

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

ALESSANDRA CRISTINA DE SOUZA BRITO ALVES

ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM NAS PROPRIEDADES  
DE POLI-(3-HIDROXIBUTIRATO)/POLIETILENOGLICOL

RECIFE

2018

ALESSANDRA CRISTINA DE SOUZA BRITO ALVES

ESTUDO SOBRE A INFLUÊNCIA DO ÓLEO DE ALECRIM NAS PROPRIEDADES DO POLI-  
3-HIDROXIBUTIRATO/ POLIETILENOGLICOL

Dissertação de Mestrado ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Área de concentração: Processos de Polimerização, modificação de polímeros, degradação, estabilidade e reologia de materiais.

Linha de pesquisa: Processos Químicos Industriais.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> : Dr.<sup>a</sup>. Glória Maria Vinhas

Coorientadora: Dr.<sup>a</sup>. Viviane Fonseca Caetano

RECIFE

2018

Catálogo na fonte  
Bibliotecária Margareth Malta, CRB-4 / 1198

A474e Alves, Alessandra Cristina de Souza Brito.  
Estudo da influência do óleo essencial de alecrim nas propriedades de poli-(3-hidroxi-butirato)/polietilenoglicol / Alessandra Cristina de Souza Brito Alves. – 2018.

64 folhas, il., gráfs., tabs.

Orientadora: Profa. Dra. Glória Maria Vinhas.

Coorientadora: Profa. Dra. Viviane Fonseca Caetano.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG.

Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, 2018.

Inclui Referências.

1. Engenharia Química. 2. PHB. 3. PEG. 4. Óleo essencial de alecrim.  
5. Filmes antimicrobianos. I. Vinhas, Glória Maria. (Orientadora). II.  
Caetano, Viviane Fonseca. (Coorientadora). III. Título.

UFPE

660.2 CDD (22. ed.)

BCTG/2018-280

**ALESSANDRA CRISTINA DE SOUZA BRITO ALVES**

**ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO ÓLEO ESSENCIA DE ALECRIM NAS PROPRIEDADES  
DE POLI-(3-HIDROXIBUTIRATO)/POLIETILENOGLICOL**

**Linha de Pesquisa:** Processo Químicos Industriais

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, defendida e aprovada em 28 de Fevereiro de 2018 pela banca examinadora constituída pelos seguintes membros:

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Glória Maria Vinhas / DEQ – UFPE  
(Orientadora)

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Viviane Fonseca Caetano / DEQ - UFPE  
(Coorientadora)

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Samara Alvachim Cardoso Andrade /DEQ – UFPE  
(Examinadora Externa)

---

Prof.Dra. Sandra Maria Sarmiento / DEQ – UFPE  
(Examinadora Interna)

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Yêda Medeiros Bastos /DEQ - UFPE  
(Examinadora Interna)

## RESUMO

Devido à grande utilização de embalagens produzidas a partir de plásticos inertes ao meio ambiente, para fins alimentícios, surgem novos conceitos de embalagens que apresentem características de biodegradabilidade e propriedades adicionais, como por exemplo, ação antimicrobiana. Uma embalagem que vem sendo estudada, neste sentido, com êxito é a antimicrobiana, em que ocorre a migração do agente antimicrobiano para a superfície do alimento, inibindo assim o crescimento de micro-organismos. Neste trabalho, foram avaliadas as propriedades térmicas, mecânicas, microbiológicas de filmes de poli (3-hidroxi-butirato)(PHB) / polietilenoglicol(PEG) antes e após a aditivação com o óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), e esterilização radiolítica. A incorporação do óleo essencial de alecrim na matriz polimérica foi verificada a partir dos espectros de infravermelho. Os filmes foram preparados através da técnica de evaporação do solvente nas proporções de 0%, 5%, 10% e 15% m/m. Os resultados das propriedades térmicas mostraram que o aumento do percentual em massa do óleo na blenda não ocasiona variação significativa da temperatura de fusão, porém houve um acréscimo em relação à entalpia de fusão e ao grau de cristalinidade. Os resultados das propriedades mecânicas mostraram que somente a incorporação de 15% m/m de OEA causa diferenças significativas. A esterilização radiolítica diminuiu a tensão máxima e o módulo elasticidade do filme, tornando o filme mais quebradiço. Em relação à atividade antimicrobiana, foi verificado que o óleo essencial de alecrim inibiu o crescimento microbiano para *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Enterobacter aerogenes*. O filme de PHB/PEG aditivado com 15% de óleo de alecrim inibiu o crescimento da bactéria gram-negativa *Escherichia coli*, mostrando um grande potencial para ser aplicada como embalagem antimicrobiana. Os resultados de análises térmicas mostraram que o filme aditivado com o OEA diminuiu o efeito plastificante do filme e houve um aumento no grau de cristalinidade do filme e na temperatura de fusão com o aumento percentual do OEA. Por meio da análise de infravermelho foi possível verificar que houve incorporação do óleo essencial de alecrim no filme polimérico de PHB/PEG, além disso, as bandas espectrais do PHB/PEG apareceram em uma região de  $1750\text{ cm}^{-1}$  a  $750\text{ cm}^{-1}$ .

Palavras-chave: PHB. PEG. Óleo essencial de alecrim. Filmes antimicrobianos.

