos 40 anos, estima-se que as fontes de óleo devem ser esgotadas (BENDAHOU, 2015; BABUSIAUX; BAUQUIS, 2015).

Plásticos biodegradáveis oriundos de fontes renováveis podem substituir os tradicionais derivados do petróleo, e assim, contribuir para a diminuição de acúmulo de resíduos (SOUZA, 2016). Atualmente, muitos estudos vêm sendo realizados com o objetivo de desenvolver novos materiais poliméricos biodegradáveis e/ou de fontes renováveis para aplicação na área de embalagens para alimentos (SOUZA, 2018; LEE, 2015; SHAABAN, 2014; YAHYAUI, 2016; COZMUTA, 2015).

Biopolímeros como a quitosana, acetato de celulose, amido, alginatos e proteínas, dentre outros, têm se destacado como matéria-prima para a fabricação de filmes devido às suas características como biocompatibilidade, abundância e biodegradabilidade. Entretanto, algumas propriedades dos filmes à base desses biopolímeros, como as mecânicas e a de barreira a vapor de água, podem limitar a aplicação dos filmes biopoliméricos (SOUZA, 2016).

Tradicionalmente, a principal função da embalagem de alimentos é manter a qualidade e segurança de produtos alimentícios durante o armazenamento e transporte, além de prolongar a vida útil dos produtos por meio da prevenção de condições e fatores desfavoráveis para sua conservação. Além das propriedades básicas das embalagens de alimentos (mecânicas, óticas e térmicas), outras funções são exercidas. As embalagens devem dificultar o ganho ou perda de umidade, prevenir a contaminação por microrganismos e agir como

barreira contra permeação a vapores de água, oxigênio, dióxido de carbono e outros compostos voláteis, como odores (RHIM, 2013).

Com o constante aumento da demanda dos consumidores por produtos alimentícios de alto nível de qualidade, além das preocupações no que se diz respeito ao meio ambiente, e, considerando a ampla utilização que se tem de plásticos fósseis para embalagens de alimentos, novas tecnologias têm sido estudadas a fim de prover produtos alimentícios seguros, minimizando suas perdas e desperdícios, bem como promover a preservação do meio ambiente (BEVERLYA, 2008; KREPKER, 2017).

Mundialmente, um dos maiores problemas no que se diz respeito à saúde pública está relacionado com a contaminação por microrganismos de origem alimentar. Além disso, muito se tem exigido em relação à extensão da vida útil dos alimentos, com o intuito de diminuir as perdas de alimentos. Sendo assim, o desenvolvimento de embalagens de alimentos que possuam além de suas funções básicas, o papel de agir com o alimento, por meio de sistemas de embalagens antimicrobianas e antioxidantes, podendo auxiliar na redução de riscos de intoxicação alimentar, é de extrema importância (KUJUMGIEV, 1999).

Um grande número de estudos tem demonstrado que filmes antimicrobianos melhoram a qualidade e segurança dos produtos alimentícios, reduzindo a quantidade de conservantes em contato direto com os alimentos (BEVERLYA, 2008; KREPKER, 2017; KUJUMGIEV, 1999; MURIEL-GALET, 2015; GHERARDI, 2016).

Existe um crescente interesse no uso de matérias naturais e renováveis para a produção de embalagens ativas de alimentos com função antimicrobiana. Extratos de plantas e biopolímeros têm sido amplamente estudados para a aplicação nesse tipo de embalagem. (BURT, 2004) O principal desafio é desenvolver um material para embalagem tendo um bom balanço entre durabilidade e biodegradabilidade, para garantir a qualidade de vários produtos alimentícios, bem como um tratamento de resíduo facilitado e com baixo impacto ambiental (KALE, 2007). Um biopolímero com potencial para satisfazer muitos de todos esses requisitos é gelatina.

A gelatina é um complexo polipeptídico amplamente utilizado na indústria de alimentos, farmacêutica e de cosméticos. A gelatina foi um dos primeiros materiais usados para a formação de biopolímeros e continua sendo vastamente estudada como material formador de filme comestível devido à sua abundância como matéria prima, baixo custo de produção, disponibilidade global, além de possuir excelentes propriedades para formação de

filmes (VANIN, 2005). Em aspecto geral, os filmes de gelatina possuem boa resistência mecânica e alta elasticidade. Por outro lado, apresentam altas taxas de permeabilidade a vapores de água e alta sensibilidade a ambientes úmidos, limitando sua aplicação em produtos alimentícios com elevado grau de umidade (RAO, 2007; SUDERMAN, 2018).

Assim, o melhoramento das propriedades desses filmes tem sido estudado através do reforço da matriz polimérica por meio de nanopartículas, produzindo um material frequentemente chamado de bionanocompósito ou apenas nanocompósito (ALEXANDRE, 2016). Essas nanopartículas têm atraído grande interesse devido à habilidade de atuar como preenchimento na matriz, melhorando suas propriedades mecânicas, térmicas, de barreira, dentre outras (RAY, 2003). A cloisite Na^+ é um dos nanomateriais mais comumente utilizados para melhorar essas propriedades em filmes (ALEXANDRE, 2016).

No desenvolvimento desses novos materiais para uso em embalagens alimentícias antimicrobianas, os óleos essenciais (OE), têm sido amplamente estudados, devido às suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes (YAHYAOU, 2016; COZMUTA, 2015; BEVERLYA, 2008).

Diante disso, este trabalho propõe a elaboração de filmes a partir de gelatina reforçados com cloisite Na^+ e nanoemulsões de óleo essencial de pimenta preta e óleo essencial de manjerona a fim de se alcançar uma embalagem comestível para produto cárneo que promova segurança alimentar e que estenda a vida útil do alimento por meio da adição de componentes antimicrobianos e antioxidantes na matriz polimérica. Além disso, pretende-se com o uso da argila e das nanoemulsões, obter um material de embalagem com propriedades mecânicas e de barreira melhoradas para que possa ser aplicado em outros tipos de alimentos.

A inclusão no mercado dessa vertente de embalagem para alimentos levará a um decréscimo significativo no que se diz respeito à utilização de embalagens poliméricas de origem sintética, evitando assim, o acúmulo de resíduos gerados por esses materiais.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 EMBALAGENS COMESTÍVEIS

Nos últimos anos, filmes comestíveis têm atraído muita atenção para o desenvolvimento de embalagens para alimentos e remédios. Isso se deve não somente pela alta capacidade em substituição parcial ou total dos plásticos não biodegradáveis utilizados para esses fins, mas também por melhorarem a estabilidade dos produtos, qualidade e segurança (JUN, 2001). Filmes comestíveis podem promover uma barreira semipermeável contra oxigênio, dióxido de carbono e umidade, reduzindo respiração, perda de água e taxas de oxigênio, por exemplo (FAKHOURI, 2018).

2.1.1 Propriedades dos filmes comestíveis

2.1.1.1 Propriedades de barreira

A maioria dos alimentos se deterioram ou perdem qualidade devido aos fenômenos de transferência de massa entre o produto e o meio externo, incluindo absorção ou perda de umidade, entrada de oxigênio, odores indesejados, migração de componentes da própria embalagem do produto, dentre outros. Nesse sentido, as propriedades de barreira são de extrema importância em um material de embalagem para alimentos (HAN, 2005).

As propriedades de barreira são definidas como a capacidade do material em resistir à entrada ou saída de gases e vapores, à permeação de lipídeos e à passagem de luz (MALI, 2010).

Dentre as propriedades de barreira, a permeabilidade ao vapor de água é a mais estudada em pesquisas envolvendo filmes comestíveis. Isso se deve ao fato de que é um teste de fácil realização e também porque a perda de umidade é um dos principais fatores relacionados à alteração da característica sensorial e tempo de estocagem do alimento (CUQ, 1996).

A permeabilidade ao vapor de água (WVP) é definida como a quantidade de vapor de água que permeia através de uma unidade de área de material com espessura conhecida em razão da diferença de pressão de vapor entre dois meios específicos. Os ensaios devem ser

realizados em temperatura e umidade relativa mantidos constante durante todo o experimento (GONTARD, 1994).

Filmes à base de polissacarídeos e de proteínas em geral apresentam altas taxas de WVP por serem muito solúveis em água. Já nos filmes constituídos por lipídeos, geralmente ocorre o oposto, devido ao caráter hidrofóbico dos componentes graxos. (GALUS, 2015) Dessa forma, a associação de materiais lipídicos em filmes hidrofílicos pode contribuir para a diminuição do WVP.

Segundo Garcia (2010), para que um material possa ser classificado como de alta permeabilidade ao vapor de água, o mesmo deve apresentar taxa de permeabilidade menor que $8 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{dia})$, e para ser considerado de altíssima WVP, precisa ter uma taxa menor que $0,8 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{dia})$.

Como mencionado anteriormente, filmes à base de proteínas podem apresentar valores de permeabilidade ao vapor de água elevados quando comparados aos tradicionais derivados do petróleo. Essa característica limita a aplicação de filmes de gelatina na área de produtos alimentícios, uma vez que a absorção de umidade pelo alimento pode acelerar o crescimento de microrganismos, dentre outras consequências. Por essa razão, no presente trabalho, os óleos essenciais de manjerona e pimenta-preta foram usados como componentes dos filmes, objetivando diminuir os valores de WVP.

2.1.1.2 Propriedades mecânicas

Outra propriedade muito requerida na área de embalagens é a que diz respeito ao desempenho mecânico. As propriedades mecânicas são definidas de acordo com a resposta do material às influências mecânicas externas em que são submetidos, podendo gerar deformações reversíveis ou irreversíveis. A resposta pode ser do tipo tensão ou deformação e depende da estrutura química do material polimérico, temperatura, tempo e condições de processamento do polímero (CANEVAROLO, 2002).

Existem vários tipos de ensaios utilizados para se conhecer o comportamento mecânico dos polímeros, podendo ser estáticos ou dinâmicos, destrutivos ou não-destrutivos, de curta duração ou longa duração, dentre outros. Na maioria deles são registradas as curvas de tensão *versus* deformação, em que se é possível obter as medidas de módulo de

elasticidade; tensão e deformação no escoamento; tensão máxima; tensão e deformação na ruptura; e a tenacidade (CANEVAROLO, 2002).

O teste mais utilizado para estudar a força mecânica dos filmes comestíveis é o teste de tração. Através desse ensaio obtém-se os valores de tensão na ruptura, a deformação sofrida até a ruptura e o módulo de elasticidade, que são as medidas de maior interesse para o material em questão.

Saber como o material responde mecanicamente é fundamental para determinar sua aplicação. Os filmes comestíveis serão manuseados juntamente com os produtos e, portanto, devem ser capazes de suportar tensões durante sua distribuição e comercialização, garantindo tanto a integridade da embalagem quanto a do produto por ele embalado. A figura 1 trás um exemplo de embalagem convencional de hambúrguer, representando a possível aplicação dos filmes, e com isso evidenciando a importância de propriedades mecânicas que possam suportar seu manuseio, mantendo tanto a integridade do filme, quanto do produto alimentício embalado.

Figura 1. Embalagem convencional de hambúrguer



Fonte: O Hamburguer Perfeito (2018).

O desempenho mecânico de cada material varia de acordo com a natureza dos seus constituintes, como já mencionado anteriormente. Quando se trata de filmes comestíveis, de maneira geral, aqueles à base de polissacarídeos e proteínas geralmente possuem propriedades mecânicas satisfatórias quando comparados aos filmes plásticos convencionais derivados de polímeros sintéticos. (VILLADIEGO, 2005) Entretanto, é possível ao combinar diferentes

tipos de materiais que constituem a matriz polimérica, obter filmes com propriedades mecânicas distintas, ampliando, assim, suas aplicações.

2.1.1.3 Propriedades antimicrobianas e antioxidantes

Nos últimos anos, a procura por alimentos saudáveis e que ofereçam maior qualidade e segurança para o consumo tem crescido. Diante disso, houve um maior interesse por parte da comunidade científica em desenvolver produtos que venham de encontro com esse novo perfil consumidor. Nos últimos anos, as embalagens biodegradáveis ativas têm se destacado, principalmente aquelas que apresentam propriedades antimicrobianas. (ESPITIA, 2014)

As embalagens ativas são projetadas com o objetivo de interagir com o alimento de forma a corrigir deficiências das embalagens passivas. Embalagem ativa pode então ser definida como aquela que, além da tradicional função de barreira inerte frente às influências externas, possui ainda alguma outra função na conservação dos alimentos. A embalagem ativa é, portanto, capaz de proteger, interagir, e em alguns casos, até “responder” a alterações das propriedades do alimento. (AZEREDO, 2000)

Nesse sentido, uma embalagem ativa com função antimicrobiana pode aumentar a vida útil do produto, uma vez que, além da função convencional de barreira física que evita a passagem de microrganismos, ela pode ainda conter compostos que ao serem liberados em seu interior, são capazes de diminuir os processos de deterioração podendo reduzir ou até mesmo inibir o crescimento microbiológico no alimento. (ESPITIA, 2014)

Para que a embalagem possa liberar um composto antimicrobiano, uma alternativa que vem sendo explorada é a adição de óleos essenciais com propriedades antimicrobianas juntamente com os componentes da matriz polimérica usada na produção dos filmes. Diante disso, o trabalho propõe a adição dos óleos essenciais de manjerona e pimenta-preta também com a intenção de se obter filmes comestíveis antimicrobianos.

Outra propriedade interessante e que impulsionou a escolha dos óleos essenciais de manjerona e pimenta-preta como componentes dos filmes está relacionada com a função antioxidante atribuída a esses óleos. Na área de alimentos, tal função, além de contribuir para a diminuição dos processos de degradação de produtos alimentares, pode ainda exercer função nutracêutica, devido ao fato de que a ingestão de agentes antioxidantes pode proporcionar benefícios à saúde do consumidor. (LEE, 2015)

2.1.1.4 Propriedades organolépticas

Os filmes comestíveis podem ser classificados como ingrediente alimentar quando possuem a função de melhorar a qualidade nutricional do alimento. Por possuírem essa dupla função, tanto de embalagem quanto de ingrediente, é necessário que apresentem propriedades organolépticas neutras, para não serem detectados durante a ingestão, ou, caso possuam algum sabor, não devem influenciar negativamente nas características sensoriais do produto por eles embalado (VILLADIEGO, 2005).

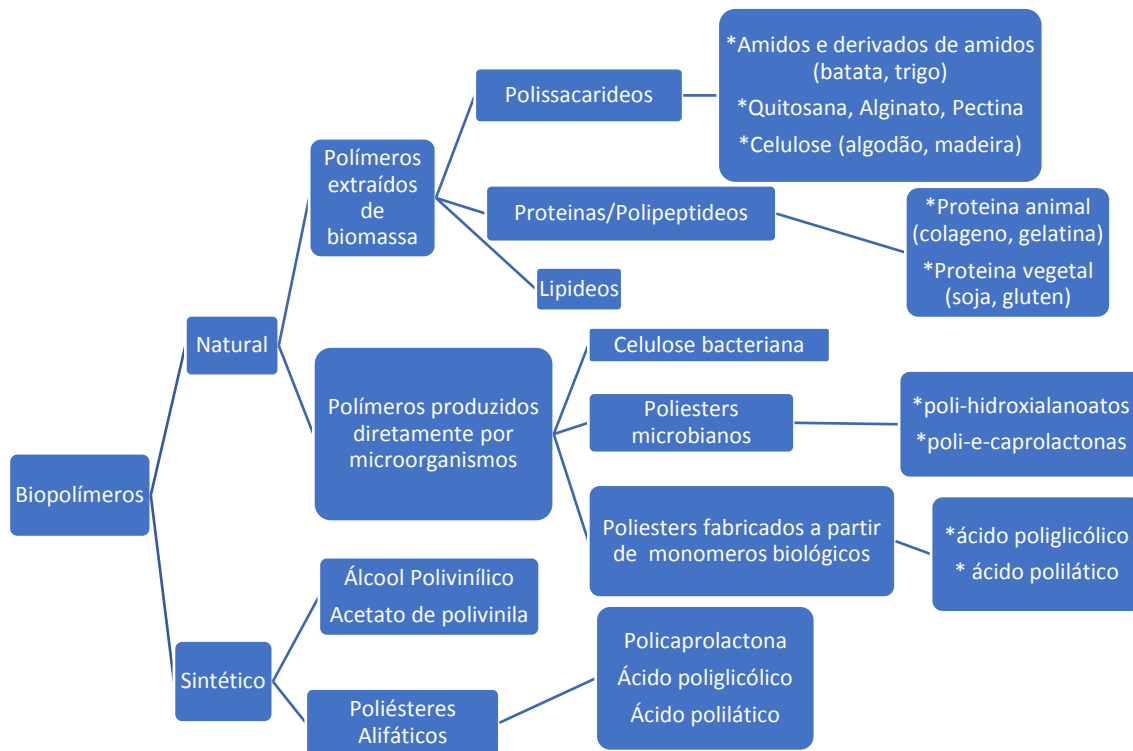
As propriedades organolépticas são aquelas distinguíveis pelos órgãos de sentido, referindo-se à cor, sabor e textura dos alimentos ingeridos. Essas propriedades influenciam diretamente na aceitação do produto pelo consumidor. Tanto a estabilidade físico-química quanto a manutenção das características sensoriais são de extrema importância para a atratividade e aceitabilidade de um alimento. (VILLADIEGO, 2005)

Dessa forma, diante do que foi exposto, a escolha dos componentes usados para a elaboração dos filmes deve ser pensada em termos de aplicação e aceitação global, de forma a agregar ou não influenciar no sabor e na textura do alimento no qual foi aplicado. Além disso, devido às funções mercadológicas da embalagem, estas não podem influenciar negativamente na aparência final do produto.

