

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

JULIANA CARLA NUNES

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS BASEADOS
EM GELATINA, CHÁ-VERDE E NANOEMULSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE
LIMÃO**

Ilha Solteira
2018

JULIANA CARLA NUNES

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES COMESTÍVEIS BASEADOS
EM GELATINA, CHÁ-VERDE E NANOEMULSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE
LIMÃO**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Engenharia 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

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

N972p Nunes, Juliana Carla.
Preparação e caracterização de filmes comestíveis baseados em gelatina, chá-verde e nanoemulsão de óleo essencial de limão / Juliana Carla Nunes. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2018
73 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Química dos Materiais, 2018

Orientador: Marcia Regina de Moura Aouada
Inclui bibliografia

1. Bionanocompósito. 2. Gelatina. 3. Chá-verde. 4. Filme comestível.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Ilha Solteira

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Preparação e caracterização de filmes comestíveis baseados em gelatina, chá verde e nanoemulsão de óleo essencial de limão

AUTORA: JULIANA CARLA NUNES

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:

Marcia R. de M. Aouada

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

Renato Grillo

Prof. Dr. RENATO GRILLO
Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

José Francisco Lopes Filho

Prof. Dr. JOSÉ FRANCISCO LOPES FILHO
Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos / Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto

Ilha Solteira, 26 de julho de 2018

Dedico este trabalho aos meus queridos pais e ao meu grande amor, Breno Puerta.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida, por ter sido luz e direção nos momentos difíceis, nas decisões e por ser minha força todos os dias.

Aos meus amados pais Celso Marcolino Nunes e Vera Lucia C. Nunes, por serem minha base e pessoas ímpares, por todo o amor, educação, cuidado, sabedoria e jamais negarem esforços para apoiarem meus sonhos.

Ao meu namorado Breno H. Puerta, por todo seu amor, carinho e apoio incondicional durante esses anos. Muito obrigada por ter me ensinado a nunca desistir de um sonho!

Ao meu amigo e companheiro de moradia Gabriel F. Puerta, pela capacidade de me fazer rir, apoiar e tornar meus dias mais leves. Além de excelente matemático, um ótimo cozinheiro.

À minha orientadora Prof.^a Dra. Marcia Regina de Moura Aouada, por ser exemplo de mulher e profissional. Pela orientação, sabedoria, amizade, paciência e confiança a mim depositada.

Ao professor Dr. Fauze Ahmad Aouada, pela amizade, conhecimento, disponibilidade e incentivo nesses anos.

A todos os professores do departamento de Física e Química pelo conhecimento e aconselhamentos durante as aulas e no decorrer desta pesquisa.

Ao grupo de pesquisa GCNH, obrigada pelo acolhimento, ensinamentos, pela descontração e troca de experiências. Obrigada em especial à Pamela, por ser companheira, parceira de ciência e nunca ter medido esforços para me ajudar.

Ao grupo de pesquisa Gpol pela disponibilidade dos equipamentos utilizados e todo auxílio despendido.

À Embrapa Instrumentação de São Carlos por ter fornecido suporte para o andamento deste trabalho. Obrigada Juliana Reghine, por ter despendido seu tempo nas análises e por ter me hospedado tão bem. Foi um prazer conhecer você, sua alegria é contagiante.

Aos meus amigos e todos aqueles que tive oportunidade de conhecer que, de alguma forma, contribuíram para que esse trabalho fosse desenvolvido.

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

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

“Suba o primeiro degrau com fé. Não é necessário que você veja toda a escada. Apenas dê o primeiro passo”.
Martin Luther King

RESUMO

Diante da crescente preocupação com os impactos ambientais relacionados ao uso de polímeros sintéticos, estudos visando à obtenção e aplicação de materiais poliméricos de fontes renováveis vêm aumentando, como por exemplo, o desenvolvimento de filmes comestíveis à base de polímeros naturais. Para a obtenção de filmes comestíveis necessita-se de um material polimérico que forme uma matriz homogênea e contínua. A gelatina é um polímero natural, de fonte abundante, biodegradável e biocompatível e tais características motivam sua utilização como matriz em filmes comestíveis. O uso de extrato de chá-verde e óleo essencial de limão em filmes de gelatina é uma alternativa para melhoria de suas características físicas e organolépticas para uma aplicação inovadora do produto como sachê de chá. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi preparar, caracterizar e avaliar a influência do extrato de chá-verde e da nanoemulsão de limão nas propriedades de solubilidade, mecânicas, térmicas e de permeabilidade ao vapor de água da matriz de gelatina. A nanoemulsão apresentou tamanho médio de 171 ± 3 nm e potencial zeta de $-10,9 \pm 0,1$ mV. Os filmes foram obtidos por *casting* a partir de soluções filmogênicas de gelatina com extrato de chá verde e nanoemulsão de limão. A adição de chá verde ocasionou um aumento da tensão máxima de ruptura do filme de gelatina de 86 ± 7 MPa para 101 ± 5 MPa e quando a nanoemulsão foi adicionada o valor diminuiu para 78 ± 8 MPa. A incorporação de chá-verde e nanoemulsão aumentou a permeabilidade ao vapor de água e a solubilidade dos filmes, diminuindo o ângulo de contato. Isso pode ter ocorrido devido às interações entre esses componentes e os domínios hidrofóbicos da gelatina, favorecendo o afastamento e a mobilidade das cadeias do biopolímero, uma vez que puderam ser observadas alterações nos espectros de FTIR dos filmes de gelatina quando a nanoemulsão e o chá verde foram adicionados.

Palavras-chave: Bionanocompósito. Gelatina. Chá-verde. Filme comestível.

ABSTRACT

In view of the growing concern about the environmental impacts related to the use of synthetic polymers, studies aimed to obtain and apply polymeric materials from renewable sources have been increased, as the development of edible films based on natural polymers. To obtain edible films, a polymeric material is needed to form a homogeneous and continuous matrix. Gelatin is a natural polymer, from an abundant source, biodegradable and biocompatible and such characteristics motivate its use as a matrix in edible films. The use of green tea extract and lemon essential oil in gelatin films is an alternative to improve its physical and organoleptic characteristics for an innovative application of the product as a tea bag. In this context, the objective of the present study was to prepare, characterize and evaluate the influence of the green tea extract and the lemon nanoemulsion on the solubility, mechanical, thermal and water vapor permeability properties of the gelatin matrix. The nanoemulsion had an average size of 170.6 ± 3 nm and a zeta potential of -10.9 ± 0.1 mV. The films were obtained by casting from filmogenic solutions of gelatin with green tea extract and lemon nanoemulsion. The addition of green tea caused an increase in the maximum tensile stress of the gelatin film from 86 ± 7 MPa to 101 ± 5 MPa and when the nanoemulsion was added the value decreased to 78 ± 8 MPa. The incorporation of green tea and nanoemulsion increased the permeability of water vapor and the solubility of the films, reducing the contact angle. This may have occurred because of the interactions between these components and the hydrophobic domains of gelatin, favoring the removal and mobility of the biopolymer chains, since changes in the FTIR spectra of the gelatin films could be observed when nanoemulsion and green tea were added.

Key words: Bionanocomposite. Gelatin. Green tea. Edible film.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Exemplos dos níveis de embalagens de chá em sachê. A) embalagem primária; B) embalagem secundária; C) embalagem terciária	20
Figura 2	- Modelo patenteado do porta-folhas de chá	22
Figura 3	- Principais fontes de biopolímeros	23
Figura 4	- Representação da estrutura da gelatina	25
Figura 5	- Alguns dos terpenos presentes no óleo essencial de limão	29
Figura 6	- Processos de fabricação dos chás, mostrando a progressiva oxidação que aumentam à medida que o chá é convertido de branco → verde → oolong → preto	30
Figura 7	- Representação do filme e célula utilizados para as medidas de permeabilidade ao vapor de água	36
Figura 8	- a) Amostra de filme de gelatina com extrato de chá-verde e nanoemulsão de limão utilizado no teste de solubilização e b) filme solubilizado	38
Figura 9	- Analisador de ângulo de contato equipado ao microcomputador	38
Figura 10	- Uma gotícula de água colocada em uma superfície sólida pode a) espalhar-se (baixo ângulo de contato, alta molhabilidade), ou b) contrair-se (elevado ângulo de contato, baixa molhabilidade)	39
Figura 11	- Nanoemulsão de óleo essencial de limão	42
Figura 12	- Comparativo dos valores de permeabilidade ao vapor de água (WVP) dos filmes FG, FGCV, FGNL, FGCVNL	43
Figura 13	- Esquema representativo da possível interação entre as cadeias da matriz de gelatina	44
Figura 14	- Desenho representativo das possíveis interações da nanoemulsão e dos compostos fenólicos do chá-verde com as cadeias de gelatina e aumento do vapor permeante	45
Figura 15	- Solubilidade (%) dos filmes FG, FGCV, FGNL, FGCVNL	46
Figura 16	- Valores médios de tensão máxima dos filmes FG, FGCV, FGNL e FGCVNL	49
Figura 17	- Curvas de TG dos filmes FG, FGCV, FGNL e FGCVNL	51
Figura 18	- Curvas de DTG dos filmes FG, FGCV, FGNL e FGCVNL	51
Figura 19	- Micrografias obtidas por MEV/FEG e MEV. Superfície do filme de: (a) gelatina e (b) gelatina com nanoemulsão de limão. Fraturas criogênicas dos filmes: (c) gelatina e (d) gelatina com nanoemulsão de limão	55
Figura 20	- Micrografias obtidas por MEV/FEG e MEV. Superfície do filme de: (a) gelatina com chá-verde e (b) gelatina com chá-verde e nanoemulsão de limão. Fraturas criogênicas dos filmes: (c) gelatina com chá-verde e (d) gelatina com chá-verde e nanoemulsão de limão	56
Figura 21	- Espectros do óleo essencial de limão (OE); extrato de chá-verde (CV); filme de gelatina (FG); filme de gelatina com chá-verde (FGCV); filme de gelatina com nanoemulsão de limão (FGNL) e filme de gelatina com chá-verde e nanoemulsão de limão (FGCVNL)	58
Figura 22	- Espectros do óleo essencial de limão, filme de gelatina; filme de gelatina com nanoemulsão de limão	59
Figura 23	- Espectros do extrato do chá-verde, filme de gelatina e filme de gelatina com chá-verde	60

Figura 24 - Comparação dos espectros dos filmes de gelatina com nanoemulsão de limão (FGNL), filme de gelatina com chá-verde (FGCV) e filme de gelatina com chá-verde e nanoemulsão de limão e filme de gelatina com chá-verde (FGCVNL)

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Composição de aminoácidos residuais de gelatina e colágeno (resíduos por 1000 resíduos)	26
Tabela 2	- Tempo (min) necessário para a solubilização dos filmes pelo método sem e com agitação	47
Tabela 3	- Ângulo de contato médio observado em cada tipo de filme formado	48
Tabela 4	- Influência da incorporação e de extrato de chá-verde e nanoemulsão de limão na elongação e módulo de elasticidade dos filmes FG, FGCV, FGNL e FGCVNL.....	49
Tabela 5	- Temperaturas de degradação (Td °C) dos filmes incorporados com chá-verde e nanoemulsão de limão	52
Tabela 6	- Valores da temperatura de fusão cristalina (Tm) e variação de entalpia na Tm (ΔH_m) dos filmes FG, FGCV, FGNL e FGCVNL	53
Tabela 7	- Principais picos observados nos espectros de OE, CV, FG, FGCV, FGNL e FGCVNL	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIPLAST (Associação Brasileira da Indústria do Plástico)

ASTM (American Society for Testing and Materials)

CV (chá-verde)

DLS (Espalhamento Dinâmico da Luz)

DSC (Calorimetria Exploratória Diferencial)

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária)

FG (filme de gelatina pura)

FGCV (filme de gelatina com extrato de chá-verde)

FGNL (filme de gelatina com nanoemulsão de limão)

FGCVNL (filme de gelatina com extrato de chá-verde e nanoemulsão de limão)

G (gelatina)

IUPAC (União Internacional de Química Aplicada)

LNNA (Laboratório Nacional de Nanotecnologia)

MEC (Ministério da Educação)

MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura)

MEV/FEG (Microscopia Eletrônica de Varredura com emissão de campo)

mw (massa molar da água)

NL (nanoemulsão de limão)

O/A (emulsão óleo em água)

OE (óleo essencial)

UR (umidade relativa)

rpm (rotações por minuto)

T_g (temperatura de transição vítrea)

T_m (temperatura de degradação)

WVP (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	19
2.1.1 Níveis das embalagens	20
2.1.1.1 Embalagem primária	20
2.1.1.2 Embalagem secundária	20
2.1.1.3 Embalagem terciária	20
2.1.2 Estrutura das embalagens	21
2.2 Sachê	21
2.3 Biopolímeros	23
2.4 Gelatina	24
2.5 Óleo essencial	27
2.5.1 Óleo essencial de limão.....	28
2.6 Chá-verde (<i>Camellia sinensis</i>)	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 Preparação da nanoemulsão.....	34
4.2.2 Preparo das soluções filmogênicas	34
4.2.3 Conformação dos filmes nanocompósitos	34
4.2.4 Caracterizações.....	35
4.2.4.1 Determinação do tamanho médio e potencial zeta da nanoemulsão	35
4.2.4.2 Determinação da espessura dos filmes	35
4.2.4.3 Permeabilidade ao Vapor de Água (WVP)	35

4.2.4.4 Solubilidade dos filmes em água	37
4.2.4.5 Solubilização dos filmes	37
4.2.4.6 Ângulo de contato	38
4.2.4.7 Propriedades mecânicas.....	39
4.2.4.8 Análise Termogravimétrica (TG).....	40
4.2.4.9 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	40
4.2.4.10 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	40
4.2.4.11 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	41
 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	 42
5.1 Tamanho médio de partícula e potencial zeta da nanoemulsão	42
5.2 Permeabilidade ao Vapor de Água (WVP)	43
5.3 Solubilidade dos filmes em água	45
5.4 Solubilização dos filmes	47
5.6 Propriedades mecânicas.....	48
5.7 Análise Termogravimétrica (TG).....	50
5.8 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	53
5.9 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	54
5.10 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR).....	57
 6 CONCLUSÃO.....	 62
 8 REFERÊNCIAS	 63

1 INTRODUÇÃO

O mercado brasileiro produziu aproximadamente 5,8 milhões de toneladas de transformados plásticos em 2016. Desse total, a construção civil é a maior consumidora (25,7 %) e o setor de alimentos fica em segundo lugar, com um consumo de 19 % (ABIPLAST, 2016). Essa produção vem aumentando exponencialmente devido ao crescimento acelerado da população, associado à industrialização e ao consumo desregulado nos centros urbanos (ETXABIDE et al., 2017).

Atualmente, grande parte dos polímeros sintéticos utilizados na formação de embalagens plásticas, que são materiais versáteis e de ampla aplicação, são provenientes de combustíveis fósseis. Contudo, o fato de a maioria dessas embalagens não ser biodegradável, traz sérias preocupações do ponto de vista ambiental devido ao acúmulo de resíduos (CHAICHI et al., 2017).

Por essas razões, há um recente interesse pelo uso de polímeros naturais, que são obtidos de recursos renováveis, para o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis de alta qualidade (MANO e MENDES, 2013). Além disso, a preocupação com a saúde, meio ambiente, segurança alimentar e o consumo de produtos que sejam ecologicamente corretos vêm aumentando, o que torna vantajoso o emprego de polímeros naturais em termos de sustentabilidade e maior aprovação pelo mercado consumidor (MOHAJER et al., 2017).

Uma das recentes soluções reportadas na literatura para o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis é a preparação de filmes e revestimentos comestíveis. Diversos são os materiais que possibilitam tal inovação, entre eles estão algumas proteínas, que são boas opções por atribuírem características estruturais e mecânicas favoráveis, quando comparadas com polímeros sintéticos, além de serem abundantes (DAMMAK et al., 2017; ETXABIDE et al., 2016; RIBEIRO-SANTOS et al., 2017).

O aumento do interesse de pesquisadores no desenvolvimento de filmes comestíveis biodegradáveis se deve tanto a preocupação com embalagens ecologicamente corretas, quanto às mudanças nos hábitos de consumo (PÉREZ-MATEOS et al., 2009). São diversas as vantagens em relação à sua utilização, como o controle da qualidade e estabilidade de produtos alimentares por meio de propriedades de barreira, a possibilidade de se adicionar agentes antimicrobianos e antioxidantes à embalagem, bem como agregar valor nutricional e boas características organolépticas ao alimento quando incrementados ingredientes com tais funções (FANG et al., 2017; MUSSO et al., 2017).

Em relação à classificação, as embalagens comestíveis são divididas em recobrimentos

e filmes. Os recobrimentos entram em contato direto com o alimento formando uma fina camada protetora e servem como barreira para a entrada ou perda de umidade e outras trocas gasosas entre o meio externo e interno, contribuindo para a conservação e redução da perda do produto acondicionado. Já os filmes, são estruturas independentes pré-formadas, separadamente do produto, que podem ser usados em diferentes partes de um alimento ou individualmente (AZEREDO, 2003; AOUADA, 2009;).

Durante o desenvolvimento de uma embalagem comestível é necessário considerar, e buscar melhoria, em algumas propriedades, tais como: térmicas, mecânicas, de barreira, sensoriais, entre outras. Diversos materiais biodegradáveis e comestíveis, como proteínas, polissacarídeos e lipídios já apresentaram bons resultados e mostraram potencial habilidade para serem utilizados como agentes formadores de filmes comestíveis (NUR HANANI et al., 2014; BENBETTAÏEB et al., 2018).

Em relação às proteínas, a gelatina tem se mostrado promissora para a aplicação em embalagens. Além de ser abundante, ter baixo custo, excelente biocompatibilidade e biodegradabilidade, também apresenta boa resistência, solubilidade e viscosidade favoráveis para a formação de filmes, o que vem despertando interesse entre diversos pesquisadores (NUR HANANI et al., 2014). Contudo, possui elevada natureza higroscópica, baixa temperatura de desnaturação proteica, e, dependendo da aplicação, pode ser necessário formar um compósito através da incorporação de lipídios, polissacarídeos ou outra substância para melhorar as características finais da embalagem (ACOSTA et al., 2016; ALPARSLAN et al., 2016).

Com a crescente preocupação com o consumo de produtos saudáveis e benéficos ao organismo a curto e longo prazo, alguns trabalhos têm relatado o uso de chá-verde (*Camellia sinensis* L.) incorporado em alguns filmes para embalagens. GIMÉNEZ et al. (2013) verificaram que o chá-verde é fonte de compostos polifenólicos com forte atividade antioxidante e antimicrobiana, sendo as catequinas os de maior concentração.

A oxidação influencia diretamente na perda de qualidade dos alimentos, tanto nutricional, quanto sensorial. Carrizo et al. (2016) concluíram que as catequinas do chá-verde são antioxidantes eficientes quando incorporadas em embalagens. Giménez et al. (2013) sintetizaram filmes de gelatina de peixe com chá-verde e verificaram um aumento na atividade antioxidante.