## ABSTRACT

Due to the wide use of packaging produced from environmentally inert polymers, for food packaging, there is a rising interest on new concepts of packaging that present characteristics of biodegradability and additional properties, such as antimicrobial action. In this context, a successful kind of packaging that has been studied is the antimicrobial packaging, from which an antimicrobial agent migrates to the surface of foods, inhibiting the growth of microorganisms. In this work, thermal, mechanical and microbiological properties of poly (3-hydroxybutyrate) (PHB)/polyethylene glycol (PEG) films were evaluated before and after the addition of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil, and radiolytic sterilization. The incorporation of rosemary essential oil in the polymeric matrix was verified from infrared spectra. The films were prepared using solvent evaporation method with proportions of 0%, 5%, 10% and 15% m/m. The results related to thermal properties showed that an increase in oil content in the blend does not lead to significant variation of melting temperature, however, it leads to an increase in melting enthalpy and crystallinity degree. The results related to mechanical properties showed that only the incorporation of 15% m / m of OAS causes significant differences. The Radiolytic sterilization reduced the maximum tensile and modulus elasticity of the film, making the film more brittle. Regarding antimicrobial activity, it was verified that rosemary essential oil inhibited the growth of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Enterobacter aerogenes*. The 15% rosemary essential oil PHB/PEG film inhibited the growth of gram-negative bacteria *Escherichia coli*, showing high potential for use in antimicrobial packaging. The results of thermal analyses showed that the film with essential oil was not thermally stable and had an increase in crystallinity degree and melting temperature as the oil content increased. Through infrared analysis it was possible to verify that rosemary essential oil was incorporated in the PHB/PEG polymeric film, also the spectral bands of PHB/PEG appeared in the region of 1750cm<sup>-1</sup> to 750 cm<sup>-1</sup>.

**Keywords:** PHB. PEG. Rosemary essential oil. Antimicrobial films.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1 -</b>	Estrutura Química do PHB.....	15
<b>Figura 2 -</b>	Ciclo de Vida do PHB.....	17
<b>Figura 3 -</b>	Estrutura química do poli(etilenoglicol).....	18
<b>Figura 4 -</b>	Diluição seriada da suspensão microbiana.....	36
<b>Figura 5 -</b>	Espectro de infravermelho médio do óleo essencial de alecrim, do filme PHB/PEG e do filme PHB/PEG/OEA em diferentes concentrações.....	38
<b>Figura 6 -</b>	Teste de inibição microbiana em meio sólido (Ágar Nutritivo) do óleo essencial de alecrim para as bactérias: (a) <i>Escherichia Coli</i> ; (b) <i>Staphylococcus aureus</i> ; (c) <i>Enterobacter aerogenes</i> .....	43
<b>Figura 7 -</b>	Teste da atividade antimicrobiana: a) Filme de PHB/PEG; e b) Filme PHB/PEG-15% OEA.....	45
<b>Figura 8 -</b>	Curva TGA (a) e DTG (b) dos filmes de PHB/PEG sem óleo antes e após a irradiação gama.....	47
<b>Figura 9 -</b>	Curva TGA (a) e DTG (b) dos filmes de PHB/PEG + 5% OEA antes e após a irradiação gama.....	47
<b>Figura 10-</b>	Curva TGA (a) e DTG (b) dos filmes de PHB/PEG + 10% OEA antes e após a irradiação gama.....	48
<b>Figura 11-</b>	Curva TGA (a) e DTG (b) dos filmes de PHB/PEG + 15% OEA antes e após a irradiação gama.....	48

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Degradação térmica do PHB nas temperaturas de 180°C, 200°C e 220°C.....	29
<b>Tabela 2</b> - Composição dos filmes de poli-3-hidroxi-butirato (PHB)/polietilenoglicol (PEG) nas concentrações de 0%, 5%, 10% e 15% de óleo essencial de alecrim (OEA).....	32
<b>Tabela 3</b> - Composição química do óleo essencial de alecrim (OEA).....	40
<b>Tabela 4</b> - Valores médios obtidos para as propriedades mecânicas tensão na ruptura, deformação específica e módulo de elasticidade dos filmes não irradiados e irradiados.....	41
<b>Tabela 5</b> - Contagem bacteriana dos filmes de PHB/PEG com e sem óleo de alecrim.....	44
<b>Tabela 6</b> - Resultados obtidos para a temperatura de fusão ( $T_m$ ), a entalpia de fusão ( $\Delta H_m$ ) e o grau de cristalinidade( $X_m$ ),.....	46
<b>Tabela 7</b> - Resultados obtidos para temperatura de degradação e a perda de massa para os filmes irradiados e não irradiados.....	49

## LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DSC	<i>Differential scanning calorimetry</i>
FTIR	<i>Fourier Transformed Infrared Spectroscopy</i>
GC MS	<i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i>
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MEO	Óleo Essencial de <i>Menthapulegium</i>
OE	Óleo Essencial
OEA	Óleo essencial de Alecrim
OEC	Óleo Essencial de Cravo
OEO	Óleo Essencial de Óregano
EVOH	Copolímero etileno-álcool vinílico
PCA	<i>Principal Componente Analysis</i>
PE	Poli(etileno)
PEO	Poli (óxido de etileno)
PEG	Poli(etilenoglicol)
PHA	Poli(hidroxiacanoatos)
PHB	Poli-3-hidroxi butirato
PP	Polipropileno
PVC	Poli(cloreto de vinila)
TGA	Análise Termogravimétrica
ZEO	Óleo Essencial <i>Zataria multiflora Boiss</i>

## LISTA DE SÍMBOLOS

A	Área (m <sup>2</sup> )
E	Módulo Elasticidade (N.m <sup>2</sup> ou Pa)
$\epsilon$	Deformação Específica de Ruptura
F	Força (N)
KGy	Quilogray
L	Elongação do filme durante a análise
L <sub>0</sub>	Comprimento do mesmo
P	Pressão (N.m <sup>2</sup> )
T	Temperatura (° C)
T <sub>c</sub>	Temperaturas de cristalização (°C)
T <sub>f</sub>	Temperatura de fusão (°C)
T <sub>g</sub>	Temperatura de transição vítrea(°C)
T <sub>m</sub>	Temperatura de fusão(°C )
UFC	Unidade Formadora de Colônia
$\Delta G_m$	Energia livre da mistura (J)
$\Delta H_c$	Calor de cristalização, (°C )
$\Delta H_f$	Calor de fusão (°C )
$\Delta H_m$ ,	Entalpia livre da mistura (J)
$\Delta H_p$	calor específico (°C )
$\Delta S_m$	Entropia da mistura (J/°C)
$\phi$	Fração volumétrica do polímero “i” na mistura
$\sigma$	Tensão Máxima (Pa)