2.2 BIOPOLÍMEROS

Com o crescente aumento do interesse por materiais que não gerem danos ao meio ambiente, alternativas biodegradáveis têm sido amplamente exploradas. Polímeros que são extraídos de fontes renováveis, podendo ser sintéticos ou naturais, são conhecidos como biopolímeros, e atualmente são os principais e mais atrativos candidatos à substituição de polímeros de origem fóssil. Oriundos de fontes renováveis como proteínas e polissacarídeos, são extraídos da agricultura, fonte marinha, animal e microbiana; esses materiais podem ser degradados pelo meio ambiente, expostos a umidade do solo, microrganismos e oxigênio, por substâncias simples, como água e dióxido de carbono (NAZMI, 2017).

Os biopolímeros podem ser classificados em categorias conforme sua fonte, a figura 2 apresenta essa classificação.

Figura 2. Classificação dos biopolímeros

Fonte: Adaptado de Sharma (2018)

Apesar de suas vantagens, como já mencionado anteriormente, os biopolímeros podem apresentar deficiências em algumas de suas propriedades funcionais, como mecânicas, de barreira e térmicas, quando comparados a polímeros termoplásticos tradicionais. Para uma maior e mais variada aplicabilidade, tecnologias têm sido estudadas e implementadas, como por exemplo, a adição de uma carga manométrica (como argila ou nanoemulsões de óleos essenciais), dando origem aos chamados bionanocompositos, (ROUF, 2016)

2.2.1 Gelatina

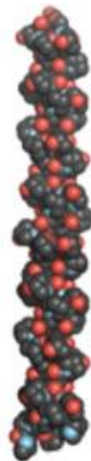
A gelatina é conhecida como o biopolímero de maior versatilidade do mercado, suas propriedades viscoelásticas, termoreversíveis e biocompatíveis, fazem dela de grande aplicabilidade na indústria de alimentos, farmacêutica, biomédica, de cosméticos e de fotografia. (ABEDINIA, 2018)

A matéria-prima para obtenção de gelatina pode ser encontrada em qualquer tecido animal que contenha colágeno, podendo ser ossos, cartilagem ou peles. Tais tecidos oriundos

de bovinos e suínos são as principais fontes de colágeno para a obtenção da gelatina, entretanto devido a razões socioculturais, pele de peixes e também aves tem sido utilizados como fontes alternativas á sua extração. (SILVA, 2011)

A gelatina é uma proteína derivada da hidrólise parcial do colágeno, e nada mais é do que o colágeno desnaturado, podendo ser obtida por processos químicos, enzimáticos ou térmicos. A desnaturação consiste na perda da estrutura tridimensional do colágeno, apresentada na figura 3, tendo como principais agentes de desnaturação: mudanças no pH (altera as interações eletrostáticas entre aminoácidos carregados); mudanças na concentração do sal – força iônica (devido à mesma razão) e mudanças na temperatura - altas temperaturas reduzem a força das ligações de hidrogênio (SENA, 2004)

Figura 3. Representação da estrutura tridimensional do colágeno



Fonte: Adaptado Liu (2019).

Esse processo de obtenção da gelatina consiste em três etapas: pré-tratamento da matéria-prima, extração da gelatina e purificação/secagem. A etapa denominada “pré-tratamento”, que nada mais é do que o processo da conversão de colágeno em gelatina, pode ocorrer por duas vias, sendo ela alcalina (Tipo B) ou ácida (Tipo A). (YOUNG, 2005)

A gelatina do tipo A é obtida através de um processo ácido que pouco afeta os grupo amida presentes (YOUNG, 2005), este por sua vez é principalmente utilizado para extração de gelatina de pele de suínos, pele de pescado e também de ossos. Conhecido por ser um tratamento que exige menor tempo, no processo ácido basicamente o material é acidificado para a coagulação de proteínas não-colagenosas e mucoproteínas do tecido, e então o excesso

de ácido é parcialmente neutralizado e o sal eliminado através das diversas trocadas de águas subsequentes, em seguida então é aquecido para desnaturar e solubilizar o colágeno. (SILVA, 2016)

A gelatina do tipo B, formada por tratamento alcalino, uma maior proporção de grupos amida se hidrolisam formando grupos carboxílicos carregados negativamente. (YOUNG, 2005) Conhecido como o processo utilizado para extração de gelatina de pele bovina, ossos e fontes de colágeno de animais relativamente velhos, o processo alcalino faz uso de hidróxido de cálcio saturado (*liming process*) sendo este trocado várias vezes durante o processo, podendo perdurar até três meses. Assim como no processo ácido, as ligações do colágeno são parcialmente separadas, e todas as proteínas não colagênicas ou outras substâncias são eliminadas, em seguida submetida a lavagens subsequentes afim de eliminar o sal residual e neutralizada com adição de ácido. Devido ao longo período de tempo envolvido no *liming process*, a adição de hidróxido de sódio pode ser adicionada para acelerar significativamente o processo, no entanto deve-se ter certa precaução para não ocorrer degradação excessiva. (SILVA, 2016)

Durante esse processo é formada uma rede assimétrica e solúvel em água, que foi obtida através da transformação das fibras do colágeno que anteriormente eram altamente organizadas e insolúveis em água. (SUDERMAN, 2018)

Diferentes tipos de gelatina podem ser obtidos em função da necessidade do mercado consumidor, tanto alterações no processamento, como mudanças de pH e mudanças de temperatura, quanto a origem da matéria-prima podem dar origem a diferentes tipos de gelatinas. Durante o processo de desnaturação do colágeno ocorre a quebra dos pequenos filamentos da estrutura tripla-hélice do colágeno sendo separadas umas das outras, onde ocorrem a variação dos tipos de gelatina, uma vez que podem ser obtidas com diferentes massas moleculares que variam em função do tipo de processamento e da fonte da matéria-prima (BORDIGNON, 2010).

2.3 ÓLEO ESSENCIAL

Óleos essenciais são líquidos oleosos aromáticos, obtidos de diversas partes das plantas (flores, folhas, sementes, frutas, madeira, raízes, brotos), contendo diferentes naturais componentes ativos, sendo estes os responsáveis pelas propriedades antimicrobianas e

antioxidantes de cada óleo essencial. Esses óleos podem ser obtidos por diferentes métodos de extração, como por exemplo, fermentação, destilação a vapor e enfleurage. (BURT, 2004; AMATISTE, 2014) A composição e as propriedades físico-químicas dos óleos essenciais são influenciadas por essas duas características mencionadas, ou seja, pela sua origem e pelo seu método de extração, diferenciando assim os óleos entre si. (FU, 2007)

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais está associada com os componentes terpenóides e fenólicos. Geralmente, o óleo essencial que contém altas concentrações de compostos fenólicos como carvacrol, eugenol e timol, mostram uma propriedade antibacteriana mais efetiva contra patógenos de origem alimentar. (YAHYAOU, 2016)

Os óleos essenciais são compostos por uma grande quantidade de componentes, e sua atividade antimicrobiana não pode ser confirmada pela ação de apenas um componente. (BAJPAI, 2012) Alguns pesquisadores têm proposto que a ação microbiana dos óleos essenciais deve ser atribuída pela sua habilidade de penetrar através da membrana celular para o interior da célula, exibindo atividade inibitória sobre as propriedades funcionais da célula, e suas propriedades lipofílicas. (BAJPAI, 2012; MUTHIAH, 2017; FISHER, 2009)

Estudos realizados com os óleos essenciais de Alecrim, Murta e Tomilho, relataram uma composição que inclui uma mistura de eucaliptol, α -pineno, cânfora, limoneno, carvacrol, timol, componentes os quais representam principais constituintes da ação antimicrobiana desses óleos; sugere-se que são esses componentes que podem destruir a membrana exterior da célula de muitos tipos de bactérias. Além da atividade antimicrobiana desses óleos essenciais também foi relatado efeito antioxidante, protegendo muitos produtos de muitos processos de oxidação. (MURIEL-GALET, 2015; MUTHIAH, 2017)

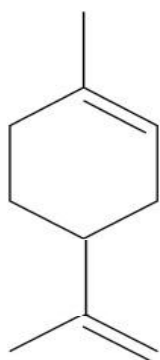
2.3.1 Óleo essencial de pimenta-preta

A pimenta preta, *Piper nigrum L.*, conhecida como a “rainha das especiarias”, é a mais comum especiaria utilizada ao redor do mundo devido ao seu valor comercial, econômico, nutricional e medicinal. Sua semente é comumente utilizada para agregar sabor e odor em alimentos, enquanto seu óleo essencial tem uma significativa função no processamento de alimentos, na saúde, e prevenção ou inibição de patógenos alimentar devido suas propriedades antioxidantes (SINGH, 2004) e antimicrobianas (DORMAN, 2000). Além de ser utilizada na

produção de perfumes, inseticidas, como componente medicinal na indústria farmacêutica, e como ingrediente de muitas receitas ocidentais e orientais. (RAKMAI, 2017)

O óleo essencial de pimenta preta é composto basicamente de terpenos, sendo esses, β -cariofileno, limoneno, delta-3-carene e pineno (MENON, 2002). O óleo essencial de pimenta preta utilizado nesse trabalho, de acordo com o fabricante, foi obtido através da destilação a vapor dos frutos, tendo como seu principal componente o limoneno. A figura 4 apresenta a estrutura química do limoneno.

Figura 4. Estrutura química do limoneno



Fonte: Adaptado Gerchman (2019).

O limoneno também é um dos principais componentes em frutas cítricas como, limão, laranja e grapefruit (BACANLI, 2015). O limoneno é listado no GRAS, sigla em inglês para “Generally recognized as safe”, ou “geralmente conhecido como seguro”. (FU, 2007) É um aditivo comumente empregado em produtos alimentícios, sabões e perfumes, além de ser utilizado como prevenção de doenças gástricas, e também estudado efeitos antiproliferativos em diversos tipos de células cancerígenas. (BACANLI, 2015)

Os constituintes com ação antioxidante encontrados no óleo essencial de pimenta preta incluem *p*-cimeno, α -terpineno-4-ol, e piperina, enquanto α -pineno, β -pineno, δ -3-careno, limoneno, e α -terpineno-4-ol, são responsáveis pela inibição do crescimento bacteriano. (BREWER, 2011)

Alguns componentes do óleo essencial são sensíveis a modificações químicas sobre efeito de fatores externos como, temperatura, luz e oxigênio, por exemplo, podendo assim ter sua composição alterada durante o processo de extração empregado. Assim, quando aplicado

no processamento de alimentos, uma sutil alteração em sua composição pode levar a mudanças drásticas na aceitação sensorial do alimento. (ABDULAZEEZ, 2015)

Alguns estudos já vêm relatando resultados positivos quanto aplicação de óleos essenciais em matriz polimérica como agentes naturais de conservação e preservação de alimentos. FIGUEROA-LOPEZ (2018), em um estudo com incorporação de óleo essencial de pimenta preta em matriz polimérica de gelatina obteve inibição dos patógenos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

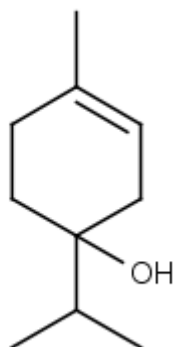
2.3.2 Óleo essencial de manjerona

O gênero *Origanum* (*Lamiaceae*) inclui 23 espécies, são conhecidas por suas propriedades aromáticas, e são amplamente utilizadas como desinfetantes, agente flavorizantes e perfumes. (ERENLER, 2016) A *Origanum majorana* L., ou manjerona, uma dessas espécies citadas, é uma planta perene e herbácea que cresce naturalmente em áreas do Egito e países no leste mediterrâneo. O óleo essencial de manjerona, também conhecido como manjerona-doce, é largamente utilizado como especiaria e condimento. Uma de suas principais aplicações é a utilização de seus compostos voláteis como saborizante na indústria de alimentos, além de ter seu óleo empregado na indústria de perfume como notas herbáceas (VERA, 1999).

Dentre um variado número de ervas e especiarias (folhas de louro, alecrim, sálvia, orégano, canela, salsa, manjerição doce e mente), a manjerona possuem a mais alta proporção de compostos fenólicos simples, cerca de 96% (MUCHUWETI, 2007).

O óleo essencial de manjerona utilizado nesse trabalho, segundo o fabricante, foi extraído a partir da destilação a vapor das folhas, seus principais componentes são terpineno-4-ol (22%), sabineno (16%) e γ -terpineno (13%). A estrutura do seu principal componente (terpineno-4-ol), esta representada na figura 5.

Figura 5. Estrutura química do terpineno-4-ol



Fonte: Adaptado de Brophy (1989)

Terpineno-4-ol é um isômero de terpineol, é conhecido por possuir efeito antimicrobiano e antifúngico. Terpineno-4-ol é considerado o principal ingrediente ativo do óleo essencial de melaleuca, e também é encontrando em grandes concentrações no óleo essencial de noz-moscada e manjerona. (HAMMER, 2011)

O óleo essencial de manjerona possui atividade antimicrobiana (FRATINI, 2014; FREIRE, 2011; VALERIANO, 2012), antifúngica (SANTIN, 2014), inseticida (FREIRE, 2011) e também antioxidante (JUN, 2001). Alguns estudos têm relatado que a atividade antimicrobiana do óleo essencial de manjerona está associada aos compostos fenólicos presentes, como timol e carvacrol. (NEDOROSTOVA, 2009).

Em seu estudo Lee (2015), incorporou óleo essencial de manjerona em filmes poliméricos a base de proteína de frango, obtendo resultados positivos quanto à inibição de microrganismos e atividade antioxidante, indicando potencial uso como embalagens ativas, reduzindo o uso de antioxidantes e antimicrobianos sintéticos.

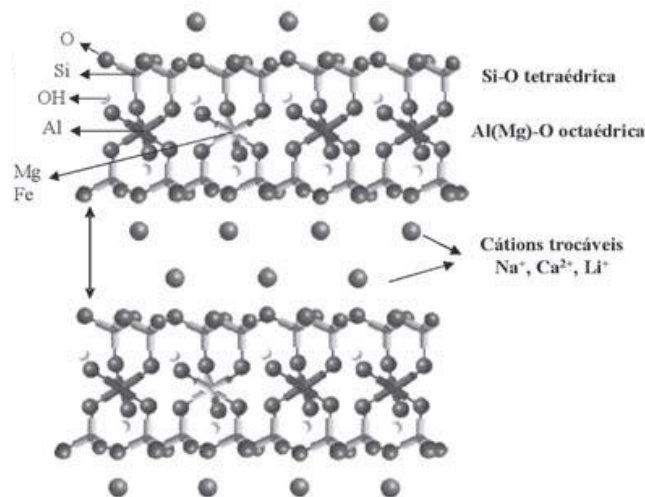
2.4 Cloisite Na⁺

O termo “argila” refere-se à classe de materiais geralmente constituídos de camadas de silicatos ou argilomineral com traços de óxidos metálicos e matéria orgânica. Argilas minerais, normalmente cristalinas, são filosilicatos de alumínio hidratado algumas vezes com quantidades variáveis de ferro e magnésio, metais alcalinos, alcalinos terrosos e outros cátions (KLOPROGG, 1998).

Bentonita é uma terminologia tecnológica aplicada a argilas com granulação muito fina composta essencialmente por minerais do grupo das esmectitas, sendo mais comum a Montmorilonita. A montmorilonita, também chamada esmectita, recebeu esse nome por Knight, que a identificou em 1896 na região de Montmorillon na França; sendo esta, o argilomineral mais abundante entre as esmectitas. O tamanho de suas partículas pode variar de 2µm a 0,1µm e formato de placas ou lâminas. Pertencente à família 2:1 silicatos em camadas (ou filossilicatos), cujas placas são caracterizadas por estruturas constituídas por duas folhas tetraédricas de sílica com uma folha central octaédrica de alumina, que são unidas entre si por átomos de oxigênio comuns a ambas as folhas. (PAIVA, 2008; SOUZA, 2018)

Entre essas placas existem lacunas (gaps), chamados de galerias ou camadas intermediárias onde residem cátions trocáveis como Na^+ , Ca^{2+} , Li^+ , que são fixados eletrostaticamente e tem a função de compensar cargas negativas geradas por substituições isomórficas que ocorrem no reticulado. O empilhamento dessas placas é regido por forças polares relativamente fracas e por forças de van der Waals. (PAIVA, 2008) Essa estrutura pode ser observada na figura 6.

Figura 6. Estrutura da Montmorilonita



Fonte: Paiva (2008).

Presente naturalmente em rochas vulcânicas, a Montmorilonita é um material inorgânico de baixo custo e ampla disponibilidade, o que a torna amplamente aplicada nos ramos da indústria, ciência e engenharia. No ramo da indústria e engenharia ela é aplicada no processo de extração de petróleo, cerâmica e indústria de papel. Já na ciência ela é

comumente aplicada como catalisador, agentes de descoloração e adsorventes, (KOTAL, 2015)

Desde o final do século passado, a descoberta de várias argilas e de seu uso sempre em expansão em uma variedade de aplicações resultou em desenvolvimento contínuo na ciência de polímero e nanotecnologia. (KLOPROGGE, 1998) A alta disponibilidade, baixo custo e boa resistência mecânica, têm apontado as argilas, em especial a montmorilonita, como um potencial reforço em bioplásticos na formação de bionanocompósitos. (SOUZA, 2018)

Alguns estudos têm sido desenvolvidos na aplicação de argilas em filmes poliméricos para embalagens de alimentos, obtendo resultados satisfatórios não somente no que se diz respeito a propriedades mecânicas, bem como em relação a permeabilidade de vapores e gases e até mesmo quanto a hidrofobicidade e hidroflicidade do material e resistência do material (SOUZA, 2018; ALEXANDRE, 2016; FERNANDO, 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como objetivo preparar filmes biodegradáveis baseados em gelatina e incorporados com nanoemulsão de óleo essencial de pimenta-preta e óleo essencial de manjerona, reforçados com cloisite Na^+ , visando se obter um filme com melhores propriedades de barreira, mecânicas e hidrofobicidade satisfatória, bem como agregar propriedades organolépticas para potencial uso como embalagem para hambúrguer, prorrogando a vida útil do alimento.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a)** Avaliar a influência da velocidade de rotação na produção de nanoemulsão, visando descobrir a melhor forma da produção das nanoemulsões;
- b)** Caracterizar as nanoemulsões pela determinação do diâmetro médio;
- c)** Preparar dispersão de cloisite Na^+ para serem usadas como agente de reforço em filmes à base de gelatina e nanoemulsões de óleo essencial;
- d)** Caracterizar as nanoestruturas da dispersão pela determinação do potencial zeta e diâmetro médio;
- e)** Desenvolver e padronizar a síntese dos filmes definindo as melhores concentrações de gelatina, nanoemulsões dos óleos essenciais e da dispersão de cloisite Na^+ ;
- f)** Caracterizar os filmes quanto suas propriedades de barreira a vapor de água, mecânicas, térmicas, superficiais quanto ao ângulo de contato, cristalográficas e morfológicas.