Diante do exposto, este trabalho propõe a elaboração de filmes a partir de gelatina com o intuito de inserir nanoemulsão de óleo essencial de limão e extrato seco em pó de chá-verde para caracterizar e aprimorar as propriedades de barreira, solubilidade, mecânicas e térmicas,

dos filmes nanocompósitos obtidos. Espera-se, futuramente, que esse tipo de filme possa ser utilizado como sachê de chá, em substituição parcial de alguns já existentes no mercado, evitando assim, o acúmulo de resíduos gerados por tais materiais.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Embalagens

Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 91, de 11 de maio de 2001, embalagem para alimento é um artigo que está em contato direto com os alimentos, devendo contê-los e protegê-los de agente externos, alterações e contaminações, desde a fabricação até a utilização pelo consumidor.

Entretanto, de acordo com o Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas – SBRT (2011), há diversas embalagens que não estão em contato direto com o alimento e que, juntamente com as embalagens que estão, possuem outras funções além da proteção, como: conservação, informação e atribuições relacionadas ao serviço ou à conveniência na utilização do produto.

As embalagens envolvem os produtos com a finalidade de protegê-los durante o transporte, armazenamento, manuseio, bem como durante sua utilização, evitando possíveis danos mecânicos, perda de alimento, adulterações, mantendo assim a integridade do alimento para o consumidor. Além disso, alguns sistemas são empregados para comprovar que nenhuma adulteração foi provocada, como o uso de lacres, tampas com anel de ruptura e selos (SBRT, 2011).

Além de proteger o produto, a embalagem tem um papel fundamental na conservação do alimento, através do controle de determinados fatores como: luz, pH, umidade, oxidação e contaminação de micro-organismos. Algumas embalagens possuem atmosfera modificada, contendo, por exemplo, nitrogênio e dióxido de carbono, sendo possível prolongar o tempo de prateleira de determinados alimentos (SBRT, 2011).

As embalagens devem fornecer informações claras e consistentes sobre o alimento contido e que sejam compreendidas pelos distribuidores e consumidores. Essas informações podem constar tanto na própria embalagem quanto no rótulo e incluem data de fabricação e validade, informações nutricionais, peso, volume, entre outros. A informação também é um forte método de marketing, e a sua disposição na embalagem pode induzir emoções no consumidor para que o produto seja escolhido e adquirido (WYRWA e BARSKA, 2017).

Uma outra forma de marketing são as conveniências que determinada embalagem dispõe comparada às demais concorrentes e que facilitam a utilização e estocagem pelo consumidor. Essas facilidades incluem: possibilidade de aquecimento e servir na própria embalagem; tampa dosadora; abertura fácil; doses individuais; possibilidade de fecho entre as utilizações; utilização em micro-ondas; junção com outro produto (iogurte e cereais), entre

outros. A união entre esses tipos de serviços com as informações promovem a embalagem final e facilitam a venda (JORGE, 2013).

2.1.1 Níveis das embalagens

2.1.1.1 Embalagem primária

A embalagem primária é aquela que entra em contato direto com o alimento, sendo normalmente responsável por contê-lo e conservá-lo, como as latas, garrafas e sacos (JORGE, 2013). Os filmes comestíveis se enquadram como embalagem primária e na aplicação são protegidos por outra embalagem. A figura 1 exemplifica os três níveis de embalagens que, por vezes, podem ser encontrados em um único produto.

Figura 1 – Exemplos dos níveis de embalagens de chá em sachê. A) embalagem primária; B) embalagem secundária; C) embalagem terciária



Fonte: Elaboração da própria autora.

2.1.1.2 Embalagem secundária

A embalagem secundária (plástico, caixa de cartão ou cartolina) é àquela que entra em contato direto com uma ou mais embalagens primárias e normalmente é responsável por protegê-las de danos físicos e mecânicos, além de serem suporte de informação para o consumidor (SBRT, 2011).

2.1.1.3 Embalagem terciária

A embalagens terciárias agrupam uma ou mais embalagens primárias ou secundárias, com o objetivo de proteger as demais embalagens durante o transporte, como as caixas de papel

cartão e caixas plásticas. A natureza dessa embalagem varia com o tipo da embalagem individual e os custos (JORGE, 2013).

2.1.2 Estrutura das embalagens

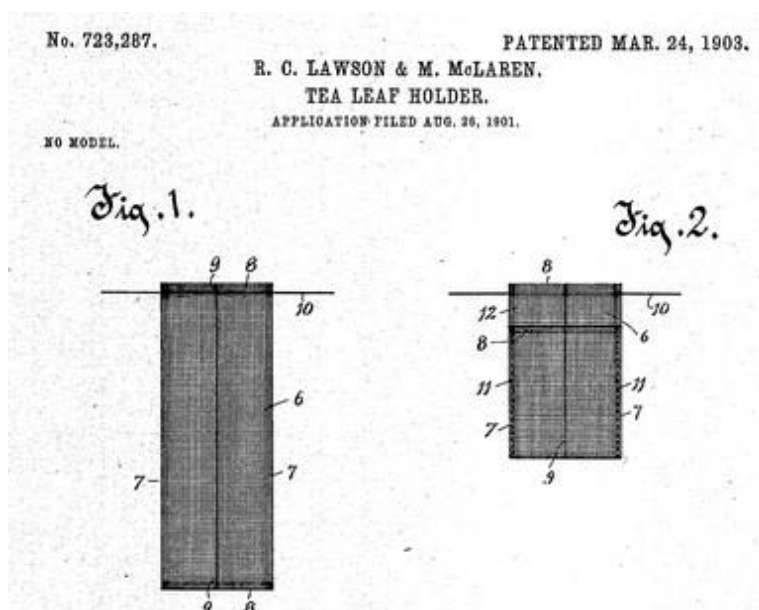
As embalagens também podem ser classificadas quanto à estrutura dos materiais, dividindo-se em rígidas, semirrígidas e flexíveis, podendo ser de metal, plástico, vidro, papel, madeira, material têxtil, elastomérico e cortiça. Cada um desses materiais deve atender ao disposto na legislação sanitária de materiais em contato com alimentos e/ou bebidas e as normas são regulamentadas de acordo com o tipo de material. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA ainda não possui nenhuma legislação específica sobre embalagens comestíveis. Na Europa, há uma regulamentação que dispõe apenas sobre materiais ativos e inteligentes destinados a entrar em contato com alimentos (EC, 2009).

2.2 Sachê

Segundo Sherwin e Ilona (2008), o surgimento do sachê de chá data de 1908, quando Thomas Sullivan, um vendedor de chá e café em Nova York, passou a enviar seu chá em pequenas bolsas para os consumidores para que não necessitassem mais retirar os resíduos do chá da água quente utilizando outros artefatos.

No entanto, alguns anos antes desse ocorrido, em 1903, Roberta C. Lawson e Mary McLaren patentearam um porta folhas de chá confeccionado de malha aberta feito de fios de algodão, conforme ilustrado na figura 2. O objetivo era evitar o desperdício de folhas de chá utilizadas durante o preparado e propiciar que o chá pudesse ser feito de forma individualizada em uma xícara (EUROPEAN PATENT OFFICE - EPO).

Figura 2 - Modelo patentado do porta-folhas de chá



Fonte: EPO

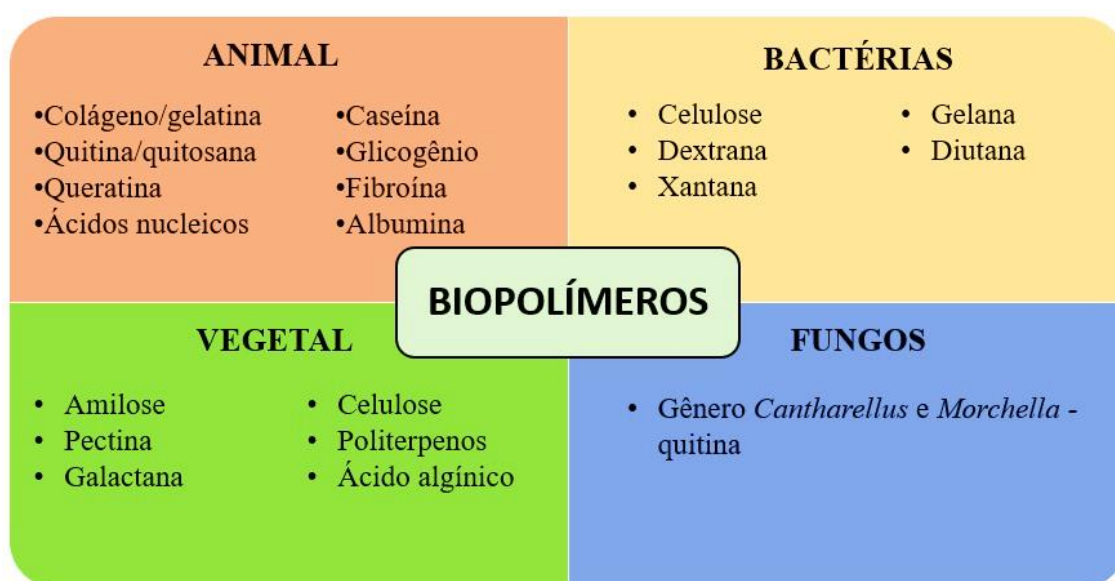
O tempo necessário para degradação dos sachês varia de acordo com o tipo de material. Atualmente, grande parte dos sachês de chá são feitos com papel filtro, porém algumas empresas utilizam malha de nylon, poliéster, tecido não tecido (TNT) ou até mesmo seda (FIRSD TEA, FUSO INTERNATIONAL). Dependendo da condição ambiental, o papel leva cerca de 3 a 6 meses para se decompor, enquanto o nylon necessita de 30 a 40 anos, aproximadamente (PULS; WILSON e HÖLTER, 2011; SECATRE).

Além do tempo necessário para decomposição dos materiais que compõem sachês de chá, Munasinghe et al. (2017) desenvolveram um estudo sobre o impacto da indústria do chá na emissão de carbono. Nessa pesquisa verificaram que a indústria de chá no Sri Lanka emitia um total de 32 Kg de CO₂/Kg de chá, aproximadamente, sendo a embalagem a principal fonte de emissões durante o ciclo de produção do chá. A utilização de sachês de chá possui uma pegada de carbono (emissão de gases de efeito estufa) dez vezes maior comparado ao chá solto, devido a todos os materiais requeridos para formação da embalagem (nylon, papel, plástico, corda, papelão, entre outros).

2.3 Biopolímeros

De acordo com a União Internacional de Química Aplicada – IUPAC (2012), os biopolímeros são substâncias compostas de um tipo de biomacromolécula, ou seja, são formadas a partir de macromoléculas sintetizadas em organismos vivos, como as proteínas, polissacarídeos e ácidos nucleicos. A figura 3 ilustra os biopolímeros comumente encontrados na natureza.

Figura 3 – Principais fontes de biopolímeros



Fonte: Elaboração da própria autora.

Os biopolímeros fazem parte da classe dos polímeros naturais, que inclui tantos os polímeros ligados à vida, quanto os geopolímeros (origem mineral) (MANO e MENDES, 2013). Segundo Pattanashetti, Heggannavar e Kariduraganavar (2017), os polímeros naturais são compostos por unidades monoméricas ligados covalentemente formando estruturas maiores.

De posse das problemáticas apresentadas anteriormente em relação aos polímeros sintéticos, diversas pesquisas vêm sendo realizadas sobre os biopolímeros para que sejam uma alternativa frente as embalagens que conhecemos. Em estudo realizado por Aouada (2009), foram desenvolvidos filmes para aplicação em embalagens utilizando pectina e nanopartículas de quitosana. Em outra pesquisa, Talón et al.(2017) agregaram extrato de tomilho em filmes

comestíveis de amido e quitosana e obtiveram um material com boas propriedades antioxidantes.

2.4 Gelatina

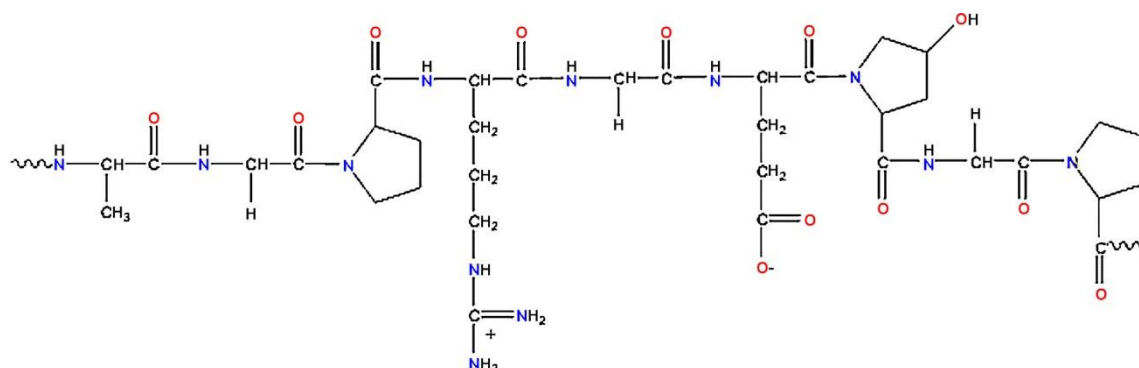
A gelatina é um tipo de biopolímero extensivamente utilizado na indústria farmacêutica, alimentícia e fotográfica (CHEN et al., 2009; STEYAERT et al., 2016). No setor farmacêutico é aplicada na formação de cápsulas duras e moles, pomadas, supositórios, expansor plasmático e emulsões (NUR HANANI; ROOS e KERRY, 2014). Na indústria alimentar é capaz de oferecer texturização, clarificação, gelificação e emulsificação na confeitaria, bebidas e lácteos (DJAGNY; WANG e XU, 2010), e também já foi aplicada como camada de revestimento em materiais fotográficos (HOWE, 2000).

A principal fonte de obtenção da gelatina é o colágeno de ossos, peles e cartilagens de suínos e bovinos durante o abate e processamento (KANMANI e RHIM, 2014; YASIN; BABJI e NORRAKIAH, 2017). Entretanto, pesquisas mais recentes vêm explorando a caracterização e aplicação de gelatina extraída de peixes (DUAN et al., 2018; SOW et al., 2017) e aves (NAZMI; ISA e SARBON, 2017; SARBON; BADII e HOWELL, 2013).

O colágeno é a proteína mais abundante nos vertebrados, cerca de 30%, e pode ser apelidado como o “aço da matéria biológica” devido sua importante função estrutural (AN; LIN e BRODSKY, 2015; SHERMAN; YANG e MEYERS, 2015). Essa proteína se dispõe em fibras interconectadas por ligações covalentes, e suas moléculas se arranjam em uma tripla hélice estabilizada por ligações hidrofóbicas e de hidrogênio. Nessa estrutura há uma sequência característica de aminoácidos que se repetem descrita como $(\text{Gli-XY})_n$, sendo glicina, prolina, frequentemente na posição X e hidroxiprolina, geralmente em Y (NUR HANANI; ROOS e KERRY, 2014; PROCKOP, 2004). Além disso, o colágeno é uma das poucas proteínas que contém hidroxilisina e desprovida de triptofano (ARVANITOYANNIS, 2002).

De acordo com Ofori (1999), no processo de conversão de colágeno em gelatina, as fibras do colágeno, que são altamente organizadas e insolúveis em água, se transformam em uma rede assimétrica e solúvel em água. Essa conversão pode ser realizada através de dois tipos de pré-tratamentos, alcalino ou ácido. A gelatina tipo A é obtida através de um processo ácido que pouco afeta os grupos amida presentes, enquanto na gelatina tipo B, formada por tratamento alcalino, uma maior proporção de grupos amida se hidrolisam formando grupos carboxílicos carregados negativamente, diminuindo seu ponto isoelétrico (YOUNG et al., 2005). A estrutura geral de uma unidade de gelatina é ilustrada na figura 4.

Figura 4 – Representação geral da estrutura da gelatina



Fonte: Nur Hanani; Roos e Kerry (2014).

Em geral, a gelatina é composta por 50,5% de átomos de carbono, 25,2% de oxigênio, 17% de nitrogênio e 6,8% de hidrogênio, e a massa molecular média de gelatinas não hidrolisadas varia de 105 a 106 u (ARVANITOYANNIS, 2002; NUR HANANI; ROOS e KERRY, 2014; SMITH, 1921). Entretanto, essa composição pode variar dependendo da fonte em que é extraída a gelatina. Além disso, a espécie, o tipo de colágeno e idade do animal influenciam diretamente na distribuição do peso molecular e composição de aminoácidos da gelatina obtida, principalmente em relação à glicina, prolina e hidroxiprolina (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2011). A tabela 1 apresenta uma comparação entre a composição de aminoácidos presentes no colágeno e na gelatina de fonte bovina e suína.

Tabela 1 – Composição de aminoácidos residuais de gelatina e colágeno (resíduos por 1000 resíduos)

Aminoácidos	Colágeno tipo I (bovino)	Gelatina		Gelatina (suína) Tipo A	Hidrofílico	Hidrofóbico
		Tipo A	Tipo B			
Alanina	114	112	117	86-107	-	+
Arginina	51	49	48	83-91	+	-
Asparagina	16	16	0	-	+	-
Ácido aspártico	29	29	46	62-67	+	-
Cisteína	-	-	-	-	+	-
Ácido glutâmico	48	48	72	113-117	+	-
Glutamina	25	25	0	-	-	+
Glicina	332	330	335	264-305	+	-
Histidina	4,4	4	4,2	8-10	-	+
Hidroxiprolina	104	91	93	135	+	-
Hidroxilisina	5,4	6,4	4,3	10	-	+
Isoleucina	11	10	11	14	-	+
Leucina	24	24	24,3	31-33	+	-
Lisina	28	27	28	41-52	-	+
Metionina	5,7	3,6	3,9	8-9	-	+
Fenilalanina	13	14	14	21-26	-	+
Prolina	115	132	124	162-180	+	-
Serina	35	35	33	29-41	+	-
Treonina	17	18	18	22	+	-
Triptofano	-	-	-	-	-	+
Tirosina	4,4	2,6	1,2	4-9	-	+
Valina	22	26	22	25-28	+	-

Fonte: Adaptado de Aryanitoyannis (2002); Schrieber e Gareis (2007).

Uma das principais características da gelatina é o elevado caráter higroscópico. Em contato com a água fria suas partículas intumescem, aumentando em cerca de dez vezes a sua massa. Ao ser aquecida acima de sua temperatura de desnaturação (40 °C), a gelatina forma uma solução coloidal com a água e gelifica após o resfriamento. Esse comportamento permite que filmes oriundos desse material tenham maior propensão em se dissolverem quando imersos em água acima dessa temperatura. Contudo, a gelatina é praticamente insolúvel no álcool e solventes apolares como o sorbitol e a glicerina (MARIOD e ADAM, 2013; QIAO et al., 2017).

As propriedades hidrodinâmicas da gelatina dependem da distribuição do seu peso molecular. A viscosidade, importante propriedade funcional, pode variar conforme o tipo de gelatina, concentração, tempo e temperatura do sistema. Gelatinas obtidas através de pré-tratamento alcalino do colágeno possuem viscosidade intrínseca de 30-50% maior do que aquelas processadas em meio ácido, mas isso não influencia nos pontos de fusão dos géis (DJAGNY et al., 2011; SCHRIEBER e GAREIS, 2007).