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
1.1	OBJETIVO GERAL.....	14
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	15
2.1	POLI (3-HIDROXIBUTIRATO) (PHB).....	15
2.2	POLI (ETILENOGLICOL) (PEG).....	18
2.3	BLENDAS POLIMÉRICAS.....	19
2.4	ÓLEOS ESSENCIAIS.....	21
2.5	EMBALAGENS ATIVAS.....	23
<b>2.5.1</b>	<b>Embalagens antimicrobianas</b> .....	25
2.6	PROPRIEDADES MECÂNICAS.....	27
2.7	DEGRADAÇÃO DE POLÍMEROS.....	28
<b>2.7.1</b>	<b>Degradação térmica</b> .....	29
<b>2.7.2</b>	<b>Degradação por radiação de alta energia</b> .....	30
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	32
3.1	MATERIAIS.....	32
3.2	METODOLOGIA.....	32
<b>3.2.1</b>	<b>Preparação dos filmes poliméricos</b> .....	32
<b>3.2.2</b>	<b>Esterilização por radiação gama</b> .....	33
<b>3.2.3</b>	<b>Espectroscopia de Infravermelho Médio</b> .....	33
<b>3.2.4</b>	<b>Propriedades térmicas</b> .....	34
3.2.4.1	<i>Calorimetria diferencial exploratória (DSC)</i> .....	34
3.2.4.2	<i>Análise Termogravimétrica</i> .....	34
<b>3.2.5</b>	<b>Atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim</b> .....	35
<b>3.2.6</b>	<b>Atividade antimicrobiana do filme de PHB/PEG/OEA</b> .....	35
<b>3.2.7</b>	<b>Composição química do óleo essencial de Alecrim</b> .....	37
<b>3.2.8</b>	<b>Propriedades mecânicas</b> .....	37
<b>3.2.9</b>	<b>Análise estatística</b> .....	37
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	38
4.1	ESPECTROS DE INFRAVERMELHO MÉDIO.....	38
4.2	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM.....	39

4.3	PROPRIEDADES MECÂNICAS.....	41
4.4	ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM ....	42
4.5	TESTE DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA NO FILME PHB/PEG/OEA.....	44
4.6	CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL .....	45
4.7	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA .....	46
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>51</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>53</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Desde o início do século passado, o uso de plásticos tornou-se cada vez mais frequente na sociedade moderna. A quantidade de produtos que são produzidos pelo homem que utiliza polímeros como fonte de matéria-prima está presente em diversos segmentos (CASARIN *et al.*, 2013). Isso se deve às características que os polímeros apresentam como: durabilidade, baixo custo, facilidade para serem moldados, capacidade de serem reciclados e versatilidade de aplicação (FARIA & FRANCHETTI, 2010).

A maioria dos polímeros sintéticos utilizados como matéria-prima em embalagens são considerados inertes ao ataque imediato de micro-organismos. Isso faz com que esses produtos apresentem um maior ciclo de vida, acarretando em problemas ambientais, visto que após seu descarte, contribuem para o aumento da quantidade de resíduos plásticos no meio ambiente (CASARIN *et al.*, 2013).

Neste cenário, tem-se os biopolímeros com grande potencial para substituir os polímeros sintéticos em algumas aplicações, como embalagens alimentícias. Os poli-hidroxicanoatos são poliésteres alifáticos produzidos por uma grande variedade de bactérias como exemplo, *Alcaligenes eutrophuse* e a *Azotobacter vinelandi*, a partir de fontes renováveis. A principal vantagem dos PHA sobre outros tipos de polímeros biodegradáveis é que eles não requerem condições ambientais especiais para serem degradados, podendo sofrer biodegradação sob condições aeróbias ou anaeróbias (IULIANELLI *et al.*, 2013).

Um dos biopolímeros mais conhecidos é o poli-3-hidroxiбутирато (PHB). Esse biopolímero apresenta algumas propriedades físicas e mecânicas comparáveis ao do polipropileno (PP) isotático, polímero sintético amplamente utilizado. Além disso, o PHB, em muitos casos, é o polímero que mais se aproxima de um eco-material ideal, pois é obtido de fontes renováveis e é facilmente biodegradado em solos de compostagem, também é atóxico, biorreabsorvível e biocompatível, podendo ser usado em implantes médicos ou como substrato para crescimento celular. As principais aplicações do PHB estão na área biomédica, produtos agrícolas e de embalagens (IULIANELLI *et al.*, 2013).

No Brasil, a produção do PHB tem sido favorecida devido ao desenvolvimento da indústria brasileira de açúcar e álcool e pela disponibilidade de grandes quantidades de açúcar a baixos preços, que constitui o principal substrato de crescimento das bactérias produtoras de

PHB. Com isso, o PHB pode ser uma alternativa de polímero biodegradável viável para ser utilizada em embalagens, como por exemplo, as alimentícias.

Dentre os vários tipos de embalagens alimentícias, têm-se as embalagens ativas que além de funcionarem como barreira física entre o produto e o meio externo, podem interagir com o alimento, das seguintes formas: evitam as deteriorações químicas e microbiológicas, mantém as propriedades nutricionais, pode melhorar suas propriedades sensoriais, estende a vida útil de prateleira e garante a segurança do alimento (SOARES *et al.*, 2009; FABRIS *et al.*, 2006).