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 MATERIAL

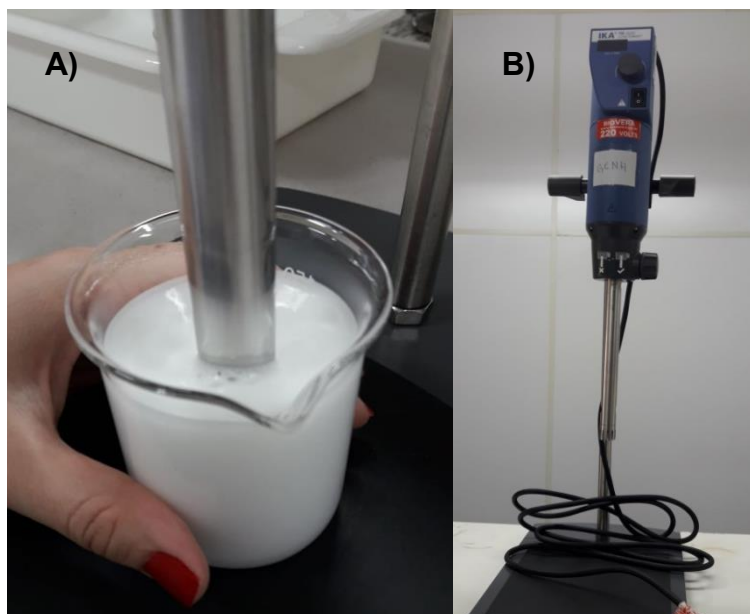
Gelatina em pó incolor (Royal[®]) (tipo B), óleo essencial de pimenta-preta (Ferquima, Vargem Grande Paulista – SP), óleo essencial de manjerona (Ferquima, Vargem Grande Paulista – SP), tensoativo Tween[®] 80 (São Paulo – SP), cloisite Na⁺.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Preparo das nanoemulsões

As nanoemulsões foram produzidas a partir da adição de óleo essencial de pimenta-preta, óleo essencial de manjerona e Tween 80[®] em água destilada; estas foram agitadas em um homogeneizador T25 Ultra-Turrax[®] (IKA[®] Werke GmbH & Co, Staufen, Germany), como representado na Figura 7 em diferentes velocidades de rotação e tempo, conforme Tabela 1.

Figura 7. A) Suspensão de óleo essencial e Tween 80[®] sendo agitada no Ultra-Turrax[®]. **B)** Equipamento T25 Ultra-Turrax[®]



Fonte: Próprio autor.

As concentrações utilizadas em cada amostra foram previamente estudadas e definidas por Pires (2016), que por sua vez obteve melhores propriedades para nanoemulsões produzidas com concentrações iguais 1% e 0,75% para óleo essencial e Tween 80[®], respectivamente, sendo tais concentrações uma relação de massa dos componentes por volume total da solução.

Tabela 1 – Velocidade de rotação e tempo utilizados no preparo das nanoemulsões.

Amostra	Velocidade de rotação (rpm)	Tempo (minutos)
P1	12000	2
P2	15000	2
P3	12000	5
P4	15000	5
M1	12000	2
M2	15000	2
M3	12000	5
M4	15000	5

Fonte: Próprio autor.

4.2.2 Preparo da dispersão de argila

A dispersão de nanoargila foi preparada a partir da adição de cloisite Na⁺ em água destilada, sendo utilizado 1% de massa de argila em relação ao volume total da dispersão. A dispersão primeiramente foi mantida em agitação magnética por 30 minutos para completa dissolução e em seguida exposta a 5 ciclos de 1 minuto a 50% de amplitude em ultrassom de ponta (Figura 8) a fim de se obter possível esfoliação da argila.

Figura 8. Ultrassom de ponta utilizado para a dispersão da cloisite Na⁺



Fonte: Próprio autor.

4.2.3 Preparo das dispersões filmogênicas

Foram obtidas, no total, doze dispersões filmogênicas para posterior formação de filmes, conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Siglas utilizadas para cada filme preparado

Siglas	Composição da matriz polimérica
GE	Gelatina 5%
GEP1	Gelatina 5% + nanoemulsão P1*
GEP2	Gelatina 5% + nanoemulsão P2*
GEP3	Gelatina 5% + nanoemulsão P3*
GEP4	Gelatina 5% + nanoemulsão P4*
GEM1	Gelatina 5% + nanoemulsão M1*
GEM2	Gelatina 5% + nanoemulsão M2*
GEM3	Gelatina 5% + nanoemulsão M3*
GEM4	Gelatina 5% + nanoemulsão M4*
GEDA	Gelatina 5% + dispersão argila
GEP4DA	Gelatina 5%+ nanoemulsão P4* + dispersão argila
GEM4DA	Gelatina 5%+ nanoemulsão M4* + dispersão argila

Nota: * Nanoemulsões descritas na Tabela 1

Fonte: Próprio autor.

De acordo com a Tabela 2, as letras **GE** indicam o polímero *gelatina* utilizado, as letras **P1, P2, P3, P4, M1, M2, M3** e **M4** representam as nanoemulsões usadas, previamente descritas na Tabela 1, e as letras **DA** indicam a presença da dispersão de argila. Desse modo, as siglas são, portanto, constituídas dos componentes presentes no filme polimérico em questão.

Como pode ser observado na Tabela 2, todos os filmes foram formados a partir da adição de 5% de massa de polímero em pó em relação ao volume total da solução. No caso do filme controle, denominado GE, a dissolução do polímero se deu diretamente em água destilada. Já nas demais soluções, o polímero foi disperso diretamente na dispersão de nanoemulsões e demais dispersões previamente preparadas. Todas as dispersões filmogênicas foram submetidas à agitação magnética e mantidas a 60°C até completa dissolução da gelatina.

Os filmes poliméricos foram preparados pelo método de *casting*, que consiste na deposição de uma suspensão coloidal sobre um suporte de poliéster, ocorrendo secagem do material em condições específicas e controladas. No presente estudo foi estabelecido o período de 24 horas como tempo total de secagem sob temperatura ambiente ($33 \pm 5^\circ\text{C}$). Para fins de padronização, 50 mL das dispersões filmogênicas foram depositadas sobre suporte retangular de 15 cm x 20 cm. Previamente às caracterizações, as amostras foram acondicionadas em dessecador contendo sílica pelo período de 48h à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ em umidade relativa constante de $50 \pm 2\%$.

4.2.4 Caracterizações

4.2.4.1 Caracterizações das nanoemulsões

As suspensões obtidas foram avaliadas visualmente quanto à presença de sedimentos ou não, opalescência e homogeneidade, verificando se havia ou não separação de fase após certo período de repouso.

4.2.4.1.1 Determinação de tamanho médio

As análises de determinação de tamanho médio de partícula presente nas nanoemulsões foram realizadas por meio da técnica de Espalhamento Dinâmico da Luz (DLS, Dynamic Light Scattering) utilizando o equipamento Zetasizer Nano Series (Malvern Instruments Ltd. Malvern, Worcestershire, U.K.).

4.2.4.2 Caracterizações da dispersão de argila

A dispersão obtida foi avaliada visualmente quanto à presença de sedimentos ou não, opalescência e homogeneidade, verificando se havia ou não separação de fase após certo período de repouso.

4.2.4.2.1 Determinação de tamanho médio e potencial zeta

As análises de determinação de tamanho médio de partícula presente na dispersão e potencial zeta (ζ) foram realizadas por meio da técnica de Espalhamento Dinâmico da Luz (DLS, Dynamic Light Scattering) utilizando o equipamento Zetasizer Nano Series (Malvern Instruments Ltd. Malvern, Worcestershire, U.K.).

4.2.4.3 Caracterizações dos filmes

4.2.4.3.1 Análise Subjetiva

À princípio, os filmes foram avaliados visualmente de forma subjetiva, seguindo critérios definidos por Gontard (1991) apud Monterrey (1999), sendo subdividido em três parâmetros: manuseabilidade, ou seja, se o filme poderia ou não ser manuseado sem que houvesse ruptura do material; continuidade, isto é, ausência de fraturas ou rupturas após a secagem; e por fim, quanto à homogeneidade, sendo esta última, a ausência ou não de partículas insolúveis, presença de bolhas ou cores distintas, ou até mesmo, variação da transparência ao longo da área do material.

Os filmes foram classificados de acordo com um padrão que foi definido como, ●●● excelente, ♦♦ bom e ■ deficiente.

4.2.4.3.2 Espessura dos filmes

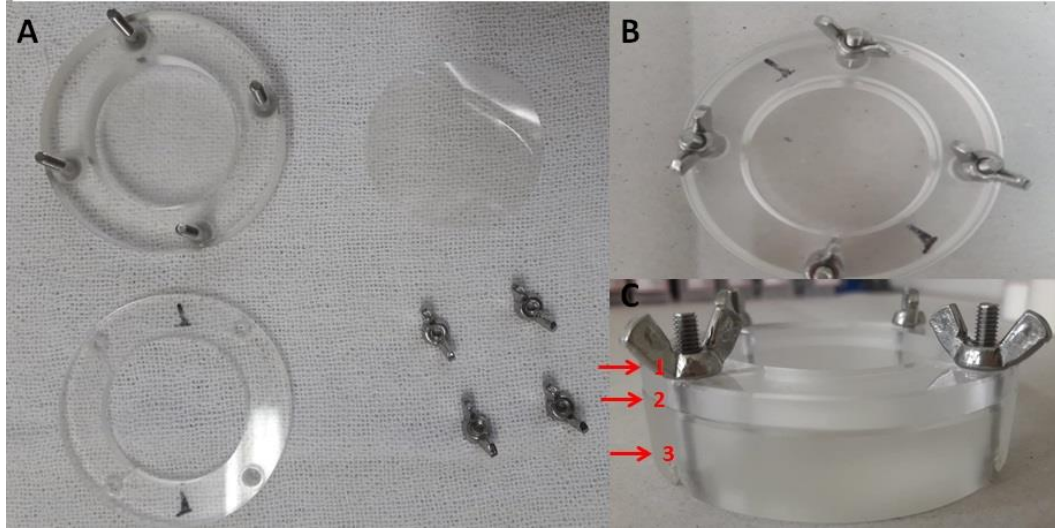
Para obtenção das medidas de espessuras dos filmes foi utilizado um micrômetro digital (No. 7326, Mitutoyo Corp., Kanogawa, Japan) apresentando precisão de 0,001 mm; as medidas foram realizadas em 5 pontos distintos de área dos filmes, a espessura média obtida foi utilizada para a obtenção dos resultados de permeabilidade ao vapor de água e propriedades mecânicas.

4.2.4.3.3 Permeabilidade ao vapor de água (WVP)

Os valores de permeabilidade ao vapor de água (WVP) foram obtidos baseando-se no método gravimétrico modificado ASTM E96-80, descrito na literatura por Espitia (2014)

Amostras do material foram cortadas em formato circular com diâmetro de 6 cm e em seguida fixadas em células de permeabilidade padronizadas de Teflon[®]. Nas células continha 6 mL de água destilada em seu interior, para promover um aumento da umidade relativa, propiciando uma diferença de umidade entre o interior da célula e o meio externo, em que os filmes atuassem então como barreiras semipermeáveis entres esses dois ambientes. Esse sistema utilizado está representado na Figura 9.

Figura 9. A) Célula de Teflon[®] utilizada para análise de WVP desmontada B) Célula de Teflon[®] utilizadas para análise de WVP montada C) Célula de Teflon[®] utilizada para análise de WVP vista lateralmente.



Fonte: Próprio autor.

Após serem preparadas, conforme descrito anteriormente, as células foram colocadas em estufa a $25 \pm 5^\circ\text{C}$ e umidade relativa interna igual a $50 \pm 5\%$, sendo mantidas nessas condições de armazenamento por um período de 24 horas. Para a determinação da água permeada através dos filmes foram realizadas medidas periódicas da massa das células usando balança analítica.

A partir da variação da massa das células por unidade de tempo e conhecendo-se os valores das espessuras dos filmes foi possível o cálculo tanto da velocidade de transmissão do vapor de água (WVTR), bem como da permeabilidade ao vapor de água (WVP) por meio das equações (1) (2) e (3), descritas a seguir.

$$\text{Velocidade de transmissão do vapor de água (WVTR)} = \frac{\text{perda de massa por tempo}}{\text{área do filme}} \quad (1)$$

$$WVTR = \frac{mw.P.D.ln\left[\frac{(P-P_2)}{(P-P_1)}\right]}{R.T.z} \quad (2)$$

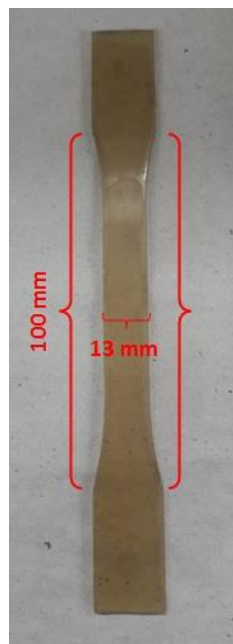
$$WVP = \frac{WVTR}{(P_2-P_3)} \cdot y \quad (3)$$

Sendo m_w a massa molar da água (18g.mol^{-1}); D a difusividade do vapor de água pelo ar a 298 K ($0,102\text{ m}^2.\text{s}^{-1}$); P a pressão total (1 atm); R a constante dos gases ($82,1 \times 10^6\text{ m}^3\text{ atm/g mol K}$), z a altura média que o gás inerte atinge; P_1 a pressão de vapor a 298K; P_2 a pressão parcial de vapor da parte inferior do filme; P_3 é a pressão parcial de vapor da parte superior do filme e y a espessura média dos filmes.

4.2.4.3.4 Propriedades mecânicas

Para a caracterização de propriedades mecânicas dos materiais fez-se uso do equipamento Instron Universal Testing Machine (Modelo 3369, Instron Corp., Canton, Mass., U.S.A.), operando com célula de carga de 100N e velocidade de tracionamento de 10 mm/min. Para avaliação dos atributos mecânicos de tensão na ruptura (σ) e percentual de deformação até a ruptura (deformação - ϵ). Os corpos de prova foram submetidos a ensaio de tração, através do qual foi possível obter curvas de tensão x deformação. Para tal, os corpos de prova foram cortados de acordo com as dimensões exigidas pela norma ASTM D882-97, possuindo 100 mm de comprimento e 13 mm de largura, como mostrado na Figura 10. Para cada amostra foram elaborados de 15 corpos de prova.

Figura 10. Molde para corte de corpo de prova com dimensões específicas



Fonte: Próprio autor.

A determinação de tensão na ruptura (σ_r) dos filmes foi feita por meio da equação 5, em que F é valor da carga máxima que o corpo suporta (valor obtido experimentalmente) e S é a área seccional original do filme.

$$\sigma = F/S \quad (5)$$

Para obter os valores de deformação na ruptura (ε) dos filmes, utilizou-se a equação 6 sendo que L_0 o comprimento inicial da região útil e L o comprimento da região útil do corpo de prova no instante a ser medida a deformação.

$$\varepsilon = \ln(L/L_0) \cdot 100 \quad (6)$$

4.2.4.3.5 *Análise Termogravimétrica (TG)*

As análises termogravimétricas foram realizadas a partir do equipamento TA Instruments TGA Q-500, onde cerca de 5-6 mg da amostra foi pesada e submetida a uma rampa de aquecimento programada de 20°C a 600°C com razão de aquecimento de 10°C/min, com vazão de gás de nitrogênio de 40 mL/min.

4.2.4.3.6 *Difração de raios-X (DRX)*

A fim de caracterizar e avaliar a conformação das plaquetas da nanoargila dispostas na matriz polimérica fez-se uso da técnica de difração de raios-x. O difratômetro de raios-X marca Shimadzu modelo XDR-6000, localizado na UNESP, Câmpus de Ilha Solteira, foi o equipamento utilizado para a obtenção dos espectros de difração, seguindo os seguintes parâmetros: fonte de raios-X de Cu; $\lambda = 0,154$ nm; voltagem = 30kV; corrente = 40mA; intervalo angular de 4 – 50° e velocidade de varredura de 1°/min.

4.2.4.3.7 Ângulo de Contato

A medida de ângulo de contato (θ) é um importante parâmetro para a caracterização superficial dos filmes, podendo avalia-los quanto a hidrofobicidade ou hidrofiliabilidade de suas respectivas superfícies. Para a obtenção das medidas de ângulo de contato fez-se uso do medidor de ângulo de contato (KSV Instruments – Helsinki, Finlândia), localizado na Embrapa Instrumentação de São Carlos - SP. Para proceder com a análise, uma gota (5-9 μL) do líquido padrão (água Mili-Q) foi depositada sobre a superfície do filme com o auxílio de uma seringa de precisão, sendo realizadas cinco repetições a 25 °C para cada filme. Em um intervalo de tempo de 60 segundos foi calculado o valor do ângulo de contato através da média dos ângulos dos dois lados da gota.