Segundo Schrieber e Gareis (2007), as cadeias laterais da gelatina possuem grupos carregados e determinadas porções da proteína contêm aminoácidos hidrofóbicos e hidrofílicos. Desta forma, ambas tendem a se localizar na superfície, reduzindo a tensão superficial da solução aquosa e recobrindo os componentes dispersos, quando o caso. Essa propriedade é vantajosa e utilizada para a estabilização de emulsões (O/A) e espumas, pois aumenta a viscosidade da fase aquosa mesmo sem a gelificação. A tabela 1 também classifica os aminoácidos presentes na gelatina de acordo com as características hidrofílicas/hidrofóbicas.

A literatura recente apresenta diversos trabalhos em relação às propriedades da gelatina para formação de filmes e revestimentos com potenciais aplicações na área de embalagens. De acordo com Fisher e Phillips (2008) e Nazmi, Isa e Sarbon (2017), sua biodegradabilidade, rentabilidade e abundância são fatores positivos que a tornaram uma proteína promissora dentro da classe dos biopolímeros.

Além disso, Adilah, Jamilah e Hanani (2018) desenvolveram embalagens ativas utilizando isolado de proteína de soja e gelatina de peixe com diferentes concentrações de extrato de semente de manga como agente antioxidante e observaram que os filmes de gelatina tiveram maior tensão de ruptura, espessura e transparência. Kavooosi et al. (2014) e Sahraee et al. (2017) relataram que a adição de lipídios à matriz de gelatina pode tanto aumentar quanto diminuir a permeabilidade e absorção de água pelo filme. Guerrero et al. (2011) reportaram melhora nas propriedades mecânicas de filmes de isolado de proteína de soja após a adição de gelatina de peixe.

2.5 Óleo essencial

As plantas realizam o metabolismo primário a fim de obterem metabólitos essenciais para sua sobrevivência, como os carboidratos, clorofilas, ácidos graxos e aminoácidos. No entanto, por serem fontes de alimento para muitos seres vivos, grande parte desenvolveu mecanismos de adaptação e proteção contra seus predadores através de um metabolismo

secundário, com a produção de substâncias que podem ser tóxicas e afastar determinados organismos ou atrair agentes polinizadores (HELDT e PIECHULLA, 2011).

Os óleos essenciais (OE) são produzidos nesse tipo de metabolismo, principalmente pelas angiospermas, e dependendo da espécie, podem ser encontrados em folhas, frutos, rizomas, cascas e flores. A composição e a qualidade desses óleos são afetadas por diversos fatores como o estágio de desenvolvimento da planta, origem geográfica, estação do ano, condições climáticas e composição do solo. Além disso, a porção da planta analisada e o método de extração do óleo utilizado são variáveis que podem interferir no resultado final (BIZZO, 2009; RIBEIRO-SANTOS et al., 2017).

Também conhecidos como óleos voláteis ou óleos etéreos, os óleos essenciais são substâncias aromáticas classificadas em três grupos quimicamente distintos: compostos fenólicos, terpenos e componentes contendo nitrogênio (BURT, 2004). Grande parte dessas substâncias exibem propriedades antimicrobianas, antifúngicas e antioxidantes (ATARÉS e CHIRALT, 2016; KHORSHIDIAN et al., 2017).

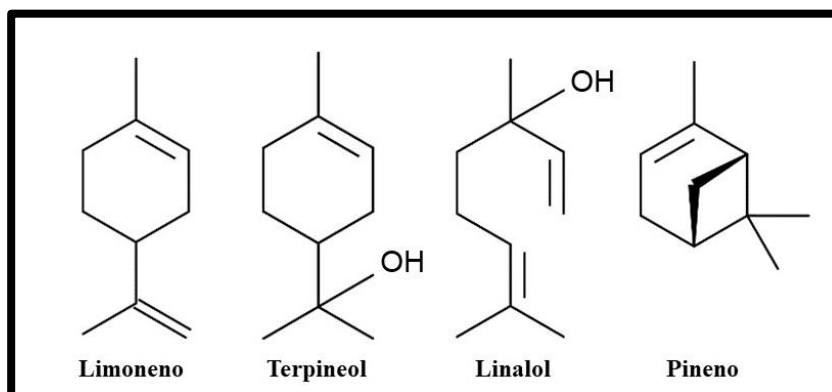
Ali et al. (2015) e Dyer et al. (2014) relataram a aplicação e benefícios de determinados óleos essenciais na aromaterapia dentro da medicina holística. Essas substâncias, entre elas os OEs de lavanda, limão, hortelã e bergamota, podem promover respostas neurológicas que levam a mudanças de humor e ao relaxamento, auxiliando no tratamento e alívio de sintomas de diversas doenças.

2.5.1 Óleo essencial de limão

O limoeiro (*Citrus limon* L.) é uma planta nativa da Ásia pertencente à família das *Rutaceae* e uma das principais espécies do gênero *Citrus* comercializada. O limão possui uma polpa de textura fina, ácida e coloração amarelo claro, sendo tradicionalmente utilizado em bebidas, como flavorizante de alimentos e cosméticos e alívio de dores de garganta (AL-JABRI e HOSSAIN, 2014; BOUZENNA et al., 2016; MOUFIDA e MARZOUK, 2003).

Em um estudo realizado por Al-Jabri e Hossain (2014), o óleo essencial de limão foi extraído e caracterizado, apresentando-se como um composto volátil, de coloração amarelada e odor forte característico. No óleo foram identificados vinte e dois componentes químicos, entre eles os monoterpenos: limoneno, terpineol, linalol, pineno, entre outros, conforme a figura 5.

Figura 5 - Alguns dos terpenos presentes no óleo essencial de limão



Fonte: Elaboração da própria autora.

Em um estudo realizado por Alfonzo et al. (2017), com a aplicação de óleo essencial em sardinha salgada, observou-se uma diminuição na proliferação de micro-organismos patogênicos durante o período de amadurecimento e melhoria na segurança e características sensoriais do produto. Em relação ao OE de limão em embalagens, Sessa, Ferrari e Donsì, (2015) elaboraram um revestimento de quitosana com óleo essencial de limão para folhas de rúcula e observaram maior durabilidade das folhas em consequência da redução do crescimento microbiano.

Além das comprovações da atividade antimicrobiana do OE de limão, em uma pesquisa realizada por Komiya (2006) foi avaliado o efeito da inalação de vapores de OE de limão em ratos e verificaram-se efeitos ansiolíticos e antidepressivos do OE através dos testes realizados. Em um estudo feito com humanos Knasko (1992), testes envolvendo criatividade e questionários sobre a percepção da própria saúde e humor foram aplicados em duas sessões distintas: a primeira perfumada com limão, lavanda e dimetilsulfereto e a segunda sem aromatização. Observou-se na primeira sessão o efeito dos odores nas associações através de respostas mais criativas e positivas em relação à segunda sessão.

Uma das formas de se incorporar os óleos essenciais em uma matriz polimérica é através de emulsões e também nanoemulsões. Em relação às nanoemulsões, uma das vantagens do seu uso é o aumento proporcionado na área superficial, levando a uma maior funcionalidade, podendo dificultar ou facilitar a passagem de vapores de água e, dependendo do tipo de óleo essencial, pode ocorrer uma potencialização na ação antimicrobiana, devido ao maior contato com os micro-organismos (ACEVEDO-FANI et al., 2015; OTONI et al., 2014).

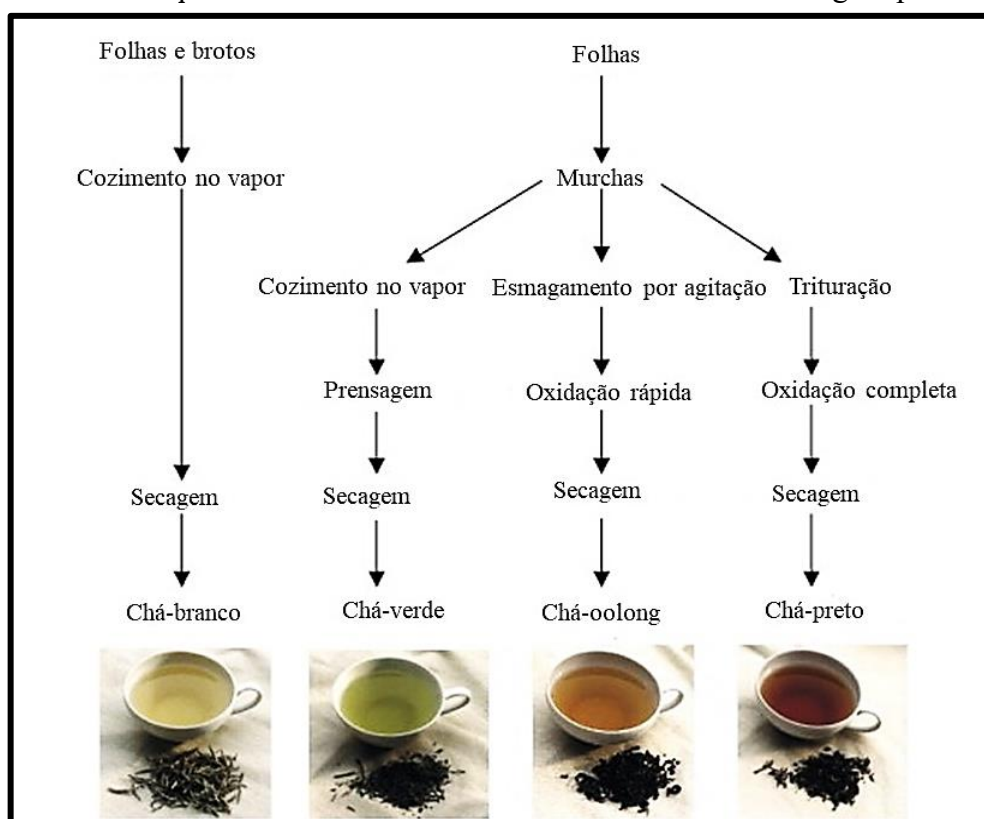
2.6 Chá-verde (*Camellia sinensis*)

O chá é uma das bebidas mais antigas (2700 a.C) e consumidas no mundo (FAO, 2015; WANG; MAO e WEI, 2012). Um dos primeiros relatos escritos de seu consumo data de 200 a.C. em um livro chinês que descreve as propriedades desintoxicantes de suas folhas (BRAIBANTE et al., 2014).

Originário da China, o chá de *Camellia sinensis*, mais conhecido como chá-verde, é consumido em mais de 160 países, principalmente nos asiáticos (NISHIYAMA et al., 2010; (RYU et al., 2017). Em 2013, a produção mundial de chá (preto, verde) foi de 5,07 milhões de toneladas, sendo a China a maior produtora, detendo 1,9 milhões desse total (FAO, 2015).

As folhas da *C. sinensis* são fonte tanto para chá-verde, preto, branco e oolong, como descrito na figura 6. O que os diferencia é o grau de fermentação que resulta em chás com diferentes graus de oxidações. Enquanto o chá preto é totalmente fermentado, o chá branco e oolong são semifermentados e o chá-verde não passa por esse processo (GOPAL et al., 2016).

Figura 6 - Processos de fabricação dos chás, mostrando a progressiva oxidação que aumentam à medida que o chá é convertido de branco → verde → oolong → preto



Fonte: Modificado de SANTANA-RIOS et al. (2001)

O sabor e aroma característico do chá-verde se deve aos diversos compostos voláteis e semivoláteis presentes nas folhas (ALLUHAYB e LOGUE, 2017). Aproximadamente 200 compostos voláteis já foram identificados e desses, cerca de 30 contribuem para sua identidade aromática. No chá preto, mais de 600 substâncias já foram identificadas e 41 delas contribuem para seu aroma (YANG; BALDERMANN e WATANABE, 2013).

Há uma variação desses constituintes de acordo com o tipo de chá. Os polifenóis são as substâncias do metabolismo secundário presentes em maior quantidade nas folhas, sendo as catequinas em maior proporção (GADKARI; SHASHIDHAR e BALARAMAN, 2017; GIMÉNEZ et al., 2013). Segundo Chen et al. (2012), há quatro grupos de catequinas presentes no chá-verde que se conservam por não ocorrer nenhum processo oxidativo para obtenção das folhas do chá, enquanto no chá preto as catequinas são enzimaticamente oxidadas durante o processo de fermentação e se convertem em outros grupos polifenólicos.

Diversos estudos investigaram a atividade antioxidante e anti-inflamatória de um dos tipos de catequina presente no chá -verde, a epigallocatequina galato (EGCG) (MANCINI et al., 2017). Em um deles, um grupo de pessoas consumiu uma bebida com extrato de chá-verde, enquanto outro grupo ingeriu a mesma bebida, porém sem o extrato. Através de neuroimagens de ressonância magnética funcional (fMRI) foi possível demonstrar a ação do chá-verde na memória de trabalho do grupo que utilizou o extrato, e observaram um aumento da conectividade do lóbulo direito parietal e com isso, melhorando o desempenho de tarefas cognitivas (SCHMIDT et al., 2014). Scholey et al. (2012) reportaram que essa mesma substância produziu efeito calmante e aliviou o estresse dos pacientes avaliados.

Observando características como essas, muito tem se pesquisado sobre a possibilidade da aplicação do chá-verde em embalagens biodegradáveis e demais produtos alimentícios, com o objetivo de aumentar o tempo de prateleira destes e trazer benefícios ao consumidor quando se trata de embalagem possivelmente comestível. Nesse contexto, Giménez et al. (2013) elaboraram um filme de gelatina de peixe com extrato de chá-verde e observaram que as propriedades antioxidantes foram mantidas mesmo após a etapa de digestão enzimática na qual o filme foi condicionado.

Em estudo semelhante, Lacey e Montero (2010) desenvolveram filmes de ágar com chá-verde em que os polifenóis presentes foram susceptíveis a absorção durante a digestão humana, apesar da diminuição do efeito antioxidante na presença do ágar. O efeito bacteriostático do chá-verde foi investigado por Kumudavally et al. (2008) por meio da sua aplicação em carne

de carneiro crua em temperatura ambiente (25 ± 2 °C). Nesse estudo foi possível prolongar por quatro dias o tempo de prateleira do alimento sem alterações dos aspectos físicos e químicos.

No tocante da elaboração de filmes poliméricos, faz-se necessário avaliar suas propriedades mecânicas para que seja melhor aplicado. Hong, Lim e Song (2009) inseriram extrato de chá-verde em solução filmogênica de *Gelidium corneum* e melhoraram tanto as características físicas do filme, com o aumento no valor de tensão de ruptura, quanto a atividade antimicrobiana. Siripatrawan e Harte (2010) elaboraram filmes ativos de quitosana incorporados com extrato de *C. sinensis* e, com isso, obtiveram filmes com propriedades antioxidantes, melhores propriedades mecânicas e menor permeabilidade ao vapor de água.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo preparar e caracterizar filmes baseados em gelatina, incorporado com extrato de chá-verde e nanoemulsão de óleo essencial de limão, com o intuito de adicionar cor e aroma, bem como obter propriedades de barreira, mecânicas e solubilidade satisfatórias para que o filme possa, futuramente, ser um potencial substituto parcial de alguns sachês de chás.

3.2 Objetivos específicos

- a) Desenvolver a síntese dos filmes, definindo as concentrações de gelatina, extrato de chá-verde e óleo essencial de limão;
- b) Determinar as melhores condições para obtenção de filmes homogêneos, com manuseabilidade e continuidade;
- c) Caracterizar as nanoemulsões quanto ao tamanho de partícula e potencial zeta;
- d) Caracterizar os filmes produzidos quanto ao ângulo de contato suas propriedades de barreira ao vapor de água, mecânicas, solubilidade, térmicas e morfológicas.

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 Material

- Gelatina em pó incolor (Royal[®]);
- Óleo essencial de limão siciliano (Ferquima, Vargem Grande Paulista – SP);
- Extrato seco solúvel em pó de *Camellia sinensis* L. (Farmácia de Manipulação Farmaluz - Fernandópolis/SP);
- Tensoativo Tween 80[®]; Oxiteno (São Paulo – SP).

4.2 Métodos

4.2.1 Preparação da nanoemulsão

A nanoemulsão foi produzida em temperatura ambiente através da adição de óleo essencial de limão e Tween 80[®] em 100 mL de água destilada. Em seguida, a solução foi agitada em um homogeneizador T25 Ultra-Turrax[®] (IKA[®] Werke GmbH & Co, Staufen, Germany) em rotação de 15000 rpm no tempo de 5 minutos, de acordo com estudo realizado por Pires (2016). As suspensões foram avaliadas visualmente quanto a opalescência, homogeneidade, presença ou não de sedimentos e separação de fase após o repouso da solução.

4.2.2 Preparo das soluções filmogênicas

Foram preparados quatro tipos de filmes: filme de gelatina pura (FG), filme de gelatina com extrato de chá-verde (FGCV), filme de gelatina com nanoemulsão de limão (FGNL) e filme de gelatina com extrato de chá-verde e nanoemulsão de limão (FGCVNL).

Para a formação do filme controle, a gelatina (G) foi hidratada em água destilada (5 g de gelatina/100 mL de água) a 25 °C/10 min. Em seguida, esta mistura foi aquecida até 60 °C em agitador magnético para a dissolução da gelatina. No filme contendo chá-verde (CV), pesou-se 0,250 g do extrato para dissolvê-lo em 100 mL de água a 25°C, e, posteriormente, a gelatina foi adicionada (5g). No terceiro tipo de filme, a gelatina foi hidratada diretamente em 100 mL da nanoemulsão de limão (NL). Naqueles que continham CV e NL, o extrato foi solubilizado na nanoemulsão e, em seguida, adicionou-se a gelatina.

4.2.3 Conformação dos filmes nanocompósitos

Os filmes foram obtidos por método de secagem por *casting* em temperatura ambiente por 24 horas. Padronizou-se para cada filme a deposição de 50 mL de solução filmogênica em um suporte retangular (15 cm x 20 cm). Antes da caracterização dos filmes, as amostras foram condicionadas em dessecador contendo sílica, durante 24h a 25 ± 2 °C, em umidade relativa controlada de 50 ± 2 %.

4.2.4 Caracterizações

4.2.4.1 Determinação do tamanho médio e potencial zeta da nanoemulsão

Através da técnica de Espalhamento Dinâmico da Luz (DLS, Dynamic Light Scattering) foram realizadas as medidas de potencial zeta (ζ) e tamanho médio das partículas presentes na nanoemulsão utilizando o equipamento Zetasier Nano Series (Malvern Instruments Ltd. Malvern, Worcestershire, U.K.).

4.2.4.2 Determinação da espessura dos filmes

As medidas das espessuras dos filmes foram realizadas utilizando um micrômetro digital (No. 7326, Mitutoyo Corp., Kanogawa, Japan) em 5 diferentes pontos ao redor do filme. Utilizou-se os valores de espessura para obter as medidas das propriedades mecânicas e de permeabilidade ao vapor de água. O micrômetro utilizado apresentava precisão de 0,001 mm.

4.2.4.3 Permeabilidade ao Vapor de Água (WVP)

A permeabilidade ao vapor de água foi medida de acordo com o método gravimétrico modificado, baseado na norma ASTM E96-80 (ASTM, 1980) para determinar a umidade relativa (UR) na parte inferior dos filmes, descrita por Mchugh, Avena-Bustillos e Krochta (1993) e também utilizada em outros trabalhos (MOURA et al., 2009).