Dentre os vários tipos de embalagens ativas comercializadas têm-se as antimicrobianas (DE AZEREDO *et al.*, 2000). Nesse tipo de embalagem, um agente antimicrobiano é incorporado na matriz polimérica, visando reduzir ou inibir o crescimento microbiano sobre a superfície dos alimentos (PÉREZ-PÉREZ *et al.*, 2006). Uma possibilidade como agentes antimicrobianos para fins de embalagens alimentícias são os óleos essenciais (ABDOLLAHZADEH *et al.*, 2014). Dentre eles, tem-se o óleo essencial de alecrim, que possui atividades antimicrobiana e antioxidante (BURT *et al.*, 2004).

Neste trabalho, foram desenvolvidos e avaliados filmes de poli (3-hidroxi-butilato) (PHB) / polietilenoglicol (PEG) aditivados com óleo essencial de alecrim (OEA) nas concentrações 0%, 5%, 10% e 15% m/m. Esses filmes foram caracterizados por infravermelho médio e suas propriedades térmicas e mecânicas foram avaliadas antes e após exposição à radiação gama. Também foi avaliada a atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim e dos filmes de PHB/PEG aditivados com óleo essencial de alecrim.

### 1.1 OBJETIVO GERAL:

O objetivo geral foi desenvolver filmes de poli (3-hidroxi-butirato) PHB /Polietilenoglicol (PEG) aditivados com óleo essencial de alecrim (OEA) que apresentem características de estabilidade durante seu tempo de uso e que tenham potencial para ser utilizadas como embalagens antimicrobianas.

### 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

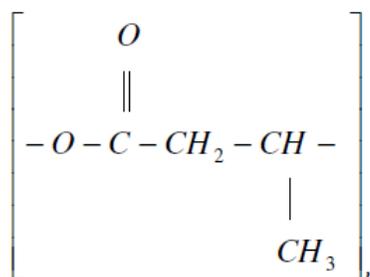
- Preparar os filmes de PHB / PEG aditivados com óleo essencial de alecrim nas concentrações de 0%, 5%, 10% e 15% m/m;
- Caracterizar o óleo essencial de alecrim e os filmes por infravermelho médio;
- Caracterizar o óleo essencial de alecrim por cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massas;
- Determinar as propriedades mecânicas e térmicas dos filmes;
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos filmes aditivados com óleo essencial de alecrim;
- Avaliar a estabilidade dos filmes aditivados após esterilização por radiação gama.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 POLI-3-HIDROXIBUTIRATO (PHB)

Os poli-hidroxicanoatos (PHA) são poliésteres alifáticos que podem apresentar diferentes números de átomos de carbono e são produzidos através da acumulação intracelular de bactérias com a finalidade de reserva de carbono e/ou de energia (BUGNICOURT *et al.*, 2014; FIGUEIREDO *et al.*, 2014). Dentre os PHA destaca-se o poli-3-hidroxiбутirato (PHB), que é um biopolímero semicristalino, de cadeia curta que contém um radical metila, constituído basicamente por átomos de hidrogênio, oxigênio e carbono (Figura 1).

**Figura 1** - Estrutura Química do PHB.



Fonte: Byocycle, 2016

O PHB apresenta características de biodegradabilidade, biocompatibilidade, rigidez, insolubilidade em água e solubilidade em solventes orgânicos, como o clorofórmio, elevada temperatura de fusão (176 – 178°C), grau de cristalinidade elevado e com baixa permeabilidade em oxigênio, água e dióxido de carbono (PACHEKOSKI *et al.*, 2014; CATONI, 2010; MACHADO *et al.*, 2010). Além disso, o PHB comporta-se como um termoplástico e tem propriedades físicas e mecânicas similares ao polipropileno (PP), além de boa de resistência à umidade e de barreiras a gases (CAVALCANTE *et al.*, 2017; GOONOO *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2016; BUGNICOURT *et al.*, 2014; MACHADO *et al.*, 2010). As características que limitam as aplicações do PHB são a dureza e fragilidade, devido a sua alta cristalinidade e a sua pequena faixa de processabilidade, uma vez que a sua temperatura de fusão está próxima a temperatura de degradação térmica (PAUL *et al.*, 2014).

A produção de PHB é geralmente conduzida em duas fases: uma fase de crescimento contínuo e uma fase de acumulação de PHB sob condições de crescimento limitado. As condições em que as bactérias são cultivadas são susceptíveis de afetar o desempenho bacteriano na fase de produção subsequente do PHB (ZHANG *et al.*, 2017; MOZUMDER *et al.*, 2016).

Em relação a sua obtenção, o PHB é produzido por meio da fermentação de açúcares (sacarose, glicose, etc) presentes na cana-de-açúcar (MACHADO *et al.*, 2010). Os micro-organismos alimentam-se desses açúcares e os transformam em grânulos intracelulares (COELHO; ALMEIDA; VINHAS, 2008).

Esse processo de sintetização de bactérias ocorre em um meio com nutrientes contendo excesso de fonte de carbono e pelo menos um dos nutrientes fundamentais a multiplicação das células (N, P, Mg, Fe, etc) (SILVA & GOMEZ, 2007).

Após o processo de industrialização, a sacarose e o bagaço da cana-de-açúcar são extraídos, a primeira é transformada em um biopolímero, que neste caso, é o poli(hidroxibutirato), via fermentação, utilizando micro-organismos da espécie *Alcaligenes eutrophus* e *Bacillus megaterium* o bagaço é utilizada como fonte de energia (DUAN *et al.*, 2017; ARRIETA *et al.*, 2016; PHB INDUSTRIAL S.A., 2016; BUGNICOURT *et al.*, 2014; PACHEKOSKI *et al.*, 2014). Com isso, o biopolímero é extraído do interior das bactérias e transformado em diversos produtos plásticos. Quando esses polímeros são descartados em ambiente natural e biologicamente ativos, são transformados novamente em gás carbônico e água, concluindo o ciclo de vida sem degradar o meio ambiente (PHB INDUSTRIAL S.A. 2016).