4.2.4.3.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As análises morfológicas dos filmes, tanto superficiais, quanto as de fraturas criogênicas foram obtidas por meio de um microscópio eletrônico de varredura (MEV) computadorizado da marca ZEISS modelo EVO LS15, da UNESP, Câmpus de Ilha Solteira, operando com voltagem de 5,00 kV a 10,00 kV. As amostras foram fixadas no *stub* com fita de carbono dupla face; sobre as amostras foi depositado uma fina camada de ouro utilizando um *Sputter Coater* (metalizador) da marca Quorum, modelo Q150T.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOEMULSÕES

5.1.1 Determinação de tamanho médio

Emulsões são dispersões de no mínimo dois líquidos imiscíveis em que um fica disperso no outro em forma de gotículas. Por não se formarem espontaneamente, é necessário o fornecimento de energia para que sejam formadas, sendo considerado um sistema termodinamicamente instável. Comumente, o tamanho de uma gotícula em uma emulsão convencional é maior que 1 μm e isso faz com que essas gotículas sejam susceptíveis à força da gravidade, e consequentemente são mais instáveis. (FERNANDEZ, 2004)

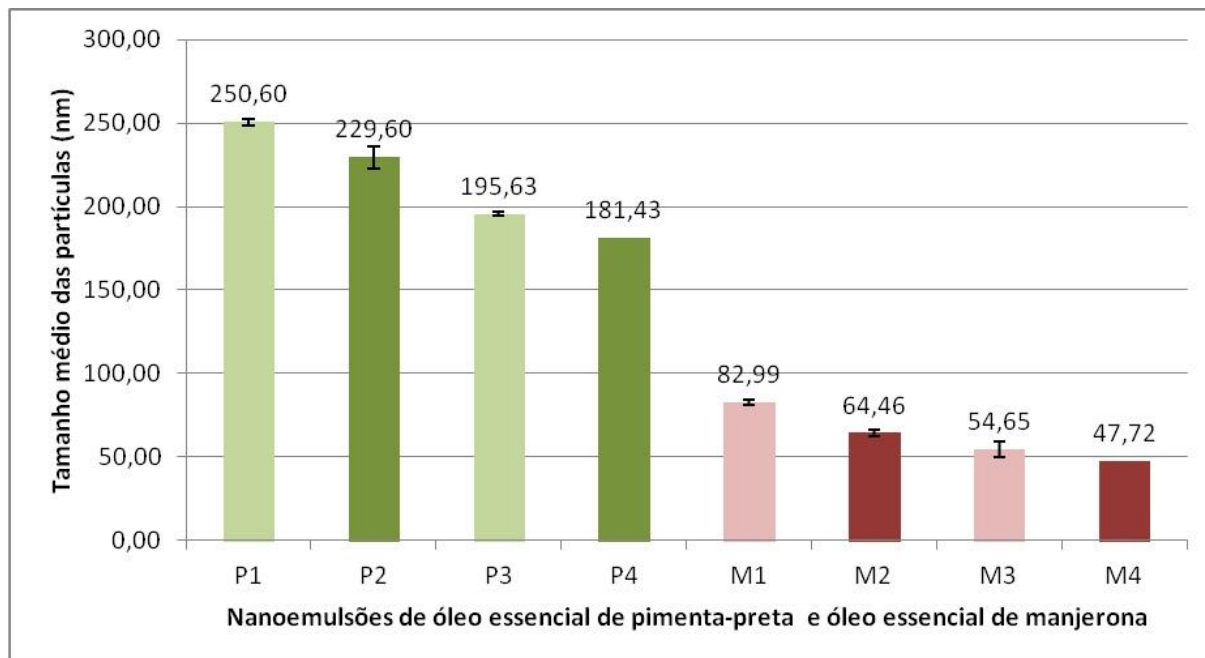
Diferente das emulsões, as nanoemulsões (20 a 500 nm) são consideradas metaestáveis, isto é, apresentam estabilidade por um longo período de tempo. Isso está diretamente relacionado a sua estrutura micelar, e é dependente da metodologia de preparo, dos seus constituintes, bem como da estabilização estérica produzida pela presença de agente tensoativos. Os tensoativos são capazes de diminuir a tensão interfacial e de formar um filme interfacial esférico com propriedades eletrostáticas em torno dos glóbulos da fase interna. (CAPEK, 2004)

Com base nessas informações, sabe-se que o tamanho de partícula é um dos parâmetros fundamentais para a caracterização de uma nanoemulsão.

Todas as nanoemulsões obtidas foram primeiramente submetidas à avaliação visual, onde se apresentaram estáveis após serem produzidas, isto é, opalescentes, sem separação de fases ou precipitação.

Na Figura 11, para melhor visualização, as colunas em tons de verde representam as nanoemulsões preparadas com óleo essencial de pimenta-preta, e as colunas nos tons de vermelho representam as nanoemulsões preparadas com óleo essencial de manjerona. Os tons mais claros para ambas as cores indicam uma menor rotação utilizada (12000 rpm), e o tons mais escuros, maior velocidade de rotação utilizada (15000 rpm). Vale ressaltar também que **P1**, **P2**, **M1** e **M2** foram submetidas a um menor tempo de preparo (2 minutos), e **P3**, **P4**, **M3** e **M4**, a um maior tempo (5 minutos). As barras de erro no topo das colunas reproduzem o desvio-padrão.

Figura 11. Comparativo dos valores de tamanho médio de partícula das nanoemulsões dos óleos de pimenta-preta e manjerona



Fonte: Próprio autor.

A partir da Figura 11 pode-se observar a influência direta tanto do tempo quanto da velocidade de rotação no tamanho de partícula formado. Tomando como base duas nanoemulsões preparadas com o mesmo intervalo tempo, porém com velocidade de rotação diferentes, como é o caso de **P1** e **P2** ou **M1** e **M2**, nota-se um decréscimo no tamanho de partícula em relação aquela submetida a uma maior rotação. O mesmo foi observado por Pires (2016) para os óleos de copaíba, limão e melaleuca. De igual modo, quando se observa o oposto, isto é, mantendo-se a velocidade de rotação e variando o tempo, também pode ser notado um decréscimo quanto ao tamanho das partículas, como entre **P2** e **P4** ou **M2** e **M4**.

Assim, pode-se dizer que os dois fatores - tempo e velocidade de rotação - corroboram para a formação de nanoemulsões com menores tamanho de partícula, sendo essas variáveis inversamente proporcionais ao tamanho das estruturas formadas. Segundo Fernandez (2004), a alta energia fornecida para a formação de nanoemulsões faz com que ocorra uma grande incidência de colisão entre as partículas, fazendo com que essas choquem entre si e formem gotículas menores ainda. Desse modo, justifica-se a formação das menores nanoestruturas, tanto para o óleo essencial de pimenta-preta, quanto para óleo essencial de

manjerona, (denominadas **P4** e **M4**), em maior tempo e velocidade de rotação no preparo, já que nessas condições ocorre uma alta taxa de cisalhamento.

Outro fator facilmente observado na Figura 6 é a grande diferença obtida para o tamanho de partícula para os diferentes óleos. Analisando duas nanoemulsões preparadas com mesmo tempo e velocidade de rotação, porém com óleos diferentes, como no caso de **P4** e **M4**, é possível observar uma diferença significativa de tamanho de gotícula. O mesmo pode ser observado para todos os demais preparos em iguais condições, como em **P1** e **M1**, **P2** e **M2**, e **P3** e **M3**. Possivelmente esse fato se deu devido à estrutura química do óleo.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DA DISPERSÃO DE ARGILA

5.2.1 Determinação de tamanho médio e potencial zeta

O potencial zeta consiste na diferença de potencial entre a superfície de íons fortemente ligados à superfície da partícula e uma região neutra (não carregada) da solução, onde há uma diferença significativa de viscoelasticidade quando comparada à solução adjacente aos glóbulos. Quando o potencial zeta é de 30 mV (em módulo) ou maior, a força repulsiva da dupla camada é maior do que a força atrativa de van der Waals, evitando, assim, uma possível floculação. Um valor elevado e negativo do potencial zeta é importante para a estabilidade físico-química da emulsão, pois as forças repulsivas entre as gotículas evitam a floculação (BENITA, 1993).

Após o processo de dispersão já descrito anteriormente, o potencial zeta médio obtido para a argila foi igual a $-34,8 \pm 1,5$, o valor negativo indica força de repulsão eletrostática entre as partículas. O alto valor de potencial zeta (em módulo) indica uma alta estabilidade da dispersão coloidal aquosa de montmorilonita (CHEN, 2006). Já o tamanho de partícula obtido foi igual a $309,6 \pm 1,9$ valor superior aos obtidos para as partículas de nanoemulsão de óleos essenciais.

Ambos os resultados obtidos, tanto de potencial zeta, quanto para tamanho de partícula foram similares aos obtidos por Flaker (2015), que estudou métodos de dispersão de montmorilonita para agregação em filmes a base de gelatina.

5.3 CARACTERIZAÇÕES DOS FILMES

5.3.1 Análise subjetiva

A primeira avaliação a qual os filmes foram submetidos diz respeito a uma análise subjetiva desse material, ou seja, uma avaliação qualitativa que serve de parâmetro inicial para o direcionamento das caracterizações e melhor avaliação do material.

Três principais aspectos foram avaliados, sendo esses, manuseabilidade, continuidade e homogeneidade, de acordo com os critérios já descritos anteriormente. A Tabela 3 traz de forma simplificada os resultados obtidos.

Tabela 3. Resultados da avaliação subjetiva dos filmes

Filmes	Manuseabilidade	Continuidade	Homogeneidade
GE	●●●	●●●	●●●
GEP1	●●●	●●●	●●●
GEP2	●●●	●●●	●●●
GEP3	●●●	●●●	●●●
GEP4	●●●	●●●	●●●
GEM1	●●●	●●●	●●●
GEM2	●●●	●●●	●●●
GEM3	●●●	●●●	●●●
GEM4	●●●	●●●	●●●
GEDA	◆◆	●●●	◆◆
GEP4DA	◆◆	●●●	◆◆
GEM4DA	◆◆	●●●	◆◆

Nota: ●●● excelente, ◆◆ boa, ■ deficiente

Fonte: Próprio autor.

Conforme pode ser observado na Tabela 3, todos os filmes obtidos mostraram-se contínuos, sem fraturas ou rupturas, e com ausência de partículas insolúveis ou zonas diferenciadas. As amostras **GEDA**, **GEP4DA** e **GEM4DA**, receberam classificação boa (◆◆) e não excelente (●●●) no quesito manuseabilidade, pois a dispersão de argila proporcionou maior rigidez ao material, tornando-o mais frágil ao ser manuseado, efeito que será discutido detalhadamente no tópico 5.3.4, que versará sobre as propriedades mecânicas dos filmes.

Outro aspecto visual observado foi à ausência de oleosidade superficial nos filmes contendo os óleos essenciais em sua composição quando a estes foi adicionada a dispersão de

argila. Isso possivelmente ocorreu devido ao aprisionamento das nanopartículas dos óleos essenciais entre as plaquetas da argila, resultado qual pode ser evidenciado pelos resultados obtidos por meio das análises de ângulo de contato e difração de raios-x, discutidos posteriormente nos tópicos 5.3.6 e 5.3.7, respectivamente. Essa característica não foi exibida pelos filmes contendo os óleos sem adição de argila.

5.3.2 Permeabilidade ao vapor de água (WVP)

Os resultados de permeabilidade ao vapor de água dos filmes são apresentados na Tabela 4. Como pode ser observado, o filme controle foi o que apresentou os menores valores de WVP. A adição de óleo essencial e da dispersão de argila causou um aumento desses valores, sendo esse aumento mais acentuado de maneira geral nos filmes em que foi adicionado o óleo essencial de pimenta-preta.

Tabela 4. Valores de permeabilidade ao vapor de água dos filmes

Amostras	WVP (g mm/kPa h m ²)	Amostras	WVP (g mm/kPa h m ²)
GE	0,32 ± 0,02	GEM2	0,37 ± 0,03
GEP1	0,61 ± 0,09	GEM3	0,37 ± 0,03
GEP2	0,57 ± 0,06	GEM4	0,34 ± 0,07
GEP3	0,52 ± 0,03	GEDA	0,38 ± 0,03
GEP4	0,37 ± 0,05	GEP4DA	0,45 ± 0,04
GEM1	0,39 ± 0,08	GEM4DA	0,42 ± 0,06

Fonte: Próprio autor.

Um dos objetivos de se adicionar nanoemulsões de óleos essenciais em matrizes poliméricas é diminuir a permeabilidade ao vapor de água (SAHRAEE, 2017; SHOJAEE-ALIABADI, 2014). Entretanto, de acordo com Fratini (2014), nem todos os tipos de óleos são capazes de causar uma redução na permeabilidade dos filmes. A influência do óleo essencial nos valores de WVP depende não só do tipo de óleo utilizado, como também das proporções em que foram adicionados em relação à massa de polímero.

Como os valores de WVP são dependentes das características microestruturais dos filmes, esse aumento de permeabilidade atribuído à adição de óleo pode estar relacionado ao aparecimento de uma microestrutura mais porosa e heterogênea depois que os mesmos foram

adicionados. Isso poderá ser observado nas micrografias apresentadas na discussão das análises de microscopia eletrônica de varredura.

Além das características microestruturais mencionadas anteriormente, a permeabilidade pode ser também afetada pela presença de plastificantes, uma vez que esses materiais conferem maior flexibilidade à estrutura polimérica, causando um aumento da mobilidade de água dissolvida dentro da matriz e, dessa forma, os vapores de água podem permear com mais facilidade.

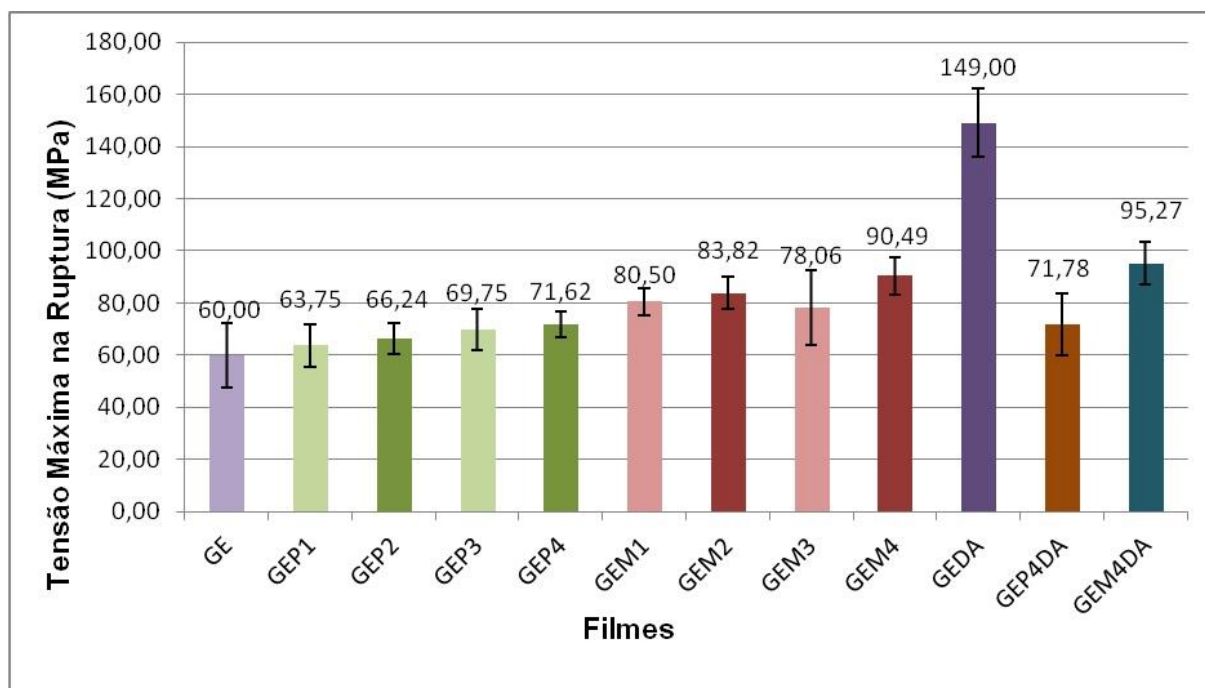
No presente trabalho, a nanoemulsão pode estar exercendo um efeito plastificante, dificultando a interação entre as cadeias de gelatina. Esse resultado corrobora com os de desempenho mecânico que serão discutidos mais adiante, já que a elongação dos filmes aumentou com a adição do óleo de pimenta-preta e de manjerona. Resultados semelhantes foram encontrados por Altiok (2010) e Kavoosi (2014).

Quando se analisa a influência do tamanho de partícula nos resultados de WVP, pode-se observar que os filmes com os menores tamanhos de partícula (**GEP4** e **GEM4**) apresentaram menores valores de WVP. A nanoemulsão possui uma parte hidrofóbica e outra hidrofílica, sendo que a parte hidrofílica interage com a matriz de gelatina e essa interação é mais efetiva quando se tem partículas com diâmetros menores por possuírem uma área de contato reduzida e por estarem melhor distribuídas ao longo do filme. Kavoosi (2014) produziu filmes de gelatina e óleo de *zataria* e chegaram à conclusão de que o valor de WVP depende da interação entre as partes hidrofílicas e hidrofóbicas presentes no filme.

Já em relação à adição de argila nos filmes com tamanho de partícula menores, foi possível verificar que a presença da argila resultou em um aumento na permeabilidade em relação ao filme controle (**GE**).

5.3.4 Propriedades mecânicas

Através dos ensaios de tração foi possível obter os valores de tensão na ruptura (σ_r) e a deformação na ruptura dos filmes. Na Figura 12 observa-se a variação da tensão em função da composição dos filmes. A adição de óleo de manjerona causou um aumento da tensão máxima em relação ao filme controle (**GE**). A adição de óleo de pimenta-preta não causou grandes mudanças nos valores de σ_r quando comparados com **GE**.

Figura 12. Valores de tensão máxima na ruptura dos filmes testados

Fonte: Próprio autor.