Primeiramente, as amostras foram moldadas em círculos com 60 ± 1 mm de diâmetro e fixadas em células de permeabilidade (figura 7), copos de poli(metil-metacrilato), já preenchidos com 6 mL de água destilada para aumentar o ambiente de UR dentro da célula, permitindo que os filmes atuassem como barreiras semipermeáveis entre os ambientes de baixa

e alta umidade relativa.

Figura 7 – Representação do filme e célula utilizados para as medidas de permeabilidade ao vapor de água



Fonte: Elaboração da própria autora.

Em seguida, as placas foram mantidas a 25 ± 2 °C num forno contendo sílica-gel para manutenção da umidade relativa interna a 50%. A quantidade de água permeada através das películas foi determinada por pesagem periódica das células usando uma balança analítica durante 24 horas. Foram realizadas cinco repetições para calcular os valores de WVP ($\text{g}\cdot\text{mm}\cdot\text{kPa}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$).

Utilizando os valores de WVTR (Velocidade de Transmissão de Vapor de Água), foi determinado o valor de WVP para os filmes, por meio das equações de 1, 2 e 3.

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

$$WVTR = \frac{mw \cdot P \cdot D \cdot \ln\left[\frac{(P-p_2)}{(P-p_1)}\right]}{R \cdot T \cdot z} \quad (2)$$

$$WVP = \frac{WVTR}{(p_2 - p_3)} \quad (3)$$

Onde:

mw: massa molar da água (18 g/mol);

D: difusividade do vapor de água pelo ar a 298 K ($0,102 \text{ m}^2/\text{s}$);

P: pressão total (1 atm);

R: constante dos gases ($82,1 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ atm/g mol K}$);

Z: altura média que o gás inerte atinge;

p_1 : pressão de vapor a 298 K; p_2 : pressão parcial de vapor da parte inferior do filme;

p_3 : pressão parcial de vapor da parte superior do filme;

y: espessura média dos filmes

4.2.4.4 Solubilidade dos filmes em água

A determinação da solubilidade dos filmes em água foi realizada de acordo com o método modificado por Gontard et al. (1994). Primeiramente, três discos de 2 cm de diâmetro de cada amostra foram cortados e secos em estufa a 100 °C por 24 horas e pesados em balança analítica para a determinação da porcentagem inicial de matéria seca. Em seguida, as amostras foram imersas em 50 mL de água destilada a temperatura ambiente e mantidas sob agitação constante (300 rpm) em temperatura ambiente por 24 horas.

Posteriormente, filtrou-se as soluções e as amostras retidas foram secas novamente em estufa a 100 °C por 24 horas e pesadas para determinação da quantidade de matéria seca não solubilizada. Calculou-se a massa do filme que solubilizou em água com base na equação 4 abaixo:

$$\% MS = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad (4)$$

Em que: % MS é a porcentagem de material solubilizado, m_i é o peso inicial do material seco e m_f é o peso final do material seco não solubilizado.

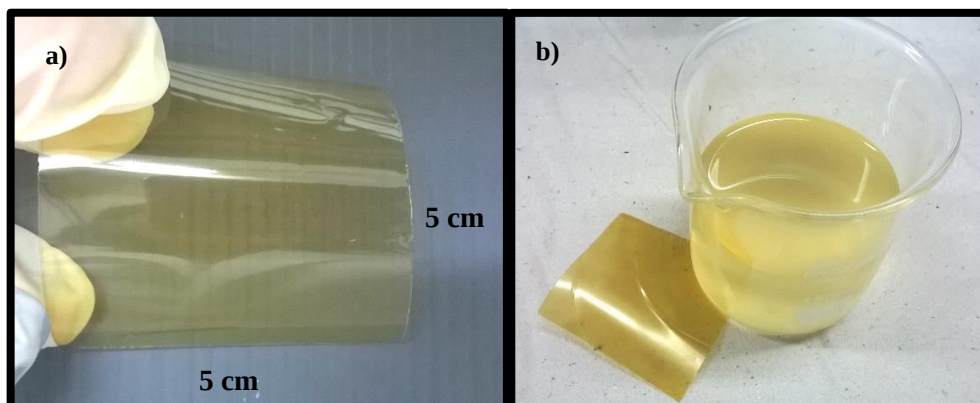
4.2.4.5 Solubilização dos filmes

Foram otimizados dois testes de solubilização dos filmes pelos autores, uma vez que não há estudos referentes à esta aplicação para os filmes desenvolvidos. Ambos consistiram em simular um sachê de chá e avaliar o tempo necessário para os filmes se solubilizassem em água destilada a 60 °C.

No primeiro teste todos os filmes foram cortados, como demonstrado na figura 8, nas dimensões de 5 cm x 5 cm e colocados individualmente em 100 mL de água destilada aquecida e em agitação de 300 rpm. Utilizando um cronômetro digital foi registrado o tempo necessário para que o filme, logo após total imersão no meio, se solubilizasse e visualmente não fosse

observado nenhuma porção não solubilizada. As análises foram realizadas em triplicata. No segundo teste as mesmas condições do primeiro foram mantidas, no entanto, os filmes foram imersos em água sem agitação para registro do tempo.

Figura 8 – a) Amostra de filme de gelatina com extrato de chá-verde e nanoemulsão de limão utilizado no teste de solubilização e b) filme solubilizado



Fonte: Elaboração da própria autora.

4.2.4.6 Ângulo de contato

As medidas de ângulo de contato (θ) dos filmes foram realizadas através de um medidor de ângulo de contato (KSV Instruments - Helsinki, Finlândia) na Embrapa Instrumentação de São Carlos/SP, figura 9. No teste, 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 seis 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.

Figura 9 – Analisador de ângulo de contato equipado ao microcomputador

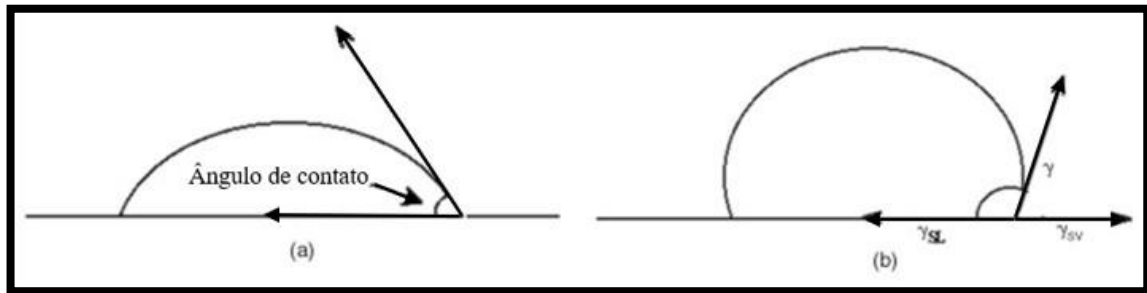


Fonte: Elaboração da própria autora.

O ângulo de contato consiste basicamente no ângulo formado entre a superfície sólida e a tangente traçada na superfície da gota, e pode indicar o quão hidrofóbico/hidrofílico é o material analisado (KARBOWIAK; DEBEAUFORT e VOILLEY, 2006).

Conforme ilustrado na figura 10, dependendo do tipo de interação entre a gota e a superfície sólida, a gota pode se espalhar na superfície (ângulo de contato baixo, elevada molhabilidade, material mais hidrofílico) ou então, a gota tende a conservar sua forma reduzindo ao mínimo seu contato com a superfície (ângulo de contato elevado, baixa molhabilidade, material mais hidrofóbico) (HUILICA, 2015).

Figura 10 – Uma gotícula de água colocada em uma superfície sólida pode a) espalhar-se (baixo ângulo de contato, alta molhabilidade), ou b) contrair-se (elevado ângulo de contato, baixa molhabilidade).



Fonte: Adaptado de Choi et al. (2012).

4.2.4.7 Propriedades mecânicas

O teste de tensão x deformação sob tração é o mais comumente utilizado para avaliação dos atributos mecânicos de tensão máxima (σ) e deformação (ϵ) dos filmes. As amostras foram cortadas nas dimensões de 100 mm de comprimento e 13 mm de largura, de acordo com a norma ASTM D882-97 (ASTM, 1997), e também, acondicionadas a 25 °C em ambiente com 50 ± 2 % de umidade relativa durante 48 horas antes dos testes. O equipamento utilizado para a análise foi o Instron Universal Testing Machine (Modelo 3369, Instron Corp., Canton, Mass., U.S.A.), e operou com cela de carga de 100N e velocidade de tracionamento de 10 mm/min.

A tensão (σ) foi determinada medindo-se a força necessária para romper o filme. Calculou-se os valores de (σ) utilizando a equação 5, em que F é o valor da força de ruptura exercida e S é a área seccional do filme (CANEVAROLO JUNIOR, 2010):

$$\sigma = \frac{F}{S} \quad (5)$$

A deformação (ε) dos filmes foi determinada pela equação 6, em que L e L_0 são os comprimentos de alongação do filme durante o experimento e o comprimento inicial dos filmes, respectivamente (CANEVAROLO JUNIOR, 2010):

$$\varepsilon = \ln\left(\frac{L}{L_0}\right) \cdot 100 \quad (6)$$

O módulo de elasticidade (E) foi calculado pela inclinação inicial da curva tensão-deformação obtida (CANEVAROLO JUNIOR, 2010).

4.2.4.8 Análise Termogravimétrica (TG)

As análises foram realizadas no aparelho TGA Q-500 (TA Instruments, Inc, NC, E.U.A) na Embrapa Instrumentação de São Carlos. Pesou-se cerca de 6–10 mg de amostra em cadinho de platina. A programação da rampa de aquecimento foi de 20 até 700 °C com razão de aquecimento de 10 °C/min e vazão de nitrogênio de 40 mL/min. Todas análises foram feitas em triplicata.

4.2.4.9 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As propriedades térmicas dos filmes também foram investigadas através do equipamento de DSC Q100 (TA Instruments, Inc, NC, E.U.A) na Embrapa Instrumentação de São Carlos. Foram pesados cerca de 6 a 8 mg dos filmes, os quais foram colocados em porta amostra de alumínio, seladas e alocadas no equipamento. A análise ocorreu na rampa de aquecimento de -50 °C a 300 °C e razão de aquecimento de 10 °C/min, sob atmosfera de nitrogênio a uma vazão de 50 mL/min para determinação da T_g (temperatura de transição vítrea) e T_m (temperatura de fusão cristalina). Utilizou-se um porta amostra vazio como referência.

4.2.4.10 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Os filmes foram analisados utilizando um microscópio eletrônico de varredura Carl Zeiss (Alemanha) modelo Philips XL 30 FEG, da Embrapa Instrumentação de São Carlos. Para análise das fraturas criogênicas utilizou-se um microscópio eletrônico de varredura (MEV), da

marca Zeiss (EVO LS15), da UNESP campus de Ilha Solteira, operando com voltagem de 5,00 kV a 10,00 kV. Uma fina camada de ouro foi depositada sobre as amostras utilizando um *Sputter Coater*.

4.2.4.11 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Para as análises de FTIR foi utilizado um espectrofotômetro NEXUS 670, Nicolet Instrument Corporation. Primeiramente, as amostras foram mantidas em um dessecador durante 48h a 30% de umidade relativa e, em seguida, foram cortadas, maceradas com brometo de potássio (KBr) e prensadas em alta pressão, formando as pastilhas. Obtiveram-se os espectros de FTIR registrando 128 varreduras com variação do número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} e resolução de 2 cm^{-1} .

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Tamanho médio de partícula e potencial zeta da nanoemulsão

Uma emulsão é um sistema termodinamicamente instável e consiste na dispersão de pelo menos dois líquidos não miscíveis por um tensoativo. Tanto o método de preparo, quanto os constituintes e o tamanho das gotículas interferem na estabilidade da emulsão, pois gotículas maiores são mais suscetíveis a sedimentação. Para alcançar maior estabilidade é interessante formar uma nanoemulsão através da diminuição do tamanho das gotículas para uma faixa de 20-500 nm e uma dispersão com potencial zeta superior a ± 30 mV (DONSÍ e FERRARI, 2016; (FERNANDEZ; RIEGER e ANGELIKA, 2004; WALKER et al., 2017).

A nanoemulsão (figura 11) obtida apresentou tamanho médio de partícula de $170,6 \pm 3$ nm e potencial zeta de, aproximadamente, $-10,9 \pm 0,1$ mV. Visualmente mostrou-se opalescente, sem separação de fases e precipitação após a preparação, características similares a outros estudos publicados (ACEVEDO-FANI et al., 2015; PÉREZ CÓRDOBA e SOBRAL 2017; DONSÍ et al., 2016).

Figura 11 – Nanoemulsão de óleo essencial de limão



Fonte: Elaboração da própria autora.

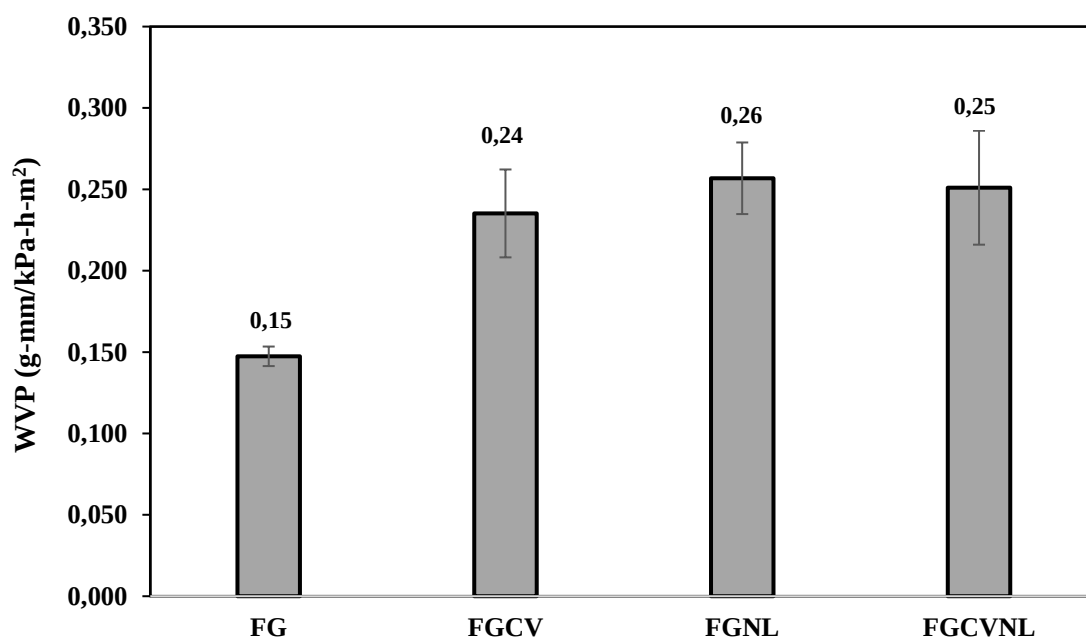
Pérez Córdoba e Sobral (2017); Jo e Kwon (2014) e também reportaram baixos valores negativos de potencial zeta em nanoemulsão contendo óleo essencial de alho (-12 mV) e nanoemulsão com D-limoneno (-14 mV), respectivamente. De modo geral, a carga elétrica das gotículas de óleo é direcionada pela carga de tensoativos adsorvidos ao seu redor, que podem ser de natureza catiônica, aniônica ou não iônica. Neste estudo utilizou-se um tensoativo não

iônico (Tween 80), o que leva a se esperar uma carga elétrica próxima a zero. Quando o valor é suficientemente elevado as gotículas são impedidas de se agregarem devido a repulsão eletrostática entre elas (ACEVEDO-FANI et al., 2015).

5.2 Permeabilidade ao Vapor de Água (WVP)

A figura 12 apresenta um comparativo dos valores médios de permeabilidade ao vapor de água para os quatro tipos de filmes desenvolvidos.

Figura 12 – Comparativo dos valores de permeabilidade ao vapor de água (WVP) dos filmes de gelatina (FG), filme de gelatina com chá-verde (FGCV), filme de gelatina com nanoemulsão de limão (FGNL) e filme de gelatina com chá-verde e nanoemulsão de limão (FGCVNL)



A permeabilidade ao vapor de água (WVP) ocorre devido à diferença de umidade relativa (UR) dentro das celas utilizadas. Esta análise mede a capacidade do vapor de água em se difundir em uma região com menor ambiente de pressão de vapor de água a partir de uma região com maior pressão de vapor de água (CHIN; LYN e NUR HANANI, 2017).

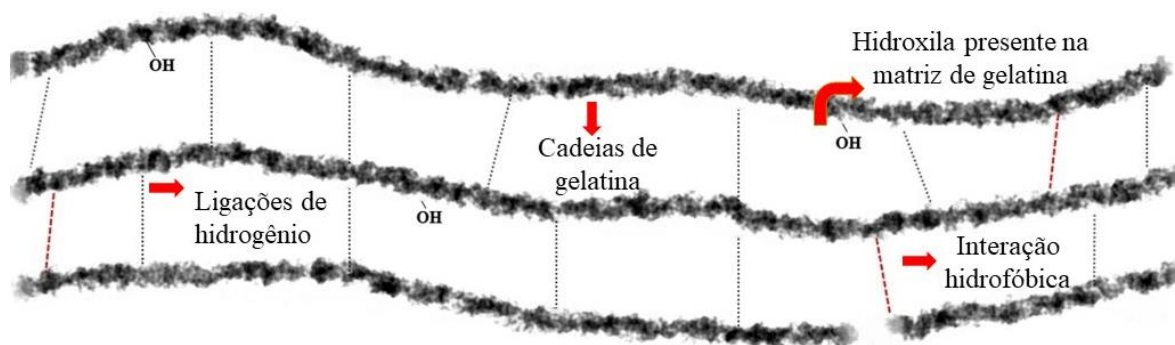
Conforme apresentado na figura 12, o valor de WVP aumentou de 0,15 para 0,25 g-mm/kPa-h-m² quando ocorreu a incorporação de extrato de chá-verde e nanoemulsão de limão na matriz de gelatina. Atarés, Bonilla e Chiralt (2010) relataram que o valor de WVP é dependente das características microestruturais do filme, relacionando a formação de uma superfície heterogênea e aumento da porosidade quando o óleo essencial foi adicionado na

matriz de gelatina.

A tendência com a incorporação de nanoemulsões em matrizes poliméricas é a diminuição da permeabilidade ao vapor de água (SAHRAEE et al., 2017; SHOJAEE-ALIABADI et al., 2014). Entretanto, de acordo com Fatin, Nazurah e Hanani (2017), esta teoria não é aplicável a todos os tipos de óleos. Neste caso, a nanoemulsão e o extrato de chá podem estar agindo como um plastificante através da interação com os domínios hidrofóbicos da gelatina, afastando e dificultando as interações entre cadeias de peptídeos, o que aumenta o volume do sistema, favorecendo a mobilidade das cadeias da matriz e a passagem de moléculas de vapor de água. Este é um resultado que pode ser favorável, dependendo da sua aplicação e está de acordo com os resultados relatados por Altioek, Altioek e Tihminlioglu (2010) e Kavooosi et al. (2014).