**Figura 2 - Ciclo de Vida do PHB**



Fonte: PHB Industrial S.A., 2016

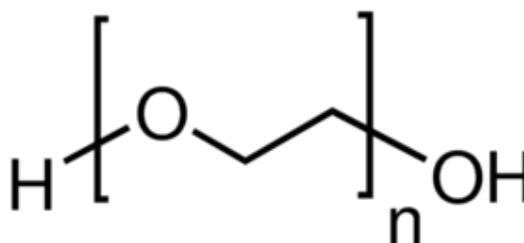
O PHB pode ser utilizado em diversas aplicações, como embalagens de produtos de limpeza, cosméticos, produtos farmacêuticos, sacos e vasilhames para fertilizantes e defensivos agrícolas (MACHADO *et al.*, 2010). Também pode ser aplicado na área medico-farmacêutico, participando como matéria-prima na fabricação de fios de suturas cirúrgicas e próteses ósseas, pois são biocompatíveis e facilmente absorvíveis pelo organismo humano (BOHMERT *et al.*, 2002).

Embora o PHB em algumas situações apresente resultados satisfatórios quando comparados a alguns polímeros sintéticos, ele ainda apresenta algumas limitações técnicas o que impossibilita, em alguns casos, seu uso como produto final (CAVALCANTE *et al.*, 2017; ARRIETA *et al.*, 2016; BUGNICOURT *et al.*, 2014). Pesquisadores vêm estudando alternativas para melhorar a qualidade deste produto, como por exemplo, as blendas poliméricas com PHB e outros polímeros que tem como objetivo melhorar as suas propriedades mecânicas, de processamento, resistência térmica, além de reduzir os custos (BRITO *et al.*, 2011; QUENTAL *et al.*, 2010)

## 2.2 POLI (ETILENOGLICOL) (PEG)

O poli (etilenoglicol) (PEG) é um polímero sintético, e hidrofílico, cuja estrutura química é composta por repetidas cadeias de éter dimetílico linear com grupos terminais hidroxilo (Figura 3) (CACCAMO & MAGAZÚ, 2016; SARIER *et al.*, 2016; KOBAYASHI *et al.*, 2014). O PEG é um polímero sintetizado por polimerização aniônica de abertura do anel de óxido de etileno, na presença de oxigênio, iniciado pelo ataque nucleofílico de um íon hidróxido no anel epóxido (GHALIA & DAHMAN, 2017; ROBERTS *et al.*, 2012).

**Figura 3** - Estrutura química do poli (etilenoglicol).



Fonte: Sigma Aldrich site.

O PEG apresenta características de baixo ponto de fusão, baixa volatilidade, baixa estabilidade química, elevada cristalinidade, atóxico, sem odor, não imunogênico, higroscópico, biocompatível, resistência à proteína, relativamente barato, não corrosivo, apresenta uma alta degradabilidade, capacidade de sofrer reações de polimerização e de fazer ligações de hidrogênio intermoleculares, podendo ser aplicados na área médica (devido a suas características não-trombogênicas), com aplicação farmacêutica, cosmética e como aditivos alimentares (MIMA *et al.*, 2017; BADI, 2016; WYSOCZANSKA & MACEDO, 2016; SARIER *et al.*, 2016; SHIRAISHI *et al.*, 2016; VOJKOUSKY *et al.*, 2016; FOU DA *et al.*, 2015; KO *et al.*, 2015; KOBAYASHI *et al.*, 2014; RAO *et al.*, 2013; FANG *et al.*, 2017).

O PEG está disponível em uma ampla escala de massa molecular, onde pode variar de 200 a vários milhões (CHEN *et al.*, 2016; DO *et al.*, 2012). Na temperatura ambiente, pode ser encontrado no estado líquido, apresentam-se soluções límpidas, incolor ou viscosa quando o sua

massa molecular estiver abaixo de 600 e acima de 800 apresentam-se na fase sólida, com coloração branca ou translúcida, de consistência pastosa e cerosa (AHAB *et al.*, 2016; BORGES *et al.*, 2016).

É solúvel em água e metanol, mas insolúvel em solventes orgânicos, tais como cetonas alifáticas e álcoois, éteres glicólicos, ésteres, clorofórmio e hidrocarbonetos aromáticos (ZHANG *et al.*, 2016; BORGES *et al.*, 2016; KO *et al.*, 2015).

Dependendo do tamanho da cadeia molecular, o PEG pode ser chamado de poli (óxido de etileno) PEO (FOUDA *et al.*, 2015). Segundo Blazek (2012), adota-se o nome poli (óxido de etileno) PEO quando a massa molecular do PEG é maior que 20.000 g/mol e de PEG para valores inferiores a esse.

Devido as suas características, o poli (etilenoglicol) é muito utilizado como plastificante na indústria de polímeros, visando melhorar a estabilidade mecânica, a hidrofiliabilidade e a estabilidade térmica (GEBRU & DAS, 2017; ZHANG *et al.*, 2016).

### 2.3 BLENDA POLIMERICAS

Blendas poliméricas são oriundas da mistura física de um ou mais polímeros e/ou copolímeros, formando um novo material com propriedades diferentes dos quais foram originadas, de forma que existam apenas interações intermoleculares entre as cadeias moleculares desses polímeros (MANTIA *et al.*, 2017; SAINI *et al.*, 2016; DE PAOLI, 2008). As blendas podem ser preparadas através de dois métodos: em solução ou por mistura mecânica no estado fundido dos componentes (QUENTAL *et al.*, 2010). Essa estratégia é bastante atrativa para as indústrias, pois é uma alternativa econômica para o desenvolvimento de novos materiais, se comparados ao processo de polimerização, síntese um novo polímero ou realizar reações químicas adicionais (BLAZEK, 2012).