A adição de argila causou um aumento significativo na tensão na ruptura no filme contendo somente gelatina, sendo, de todos, o que apresentou melhor desempenho mecânico nesse quesito. Trabalhos anteriores trouxeram resultados apontando melhora da propriedade mecânica de filmes à base de proteína contendo argila como agente de reforço mecânico. Zolfi (2014) obtiveram aumento nos valores de tensão máxima na ruptura em filmes de isolado proteico de soja quando a eles foi adicionado cloisite Na^+ . Os autores atribuíram tal efeito a uma maior compactação da matriz polimérica nos filmes com a presença da argila.

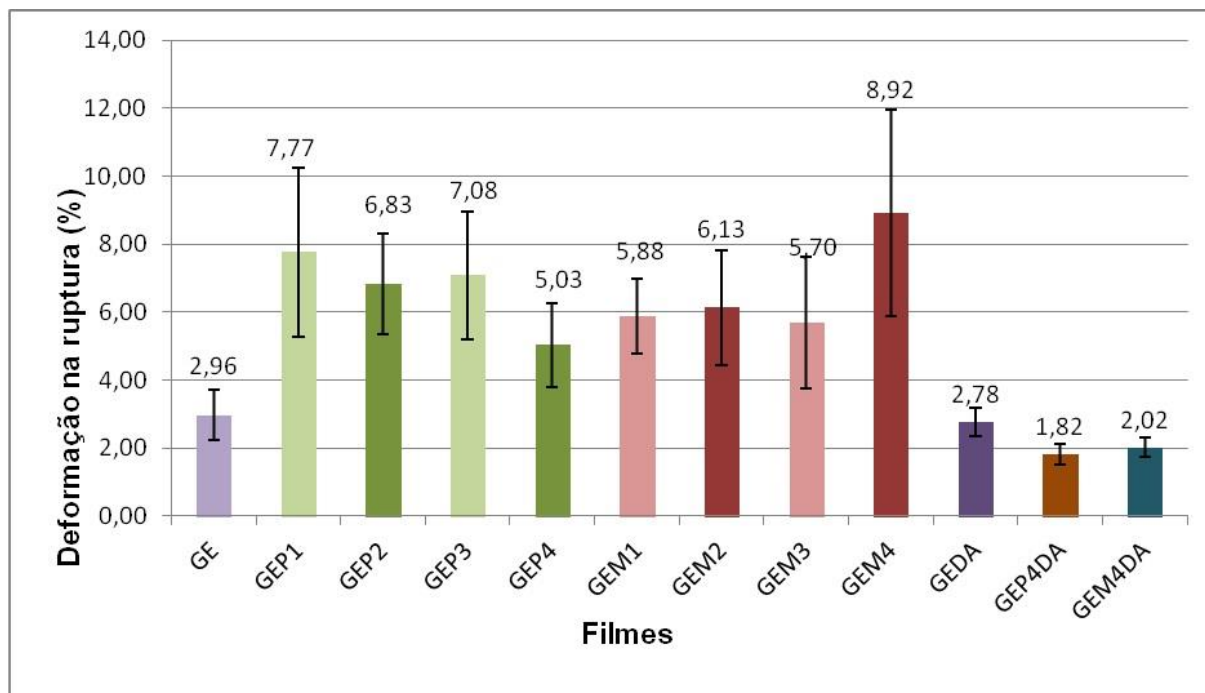
Já em relação aos diferentes tempos de rotação, foi possível observar que tal condição não provocou variação na σ_r . Mediante esse resultado foram escolhidos os filmes contendo nanoestruturas obtidas com maior tempo de rotação, que resultou em tamanhos de partículas menores, para ser adicionada a eles a dispersão de argila. A escolha baseou-se na premissa de que por apresentarem maior área superficial, as interações químicas com os componentes da matriz poderiam ser favorecidas.

A adição de óleo de manjerona causou um aumento da tensão máxima na ruptura em relação ao filme controle (GE). Já a de óleo de pimenta-preta não causou mudanças nos valores de σ_r quando comparados com GE. Como mencionado anteriormente na discussão da propriedade de barreira a vapores de água, a presença de componentes hidrofóbicos pode

causar uma diminuição nas forças de interação entre as cadeias de gelatina. Isso pode explicar o pouco ou nenhum incremento na referida propriedade quando os óleos foram adicionados. Nem mesmo trabalhando-se com partículas de tamanhos menores foi possível obter tal melhora.

Analizando a Figura 13, relacionada às medidas de deformação dos filmes, o efeito plastificante, citado anteriormente, fica mais evidente. Devido à redução das forças intermoleculares, o escoamento entre as cadeias do polímero é facilitado, e, conseqüentemente, a deformação apresentada pelo filme até a sua ruptura aumenta após a adição das nanoestruturas. Resultado semelhante foi encontrado no trabalho de Acevedo-Fani (2015).

Figura 13. Valores de deformação na ruptura dos filmes testados



Fonte: Próprio autor.

Os plastificantes influenciam diretamente no comportamento mecânico dos filmes. Esses materiais são, em geral, polímeros de baixa massa molecular, miscíveis nas matrizes poliméricas, e que quando a elas adicionados, preenchem os espaços entre as cadeias, diminuindo as interações cadeia-cadeia através das forças intermoleculares (CANEVAROLO, 2002; ESPITIA, 2014). Como resultado, o material final poderá apresentar uma diminuição

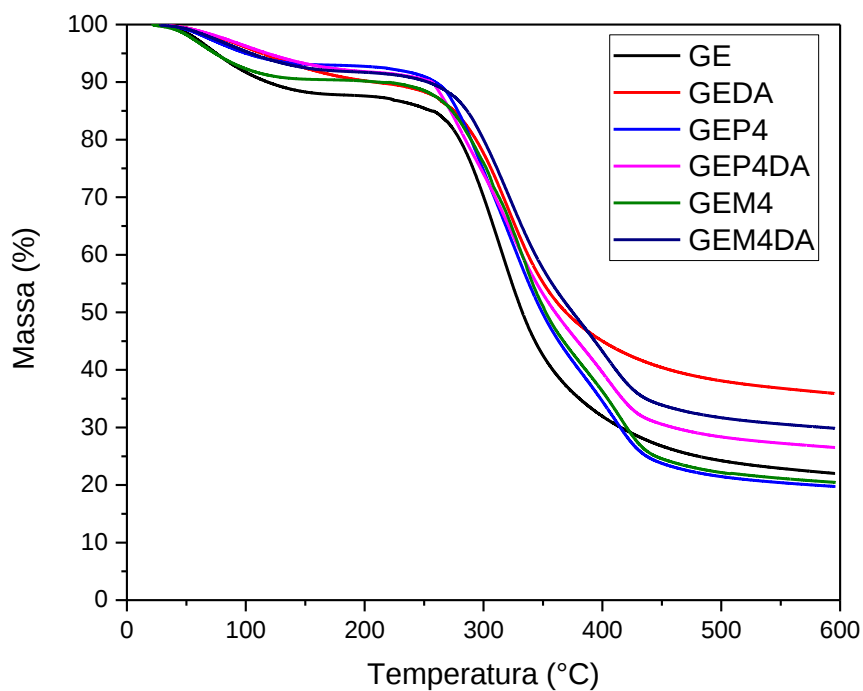
do módulo elástico, relacionado à rigidez do polímero, tendo, portanto, melhor resistência ao impacto, tornando-se sua aplicação mais versátil na área de embalagens.

5.3.5 Análise Termogravimétrica (TG)

O estudo do comportamento térmico de filmes comestíveis com potencial uso para embalagem de produtos alimentícios, sobretudo a identificação de suas temperaturas de degradação (Td), permite avaliar a estabilidade térmica dos filmes, possibilitando estudar as alterações estruturais provocadas por variações de temperatura, ou seja, pensando em uma produção em escala industrial, saber se os mesmos podem ser expostos durante o processamento a altas temperaturas e conhecer o limite de degradação do material com que se trabalha é fundamental para a otimização do processo, seja em tempo, custo ou perdas. Além disso, saber se esse material também poderá ser processado juntamente com o produto alimentício e se poderá ser exposto a variações de temperaturas para garantir que não haverá mudanças estruturais no material de embalagem.

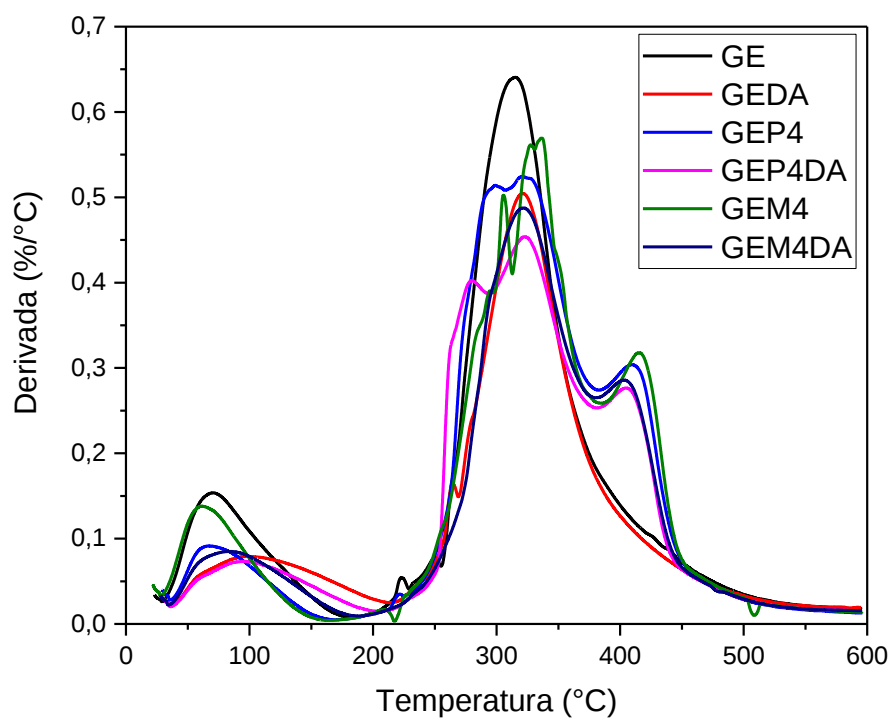
Frente ao exposto, foram realizadas análises termogravimétricas (TG) das amostras, através das quais obteve-se as medidas de variação de perda de massa em função da temperatura (Figura 14), sendo possível também obter as curvas da análise termogravimétrica diferencial, a partir das derivadas das curvas de TG (Figura 15).

Figura 14. Curvas de TG dos filmes **GE, GEDA, GEP4, GEP4DA, GEM4, GEM4DA**



Fonte: Próprio autor.

Figura 15. Curvas de DTG dos filmes **GE, GEDA, GEP4, GEP4DA, GEM4, GEM4DA**



Fonte: Próprio autor.

A partir da figura 15 pode-se observar três principais e mais definidos eventos, o primeiro deles, tendo início para todas as amostras abaixo de 40°C, possivelmente está relacionado a perda de água livre que foi absorvida pelos filmes (umidade) e a degradação de alguns compostos voláteis. Esse mesmo evento teve término entre a faixa de 152 e 210°C, o que também o relaciona a perda de água de ligação, ou seja, ligações de hidrogênio que ocorreram entre as moléculas de água e a matriz polimérica de gelatina, não evaporadas durante o processo de secagem dos filmes (THEERAWITAYAART, 2019; NAGARAJAN 2012).

A tabela 5 apresenta as temperaturas aproximadas de degradação inicial (T_{di}), e as temperaturas aproximadas de degradação final (T_{df}), para todas as amostras nos três eventos observados na figura 15. Conforme observado na tabela 5, a amostra de gelatina pura (**GE**) teve temperatura inicial de degradação, para o segundo evento, em 208,84°C e temperatura final de degradação em 501,44°C, valores próximos ao encontrado por Theerawitayaart (2019). Barreto (2003) traz que a faixa de degradação da gelatina entre 200 e 400°C refere-se a degradação das cadeias da proteína. Para amostra de gelatina incorporada com dispersão de argila (**GEDA**), observou um aumento na T_{di} , sendo este igual 219,56°C. O mesmo fato foi observado para todas as demais amostras, ou seja, a adição de argila apresentou incremento quanto à estabilidade térmica do material, resultados similares foram obtidos por Martucci (2007) com o incremento de cloisite Na^+ em matriz polimérica de gelatina. A adição de nanoargilas lamelares em matriz polimérica apresentou-se como barreira contra calor, aumento assim a estabilidade térmica do material, no entanto, nesse mesmo estudo, Martucci (2007) observou que a adição de argila em maiores quantidades em massa, podem causar aglomeração formando uma dispersão heterogênea na matriz, portando não ocasionando esse incremento na estabilidade térmica.

A adição de nanoemulsões de óleos essenciais também levou a um incremento na estabilidade térmica. Para nanoemulsão de óleo essencial de pimenta preta incorporada em matriz polimérica de gelatina (**GEP4**), o segundo evento teve início em 225,56°C, e para nanomulsão de óleo essencial de manjerona incorporada em matriz polimérica de gelatina (**GEM4**), o segundo evento teve início em 225,34°C, em contrapartida para a matriz polimérica de gelatina pura (**GE**), teve início em 208,84°C. Altiok (2010) e Yahyaoui (2016) também observaram em seus estudos com adição de nanoemulsões de óleos essenciais em matrizes poliméricas um incremento na estabilidade térmica final do material.

O terceiro evento somente ocorreu para os filmes que continham óleos essenciais em sua composição, ou seja, **GEP4**, **GEP4DA**, **GEM4**, **GEM4DA**, podendo assim concluir que esse evento se trata da degradação possivelmente da degradação de alguns compostos fenólicos presentes nos óleos (YAHYAUI, 2016).

Tabela 5. Temperaturas inicial e final de degradação dos filmes

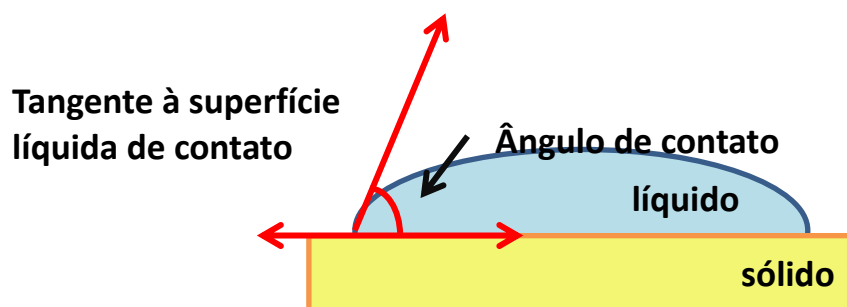
	1º evento		2º evento		3º evento	
	T _d i (°C)	T _d f (°C)	T _d i (°C)	T _d f (°C)	T _d i (°C)	T _d f (°C)
GE	31,01	171,16	208,84	501,44	-	-
GEDA	39,73	207,93	219,56	486,64	-	-
GEP4	36,23	168,02	225,56	383,68	383,68	478,83
GEP4DA	37,824	210,214	235,62	382,46	382,46	471,91
GEM4	28,47	152,78	225,34	384,56	384,59	502,44
GEM4DA	34,77	183,93	228,69	376,96	376,96	484,79

Fonte: Próprio autor.

5.3.6 Ângulo de Contato

A medida de ângulo de contato (θ) é definida como o ângulo formando entre a superfície sólida e uma tangente traçada entre a superfície da gota, passando através do ponto triplo, atmosfera-líquido-sólido, conforme apresentado na Figura 16. O fenômeno de espalhamento de um líquido sobre uma superfície sólida, como acontece na medida de ângulo de contato, é dependente da magnitude relativa das forças moleculares coesivas e adesivas que existem respectivamente dentre o líquido, e entre o líquido e o sólido. Quando as forças adesivas com a superfície do sólido são muito grandes em relação às forças coesivas, o ângulo de contato é menor que 90°, tendo como resultado uma superfície mais hidrofílica; por outro lado, se o ângulo de contato for maior que 90°, temos como resultado uma superfície mais hidrofóbica. (KARBOWIAK, 2006)

Figura 16. Ilustração do ângulo de contato para uma gota molhante sobre uma superfície sólida



Fonte: Próprio autor.

De forma prática, um maior o ângulo de contato, representa uma superfície mais hidrofóbica, ou seja, baixa molhabilidade, tendendo com que a gota conserve sua forma, reduzindo assim o contato com a superfície. Em contrapartida, um menor o ângulo de contato, representa uma superfície mais hidrofílica, ou seja, maior molhabilidade, tendendo com que a gota se espalhe, aumentando assim o contato com a superfície (HUILICA, 2015).

Uma definição quantitativa em relação aos termos superfície “hidrofóbica” e “hidrofílica” tem sido aplicada, sendo assim, superfícies exibindo ângulo de contato (com água) $\theta > 65^\circ$ caracterizam uma superfície hidrofóbica, e superfícies exibindo ângulo de contato (com água) $\theta < 65^\circ$ caracterizam uma superfície hidrofílica (VOGLER, 1998 *apud* KARBOWIAK, 2006).

Sendo assim, a fim de melhor entendimento de como a água e a umidade relativa do ar podem influenciar nas propriedades superficiais dos filmes e sua resistência, bem como investigar comportamento do filme como possível embalagem para produtos alimentícios com alta umidade, a tabela 6 descreve os valores de ângulo de contato para todos os filmes avaliados.

Tabela 6. Ângulo de contato médio observado para cada tipo de filme

Amostras	Ângulo de contato inicial (t = 0 s)
GE	$72 \pm 1^\circ$
GEDA	$79 \pm 3^\circ$
GEP4	$47 \pm 7^\circ$
GEP4DA	$64 \pm 5^\circ$
GEM4	$28 \pm 5^\circ$
GEM4DA	$46 \pm 9^\circ$

Fonte: Próprio autor.