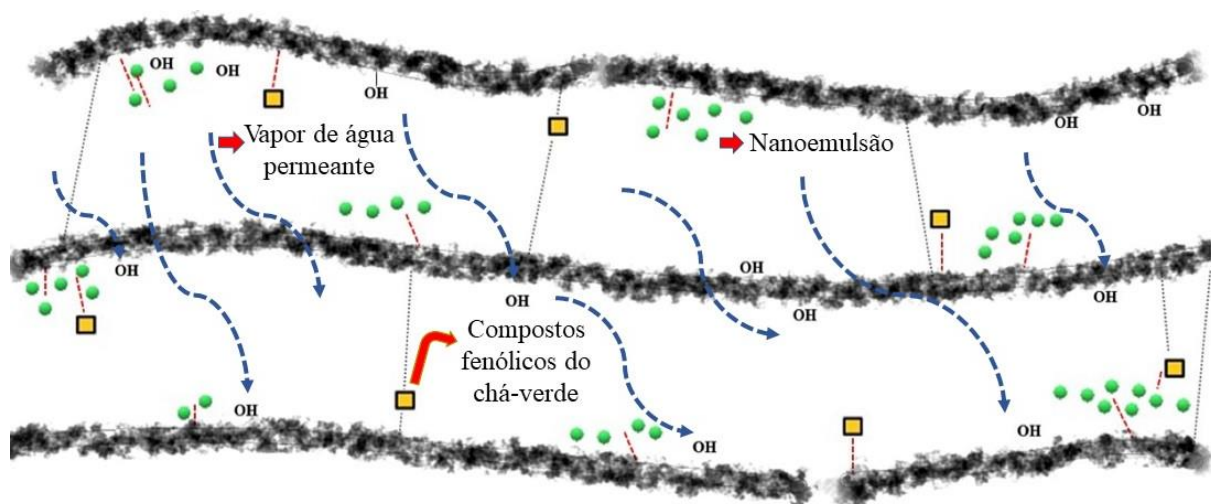
Como ilustrado na figura 13, as cadeias de gelatina em FG apresentam-se mais próximas entre si e mais organizadas, provavelmente há um número maior de ligações de hidrogênio entre as cadeias, algumas interações hidrofóbicas e poucas hidroxilas livres, fatores que podem justificar a menor permeação de vapor de água.

Figura 13 – Esquema representativo da possível interação entre as cadeias da matriz de gelatina



Já a figura 14 ilustra como a adição da nanoemulsão de limão e do extrato de chá-verde podem influenciar o aumento do WVP em FGCVNL.

Figura 14 – Desenho representativo das possíveis interações da nanoemulsão e dos compostos fenólicos do chá-verde com as cadeias de gelatina e aumento do vapor permeante



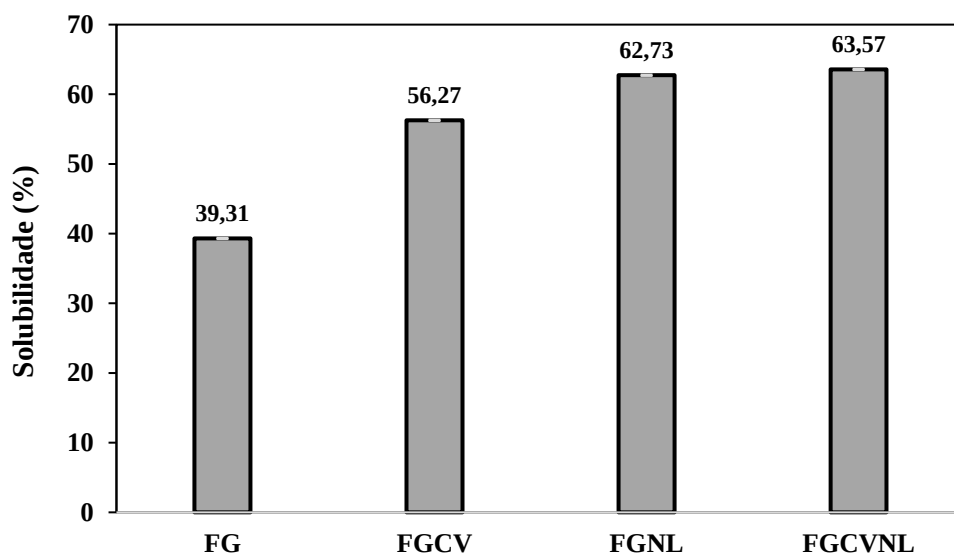
Fonte: Elaboração da própria autora.

Como dito anteriormente, esses compostos podem estar agindo como plastificantes, afastando as cadeias de gelatina e permitindo com que os vapores passem de forma mais livre, comparado a FG. A maior quantidade de hidroxilas livres neste caso também favorece o aumento da permeação do vapor. Nota-se que, provavelmente, podem ocorrer algumas interações hidrofóbicas entre os compostos fenólicos do chá-verde e a nanoemulsão e diminuição na quantidade de ligações de hidrogênio entre a matriz.

5.3 Solubilidade dos filmes em água

A solubilidade em água de filmes comestíveis é uma propriedade importante a ser investigada, uma vez que algumas aplicações necessitam que os filmes sejam insolúveis e resistentes na presença de água, enquanto para outras é melhor uma maior porcentagem de solubilidade (GONTARD et al., 1994). Além disso, a origem da gelatina, sua preparação e composição influenciam na solubilidade do material (COZMUTA et al., 2015). Na figura 15 são apresentados os valores médios de porcentagem de solubilidade dos filmes produzidos.

Figura 15 – Solubilidade (%) dos filmes FG, FGCV, FGNL, FGCVNL



Observou-se que os filmes de gelatina apresentaram menor porcentagem de solubilidade ($39,31 \pm 0,04$ %), porém com a incorporação do extrato de chá-verde e a nanoemulsão de limão ocorreu um aumento nas solubilidades dos filmes ($63,57 \pm 0,01$ %). Esse resultado corrobora com o que foi observado no teste de permeabilidade ao vapor de água, em que a adição desses componentes aumentou a passagem do vapor de água, já que as características hidrofóbicas do óleo e de determinados componentes do extrato do chá favoreceram suas interações com os domínios hidrofóbicos da gelatina.

Em resultado semelhante, Gómez-Estaca et al. (2010) reportaram que a solubilidade de filmes de gelatina bovina aumentou de ($26,2 \pm 1,5$ %) para ($41,1 \pm 1,5$ %) quando o óleo essencial de cravo-da-índia foi inserido. Kavvoosi et al. (2014) ao incorporarem óleo essencial de *Zataria multiflora* em filme de gelatina também observaram aumento da solubilidade e da permeabilidade ao vapor de água do material. O aumento da solubilidade do filme de gelatina com a adição da nanoemulsão pode estar ocorrendo devido as interações entre os domínios hidrofóbicos da gelatina e o óleo essencial, o que possivelmente dificulta a organização da matriz e as ligações entre as cadeias de gelatina (KAVOOSI et al., 2014).

5.4 Solubilização dos filmes

Na tabela 2 estão descritos o tempo necessário para que cada filme se solubilizasse em água deslita a 60 °C, de acordo com as metodologias empregadas.

Tabela 2 – Tempo médio (min) necessário para a solubilização dos filmes pelo método sem e com agitação

Filmes	Tempo médio (min)	
	Sem agitação	Agitação 300 rpm
FG	4	2
FGCV	2	1
FGNL	1	1
FGCVNL	1	1

Conforme pode ser observado, no teste sem agitação o tempo para solubilização dos filmes foi ligeiramente superior, comparado ao teste com agitação a 300 rpm. Em ambos os métodos, FG se solubilizou em um tempo acima dos demais, porém com a adição do extrato de chá-verde no filme ocorreu uma redução do tempo, assim como a adição da nanoemulsão que também facilitou a solubilização do filme.

Tais resultados são consonantes com os valores de solubilidade e permeabilidade ao vapor de água obtidos anteriormente, em que os compostos com características hidrofóbicas inseridos podem estar interagindo com os domínios hidrofóbicos da gelatina, provocando um afastamento das cadeias poliméricas e facilitando a passagem da água.

A partir dessas considerações, a solubilização do FGCVNL em condições próximas ao preparo de um chá utilizando um sachê mostrou-se eficiente, pois o tempo requerido foi em torno de um minuto, além disso a solução obtida foi homogênea, não houve separação de fases e sedimentação de partículas no recipiente.

5.5 Ângulo de contato

Através das medidas do ângulo de contato avaliou-se a natureza hidrofílica/hidrofóbica dos filmes. Na tabela 3 está descrito o ângulo de contato médio observado em cada tipo de filme.

Tabela 3 – Ângulo de contato médio observado em cada tipo de filme formado

Filmes	Ângulo de contato inicial (t = 0 s)
FG	$85 \pm 4^\circ$
FGCV	$68 \pm 7^\circ$
FGNL	$50 \pm 1^\circ$
FGCVNL	$38 \pm 1^\circ$

Para o filme de gelatina pura o ângulo de contato inicial (t = 0 s) da superfície foi de $85 \pm 4^\circ$ e diminuiu para $68 \pm 7^\circ$ com a adição de CV e $50 \pm 1^\circ$ com a adição da nanoemulsão de limão, conforme Tabela 3. Se os valores do ângulo de contato entre o material e a gota de água são inferiores a 65° a superfície é hidrofílica, valores superiores a 65° indicam uma superfície hidrofóbica (KUREK; GALUS E DEBEAUFORT, 2014; VOGLER, 1998).

Apesar da natureza hidrofílica da gelatina, o elevado ângulo de contato registrado se deve as fortes forças intermoleculares que existem entre as moléculas de gelatina (COZMUTA et al., 2015). Com a adição do extrato de chá-verde e da nanoemulsão o ângulo de contato diminuiu, o que indica um aumento da hidrofilicidade dos filmes. Esses resultados reforçam os dados obtidos tanto no teste de WVP, quanto na solubilidade e solubilização dos filmes, sendo FGCVNL o que apresentou maior característica hidrofílica. Em um estudo realizado por Pérez Córdoba e Sobral (2017), foram desenvolvidos filmes de gelatina com quitosana e óleo essencial de alho e também observaram que com a adição da nanoemulsão os valores do ângulo de contato e de WVP dos filmes foram menores.

5.6 Propriedades mecânicas

A tensão máxima dos filmes é representada na figura 16 através de um gráfico de barras e os valores de espessura, % de alongação e módulo de elasticidade estão presentes na tabela 4.

Figura 16 – Valores médios de tensão máxima dos filmes FG, FGCV, FGNL e FGCVNL

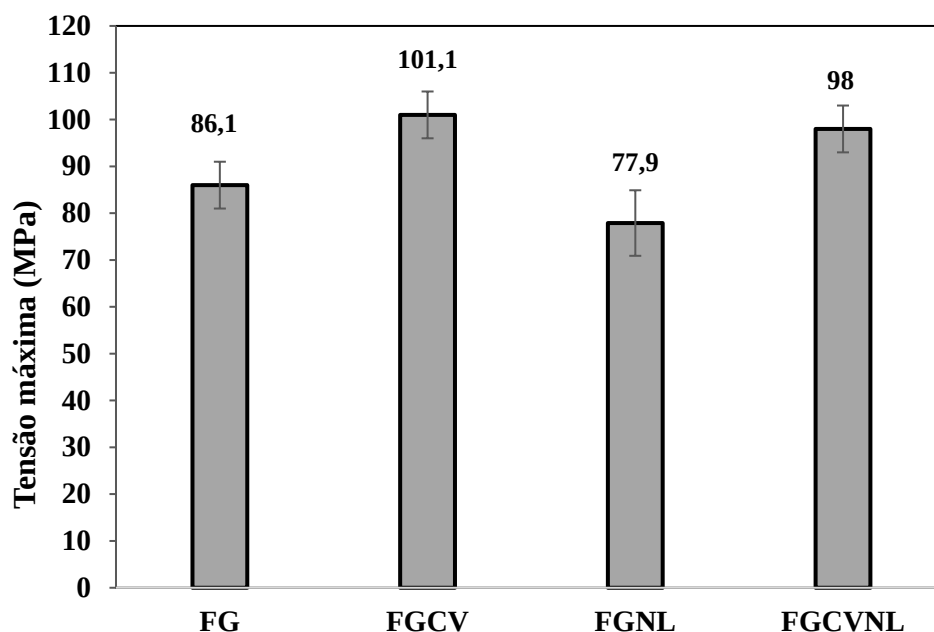


Tabela 4 – Influência da incorporação e de extrato de chá-verde e nanoemulsão de limão na elongação e módulo de elasticidade dos filmes FG, FGCV, FGNL e FGCVNL

Filmes	Espessura (mm)	E (%)	Módulo de elasticidade (MPa)
FG	0,028 ± 0,001	4 ± 1	(3,7 ± 0,5) x 10 ³
FGCV	0,030 ± 0,001	2,8 ± 0,3	(4,8 ± 0,2) x 10 ³
FGNL	0,030 ± 0,003	3,4 ± 0,7	(3,7 ± 0,3) x 10 ³
FGCVNL	0,035 ± 0,002	3,5 ± 0,4	(4,2 ± 0,2) x 10 ³

A tensão máxima de ruptura (TM) e a elongação na ruptura (E) são parâmetros utilizados para associar certas propriedades mecânicas às estruturas químicas dos materiais. A tensão máxima indica a resistência às forças de tensão e a elongação está relacionada a capacidade de deformação do filme até a sua ruptura (OTONI et al., 2014; ROJAS-GRAÜ et al., 2007).

A adição de chá-verde nos filmes de gelatina aumentou a tensão máxima de ruptura e o módulo de elasticidade e diminuiu a elongação, ou seja, uma quantidade maior de energia foi requerida para a ruptura do filme quando este sofreu um estresse mecânico. Resultados semelhantes foram encontrados por Wu et al. (2013) em que foi observado o aumento na tensão

máxima de ruptura dos filmes controle de gelatina de carpa preta quando houve a incorporação de extrato de chá- verde e a diminuição da porcentagem de alongação do material obtido.

Sabe-se que o chá-verde possui diversos compostos polifenólicos, e seus grupos hidroxilos podem ser capazes de interagir com os receptores de hidrogênio da molécula de gelatina através de ligações de hidrogênio e interação hidrofóbica, o que fortalece as ligações intermoleculares e, assim, diminui a mobilidade das cadeias, aumentando a resistência dos filmes (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2009; HOQUE et al., 2011b).

A incorporação de nanoemulsão de limão no filme de gelatina causou uma discreta diminuição da resistência à tração e aumento da alongação. Esse comportamento pode ser atribuído à menor interação entre as cadeias de gelatina causadas pelo óleo de limão, resultando em uma descontinuidade e redução da coesão. Kavoosi et al. (2014) e Tongnuanchan et al. (2015) também relataram que as películas de gelatina incorporadas com óleo essencial apresentaram menor resistência à tração e aumento da alongação.

Quando o chá-verde foi inserido nos filmes FGNL houve aumento na tensão máxima de ruptura, no entanto, considerando o desvio padrão, os valores de alongação e módulo de elasticidade se mantiveram praticamente os mesmos. Assim como em FGCV, os grupos hidroxilos do chá-verde interagiram com as cadeias da gelatina, porém essa interação foi menor devido ao óleo essencial que, provavelmente, age como um plastificante e diminui as forças intermoleculares entre cadeias adjacentes de gelatina (SOBRAL et al., 2001).

5.7 Análise Termogravimétrica (TG)

A fim de avaliar o comportamento térmico dos nanocompósitos formados, foram feitas análises termogravimétricas. A figura 17 e 18 mostram as curvas de TG e DTG dos filmes FG, FGCV, FGNL e FGCVNL, respectivamente.

Figura 17 – Curvas de TG dos filmes FG, FGCV, FGNL e FGCVNL

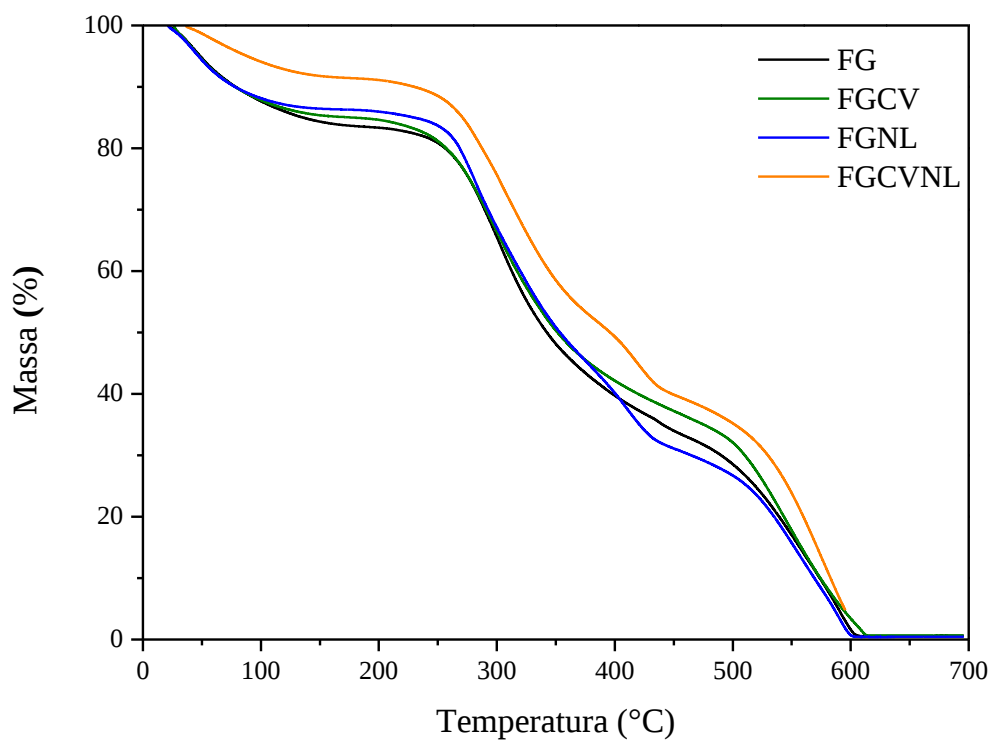
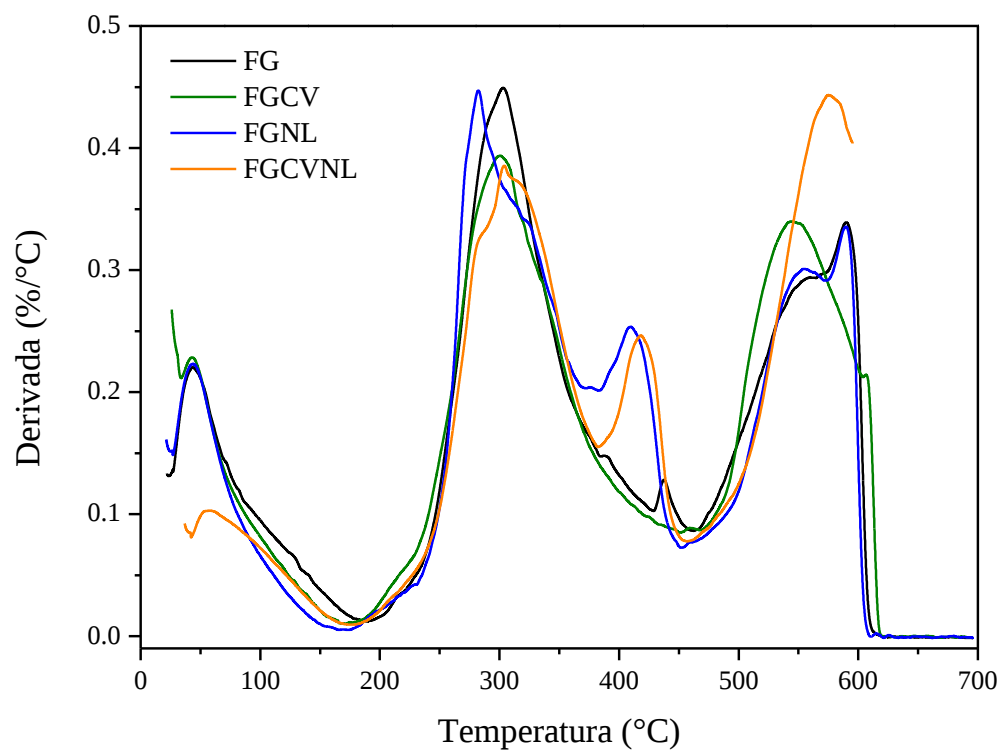


Figura 18 – Curvas de DTG dos filmes FG, FGCV, FGNL e FGCVNL



O primeiro comportamento observado para temperatura de degradação (Td_1) pode estar associado à perda de água livre que foi absorvida pelos filmes, e também a volatilização de determinadas substâncias (NAGARAJAN et al., 2012). Em FGCVNL essa degradação teve início em 41,79 °C, temperatura acima dos demais filmes. A tabela 5 apresenta as temperaturas de degradação dos filmes, sendo (T_i) a temperatura inicial de degradação e (T_f) a temperatura

Tabela 5 – Temperaturas de degradação (T_d °C) dos filmes incorporados com chá-verde e nanoemulsão de limão

final.