As principais características que se deseja obter com o processo das blendas são: melhorar suas propriedades térmicas, mecânica, de processamento e redução dos custos.

Na escolha dos polímeros que serão os constituintes de uma blenda polimérica, os parâmetros miscibilidade e compatibilidade são cruciais e devem ser considerados (QUENTAL *et al.*, 2010). As blendas são classificadas como miscíveis quando se é possível misturar os polímeros de modo que não haja segregação entre as moléculas, gerando apenas uma única fase com comportamento homogêneo e imiscíveis quando houver mais de duas fases distintas (DE

PAOLI, 2008). A compatibilidade ocorre quando há melhoramento das suas propriedades na junção dos polímeros, quando não houver será considerada incompatível (QUENTAL *et al.*, 2010).

As blendas poliméricas podem ser preparadas através de dois métodos, mistura mecânica (*melt mixing*) e evaporação de solvente (*casting*). No método de evaporação de solventes ocorre primeiramente à mistura de componentes poliméricos, seguida pelo processo de evaporação do solvente, possibilitando a formação do filme. No método mistura mecânica, os polímeros fundidos são misturados. Por razões econômicas e por permitir a mistura de polímeros em grande escala, o método *melt mixing* é o mais utilizado. O método *casting* tem mais utilização em escala laboratorial por utilizar misturas de pequenas quantidades (QUENTAL *et al.*, 2010).

Na literatura, são encontrados estudos relacionados às blendas de PHB e PEG com diferentes massas moleculares, mostrando que esses dois polímeros são compatíveis (BLAZEK, 2012; PARRA *et al.*, 2011; PARRA *et al.*, 2006).

Parra *et al.* (2006) avaliaram misturas de PHB com PEG 300, em diferentes proporções 100/0, 98/2, 95/5, 90/10, 80/20 e 60/40 em massa, respectivamente. Observaram que o filme obtido era transparente e flexível, ao contrário do PHB puro. Verificou-se também que a sua estabilidade térmica não foi alterada devido à adição do PEG e que o aumento no conteúdo do PEG reduziu a resistência à tração e aumentou o alongamento do PHB.

Parra *et al.* (2011) avaliaram blendas de PHB com PEG com diferentes pesos moleculares (300 g/mol, 600 g/mol, 1.000 g/mol e 6.000 g/mol), antes e após radiação gama nas doses de 5kGy e 10 kGy. Os autores verificaram que os filmes irradiados são decompostos por biodegradação, mais lentamente, do que os filmes não irradiados, devido ao efeito de reticulação no polímero, o que dificulta o mecanismo de degradação. Também observaram que quanto maior a massa molecular do PEG nas misturas de blendas, ela torna-se mais resistente à radiação gama.

O baixo teor de PEG evidenciado por reações de reticulação em filmes irradiados dificulta a cristalização do polímero, provocando uma diminuição na temperatura de cristalização.

Blazek (2012) avaliou blendas de PHB/PEG 300 e PHB/PEO 4.000.000. O autor observou que, através das análises de calorimetria exploratória diferencial (DSC), houve uma redução da temperatura de fusão ( $T_m$ ) do PHB com a adição de PEG e PEO, indicando uma forte interação entre os polímeros. Percebeu-se também que a concentração do PEG acima de 10% em

massa interfere diretamente na temperatura de degradação do PHB. As análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostraram que apesar de haver interação entre os polímeros, existe uma segregação de fases que está diretamente relacionada com o tempo de armazenamento. Essa segregação de fases com o tempo provoca a cristalização do PHB, ocasionando as suas rigidez e fragilidade nas amostras.

## 2.4 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais (OE) são líquidos voláteis, lipossolúveis, com baixa massa molecular, capazes de gerar sabor e/ou odores fortes e são constituídos por uma mistura de constituintes como hidrocarbonetos saturados e insaturados, álcoois, aldeídos, ésteres, éteres, cetonas, fenóis e óxidos de terpenos (ZAHKAN *et al.*, 2017; ALI *et al.*, 2015; BAKKALI *et al.*, 2008). São produtos naturais que podem ser extraídos das flores, folhas, frutos, sementes, cascas, raízes, rizomas e caules (CALO *et al.*, 2015).

Os óleos essenciais possuem propriedades antimicrobianas e antioxidantes que inibem o crescimento e proliferação de bactérias gram-positivas ou gram-negativas, leveduras e fungos filamentosos, o que os torna aditivos interessantes na indústria de alimentos (ATARÉS & CHIRALT, 2016; BONILLA *et al.*, 2011; STIEVEN *et al.*, 2009). A ação antimicrobiana ocorre porque os OE têm a capacidade de entrar na célula, através das membranas bacterianas, inibindo suas propriedades funcionais (CALO *et al.*, 2015).

Os OE vêm sendo utilizados desde o início da humanidade (RAUL & KARUPPAYIL, 2014). Essas substâncias são utilizadas para diversas finalidades, como por exemplo, na fabricação de cosméticos e perfumes, no tempero de alimentos, nutricional, antisséptica, na preparação de chás e infusões medicinais (ABDOLLAHZADEH *et al.*, 2014; STIEVEN *et al.*, 2009 ; BAKKALI *et al.*, 2008).

Os óleos essenciais podem ser obtidos através do processo destilação por arraste de vapor de água ou a pressão reduzida (BOTRE *et al.*, 2010). A caracterização da composição química dos OE pode ser obtida através da análise de cromatografia gasosa acoplada a um espectro de massa (GC-MS) (JALALI-HERAVI *et al.*, 2015). A composição química dos óleos essenciais irá depender de alguns fatores, como espécie da planta, plantio, colheita, clima, modo de extração, aplicação de fertilizantes, processo de secagem, entre outros fatores, afetam a química do óleo (RAUT & KARUPPAYIL, 2014; STIEVEN & SILVA, 2009).