O filme de gelatina puro (**GE**) apresentou ângulo de contato igual a $72 \pm 1^\circ$, com a adição da dispersão de argila (**GEDA**), esse valor obteve um aumento igualando-se a $79 \pm 3^\circ$, o mesmo evento foi observado para todas as demais amostras, onde **GEP4** teve aumento no ângulo de $47 \pm 7^\circ$ para $64 \pm 5^\circ$ em **GEP4DA**, e **GEM4** para **GEM4DA**, de $28 \pm 5^\circ$ para $46 \pm 9^\circ$, respectivamente.

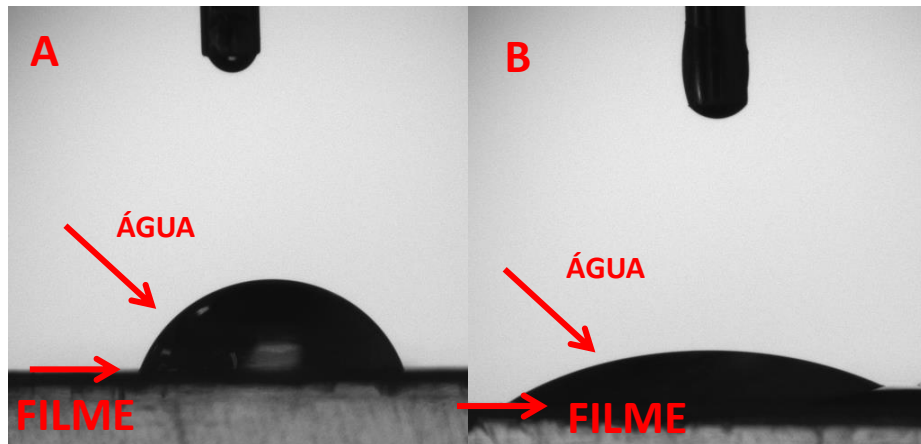
Apesar da cloisite Na^+ apresentar característica hidrofílica, em todos os filmes, a adição de sua dispersão agregou hidrofobicidade a superfície do material, este fato é decorrente da compatibilidade eletrostática entre a matriz polimérica e a argila, de forma que quanto mais polar a matriz polimérica melhor a interação iônica entre suas cadeias e a estrutura da argila (MONTEIRO, 2016).

Por outro lado, a adição de nanoemulsões de óleos essenciais na matriz polimérica levou a uma diminuição no caráter hidrofóbico da superfície, ou seja, mesmo originalmente os lipídeos possuírem característica hidrofóbica, sua adição em forma de nanoemulsão na matriz polímero levou a um decremento em relação a sua hidrofobicidade. Cordoba (2017) também observou em seu estudo com nanoemulsão de óleo essencial de alho em matriz polimérica de gelatina e quitosana, uma diminuição em relação ao ângulo de contato após a adição na nanoemulsão.

Outro ponto a ser observado é que apesar da natureza hidrofílica da gelatina o ângulo de contato apresentado para a amostra contendo apenas gelatina (**GE**), indica uma superfície hidrofóbica, isso pode se dar devido as fortes interações intermoleculares entre as moléculas de gelatina (COZMUTA, 2015).

Para fins demonstrativos, a figura 17 mostra o comportamento do líquido padrão (água Mili-Q), para os filmes que obtiveram maior ângulo de contato (**GEDA**), figura 17 – A, e para aquele que obteve menor ângulo de contato (**GEM4**), figura 17 – B. A partir dessas imagens é possível claramente observar a relação do ângulo de contato com a molhabilidade da superfície do material, onde em um material com maior molhabilidade (Figura 17 – B), a gota perde sua forma original, espalhando-se sobre a superfície do filme; e o oposto pode ser observado em figura 17 – A, onde percebe-se um menor contato da gota com a superfície, justamente para aquele material com menor molhabilidade (**GEDA**).

Figura 17. Gota de líquido padrão sobre a superfície dos filmes **GEDA** em **A**, **GEM4** em **B**, em $t=0s$.

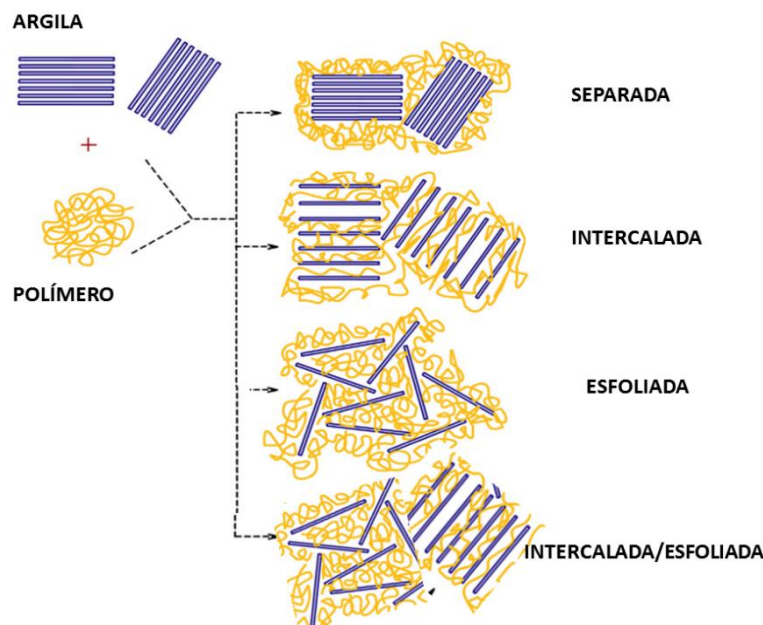


Fonte: Próprio autor.

5.3.7 Difração de raios-X (DRX)

A dispersão das placas de argila nos filmes foi avaliada por medidas de difração de raios-x. Após o tratamento no ultrassom, descrito anteriormente, a argila pode estar disposta de quatro configurações diferentes, sendo essas: separada, intercalada, esfoliada ou intercalada/esfoliada, conforme apresentado na figura 18.

Figura 18. Possíveis estruturas formadas em nanocompósitos de polímero e argila

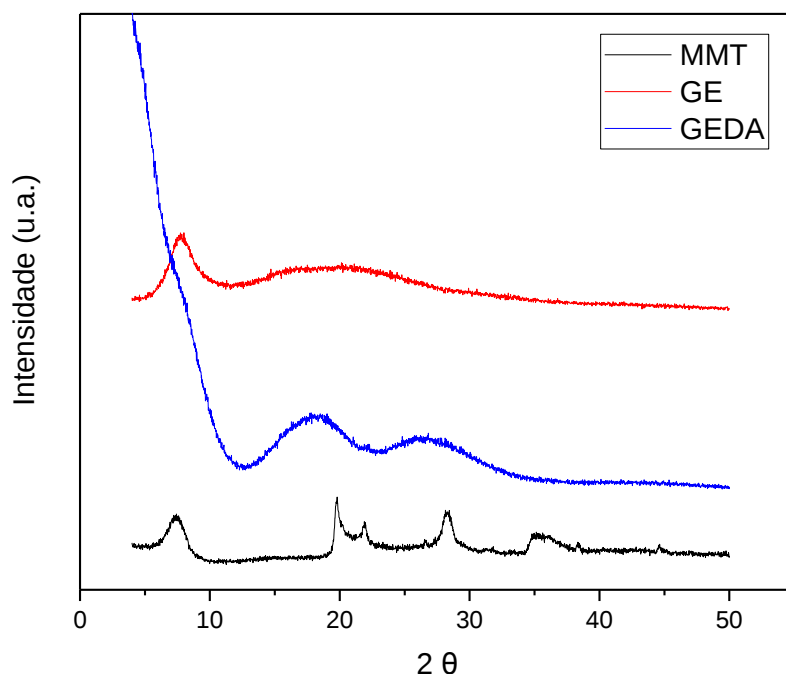


Fonte: Adaptado Babuvalapa (2017)

A figura 19 apresenta o difratograma de raios-x para o filme de gelatina puro (**GE**), para a argila pura (**MMT**) e para o filme de gelatina adicionado da dispersão de gelatina (**GEDA**).

O padrão de difração de raios-x obtido para gelatina pura é o tipicamente encontrado na literatura. Filmes a base de gelatina comumente apresentam um pico em $2\theta = 7^\circ$, atribuído a cristalinidade a estrutura tripla-hélice da gelatina, e outra em $2\theta = 20^\circ$, característica de uma fase amorfa (PEREDA, 2011). O difratograma em questão apresentou o pico mencionado em $7,72^\circ$, de semelhante modo encontrado por Cordoba (2018) e Alexandre (2016).

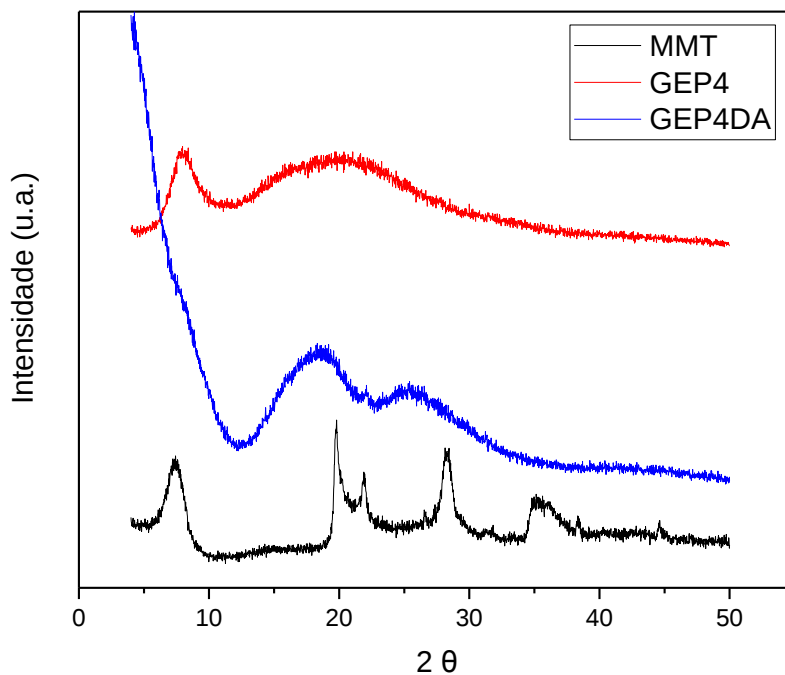
Figura 19. Difratogramas de raios-x de **MMT** e dos filmes **GE** e **GEDA**



Fonte: Próprio autor.

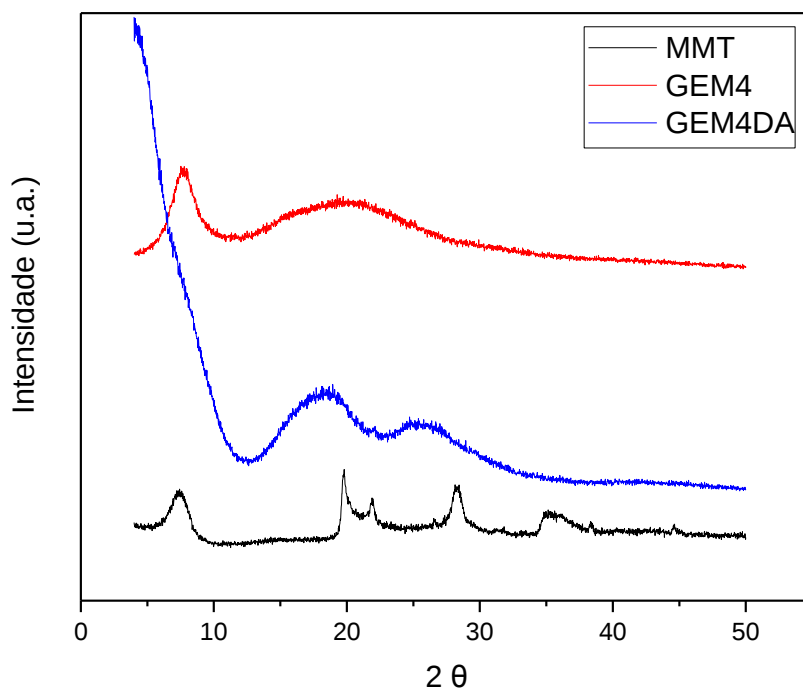
Analisando de forma isolada a adição das nanoemulsões de óleos essenciais na matriz polimérica de gelatina (**GE** - figura 19, **GEP4** - figura 20 e **GEM4** - figura 21), pouco apresentou efeito quanto à cristalinidade dos filmes. O mesmo foi observado por Alexandre 2016, quando incorporou óleo essencial de gengibre em matriz polimérica de gelatina.

Figura 20. Difratomogramas de raios-x de **MMT** e dos filmes **GEP4** e **GEP4DA**



Fonte: Próprio autor.

Figura 21. Difratomogramas de raios-x de **MMT** e dos filmes **GEM4** e **GEM4DA**



Fonte: Próprio autor.

Para os filmes incrementados da dispersão de argila tratada em ultrassom, não foi possível o cálculo de espaçamento basal entre as plaquetas de argila, o pico representante não apresentou-se por completo no difratograma; nesse caso o ideal seria submeter a amostra em a técnica de Espalhamento de raios-x em baixo ângulo (SAXS), assim obtendo de forma precisa o pico esboçado.

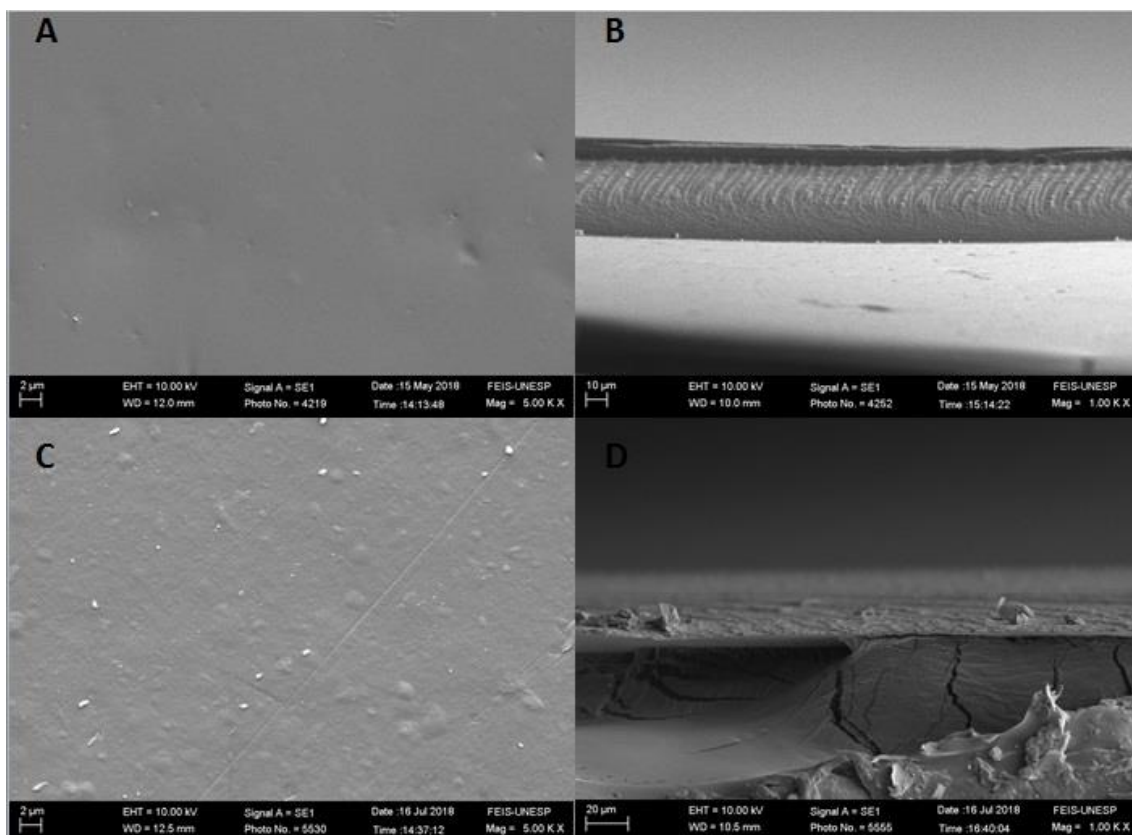
Entretanto, pode-se claramente notar a partir dos difratogramas, através do deslocamento do pico de difração para ângulos de difração (2θ) mais baixos, que houve aumento no espaçamento basal entre as plaquetas de argila, conseqüentemente tanto a matriz polimérica de gelatina, quanto a nanoemulsão dos óleos essenciais encontram-se intercaladas com a dispersão de argila.

Por meio do esboço do pico formando após o tratamento em ultrassom, sugere-se que a argila pode estar apresentando estrutura intercalada, ou intercalada/esfoliada. Entretanto, como já mencionado, para uma afirmação concisa faz-se necessária outra caracterização em equipamento mais preciso ou por uma microscopia eletrônica de transmissão (MET).

5.3.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia superficial dos filmes, bem como as fraturas criogênicas da secção transversal dos filmes **GE** e **GEDA** estão apresentadas na Figura 22. A imagem **A** apresenta uma superfície lisa e homogênea, sem separação de fases ou formação de aglomerados. Já a imagem **C**, que mostra a superfície da matriz polimérica de gelatina com a adição da dispersão de argila, apresenta uma superfície levemente mais rugosa e granulada, mostrando elevada similaridade com as apresentadas por Fernando (2014) e Alexandre (2016), tanto a matriz contendo somente gelatina, quanto para as que continham argila. Essa mudança na textura da superfície do filme quando adicionada a dispersão de argila está relacionada possivelmente à formação de aglomerados causados pela interação entre os componentes dos filmes (FERNANDO, 2014).