Filmes	Td_1 (°C)		Td_2 (°C)		Td_3 (°C)		Td_4 (°C)	
	T_i	T_f	T_i	T_f	T_i	T_f	T_i	T_f
FG	23,00	176,46	192,57	426,35	429,47	456,90	466,25	615,88
FGCV	33,59	163,89	179,48	448,17	453,16	465,01	470,62	619,00
FGNL	24,87	154,54	172,62	370,87	377,73	453,16	455,66	609,02
FGCVNL	41,79	166,47	183,52	381,72	383,85	453,11	459,50	595,22

No segundo estágio da temperatura de degradação (Td_2), FG iniciou a degradação em temperatura acima dos demais filmes. Com a adição de CV e NL a temperatura inicial do segundo estágio diminuiu. De acordo com Hoque, Benjakul e Prodpran (2011a), provavelmente isso ocorreu devido a maior organização e interações intermoleculares em FG, sendo necessário, o que levou à degradação ou à decomposição das frações de proteínas em temperatura mais elevada. Segundo Peña et al. (2010), a perda de massa na faixa de 250 – 400 °C, aproximadamente, pode estar associada à ruptura da estrutura helicoidal das cadeias proteicas da gelatina e de ligações peptídicas.

No terceiro estágio (Td_3), os filmes com nanoemulsão de limão apresentaram menor temperatura inicial de degradação, enquanto a adição de extrato de chá-verde aumentou esta temperatura. A adição de nanoemulsão de limão diminuiu a resistência ao calor de FG, reduzindo a interação intermolecular da matriz de gelatina, sendo que este resultado está de acordo com a diminuição da tensão máxima de ruptura e aumento da elongação dos filmes de gelatina com nanoemulsão. O quarto evento (Td_4) provavelmente está associado à oxidação de todo o conteúdo do aminoácido glicina da gelatina e também de alguns minerais presentes (MENEZES et al., 2007).

Resultados semelhantes foram encontrados por Tongnuanchan et al. (2015) com uma

menor resistência ao calor do filme de gelatina de peixe com óleo de palma. Por outro lado, os filmes de gelatina com chá-verde apresentaram maior resistência ao calor comparado a FG. Estes resultados sugerem que pode haver uma maior ligação entre gelatina e compostos polifenólicos presentes no extrato de chá, resultando no aumento da estabilidade térmica neste tipo de filme (HOQUE; BENJAKUL e PRODPRAN, 2011a).

5.8 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) pode ser usada para caracterizar as propriedades térmicas das proteínas alimentares (GUERRERO et al., 2011). Para este estudo, a técnica de DSC foi utilizada para investigar as propriedades térmicas de filmes de gelatina com e sem nanoemulsão de limão e extrato de chá-verde. Os valores da T_m e (ΔH_m) dos filmes analisados são apresentados na tabela 6.

Tabela 6 – Valores da temperatura de fusão cristalina (T_m) e variação de entalpia na T_m (ΔH_m) dos filmes FG, FGCV, FGNL e FGCVNL

Filmes	Primeiro pico		Segundo pico	
	T_m (°C)	ΔH_m (J/g)	T_m (°C)	ΔH_m (J/g)
FG	104,05	277,60	225,03	7,22
FGCV	99,26	137,40	217,45	12,78
FGNL	98,35	176,40	224,00	1,70
FGCVNL	104,60	195,30	216,34	12,20

O primeiro pico endotérmico para todos os tipos de filmes ocorreu em torno de 100 °C, provavelmente causado pela perda de moléculas de água livre e compostos voláteis (FAKHOURI et al., 2013; PODSHIVALOV et al., 2016).

Para os filmes de gelatina observou-se dois picos endotérmicos, o primeiro em 104,50 °C e o segundo em 225,03 °C. Após a adição do extrato de chá, os valores decaíram para 99,26 °C e 217,45 °C. Peng, Wu e Li (2013) sugeriram que a menor temperatura de fusão cristalina (T_m), após a incorporação do chá-verde, ocorre devido à diminuição da força intermolecular e pode estar associada à despolimerização de extratos nos filmes compósitos.

Os valores de entalpia de alteração obtidos no segundo pico foram 7.22 J/g (gelatina pura) e 12,78 J/g (gelatina com chá-verde). O calor absorvido (ΔH) por filmes de gelatina com

chá-verde foi maior que a gelatina pura e isto pode ser atribuído ao aumento de ligações de hidrogênio entre a matriz e o extrato, o que poderia reduzir o movimento das cadeias poliméricas e induzir a cristalinidade do material (PENG; WU e LI, 2013, SAHRAEE et al., 2017).

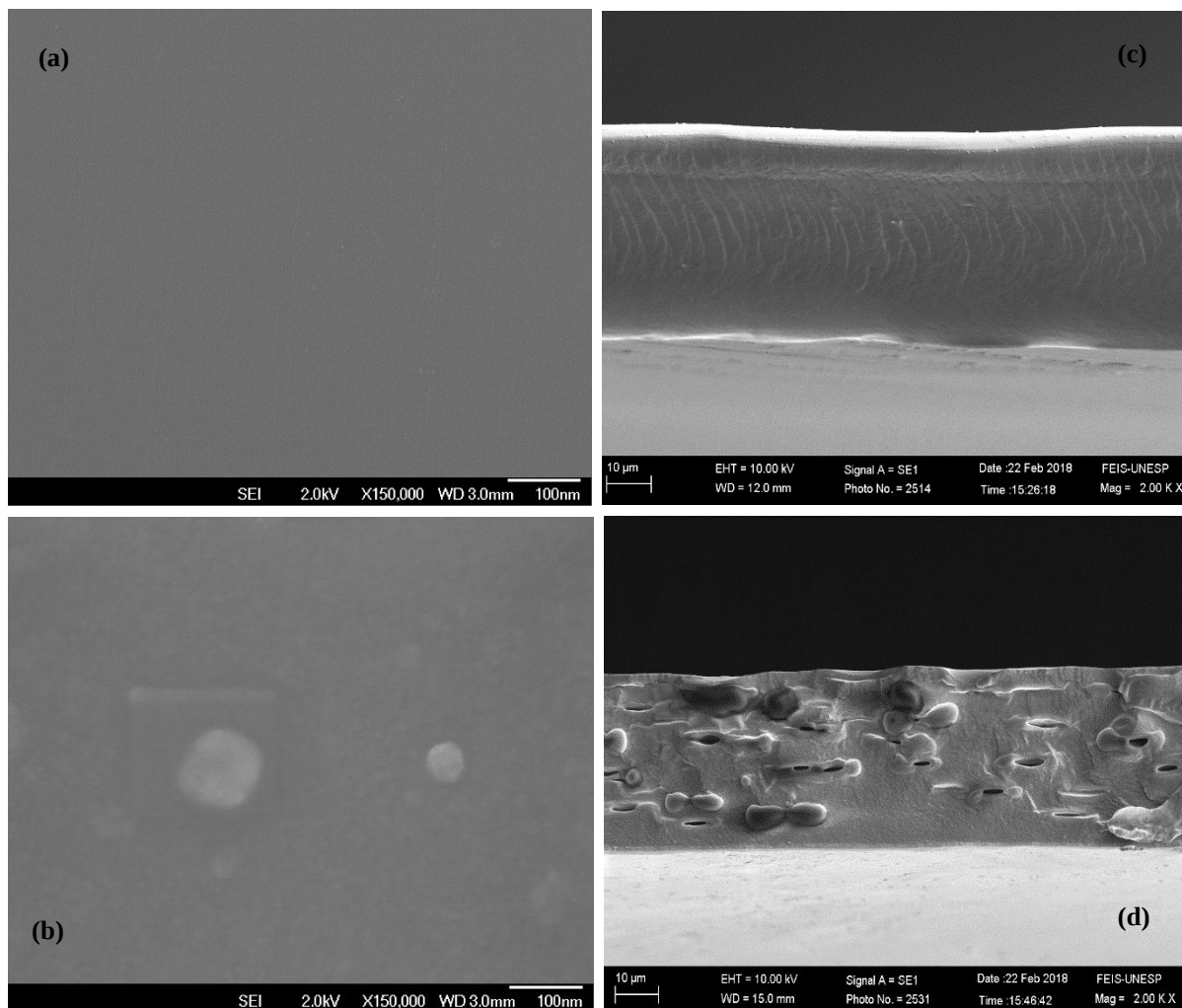
O extrato de chá-verde é uma mistura complexa de polifenóis, lipídios, celulose, minerais e vitaminas e todos esses componentes exercem influência nas propriedades térmicas (WRONA et al., 2017). Quando a nanoemulsão de limão foi adicionada aos filmes de gelatina também foi observado dois picos endotérmicos em 98,35 °C e 224,0 °C, resultados semelhantes a FG. No entanto, o calor absorvido (ΔH) nestes eventos foi reduzido para 176,4 J/g e 1,7 J/g, respectivamente. De acordo com Sahraee et al. (2017), isso pode estar associado à dispersão heterogênea do óleo na matriz polimérica, aumentando a mobilidade das cadeias pelo efeito plastificante.

FGCVNL apresentaram picos endotérmicos a 104,60 e 216,34 ° C e valores de ΔH de 195,3 e 12,2 J/g. Essa diminuição do primeiro valor de ΔH pode ser atribuída a nanoemulsão que ocasionou uma redução das ligações de hidrogênio entre as cadeias de gelatina, aumentando o volume livre do sistema (BIGI et al., 2001).

5.9 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia superficial dos filmes foi avaliada por MEV/FEG, enquanto as fraturas criogênicas foram analisadas por MEV. Na figura 19 são apresentadas as micrografias superficiais obtidas por MEV/FEG dos filmes de gelatina e gelatina com nanoemulsão de óleo essencial de limão e suas respectivas fraturas criogênicas obtidas por MEV.

Figura 19. Micrografias obtidas por MEV/FEG e MEV. Superfície do filme de: (a) gelatina e (b) gelatina com nanoemulsão de limão. Fraturas criogênicas dos filmes: (c) gelatina e (d) gelatina com nanoemulsão de limão

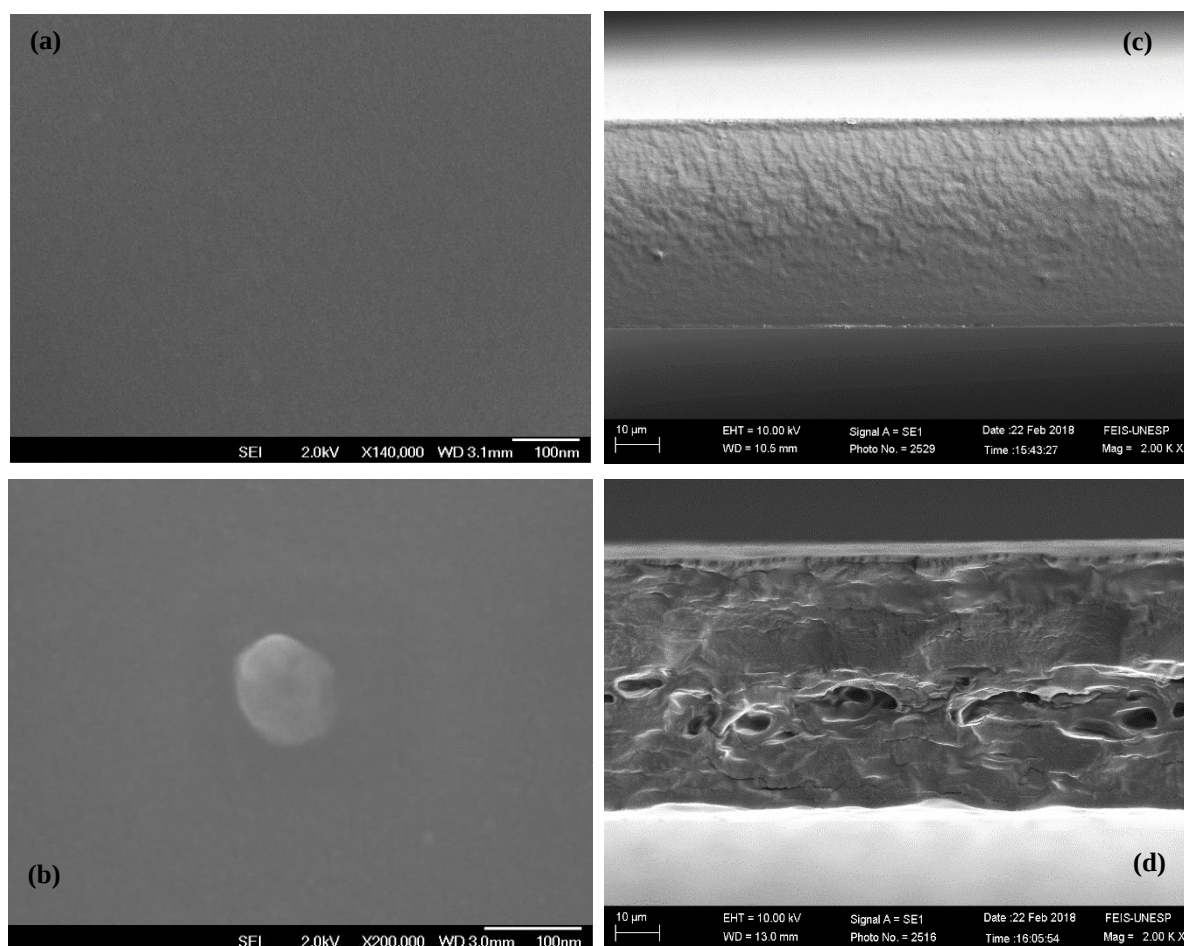


Observou-se a formação de uma superfície e fratura lisa e homogênea do filme de gelatina (figura 19 a e figura 19 c), sem estrutura porosa e granulada, e também sem a presença de separações de fases, sugerindo que uma matriz mais ordenada foi formada. Em outros trabalhos utilizando gelatina foram obtidas micrografias semelhantes (NILSUWAN; BENKAKUL e PRODPRAN, 2018; WU et al., 2013).

No filme elaborado com nanoemulsão de óleo essencial de limão (figura 19 b) não foi observada separação da fase oleosa. Contudo, notou-se uma superfície relativamente mais rugosa e heterogênea, sendo possível visualizar a presença das nanoemulsões com tamanhos próximos a 100 nm, na magnificação de 150000 vezes. (ACEVEDO-FANI et al., 2015). Tais modificações na microestrutura dos filmes após a adição da nanoemulsão podem ter ocorrido

devido às mudanças nos arranjos das moléculas de proteína durante a formação do filme, além de se tratar da incorporação de um material de caráter hidrofóbico em uma matriz hidrofílica. Na figura 19 d, observa-se que os poros e as gotículas de óleo na matriz polimérica estão bem distribuídos pela matriz, o que indica que a nanoemulsão possivelmente permeou pelos canais da rede polimérica e também pode estar causando uma menor interação proteína-proteína entre as cadeias, dificultando, dessa forma, o seu alinhamento ordenado, corroborando com o que foi observado na análise de permeabilidade ao vapor de água.

Figura 20. Micrografias obtidas por MEV/FEG e MEV. Superfície do filme de: (a) gelatina com chá-verde e (b) gelatina com chá-verde e nanoemulsão de limão. Fraturas criogênicas dos filmes: (c) gelatina com chá-verde e (d) gelatina com chá-verde e nanoemulsão de limão



O filme de gelatina com extrato de chá-verde (figura 20 a) também apresentou uma superfície regular e lisa. Na fratura obtida do filme (figura 20 c) observa-se uma superfície mais compacta e sem qualquer tipo de fenda, o que sugere que os compostos do chá estão interagindo

melhor com a matriz polimérica, comparado à figura 19 d. Este resultado está de acordo com o teste de tração realizado, em que o filme de gelatina com chá-verde apresentou maior resistência à tração em relação ao FGNL. Nilsuwan, Benkakul e Prodpran (2018) em um estudo da atividade antioxidante de gelatina de peixe com epigallocatequina galato do chá-verde também obtiveram imagens semelhantes com uma superfície mais compacta.

Na imagem de fratura do filme de gelatina com chá-verde e nanoemulsão de limão observou-se a formação de um alinhamento e centralização dos poros anteriormente visualizados no filme de gelatina com nanoemulsão (figura 19 d). Pode-se entender que a nanoemulsão está interagindo entre as cadeias de gelatina que está mais intimamente ligada aos compostos de chá-verde. Sendo assim, provavelmente a repulsão de cargas entre a nanoemulsão e os demais compostos esteja causando um aprisionamento contínuo da nanoemulsão no centro da região do nanocompósito. Essa observação se relaciona com os resultados obtidos nos testes realizados, em que houve maior elongação, permeação ao vapor de água e solubilidade de FCVNL.

5.10 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

O método de espectroscopia FTIR é usado para investigar os componentes químicos e interações intermoleculares através da transmissão de ondas infravermelhas em todo o material, medindo o número de onda de transmissão em uma resolução de 4000-400 cm^{-1} (SIRIPATRAWAN e HARTE, 2010). A tabela 7 mostra os principais picos observados nos espectros dos materiais analisados.