A maioria dos óleos essenciais apresenta mais de 60 compostos com composições químicas diferentes na sua estrutura, onde os componentes majoritários determinam as suas propriedades biológicas, os quais representam em torno de 20 – 70% da sua composição (GONZÁLEZ *et al.*, 2016; BAKKALI *et al.*, 2008). Entre eles, os componentes mais bioativos são: os terpenóides, terpenos, fenilpropenos e compostos fenólicos que possuem natureza lipídica (GONZÁLEZ *et al.*, 2016; RAUT & KARUPPAYIL, 2014).

Devido a sua origem natural, os óleos essenciais são uma alternativa para a redução de aditivos sintéticos nas embalagens alimentícias e vêm sendo estudados como uma opção de aditivos alimentares para filmes e revestimentos comestíveis (RAI *et al.*, 2017). Além disso, é bem visto pelos consumidores por se tratar de um produto natural, biodegradável e que possui uma volatilidade relativamente alta (PRAKASH *et al.*, 2015). Com a utilização de OE nos filmes e revestimentos, afeta a matriz polimérica espera-se que haja uma redução na permeabilidade de vapor de água em alguns filmes hidrofílicos e que ocasionem uma alteração em suas propriedades (como ótica, tração, antimicrobiano, antioxidante, etc) (ATARÉS & CHIRALT, 2016).

Na literatura foram relatados alguns trabalhos que avaliaram a ação do óleo essencial como aditivo natural em matrizes poliméricas.

Ojagh *et al.* (2010) analisaram os filmes de quitosana aditivados com óleo essencial de canela em quatro diferentes concentrações (0,4%, 0,8%, 1,5% e 2,0% v/v). Foi observado nos filmes aditivados que ocorreu uma alteração positiva em relação ao controle da umidade, pois o filme também se tornou mais resistente à barreira de umidade, melhorando assim suas propriedades antimicrobianas, permeabilidade ao vapor e alongamento dos filmes.

Benavides *et al.* (2012) avaliaram o efeito do grau de reticulação interna do filme de alginato aditivado com óleo essencial de orégano. Foi observado que os filmes com aditivação do óleo tornaram-se mais flexíveis e menos transparentes. Também foi constatada pelos autores a ação antimicrobiana do óleo contra os micro-organismos patogênicos *Staphylococcus aureus* e *L. monocytogenes* (gram-positiva), *E. coli* e *S. enteritidis* (gram-negativa), sendo mais eficiente em bactérias gram-positivas do que nas gram-negativas.

Ghasemlou *et al.* (2013) desenvolveram filmes à base de amido incorporados com óleo essencial *Zataria multiflora Boiss* (ZEO) e *Menthapulegium* (MEO), que são plantas aromáticas e medicinais pertencente a família *Labiatae*, com o objetivo de melhorar as propriedades mecânicas e de processabilidade do filme de amido. Os OE foram aditivados em três níveis (1%,

2% e 3% v/v) nas películas de amidos. Eles perceberam que um aumento no percentual de OE resultou numa diminuição significativamente na resistência à ruptura por tração e um aumento simultaneamente no alongamento à ruptura. Também perceberam um melhoramento nas propriedades de barreira à umidade da película e que os OE mostraram eficazes contra os micro-organismos *E. Coli* e *S. aureus*.

Mulla *et al.* (2017) desenvolveram uma embalagem composta de polietileno linear de baixa densidade (LLDPE) modificada quimicamente com o ácido crômico (AC) revestido com o óleo essencial de cravo (OEC). Foram analisadas as propriedades mecânicas, de barreira, ópticas, térmicas e morfológicas do filme. O filme obteve uma coloração amarela devido à incorporação do OEC na matriz polimérica, sendo confirmada através da análise de espectroscopia de FTIR. Houve uma melhora na propriedade de barreira ultravioleta do filme e uma redução significativamente na temperatura de fusão e de cristalização, o que pode ser concedido ao efeito plastificante do OEC, porém não houve alterações nas suas propriedades mecânicas. Foi observado o efeito da atividade antimicrobiana do OEC contra *Salmonella Typhimurium* e *Listeria monocytogenes*, mostrando-se eficaz contra micro-organismos patogênicos.

## 2.5 EMABALAGENS ATIVAS

Nas últimas décadas intensificaram-se a busca por alimentos frescos, minimamente processados, de melhor qualidade, isentos de conservantes químicos e que não ofereçam risco à saúde do consumidor (FANG *et al.*, 2017; REALINI & MARCOS, 2014). O uso da tecnologia empregada nas embalagens de alimentos vem aumentando cada vez mais com o intuito de fornecer alimentos *in natura*, seguros, que possam reduzir o impacto ao meio ambiente por serem biodegradáveis, que aumente o seu tempo de prateleira sem a utilização de conservantes químicos e que chame mais atenção dos consumidores por serem de qualidade (FANG *et al.*, 2017; RIBEIRA-SANTOS *et al.*, 2017; MARTUCCI *et al.*, 2015).

As embalagens convencionais têm como funções principais: conter, proteger de fatores externos (odores, poeira, micro-organismos, umidade e etc), conservar, facilitar o transporte e o manuseio dos alimentos de modo que não haja nenhuma interação com o alimento (RIBEIRA-SANTOS *et al.*, 2017; VANDERROOST *et al.*, 2014; SUNG *et al.*, 2013; OLIVEIRA & OLIVEIRA, 2004; AZEREDO *et al.*, 2000).