Figura 22. Micrografias obtidas por MEV da superfície dos filmes, **A** do filme **GE** e **C** do filme **GEDA**; das fraturas criogênicas **B** do filme **GE**, e **D** do filme **GEDA**

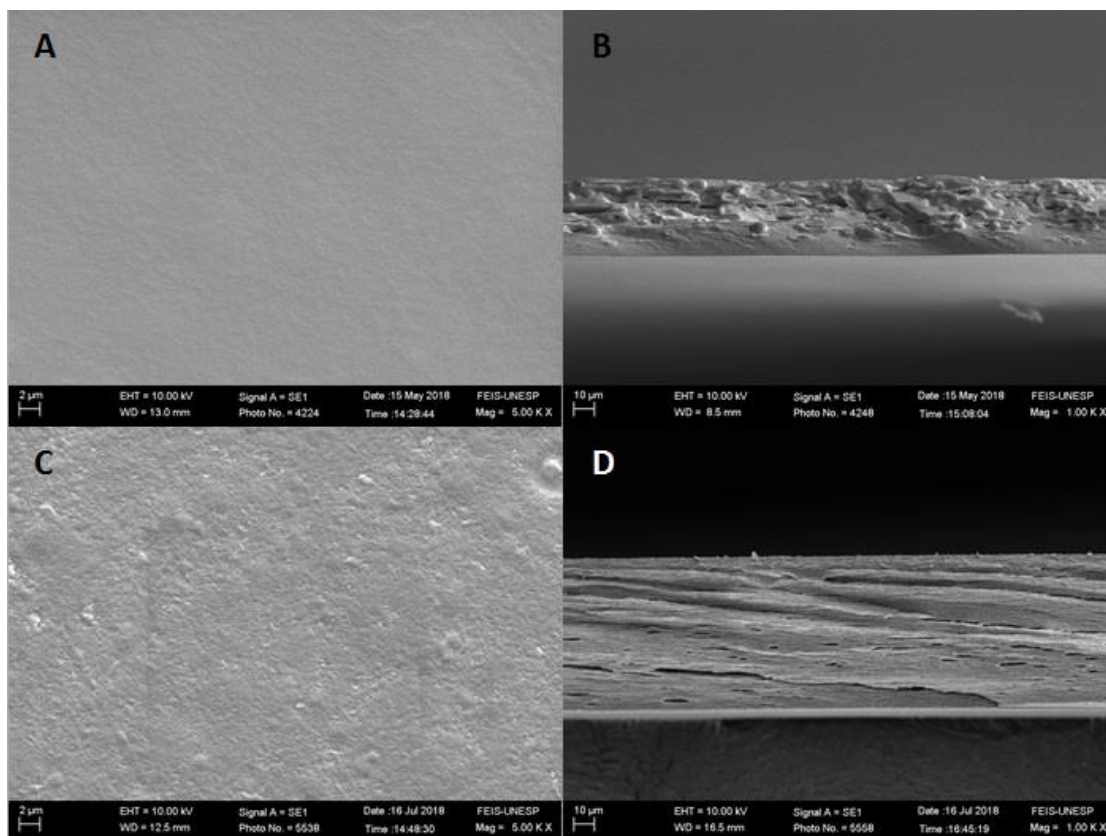


Fonte: Próprio autor.

A Figura 23 apresenta tanto a morfologia superficial quanto as de fraturas criogênicas dos filmes **GEM4** e **GEM4DA**. Na imagem **A** é possível observar uma superfície lisa, homogênea e sem rugosidade quando comparada com a imagem **A** da Figura 22, que representa o filme de gelatina sem a adição de nanoemulsão. É possível identificar que não houve alteração quanto à rugosidade superficial. No entanto, como pode ser observada na imagem **B** da figura 23, a adição de nanoemulsão do óleo essencial de manjerona provocou mudanças na microestrutura dos filmes. Claramente é possível verificar a presença de poros nos filmes, indicando, de acordo com Atarés (2010), a separação das gotas de óleo da fase aquosa. Isso ocorre devido à incorporação de um componente de natureza hidrofóbica, como no caso do óleo, em uma fase hidrofílica. Possivelmente, a adição das nanoemulsões causaram certa perturbação entre as interações proteína-proteína da rede polimérica,

dificultando o alinhamento ordenado das cadeias e, conseqüentemente, causando uma heterogeneidade no sistema, conforme apresentado nas micrografias de secção transversal.

Figura 23. Micrografias obtidas por MEV, da superfície dos filmes, **A** do filme **GEM4** e **C** do filme **GEM4DA**; das fraturas criogênicas **B** do filme **GEM4**, e **D** do filme **GEM4DA**.



Fonte: Próprio autor.

Resultados similares foram observados por Bonila (2018) com a incorporação de eugenol e óleo essencial alho em matrizes de gelatina e quitosana, e Cordoba (2017), que incorporou nanoemulsão de compostos ativos em matriz de gelatina e blendas de gelatina.

A incorporação da dispersão de argila em uma matriz já contendo nanoemulsão também afetou a rugosidade, aumentando a mesma, conforme observado para o filme controle. Na imagem de secção transversal, é possível observar que a porosidade do material foi mantida. No entanto, as gotículas de óleo não se mostram presente no material e isso possivelmente ocorreu devido a uma maior interação entre a dispersão de argila e a

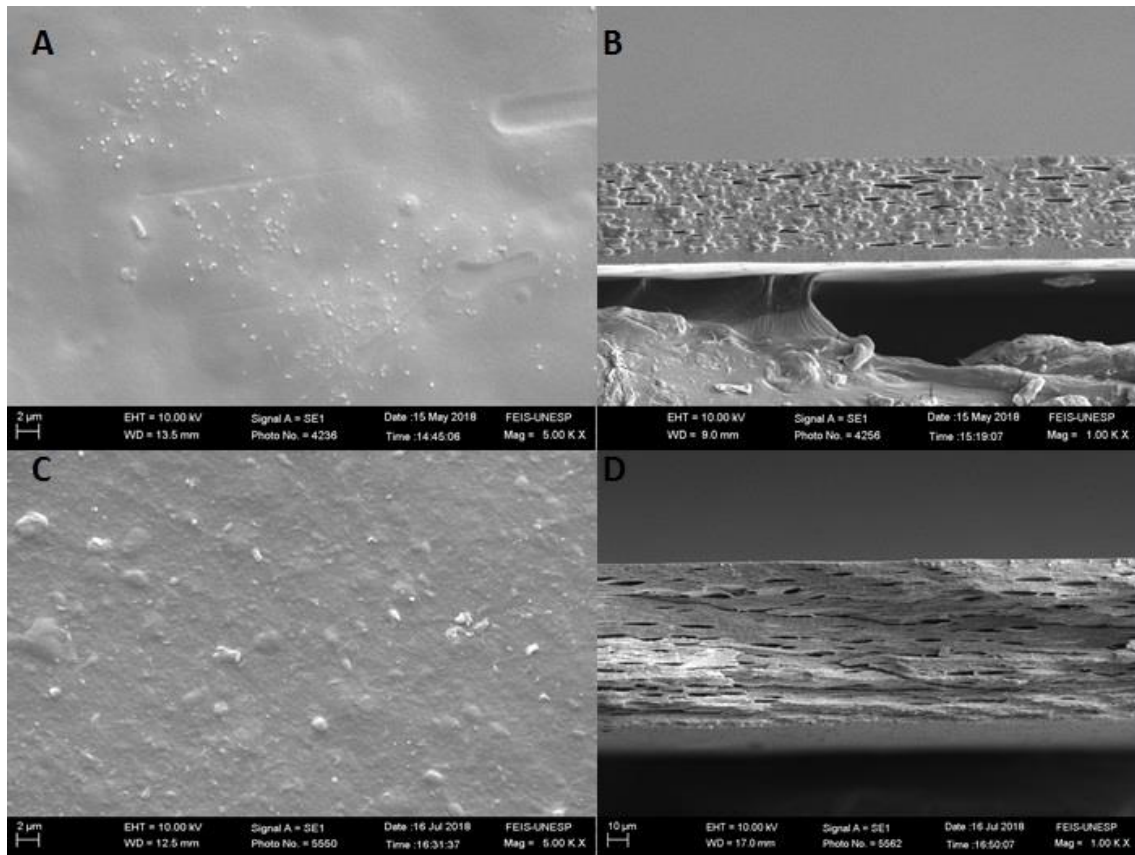
nanoemulsão, ou seja, as nanoestruturas permaneceram entre as lamelas da argila, fazendo com que as gotículas de óleo não se desprendessem durante o processo de secagem do filme.

Do mesmo modo, na Figura 24, que apresenta as micrografias superficiais e secção transversal por fraturas criogênicas dos filmes **GEP4** e **GEP4DA**, as micrografias dos filmes com a incorporação de óleo essencial de pimenta-preta foram muito similares às aquelas encontradas para os filmes incorporados com óleo essencial de manjerona. Entretanto, tanto nas imagens superficiais quanto nas de secções transversais pode ser observada uma maior porosidade para os filmes contendo nanoemulsão de óleo essencial de pimenta-preta.

Esse fato possivelmente está associado ao tamanho de partícula presente na nanoemulsão desse óleo, sendo maior que o obtido para o óleo de manjerona, conforme observado anteriormente na Figura 23. Esse tamanho médio de partícula mais elevado provavelmente causa uma maior perturbação na interação entre as cadeias de proteína, gerando um maior afastamento e, conseqüentemente, maior desordem na rede polimérica.

Outra evidência de que o tamanho de partícula está relacionado com o afastamento das cadeias está relacionada ao valor de permeabilidade ao vapor de água discutido anteriormente, em que para as matrizes acrescidas com óleo essencial de pimenta-preta, com ou sem a dispersão de argila, apresentaram maiores valores de permeabilidade, ou seja, suas cadeias estão mais desordenadas e afastadas, facilitando assim o transporte de gotículas de água.

Figura 24. Micrografias obtidas por MEV, da superfície dos filmes, **A** do filme **GEP4** e **C** do filme **GEP4DA**; das fraturas criogênicas **B** do filme **GEP4**, e **D** do filme **GEP4DA**.



Fonte: Próprio autor.

A rugosidade superficial ocasionada a partir da dispersão de argila pode ser relacionada ao ângulo de contato obtido para cada superfície, ou seja, a superfície que se tornou mais rugosa após a adição da dispersão de argila, também apresentou maior ângulo de contato, conseqüentemente uma superfície mais hidrofóbica; o mesmo pode ser observado para todas as variações dos filmes.

6 CONCLUSÃO

As nanoemulsões foram obtidas de forma satisfatória para todas as rotações e tempos utilizados para ambos os óleos. As nanoemulsões bem como a dispersão de argila foram incorporadas à matriz polimérica de gelatina com sucesso, obtendo filmes uniformes, homogêneos, contínuos e de possível manuseabilidade, e ainda conferindo odor característico dos óleos essenciais incorporados.

Observou-se que a adição de nanoemulsões elevou a permeabilidade ao vapor de água do filme; fato esse que também foi observado com a adição da dispersão de argila, entretanto, mantendo-se próximos àqueles filmes compostos apenas pela matriz polimérica.

Por meio das análises de propriedades mecânicas foi possível verificar que a adição de óleo essencial de manjerona causou aumento na tensão de ruptura. Isso não foi observado para o filme contendo nanoemulsão de pimenta preta.

Por outro lado, ambos os óleos exerceram papel plastificante na matriz polimérica, elevando a deformação do material. Já a adição da dispersão de argila elevou significativamente a tensão na ruptura, porém não levou a mudanças quanto à elongação.

A partir da análise termogravimétrica observou-se que tanto a adição de nanoemulsões de óleos essenciais quanto a incorporação da dispersão de argila promoveram um aumento na estabilidade térmica do material, tornando-o mais resistente ao calor e, conseqüentemente, mais propícia sua implementação em escala industrial.

A adição de argila por sua vez provocou um aumento no ângulo de contato superficial para todos os filmes nos quais foi incorporada, isto é, aumentou a hidrofobicidade superficial do material, e, conseqüentemente, possibilitando aplicações em contato com produtos mais úmidos e mantendo-se mais resistentes à água quando comparados àqueles não acrescidos da dispersão de argila.

A partir da análise de DRX pode-se concluir que o processo de ultrassom promoveu um aumento no espaçamento basal entre as plaquetas de argila e estas, por sua vez, possivelmente estão intercaladas ou intercaladas/esfoliadas. No entanto, uma análise no SAXS seria adequada para obter resultados mais precisos quanto à estrutura obtida após o processo de ultrassom.

Para a análise microestrutural dos filmes foi possível verificar um filme contínuo, compacto e homogêneo para a matriz de gelatina. Com a adição das nanoemulsões observou-

se a formação de poros e a adição da dispersão de argila causou um aumento na rugosidade superficial dos filmes, fato que pode ser comprovado devido ao aumento do ângulo de contato superficial nos filmes de argila.

Desse modo, pode-se dizer que os filmes obtidos possuem potencial para serem aplicados como embalagens de alimentos, promovendo melhora das características tradicionais de embalagens, como mecânicas, além de potencial aplicação como embalagem ativa.

REFERÊNCIAS

- ABEDINIA, A.; ARIFFIN, F.; HUDA, N.; NAFCHI, A. M.; Preparation and characterization of a novel biocomposite based on duck feet gelatin as alternative to bovine gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**. 109(2018) 855-862.
- ABDULAZEEZ, M.A.; SANI, I.; JAMES, B.D.; ABDULLAHI, A.S.; Black pepper (*Piper nigrum* L.) oils, **Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety**. 31 (2015) 277-285
- ACEVEDO-FANI, A.; SALVIA-TRUJILLO, L.; ROJAS-GRAÜ, M.; MARTÍN-BELLOSO, O.; Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: physicochemical characterization and antimicrobial properties. **Food Hydrocoll.** (2015).
- ALEXANDRE, E.M.C.; LOURENÇO, R.V.; BITTANTE, A. M. Q. B.; MORAES, I.C.F.; SOBRAL, P. J. A.; Gelatin-based films reinforced with montmorillonite and activated with nanoemulsion of ginger essential oil for food packaging applications, **Food Packag. Shelf Life**. 10 (2016) 87–96.
- ALTIOK, D.; ALTIOK, E.; TIHMINLIOGLU, F.; Physical, antibacterial and antioxidant properties of chitosan films incorporated with thyme oil for potential wound healing applications. **J. Mater. Sci. Mater. Med.** 21 (2010) 2227–2236.
- AMATISTE, S.; SAGRAFOLI, D.; GIACINTI, G.; ROSA, G.; CARFORA, V.; MARRI, N.; TAMMARO, A.; BOVI, E.; ROSATI, R.; Antimicrobial activity of essential oils against *Staphylococcus aureus* in fresh sheep cheese, **Ital. J. Food Saf.** 3 (2014) 148–150.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. Standard test method for water vapor transmission of materials (1980). E96 - 80. In: **Annual Book of American Standard Testing Methods**. Philadelphia, American Society for Testing and Materials, 1980
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. (1997). D882–97. In: **Annual Book of American Standard Testing Methods**. Philadelphia, American Society for Testing and Materials, 1997.
- ATARÉS, L.; BONILLA, J.; CHIRALT, A.; Characterization of sodium caseinate-based

edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. **J. Food Eng.** 100 (2010) 678–687.

AZEREDO, H.M.C.; FARIA, J.A.F.; AZEREDO, A.M.C.; Embalagens ativas para alimentos, **Tecno-Logia Aliment.** 20 (2000) 337–341.

BABUSIAUX, D.; BAUQUIS, P. R.; **The Diplomatic World.** (2015)

BACANLI, M.; BAŞARAN, A. A.; BAŞARAN, N.; The antioxidant and antigenotoxic properties of citrus phenolics limonene and naringin. **Food and Chemical Toxicology.** 81 (2015) 160–170.

BAJPAI, V.K.; BAEK, K.H.; KANG, S.C.; Control of Salmonella in foods by using essential oils: A review, **Food Res. Int.** 45 (2012) 722–734.

BARRETO, P.L.M.; PIRES, A.T.N.; SOLDI, V.; Thermal degradation of edible films based on milk proteins and gelatin in inert atmosphere. **Polymer Degradation and Stability.** 79 (2003) 147–152.

BENDAHO, D.; BENDAHO, A., GROHENS, Y.; KADDAMI, H.; New nanocomposite design from zeolite and poly(lactic acid), **Ind. Crops Prod.** 72 (2015) 107–118.

BENITA, S.; LEVY, M. Y.; Submicron Emulsions as Colloidal Drug Carriers for Intravenous Administration: Comprehensive Physicochemical Characterization. **Journal of Pharmaceutical Sciences.** 82(1993) 1069-1079

BEVERLYA, R. L.; JANES, E.J.; PRINYAWIWATKULA, W.; NO, H. K.; Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of *Listeria monocytogenes*, **Food Microbiology.** 25 (2008) 534–537.

BONILLA, J.; POLONI, T.; LOURENÇO, R. V.; SOBRAL, P.J.A.; Antioxidant potential of eugenol and ginger essential oils with gelatin/chitosan films, **Food Biosci.** 23 (2018) 107–114.

BORDIGNON, A. C.; Caracterização da pele e da gelatina extraída de peles congeladas e salgadas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). (2010) **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia), Universidade Estadual de Maringá.

BREWER, M.S.; Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications, **Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.** 10 (2011) 221–247.

BROPHY, J. J.; DAVIES, N. W.; SOUTHWELL, I. A.; STIFF, I. A.; WILLIAMS, L. R.; Gas Chromatographic Quality Control for Oil of *Melaleuca Terpinen-4-ol* Type (Australian Tea Tree). **J. Agric. Food Chem.** 37 (1989) 1330-1335

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

CANEVAROLO, J. R. S. V. Ciência dos polímeros, **Artliber Editora**, (2002)

CAPEK, I.; Degradation of kinetically-stable o/w emulsions. **Adv. Colloid Interface Sci.** 107 (2004) 125–155.

CHEN, P., ZHANG, L.; Interaction and Properties of Highly Exfoliated Soy Protein/Montmorillonite Nanocomposites. **Biomacromolecules**. 7 (2006) 1700-1706.