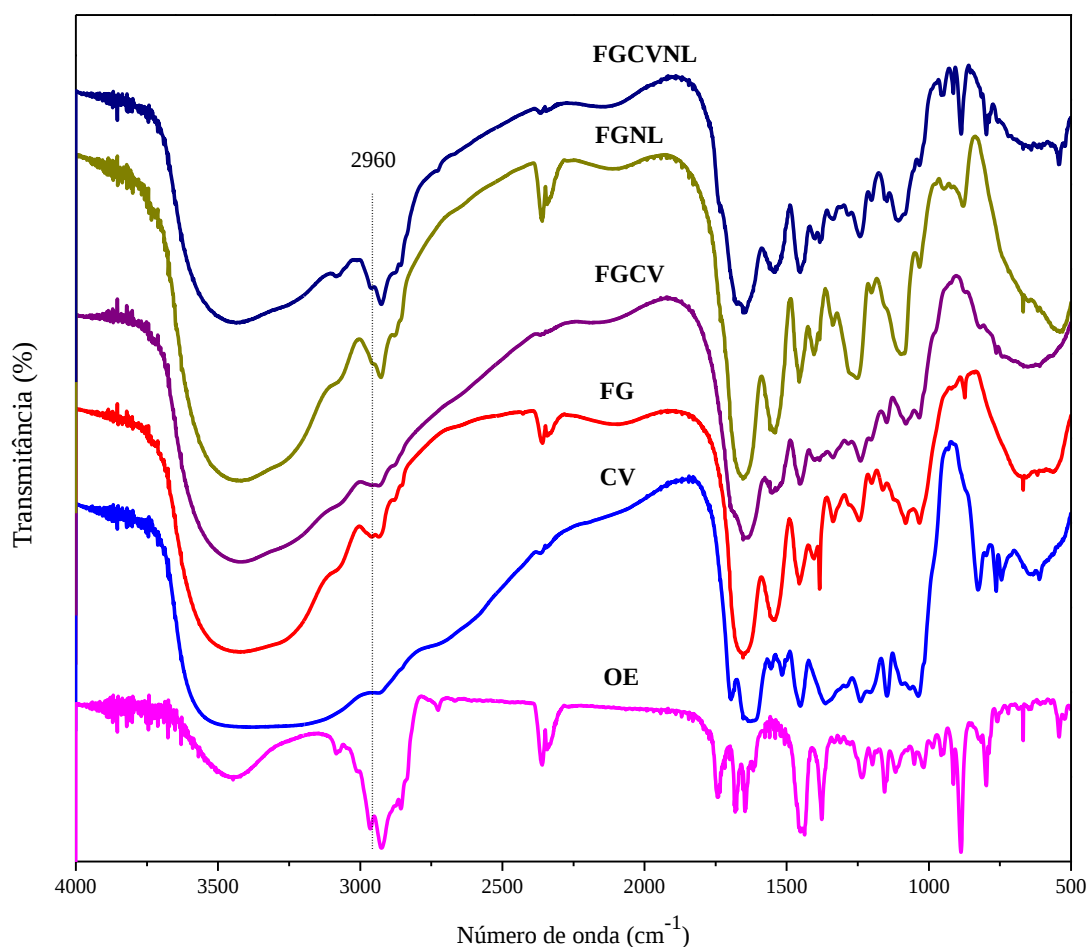
Tabela 7 – Principais picos observados nos espectros de OE, CV, FG, FGCV, FGNL e FGCVNL

Componentes	Número de onda (cm^{-1})
OH	3250-3650
N-H	
C-H	2960/ 1455/ 2616
C=O (Amida I)	1643
N-H (Amida II)	1546
O-H	1361
C=C	1636
Citrais	1681
C-N (Amida III)	1244
(-C=C)	1514

C-O-C	1039
γ -terpinenos	948
β – pineno e cafeno	886
Epicatequina	825
Limoneno e α – pineno	797
Catequina	760

Como pode ser visto nos espectros da figura 21, existe uma banda entre 3250-3650 cm^{-1} que pode estar relacionada ao estiramento de O-H. Nesta banda, também podem ser observadas vibrações de estiramento de ligação de N-H que indicam a presença de ligação de hidrogênio intramolecular entre as cadeias de gelatina (DUHORANIMANA et al., 2017). Um pico próximo a 2960 cm^{-1} foi observado em todos os espectros, sendo atribuído às vibrações de estiramento e flexão C-H e à ligação amida II (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2007).

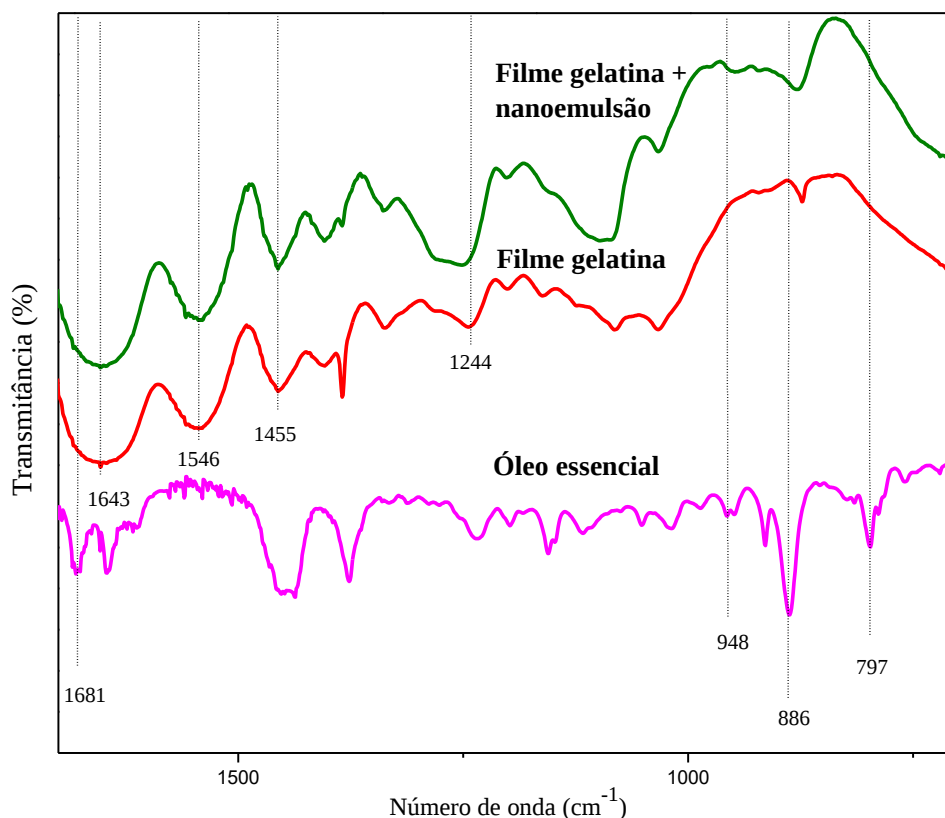
Figura 21 – Espectros do óleo essencial de limão (OE); extrato de chá-verde (CV); filme de gelatina (FG); filme de gelatina com chá-verde (FGCV); filme de gelatina com nanoemulsão de limão (FGNL) e filme de gelatina com chá-verde e nanoemulsão de limão (FGCVNL)



Foi realizada uma separação e ampliação nos espectros formados para melhor visualização. Na figura 22 observa-se nos espectros dos filmes de gelatina e gelatina com nanoemulsão um pico menos intenso em 1455 cm^{-1} que também se refere à vibração de flexão C-H. O pico em 1643 cm^{-1} é atribuído à vibração de alongamento C = O da amida I, e este é o mais característico entre a absorção de estruturas secundárias de gelatina (SAHRAEE et al., 2017).

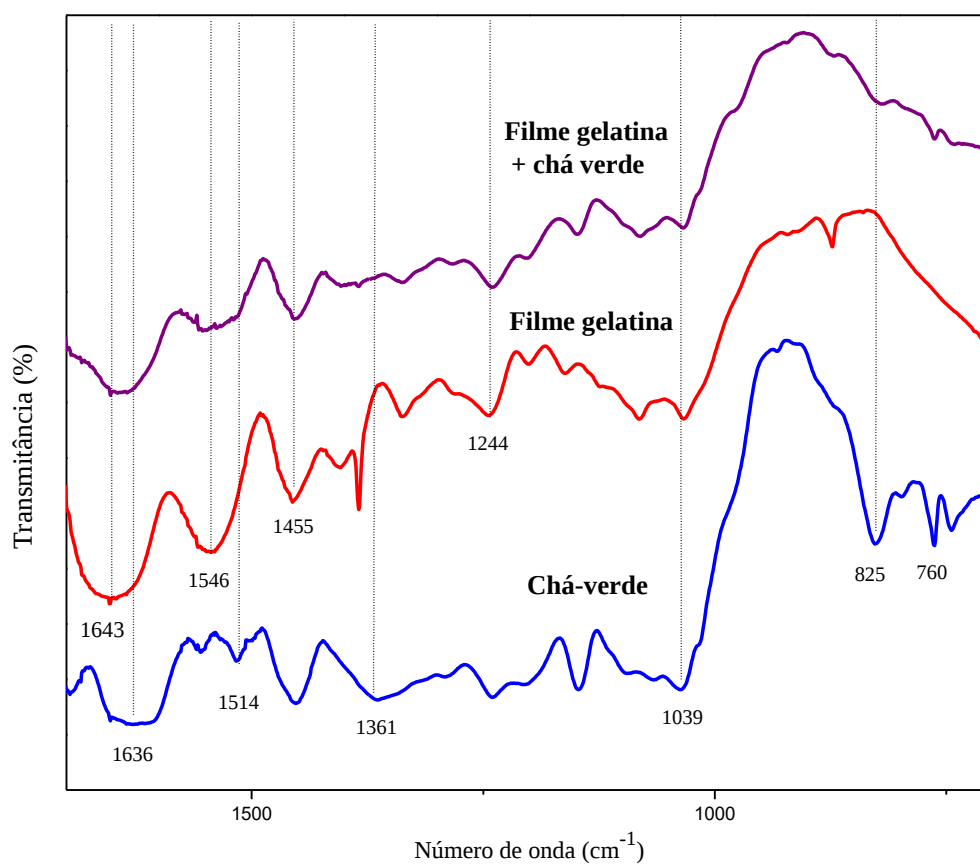
Os picos característicos do óleo essencial de limão em 797 cm^{-1} , 886 cm^{-1} e 948 cm^{-1} indicam a presença de limoneno e α – pineno; β – pineno e cafeno e γ -terpinenos, respectivamente. Estes picos também estão presentes no filme de gelatina com nanoemulsão, porém deslocados para um menor número de onda (BARROS; YABIKU; PINTO, 1986; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006). Os picos em 1546 cm^{-1} e 1244 cm^{-1} são referentes a flexão da ligação N-H (amida II) e da ligação C-N (amida III), respectivamente (DUHORANIMANA et al., 2017; WU et al., 2013). Assim, amida I, amida II e amida III estão presentes em números de onda semelhantes em todos os tipos de filmes.

Figura 22 – Espectros do óleo essencial de limão, filme de gelatina; filme de gelatina com nanoemulsão de limão



Na figura 23 observa-se que alguns picos do espectro do pó do extrato de chá-verde acabam se sobrepondo com os da gelatina em FGCV (ARRONDO et al., 1993). O pico em 1514 cm^{-1} no extrato de chá-verde indica a presença de grupos aromáticos (-C=C) e também é observado em FGCVNL (figura 24) com menor intensidade e sobreposto a amida II (JAYARAMUDU et al., 2017).

Figura 23 – Espectros do extrato do chá-verde, filme de gelatina e filme de gelatina com chá-verde

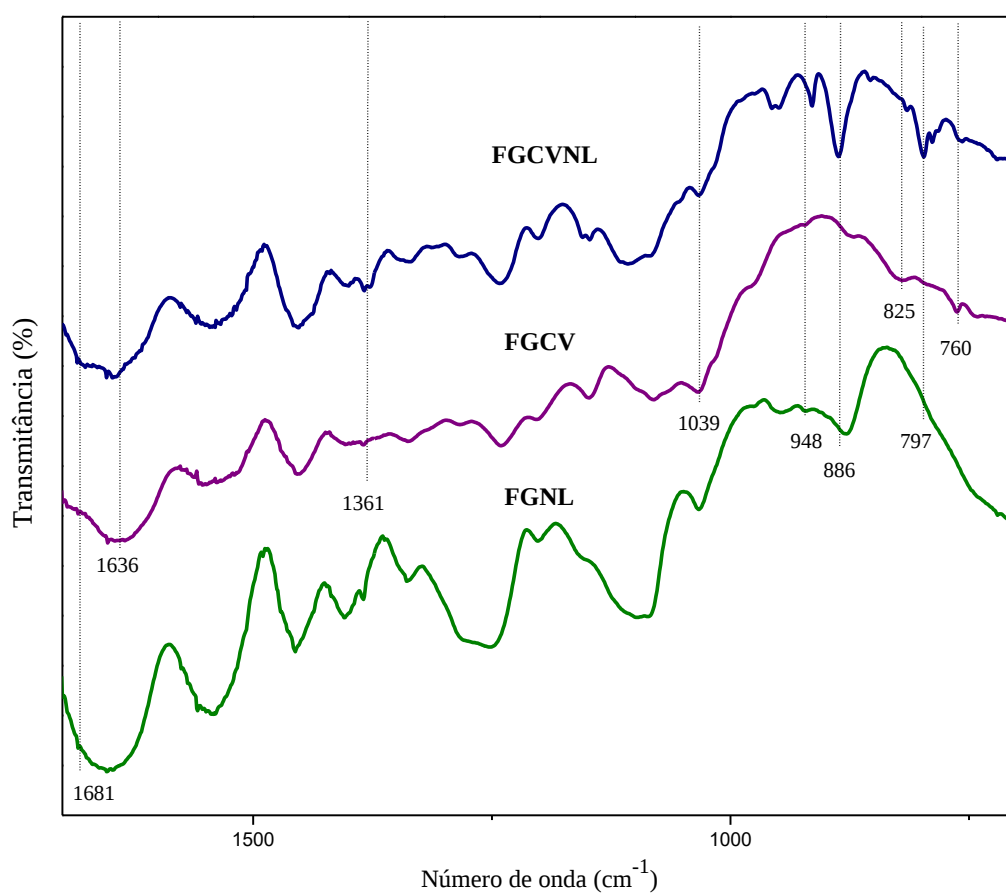


No espectro do chá-verde pode-se encontrar alguns picos característicos, como em 760 cm^{-1} e 825 cm^{-1} relacionados à deformação de OH da catequina e da epicatequina, respectivamente. Resultados semelhantes foram relatados por Matsuura (2017) em um estudo sobre a diferenciação de chá-verde de agricultura orgânica e convencional.

Observa-se em 1039 cm^{-1} um pico que indica a vibração de alongamento de C-O-C, também relatado por Huang et al. (2015). Em 1361 cm^{-1} há um pico que indica a presença de OH e está deslocado no filme de gelatina com chá-verde, e na figura 24, em que são

apresentados os espectros dos filmes com os compostos, esse pico também está presente (JAYARAMUDU et al., 2017). Em 1636 cm^{-1} ocorre uma vibração de alongamento entre C=C que está sobreposto a amida I, porém em FGCV ocorre um deslocamento (HUANG et al., 2015).

Figura 24 – Comparação dos espectros dos filmes de gelatina com nanoemulsão de limão (FGNL), filme de gelatina com chá-verde (FGCV) e filme de gelatina com chá-verde e nanoemulsão de limão e filme de gelatina com chá-verde (FGCVNL)



6 CONCLUSÃO

O extrato de chá-verde e a nanoemulsão de limão foram incorporados na matriz de gelatina com sucesso e conferiram propriedades satisfatórias aos filmes quanto a coloração, aroma, homogeneidade, continuidade e manuseabilidade.

Observou-se diminuição do ângulo de contato e aumento na permeabilidade, solubilidade e solubilização dos filmes de gelatina em água após a adição dos compósitos, o que viabiliza a continuidade do estudo. Através das análises das propriedades mecânicas, observou-se que o extrato de chá reforçou a resistência a tração do filme de gelatina, e sua combinação com a nanoemulsão melhorou a elongação, comparado ao filme de gelatina somente com chá-verde.

Na microscopia eletrônica de varredura foi possível observar um filme contínuo, compacto e homogêneo de gelatina. As nanoemulsões estavam presentes na matriz e ocasionaram a formação de poros tanto no filme de gelatina, quanto no filme de gelatina com chá-verde, o que facilitou a permeação de vapor de água e também a descontinuidade da matriz.

Além disso, nas análises térmicas verificou-se que a inserção do extrato e da nanoemulsão não interferiu na temperatura de fusão cristalina dos filmes e favoreceram a perda de água e compostos voláteis em temperatura acima do filme controle. Essas alterações foram verificadas no FTIR e podem ser atribuídas às interações e à compatibilidade da gelatina com os compósitos.

Assim, os filmes possuem propriedades interessantes para serem aplicados como sachês de chá, uma vez que mantiveram o aroma do chá-verde e do óleo essencial e também apresentaram tempo de solubilização compatível com tal aplicação.

REFERÊNCIAS

- ACEVEDO-FANI, A. et al. Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. **Food Hydrocolloids**, v. 47, p. 168-177, 2015.
- ACOSTA, S. et al. Antifungal films based on starch-gelatin blend, containing essential oils. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 233-240, 2016.
- ADILAH, Z. A. M.; JAMILAH, B.; HANANI, Z. A. N. Food Hydrocolloids Functional and antioxidant properties of protein-based films incorporated with mango kernel extract for active packaging. **Food hydrocolloids**, v. 74, p. 207-218, 2018.
- AL-JABRI, N. N.; HOSSAIN, M. A. Comparative chemical composition and antimicrobial activity study of essential oils from two imported lemon fruits samples against pathogenic bacteria. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 3, p. 247-253, 2014.
- ALFONZO, A. et al. Effect of the lemon essential oils on the safety and sensory quality of salted sardines (*Sardina pilchardus* Walbaum 1792). **Food Control**, v. 73, p. 1265-1274, 2017.
- ALI, B. et al. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, p. 601-611, 2015.
- ALLUHAYB, A. H.; LOGUE, B. A. The analysis of aroma /flavor compounds in green tea using ice concentration linked with extractive stirrer. **Journal of Chromatography A**, v. 15, p. 8-14, 2017.
- ALTIOK, D.; ALTIOK, E.; TIHMINLIOGLU, F. Physical, antibacterial and antioxidant properties of chitosan films incorporated with thyme oil for potential wound healing applications. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 21, p. 2227-2236, 2010.
- 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.

AN, B.; LIN, Y.; BRODSKY, B. **Collagen interactions: Drug design and delivery**. Advanced Drug Delivery Reviews, v. 97, p. 69-84, 2015.

AOUADA, M. R. de M. **Aplicação de nanopartículas em filmes utilizados em embalagens para alimentos**. 2009. 138 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.

ARRONDO, J. L. et al. Quantitative studies of the structure of proteins in solution by Fourier-transform infrared spectroscopy. **Progress in biophysics and molecular biology**, v. 59, p. 23-56, 1993.

ARVANITOYANNIS, I. S. (2002). Formation and properties of collagen and gelatin films and coatings. In A. Gennadios (Ed.), **Protein-based films and coatings**. Boca Raton: CRC Press.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO PLÁSTICO –ABIPLAST. **Perfil 2016**. Disponível em: <http://file.abiplast.org.br/file/noticia/2017/folder_preview_separado.pdf>. Acesso em: 09 out. 2017.

ATARÉS, L.; BONILLA, J.; CHIRALT, A. Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 678-687, 2010.

ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. **Trends in Food Science and Technology**, v. 48, p. 51-62, 2016.

AZEREDO, H. M. C. Películas comestíveis em frutas conservadas por métodos combinados: potencial da aplicação. **B. CEPPA**, v. 21, p. 267-278, 2003.

BARROS, C. B.; YABIKU, H. Y.; PINTO, A. J. D. **Óleos essenciais cítricos especificações**. 2 ed. Campinas, 45 p., 1986.