CORDOBA, L.J.P.; SOBRAL, P.J.A.; Physical and antioxidant properties of films based on gelatin, gelatin-chitosan or gelatin-sodium caseinate blends loaded with nanoemulsified active compounds. (Special Issue: Responsible research and innovation in the food value chain.), **J. Food Eng.** 213 (2017) 47–53

COZMUTA, A. M.; TURILA, A.; APJOK, R.; CIOCIAN, A.; COZMUTA, L. M.; PETER, A.; NICULA, C.; GALI, N.; BENKOVI, T.; Preparation and characterization of improved gelatin films incorporating hemp and sage oils. **Food Hydrocolloids**. 49 (2015) 144-155.

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S.; Stability of myofibrillar protein-based biopackagings during storage, **LWT - Food Sci. Technol.** 29 (1996) 344–348.

DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G.; Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**. 88 (2000) 308–316.

ERENLER, R.; SEN, O.; AKSIT, H.; DEMIRTAS, I.; YAGLIOGLU, A.S.; ELMASTAS, M.; TELCI, I.; Isolation and identification of chemical constituents from *Origanum majorana* and investigation of antiproliferative and antioxidant activities, **J. Sci. Food Agric**. 96 (2016) 822–836.

ESPITIA, P.J.P.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; DU, W.X.; TEÓFILO, R.F.; SOARES, N.F.F.; MCHUGH, T.H.; Optimal antimicrobial formulation and physical-mechanical properties of edible films based on açaí and pectin for food preservation, **Food Packag. Shelf Life**. 2 (2014) 38–49.

FAKHOURI, F. M.; MARTELLI, S. M.; CAON, T.; VELASCO, J. I.; BUONTEMPO, R. C.; BILCK, A. P.; MEI, L. H. I.; The effect of fatty acids on the physicochemical properties of edible films composed of gelatin and gluten proteins, **LWT - Food Sci. Technol**. 87 (2018) 293–300.

FERNANDEZ, P.; ANDRÉ, V.; RIEGER, J.; KÜHNLE, A.; Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion. **Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp**. 251 (2004) 53–58.

FERNANDO, M.; JORGE, C.; HUMBERTO, C.; FLAKER, C.; FERNANDES, S.; CRISTINA, I.; MORAES, F.; MÔNICA, A.; BARBOSA, Q.; JOSÉ, P.; Viscoelastic and rheological properties of nanocomposite-forming solutions based on gelatin and montmorillonite, **J. Food Eng**. 120 (2014) 81–87.

FIGUEROA-LOPEZ, K.J.; ANDRADE-MAHECHA, M.M.; TORRES-VARGAS, O.L.; Spice oleoresins containing antimicrobial agents improve the potential use of bio-composite films based on gelatin, **Food Packag. Shelf Life**. 17 (2018) 50–56.

FISHER, K.; PHILLIPS, C.; The mechanism of action of a citrus oil blend against *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*, **J. Appl. Microbiol**. 106 (2009) 1343–1349.

FLAKER, C.H.C.; LOURENÇO, R. V.; BITTANTE, A.M.Q.B.; SOBRAL, P.J.A.; Gelatin-based nanocomposite films: A study on montmorillonite dispersion methods and concentration. **Journal of Food Engineering**. 167 (2015) 65–70.

FRATINI, F.; CASELLA, S.; LEONARDI, M.; PISSERI, F.; EBANI, V.V.; PISTELLI, L.; Antibacterial activity of essential oils, their blends and mixtures of their main constituents against some strains supporting livestock mastitis. **Fitoterapia**. 96 (2014) 1–7.

FREIRE, J.M.; CARDOSO, M.G.; BATISTA, L.R.; ANDRADE, M. A.; Essential oil of *Origanum majorana* L., *Illicium verum* Hook . f . and *Cinnamomum zeylanicum* Blume : chemical and antimicrobial characterization. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu. 13 (2011) 209–214.

FU, Y.; ZU, Y.; CHEN, L.; SHI, X.; WANG, Z.; SUN, S.; EFFERTH, T.; YA, **Phytotherapy research**. 21 (2007) 989-994.

GALUS, S.; KADZIŃSKA, J.; Food applications of emulsion-based edible films and coatings, **Trends Food Sci. Technol**. 45 (2015) 273–283.

GARCIA, C.P.; Síntese e caracterização de nanocompósitos à base de poliuretano dispersos em água com argilas hidrofílica e organofílica, (2010) 180 f. **Dissertação** (Mestrado em Química). Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

GERCHMAN, D.; BONES, B.; PEREIRA, M. B.; TAKIMI, A. S.; Thin film deposition by plasma polymerization using D-limonene as a renewable precursor. **Progress in organic coatings**. 129 (2019) 133-139.

GHERARDI, R.; BECERRIL, R.; NERIN, C.; BOSETTI, O.; Development of a multilayer antimicrobial packaging material for tomato puree using an innovative technology, **LWT - Food Sci. Technol**. 72 (2016) 361–367.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J. L; GUILBERT, S.; Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties, **Int. J. Food Sci. Technol**. 29 (1994) 39–50.

- HAMMER, K. A.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V.; Effects of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Essential Oil and the Major Monoterpene Component Terpinen-4-ol on the Development of Single- and Multistep Antibiotic Resistance and Antimicrobial Susceptibility. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 12 (2011) 909–915.
- HAN, J.H.; GENNADIOS, A.; Edible films and coatings: a review, **Innov. Food Packag.** (2005) 239–262.
- HUILLCA, P. V. P.; Propriedades superficiais de filmes à base de gelatina. (2015) **Dissertação** (Mestrado em engenharia de alimentos). Universidade de São Paulo
- JUN, W. J.; HAN, B. K.; YU, K. W.; KIM, M. S.; CHANG, I. S.; KIM, H. Y.; CHO, H. Y.; Antioxidant effects of *Origanum majorana* L. on superoxide anion radicals, **Food Chem.** 75 (2001) 439–444.
- KALE, G.; KIJCHAVENGKUL, T.; AURAS, R.; RUBINO, M.; SELKE, S.E.; SINGH, S.P.; Compostability of bioplastic packaging materials: An overview, **Macromol. Biosci.** 7 (2007) 255–277
- KARBOWIAK, T.; DEBEAUFORT, F.; CHAMPION, D.; VOILLEY, A.; Wetting properties at the surface of iota-carrageenan-based edible films. **Journal of Colloid and Interface Science**. 294 (2006) 400–410.
- KAVOOSI, G.; RAHMATOLLAHI, A.; MOHAMMAD, S.; DADFAR, M.; Effects of essential oil on the water binding capacity , physico- mechanical properties , antioxidant and antibacterial activity of gelatin films, **LWT - Food Sci. Technol.** 57 (2014) 556–561.
- KLOPROGGE, J.T.; Synthesis of Smectites and Porous Pillared Clay Catalysts: A Review. **Journal of Porous Materials**. 5 (1998) 5–41.
- KOTAL, M.; BHOWMICK, A. K.; Polymer nanocomposites from modified clays: Recent advances and challenges. **Progress in Polymer Science** 51 (2015) 127–187.
- KREPKER, M.; SHEMESH, R.; POLEG, Y. D.; KASHI, Y.; VAXMAN, A.; SEGAL, E.; Active food packaging films with synergistic antimicrobial activity, **Food Control**. 76 (2017) 117–126.

KUJUMGIEV, A.; TSVETKOVA, I.; SERKEDJIEVA, Y.; BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; POPOV, S.; Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin, **J. Ethnopharmacol.** 64 (1999) 235–240.

LEE, J.; LEE, J.; SONG, K. B.; Food Hydrocolloids Development of a chicken feet protein film containing essential oils, **Food Hydrocoll.** 46 (2015) 208–215.

LIU, X.; ZHENG, C.; LUO, X.; WANG, X.; JIANG, H.; Recent advances of collagen-based biomaterials: Multi-hierarchical structure, modification and biomedical applications. **Materials Science & Engineering.** 99 (2019) 1509-1522.

MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E.; YAMASHITA, F.; Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização Starch films: production, properties and potential of utilization, **Semin. Ciências Agrárias.** 31 (2010) 137–156.

MARTUCCI, J. F.; VÁZQUEZ, A.; RUSECKAITE, R. A.; Nanocomposites based on gelatin and montmorillonite Morphological and thermal studies. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry.** 89 (2007) 117–122.

MENON, A. N.; PADMAKUMARI, K. P.; JAYALEKSHMY, A. J.; Essential Oil Composition of Four Major Cultivars of Black Pepper (*Piper nigrum* L.). **Journal of Essential Oil Research.** 14 (2002) 84-86.

MONTEIRO, M.K.S.; SANTOS, F.K.G.; LEITE, R.H.L.; AROUCHA, E.M.M.; VITORIANO, J.O.; Análise da redução da hidrofília, de parâmetros de cor e de solubilidade em filmes compostos com gelatina e argila bentonita em sua forma natural e modificada. **60º Congresso Brasileiro de Cerâmica** (2016).

MONTERREY, E.S.; SOBRAL, P.J.A.; Caracterização de propriedades mecânicas e óticas de biofilmes a base de proteínas miofibrilares de tilápia do nilo usando uma metodologia de superfície-resposta, **Ciência e Tecnol. Aliment.** 19 (1999) 294–301.

MUCHUWETI, M.; KATIVU, E.; MUPURE, C. H.; CHIDEWE, C.; NDHLALA, A. R.; BENHURA, M. A. N.; Phenolic composition and antioxidant proprieties of some spices. **American Journal of food technology.** 5 (2007) 414-420.

MURIEL-GALET, V.; CRAN, M. J.; BIGGER, S. W.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; GAVARA, R.; Antioxidant and antimicrobial properties of ethylene vinyl alcohol copolymer films based on the release of oregano essential oil and green tea extract components, **J. Food Eng.** 149 (2015) 9–16.

MUTHIAH, K.; SUJA, S.; A study on sense, feel, think, act, relate factors of experiential marketing in retailing, **Transform. Bus. Econ.** 16 (2017) 85–99.

NAGARAJANA, M.; BENJAKULA, S.; PRODPRANB, T.; SONGTIPYA, P.; Properties of film from splendid squid (*Loligo formosana*) skin gelatin with various extraction temperatures. **International Journal of Biological Macromolecules.** 51 (2012) 489– 496.

NAZMI, N.N.; ISA, M.I.N.; SARBON, N.M.; Preparation and characterization of chicken skin gelatin/CMC composite film as compared to bovine gelatin film. **Food Bioscience.** (2017).

NEDOROSTOVA, L.; KLOUCEK, P.; KOKOSKA, L.; STOLCOVA, M.; PULKRABEK, J.; Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria. **Food Control.** 20 (2009) 157–160.

PAIVA, L. B.; MORALES, A. R.; DÍAZ, F. R. V.; Argilas organofílicas: características, metodologias de preparação, compostos de intercalação e técnicas de caracterização. **Cerâmica.** 54 (2008) 213-226.

PEREDA, M.; PONCE, A.G.; MARCOVICH, N.E.; RUSECKAITE, R.A.; MARTUCCI, J.F.; Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. **Food Hydrocolloids.** 25 (2011) 1372-1381.

PEREZ-CORDOBA, L. J.; NORTON, I.T.; BATCHELOR, H.K.; GKATZIONIS, K.; SPYROPOULOS, F.; SOBRAL, P.J.A.; Physico-chemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatinchitosan based films loaded with nanoemulsions encapsulating active compounds. **Food Hydrocolloids.** 79 (2018) 544-559.

PIRES, V.G.A; Incorporação de nanoemulsões de óleos essenciais de melaleuca, copaíba e limão em filmes de alginato de sódio para utilização como curativo. (2016), 81 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência dos Materiais). Universidade Estadual Paulista.

RAKMAI, J.; CHEIRSILP, B.; MEJUTO, J.C.; TORRADO-AGRASAR, A.; SIMAL-GÁNDARA, J.; Physico-chemical characterization and evaluation of bio-efficacies of black pepper essential oil encapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin, **Food Hydrocoll.** 65 (2017) 157–164.

RAY, S. S.; OKAMOTO, M.; Polymer/layered silicate nanocomposites: A review from preparation to processing, **Prog. Polym. Sci.** 28 (2003) 1539–1641.

RAO, Y.Q.; Gelatin-clay nanocomposites of improved properties, **Polymer (Guildf).** 48 (2007) 5369–5375.

RHIM, J.; PARK, H.; HA, C.; Progress in Polymer Science Bio-nanocomposites for food packaging applications, **Prog. Polym. Sci.** 38 (2013) 1629–1652.

ROUF, T.B.; KOKINI, J.L.; Biodegradable biopolymer–graphene nanocomposites, **J. Mater. Sci.** 51 (2016) 9915–9945.

SAHRAEE, S.; MILANI, J.M.; GHANBARZADEH, B.; HAMISHEHKAR, H.; Physicochemical and antifungal properties of bio-nanocomposite film based on gelatin-chitin nanoparticles, **Int. J. Biol. Macromol.** 97 (2017) 373–381.

SANTIN, R.; GIORDANI, C.; MADRID, I.M.; MATOS, C.B.; FREITAG, R.A.; MEIRELES, M.C.A.; CLEFF, M.B.; MELLO, J.R.B.; Atividade antifúngica do óleo essencial de *Origanum vulgare* frente a *Malassezia pachydermatis*. **Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec.** 66 (2014) 367–373.

SENA, L. A.; Produção e caracterização de compósitos hidroxiapatitacolágeno para aplicações biomédicas. (2004) 107 f. **Tese** (Doutorado em Ciências em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) Universidade Federal do Rio de Janeiro.

SHAABAN H, A.; MAHMOUD, K. F.; IBRAHIM M. A.; IBRAHIM, G.; Antimicrobial Activity of Edible Methyl Cellulose Films Enriched with Essential Oils Against Three Common Foodborne Pathogens, **World Appl. Sci. J.** 32 (2014) 2092–2101.

SHARMA, B.; MALIK, P.; JAIN, P.; Biopolymer reinforced nanocomposites: A comprehensive review, **Mater. Today Commun.** 16 (2018) 353–363.

SHOJAEE-ALIABADI, S.; AMIN, M.; HOSSEINI, H.; International Journal of Biological Macromolecules Characterization of nanobiocomposite kappa-carrageenan film with *Zataria multiflora* essential oil and nanoclay, **Int. J. Biol. Macromol.** 69 (2014) 282–289.

SILVA, E. V. C.; Otimização das condições de extração da gelatina de pele de peixes amazônicos por diferentes métodos. (2016) 106 f. **Tese** (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Pará.

SILVA, R. S. G.; BANDEIRA, S. F.; PETRY, F. C.; PINTO, L. A. A.; Extração de gelatina a partir das peles de cabeças de carpa comum. **Ciência Rural.** 5 (2011) 904-909

SINGH, G.; MARIMUTHU, P.; CATALAN, C.; DELAMPASONA, M.P.; Chemical, antioxidant and antifungal activities of volatile oil of black pepper and its acetone extract, **J. Sci. Food Agric.** 84 (2004) 1878–1884.

SOUZA, V.G.L.; FERNANDO, A.L.; Nanoparticles in food packaging: Biodegradability and potential migration to food-A review, **Food Packag. Shelf Life.** 8 (2016) 63–70.

SOUZA, V.G.L.; PIRES, J. R.A.; RODRIGUES, P. F.; LOPES, A.A.S.; FERNANDES, F.M.B.; DUARTE, M. P.; COELHO, I. M.; FERNANDO, A.L.; Bionanocomposites of chitosan/montmorillonite incorporated with *Rosmarinus officinalis* essential oil: Development and physical Characterization. **Food Packaging and Shelf Life.** 16 (2018) 148–156.

SUDERMAN, N.; ISA, M.I.N.; SARBON, N.M.; The effect of plasticizers on the functional properties of biodegradable gelatin-based film: A review, **Food Biosci.** 24 (2018) 111–119.

THEERAWITAYAART, W.; PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S.; SOOKCHOO, P.; Properties of films from fish gelatin prepared by molecular modification and direct addition of oxidized linoleic acid. **Food Hydrocolloids.** 88 (2019) 291-300.

VALAPA, R.; LOGANATHAN, B.S.; PUGAZHENTHI, G.; THOMAS, S.; VARGHESE, T.O.; An Overview of Polymeric Clay Nanocomposites. **Clay Polymer Nanocomposites.** (2017).

VALERIANO, C.; PICCOLI, R.H.; CARDOSO, M.G.; ALVES, E.; Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar, **Rev. Bras. Plantas Med.** 14 (2012) 57–67.

VANIN, F.M.; SOBRAL, P.J.A.; MENEGALLI, F.C.; CARVALHO, R.A.; HABITANTE, A.M.Q.B.; Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin-based films, **Food Hydrocoll.** 19 (2005) 899–907.

VERA, R.R.; CHANE-MING, J.; FRAISSE, D.J.; Chemical composition of the essential oil of sage (*salvia officinalis* L.) from reunion Island, **J. Essent. Oil Res.** 11 (1999) 399–402.

VILLADIEGO, A. M. D.; SOARES, N.F.F.; ANDRADE, N. J.; PUSCHMANN, R.; MINIM, V. P. R.; CRUZ, R.; Filmes e revestimentos comestíveis na conservação de produtos alimentícios; **Revista Ceres**, 52 (2005) 221-244.

YAHYAOUI, M.; GORDOBIL, O.; DÍAZ, R. H.; ABDERRABBA, M.; LABIDI, J.; Development of novel antimicrobial films based on poly(lactic acid) and essential oils, **React. Funct. Polym.** 109 (2016) 1–8.

YOUNG, S.; WONG, M.; TABATA, Y.; MIKOS, A.G.; Gelatin as a delivery vehicle for the controlled release of bioactive molecules, **J. Control. Release.** 109 (2005) 256–274.

ZOLFI, M.; KHODAIYAN, F.; MOUSAVI, M.; HASHEMI, M.; The improvement of characteristics of biodegradable films made from kefiran-whey protein by nanoparticle incorporation, **Carbohydr. Polym.** 109 (2014) 118–125.