BENBETTAÏEB, N. et al. Impact of functional properties and release kinetics on antioxidant activity of biopolymer active films and coatings. **Food Chemistry**, v. 242, p. 369-377, 2018.

BIGI, A. et al. Mechanical and thermal properties of gelatin films at different degrees of glutaraldehyde crosslinking. **Biomaterials**, v. 22, p. 763-768, 2001.

BIZZO, H. R. et al. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, p. 588-594, 2009.

BOUZENNA, H. et al. The protective effect of *Citrus limon* essential oil on hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by aspirin in rats. **Biomedicine et Pharmacotherapy**, v. 83, p. 1327-1334, 2016.

BRAIBANTE, M. E. F. et al. A Química dos Chás. **Química Nova na Escola**, v. 36, p. 168-175, 2014.

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

BRASIL. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC n. 1, de 11 de maio de 2001. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 15 mai. de 2001, Seção 1, p. 27.

CARRIZO, D. et al. Extension of shelf life of two fatty foods using a new antioxidant multilayer packaging containing green tea extract. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 33, p. 534-541, 2016.

CHAICHI, M. et al. Preparation and characterization of a novel bionanocomposite edible film based on pectin and crystalline nanocellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 167-175, 2017.

CHEN, H. et al. Comparative studies on the physicochemical and antioxidant properties of different tea extracts. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, p. 356-361, 2012.

CHEN, X. et al. Numerical simulation of coil-helix transition processes of gelatin. **Polymer**, v. 50, p. 2181-2189, 2009.

CHOI, W. Y. et al. Wettability of Chitosan Coating Solution on 'Fuji' Apple Skin. **Journal of Food Science**, v. 67, p. 2668-2672, 2002.

COMMISSION REGULATION - EC. N. 450/2009, 29 mai. 2009 on active and intelligent materials and articles intended to come into contact with food. OJ L135, 30.5.2009, p. 3.

COZMUTA, A. M. et al. Preparation and characterization of improved gelatin films incorporating hemp and sage oils. **Food Hydrocolloids**, v. 49, p. 144-155, 2015.

DAMMAK, I. et al. Properties of active gelatin films incorporated with rutin-loaded nanoemulsions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 98, p. 39-49, 2017.

DJAGNY, K.B; WANG, Z; XU. S. Gelatin: A Valuable Protein for Food and Pharmaceutical Industries: Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 41, p. 481-492, 2001.

DONSÍ, F.; FERRARI, G. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. **Journal of Biotechnology**, v. 233, p. 106-120, 2016.

DUAN, R. et al. The functional properties and application of gelatin derived from the skin of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Food Chemistry**, v. 239, p. 464-469, 2018.

DUHORANIMANA, E. et al. Effect of sodium carboxymethyl cellulose on complex coacervates formation with gelatin: Coacervates characterization, stabilization and formation mechanism. **Food Hydrocolloids**, v. 69, p. 111-120, 2017.

DYER, J. et al. The use of aromasticks at a cancer centre: A retrospective audit.

Complementary Therapies in Clinical Practice, v. 20, p. 203-206, 2014.

ETXABIDE, A. et al. Development of active gelatin films by means of valorisation of food processing waste: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 192-198, 2017.

EUROPEAN PATENT OFFICE - EPO. **Tea-Leaf Holder**. Disponível em: <<https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?CC=US&NR=723287A&KC=A&FT=D&ND=1&date=19030324&DB=&locale=>>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

FAKHOURI, F. M. et al. Comparative study of processing methods for starch/gelatin films. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, p. 681-689, 2013.

FANG, Z. et al. Active and intelligent packaging in meat industry. **Trends in Food Science and Technology**, v. 61, p. 60-71, 2017.

FATIN, N.; NAZURAH, R.; HANANI, Z. A. N. Physicochemical characterization of kappa-carrageenan (*Euchema cottoni*) based films incorporated with various plant oils. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 1479-1487, 2017.

FERNANDEZ, P., RIEGER, J.; ANGELIKA, K. Nanoemulsion formation by emulsion phase inversion. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical. Eng. Aspects**, v. 251, p. 53-58, 2004.

FIRSD TEA. **Tea bag**. Disponível em: <<http://firsdtea.com/wp-content/uploads/2015/10/Firsd-Tea-Private-Label.pdf>>. Acesso em 13 nov. 2017.

FISHER, K.; PHILLIPS, C. Potential antimicrobial uses of essential oils in food : is citrus the answer. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, p. 156-164, 2008.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **World tea production and trade Current and future development**. Disponível em : <<http://www.fao.org/3/a-i4480e.pdf> >. Acesso em: 20 out. 2017.

FUSO INTERNATIONAL. **Pyramid Teabag Making Machine**. Disponível em: <<http://www.fuso-int.com/catalog/pdf/FP-50S.pdf>>. Acesso em 12 nov. 2017.

GADKARI, P. V.; SHASHIDHAR, M. G.; BALARAMAN, M. Delivery of green tea catechins through Oil-in-Water (O/W) nanoemulsion and assessment of storage stability. **Journal of Food Engineering**, v. 199, p. 65-76, 2017.

GIMÉNEZ, B. et al. Antioxidant properties of green tea extract incorporated to fish gelatin films after simulated gastrointestinal enzymatic digestion. **LWT - Food Science and Technology**, v. 53, p. 445-451, 2013.

GÓMEZ-ESTACA, J. et al. Biodegradable gelatin e chitosan fi lms incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fi sh preservation. **Food Microbiology**, v. 27, p. 889-896, 2010.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (*Ugni molinae Turcz*). **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 1133-1143, 2007.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. **Trends in Food Science and Technology**, v. 20, p. 3-16, 2009.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Food Hydrocolloids Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food hydrocolloids**, v. 25, p. 1813-1827, 2011.

GONTARD, N. et al. Edible composite films of wheat gluten and lipids : water vapour permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 29, p. 39-50, 1994.

GOPAL, J. et al. Bactericidal activity of green tea extracts: the importance of catechin containing nano particles. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1-14, 2016.

GUERRERO, P. et al. Characterization of soy protein-based films prepared with acids and oils by compression. **Journal of Food Engineering**, v. 107, p. 41-49, 2011.

HELDT, H. W; PIECHULLA, B. Secondary metabolites fulfill specific ecological functions in plants. In.:_____Plant Biochemistry, 4 ed. cap. 16.

HONG, Y. H.; LIM, G. O.; SONG, K. B. Physical properties of *Gelidium corneum*-gelatin blend films containing grapefruit seed extract or green tea extract and its application in the packaging of pork loins. **Journal of Food Science**, v. 74, p. 6–10, 2009.

HOQUE, M. S. et al. Properties of blend film based on cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin and mungbean protein isolate. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 49, p. 663-673, 2011a.

HOQUE, M. S.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin incorporated with cinnamon, clove and star anise extracts. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1085-1097, 2011b.

HOWE, A. M. Some aspects of colloids in photography. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 00, p. 288-300, 2000.

HUANG, L. et al. Green synthesized conditions impacting on the reactivity of Fe NPs for the degradation of malachite green. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 137, p. 154-169, 2015.

HUILLCA, P. V. P **Propriedades superficiais de filmes à base de gelatina**. 2015. 85 f. Disertação (Mestrado em Ciência da Engenharia de Alimentos). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo, 2015.

JAYARAMUDU, T. et al. Calcinated tea and cellulose composite films and its dielectric and lead adsorption properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 171. p. 183-192, 2017.

JO, Y. J.; KWON, Y. J. Characterization of β -Carotene Nanoemulsions Prepared by. **Food Science and Biotechnology**, v. 23, p. 107-113, 2014.

- JORGE, N. **Embalagens para alimentos**. Disponível em: <<http://www.santoandre.sp.gov.br/pesquisa/ebooks/360234.PDF>>. Acesso em: 10 nov. 2017.
- KANMANI, P.; RHIM, J. W. Physicochemical properties of gelatin/silver nanoparticle antimicrobial composite films. **Food Chemistry**, v. 148, p. 162-169, 2014.
- KARBOWIAK, T.; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. Importance of Surface Tension Characterization for Food, Pharmaceutical and Packaging Products: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 45, p. 391-407, 2006.
- KAVOOSI, G. et al. Effects of essential oil on the water binding capacity, physico mechanical properties, antioxidant and antibacterial activity of gelatin films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, p. 556-561, 2014.
- KHORSHIDIAN, N. et al. Potential application of essential oils as antimicrobial preservatives in cheese. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 2017, doi:10.1016/j.ifset.2017.09.020
- KNASKO, S. C. Ambient odor's effect on creativity, mood, and perceived health. **Chemical Senses**, v. 17, p. 27-35, 1992.
- KOMIYA, M.; TAKEUCHI, T.; HARADA, E. Lemon oil vapor causes an anti-stress effect via modulating the 5-HT and DA activities in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 172, p. 240-249, 2006.
- KUMUDAVALLY, K. V et al. Food Chemistry Green tea – A potential preservative for extending the shelf life of fresh mutton at ambient temperature (25 ± 2 °C). **Food Chemistry**, v. 107, p. 426-433, 2008.
- KUREK, M.; GALUS, S.; DEBEAUFORT, F. Surface, mechanical and barrier properties of bio-based composite films based on chitosan and whey protein. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 1, p. 56-67, 2014.
- MANCINI, E. et al. Phytomedicine Green tea effects on cognition , mood and human brain function: A systematic review. **Phytomedicine**, v. 34, p. 26-37, 2017.
- MANO, E. B; MENDES, L. C. **A natureza e os polímeros – meio ambiente, geopolímeros, fitopolímeros e zoopolímeros**, São Paulo: Blücher, 2013.
- MARIOD, A. A.; ADAM, H. F. Review: gelatin, source, extraction and industrial applications. **Acta Scientiarum Polonorum**, v. 12, p. 135-147, 2013.
- MATSUURA, E. N. **Espectroscopia no infravermelho como ferramenta para diferenciação de chá verde de agricultura orgânica e convencional**. 2017. 99 f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia). Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2017.
- MCHUGH, T. H.; AVENA-BUSTILLOS, F. L.; KROCHTA, J. M. Hydrophilic Edible Films: Modified Procedure for Water Vapor Permeability and Explanation of Thickness Effects. **Journal of Food Science**, v. 58, p. 899-903, 1993.

MENEZES, A. S. de. Sintering of nanoparticles of α -Fe₂O₃ using gelatin. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 353, p. 1091-1094, 2007.

MOHAJER, S.; REZAEI, M.; HOSSEINI, S. F. Physico-chemical and microstructural properties of fish gelatin/agar bio-based blend films. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 784-793, 2017.

MOUFIDA, S.; MARZOUK, B. Biochemical characterization of blood orange, sweet orange, lemon, bergamot and bitter orange. **Phytochemistry**, v. 62, p. 1283-1289, 2003.

MOURA et al. Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles. **Journal of Food Engineering**, v. 92, p. 448-453, 2009.

MUNASHINGHE, M. et al. Economic, social and environmental impacts and overall sustainability of the tea sector in Sri Lanka. **Sustainable Production and Consumption**, v. 12, p. 155-169, 2017.

MUSSO, Y. S.; SALGADO, P. R.; MAURI, A. N. Smart edible films based on gelatin and curcumin. **Food Hydrocolloids**, v. 66, p. 8-15, 2017.

NAGARAJAN, M. et al. Properties of film from splendid squid (*Loligo formosana*) skin gelatin with various extraction temperatures. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 51, p. 489-496, 2012.

NAZMI, N. N.; ISA, M. I. N.; SARBON, N. M. Food Bioscience Preparation and characterization of chicken skin gelatin/CMC composite film as compared to bovine gelatin film. **Food Bioscience**, v. 19, p. 149-155, 2017.

NILSUWAN, K.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Properties and antioxidative activity of fish gelatin-based film incorporated with epigallocatechin gallate. **Food Hydrocolloids**, v. 80, p. 212-221, 2018.

NISHIYAMA, M. F. et al. Chá-verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 191-196, 2010.

NUR HANANI, Z. A.; ROOS, Y. H.; KERRY, J. P. Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 71, p. 94-102, 2014.

OFORI, R. A. **Preparation of gelatin from fish skin by an enzyme aided process**. 1999. 148 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Macdonald Campus of McGill University, Montreal, 1999.

OTONI, C. G. et al. Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films. **Food Hydrocolloids**, v. 41, p. 188-194, 2014.

PATTANASHETTI, N. A.; HEGGANAVAR, G. B.; KARIDURAGANAVAR, M. Y. Smart Biopolymers and Their Biomedical Applications. **Procedia Manufacturing**, v. 12, p. 263-279, 2017.

PEÑA, C. et al. Enhancing water repellence and mechanical properties of gelatin films by tannin addition. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 6836-6842 2010.

PENG, Y.; WU, Y.; LI, Y. Development of tea extracts and chitosan composite films for active packaging materials. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 59, p. 282-289, 2013.

PÉREZ-MATEOS, M.; MONTERO, P.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. Formulation and stability of biodegradable films made from cod gelatin and sunflower oil blends. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 53-61, 2009.

PÉREZ CÓRDOBA, L. J.; 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. **Journal of Food Engineering**, v. 213, p. 47-53, 2017.

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, Ilha Solteira, 2016.

PODSHIVALOV, A. et al. Gelatin/potato starch edible biocomposite films: Correlation between morphology and physical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 1162-1172, 2016.

PROCKOP, D. J. Collagens. In.: Lennarz, W. J.; Lane, M. D. **Encyclopedia of Biological Chemistry**, 1 ed. San Diego: Academic Press, 2004, p. 482-487.

PULS, J.; WILSON, S. A.; HÖLTER, D. Degradation of Cellulose Acetate-Based Materials: A Review. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 19, p. 152-165, 2011.

QIAO, C. et al. Molecular interactions in gelatin/chitosan composite films. **Food Chemistry**, v. 235, p. 45-50, 2017.

RIBEIRO-SANTOS, R. et al. Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 61, p. 132-140, 2017.

ROJAS-GRAÜ, M. A. et al. Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films. **Journal of Food Engineering**, v. 81, p. 634-641, 2007.

RYU, H. W. et al. Comparison of secondary metabolite changes in *Camellia sinensis* leaves depending on the growth stage. **Food Control**, v. 73, p. 916-921, 2017.

SAHRAEE, S. et al. Physicochemical and antifungal properties of bio-nanocomposite film based on gelatin-chitin nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**,

v. 97, p. 373-381, 2017.

SARBON, N. M.; BADII, F.; HOWELL, N. K. Preparation and characterisation of chicken skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin. **Food hydrocolloids**, v. 30, p. 143-151, 2013.

SCHMIDT, A. et al. Green tea extract enhances parieto-frontal connectivity during working memory processing. **Food Research International Journal**, v. 100, p. 3879-3888, 2014.

SCHRIEBER, R.; GAREIS, HEBERT. **Gelatin Handbook - Theory and Industrial Practice**, Weinheim: WILEY-VCH, 2007, cap. 1-3

SCHOLEY, A. et al. Acute neurocognitive effects of epigallocatechin gallate (EGCG). **Appetite**, v. 58, p. 767-770, 2012.

SEGURANÇA AMBIENTAL & GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS LTDA. **Tempo de decomposição de materiais**. Disponível em: <<http://www.secatreambiental.com.br/images/pdf/TEMPO%20DE%20DECOMPOSIO%20D E%20MATERIAIS.pdf>>. Acesso em 15 nov. 2017.

SESSA, M.; FERRARI, G.; DONSI, F. Novel edible coating containing essential oil nanoemulsions to prolong the shelf life of vegetable products. **Chemical Engineering Transactions**, v. 43, p. 55-60, 2015.

SERVIÇO BRASILEIRO DE RESPOSTAS TÉCNICAS - SBRT. **Dossiê técnico - Embalagens para produtos alimentícios**. Disponível em : <<http://www.respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/NTY0MQ==>>. Acesso em 01. nov. 2017.

SHERMAN, V. R.; YANG, W.; MEYERS, M. A. The materials science of collagen. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 52, p. 22-50, 2015.

SHERWIN, H. ILONA, K. S. **Our wonderful 20th century - Save what we have left**. Disponível em: <http://www.kooperativ.hu/idegen_nyelv/Modulle%C3%ADr%C3%A1sok/ENGLISH/12-15-year-old%20learners/A2/Projects%20in%20the%20language%20lessons/Our%20wonderful-Save/Our%20wonderful-Save%20diak.pdf>. Acesso em: 14 nov. 2017.

SHOJAEI-ALIABADI, S.; AMIN, M.; HOSSEINI, H. Characterization of nanobiocomposite kappa-carrageenan film with Zataria multiflora essential oil and nanoclay. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 69, p. 282-289, 2014.

SILVERTEIN, R.M; WEBSTER, F. X; KIEMLE, D.J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7 ed., Rio de Janeiro, 490 p., 2006.

SIRIPATRAWAN, U.; HARTE, B. R. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 24, p. 770-775, 2010.

SOBRAL, P. J. A. et al. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin

based edible films. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 423-432, 2001.

SOW, L. C. et al. Nanostructural analysis and textural modification of tilapia fish gelatin affected by gellan and calcium chloride addition. **LWT - Food Science and Technology**, v. 85, p. 137-145, 2017.

STEYAERT, I. et al. Gelatin nanofibers: Analysis of triple helix dissociation temperature and cold-water-solubility. **Food Hydrocolloids**, v. 57, p. 200-208, 2016.

SUI CHIN, S.; HAN LYN, F.; NUR HANANI, Z. A. Effect of Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) gel on the physical and functional properties of fish gelatin films as active packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 12 p. 128-134, 2017.

TALÓN, E. et al. Antioxidant edible films based on chitosan and starch containing polyphenols from thyme extracts. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 1153-1161, 2017.

TONGNUANCHAN, P. et al. Emulsion film based on fish skin gelatin and palm oil: Physical, structural and thermal properties. **Food Hydrocolloids**, v. 48, p. 248-259, 2015.

UNIÃO INTERNACIONAL DE QUÍMICA APLICADA – **IUPAC**. Terminology for biorelated polymers and applications, v. 84, p. 377-410, 2012.

VOGLER, E. A. Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 74, p. 69-117, 1998.

WALKER, R. M. et al. Improvements in the formation and stability of fish oil-in-water nanoemulsions using carrier oils: MCT, thyme oil & lemon oil. **Journal of Food Engineering**, v. 211, p. 60-68, 2017.

WANG, Y.; MAO, F.; WEI, X. Characterization and antioxidant activities of polysaccharides from leaves, flowers and seeds of green tea. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, p. 146-153, 2012.

WYRWA, J.; BARSKA, A. Packaging as a Source of Information about Food Products. **Procedia Engineering**, v. 182, p. 770 -1779, 2017.

WRONA, M. et al. Development and characterisation of HPMC films containing PLA nanoparticles loaded with green tea extract for food packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 156, p. 108-117, 2017.

WU, J. et al. Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 32, p. 42-51, 2013.

YANG, Z.; BALDERMANN, S.; WATANABE, N. Recent studies of the volatile compounds in tea. **Food Research International**, v. 53, p. 585-599, 2013.

YASIN, H.; BABJI, A. S.; NORRAKIAH, A. S. Modification of chicken feet gelatin with aqueous sweet basil and lemongrass extract. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 72-79, 2017.

YOUNG, S. et al. Gelatin as a delivery vehicle for the controlled release of bioactive molecules. **Journal of Controlled Release**, v. 109, p. 256-274, 2015.