O processo de globalização veio para contribuir com a tecnologia das embalagens de alimentos, pois ao exportar seus produtos naturais para outra região/país, as empresas devem garantir que os alimentos cheguem ao destino final com qualidade e que suas propriedades organolépticas não sejam alteradas (RIBEIRA-SANTOS *et al.*, 2017; SUPPAKUL *et al.*, 2016). Os principais fatores que causam a degradação dos alimentos são o crescimento microbiano na superfície do alimento e a oxidação lipídica, que resulta no desenvolvimento de sabor, cor, perda de nutrientes e odor estranho, tornando-o impróprio para o consumo humano (RIZZOLO *et al.*, 2016; OGIWARA *et al.*, 2016; FABRA *et al.*, 2016; GÓMEZ-ESTACA *et al.*, 2014).

Uma alternativa de embalagem que está sendo muito pesquisada e analisada para atender as exigências dos consumidores são as embalagens ativas (KREPKER *et al.*, 2017; REALINI & MARCOS *et al.*, 2014). Elas têm como finalidade criar uma barreira externa contra os agentes patogênicos, aumentando a vida útil do alimento e com isso diminuindo o desperdício dos alimentos, garantindo a segurança alimentar do produto (KREPKER *et al.*, 2017; RIZZOLO *et al.*, 2016; SUPPAKUL *et al.*, 2003).

Segundo Rooney (1992), embalagem ativa é definida como aquela que desempenha um papel a mais na preservação dos alimentos. Gontard (1997) define embalagem ativa como aquela que irá interagir com o alimento, e em alguns casos, irá responder as mudanças.

As embalagens ativas devem estar de acordo com os seguintes critérios: manter as características sensoriais do produto, apresentar segurança em termos de saúde pública, inibir reações paralelas inadequadas, que possa absorver/emitir o gás ou vapor de interesse e mostrar a alta capacidade de absorção do gás ou vapor (RIBEIRO-SANTOS *et al.*, 2017; REALINI & MARCOS, 2014; SARANTÓPOULOS *et al.*, 1996).

Diversas tecnologias foram desenvolvidas em embalagens ativas, entre as quais pode-se destacar: sistemas de atmosfera modificada, absorção de oxigênio com o intuito de retardar ou evitar a deterioração dos alimentos devido à oxidação dos componentes, controle dos níveis de etileno, redução dos níveis de umidade, liberação de etanol, liberação de aditivos (antimicrobianos ou antioxidantes), incorporação de enzimas, sistemas de monitoramento de temperatura, absorção de radiação, absorção de odores e sabores desagradáveis, preservação de cor e revestimentos (SUPPAKUL *et al.*, 2016; ADILAH & HANANI, 2016; MAJID *et al.*, 2016; REALINI & MARCOS, 2014; AZEREDO *et al.*, 2000).

A técnica da embalagem ativa consiste na incorporação de certos aditivos presentes na embalagem ou na absorção de algumas substâncias presente no alimento, que serão liberados ou absorvidos de maneira controlada de modo que não haja alteração nas suas propriedades (RIBEIRA-SANTOS *et al.*, 2017; REALINI & MARCOS, 2014; BENAVIDES *et al.*, 2012). Antes de realizar está técnica, deve-se analisar a escolha do componente que será incorporado, pois muitas vezes essa aplicação é limitada pela incompatibilidade do componente com o material de embalagem, por isso, a escolha da matriz polimérica e do aditivo que será incorporado é de fundamental importância para elaboração e funcionamento das embalagens ativas (MAJID *et al.*, 2016; GÓMEZ-ESTACA *et al.*, 2014; SOARES *et al.*, 2009).

### **2.5.1 Embalagens antimicrobianas**

Dentre os vários tipos de embalagens ativas têm-se as antimicrobianas, que vêm ganhando destaque no setor de embalagens para alimentos (SUNG *et al.*, 2013). A embalagem antimicrobiana é um tipo promissor de embalagem ativa, devido a sua capacidade de eliminar, reduzir, retardar ou inibir o crescimento de micro-organismos patogênicos que podem estar presentes na superfície do alimento ou no próprio material embalado, prolongando a vida de prateleira, reduzindo o desperdício, mantendo a qualidade nutricional e garantindo a segurança do alimento para o consumidor (MEIRA *et al.*, 2017; OTONI *et al.*, 2016; SEYDIM & SARIKUS, 2006; HAN, 2005; APPENDINI & HOTCHKISS, 2002).

Os agentes antimicrobianos podem ser de substâncias ativas orgânicas, biológicas ou inorgânicas (WEN *et al.*, 2016). Pode-se citar os óleos essenciais como potencial atividade antimicrobiana por serem de fonte natural, efetivo, não-tóxico, podem inibir um amplo espectro de micro-organismos patogênicos e não oferecem risco a saúde do consumidor e nem ao meio ambiente (WEN *et al.*, 2016; PESAVENTO *et al.*, 2015; SUNG *et al.*, 2013; MURIEL-GALET *et al.*, 2012).

Os OE podem ser adicionados através de dois métodos: o primeiro é pela incorporação, onde irá ocorrer à migração do agente antimicrobiano para o alimento, já o segundo consiste na técnica de imobilização onde os agentes microbianos são efetivos contra o crescimento microbiano, atuando apenas na superfície, não havendo migração para o produto (AL-

NAAMANI *et al.*, 2016; OTONI *et al.*, 2016; REALINE & MARCOS, 2014; OLIVEIRA & OLIVEIRA, 2004).

O benefício de adicionar os óleos essenciais às embalagens deve-se à baixa taxa de difusão dos OE, o que possibilita atingir os resultados desejados com uma menor concentração de óleo, evitando sabores e odores indesejados (ARFAT *et al.*, 2014; SUNG *et al.*, 2013).

A fim de controlar o crescimento de micro-organismos indesejáveis na superfície do alimento, os agentes antimicrobianos podem ser incorporados nos alimentos de três formas: (1) inseridos diretamente na estrutura polimérica do filme; (2) incorporados através da adição de almofadas de sachês antimicrobianos voláteis ou (3) através da adsorção e revestimentos na superfície do alimento (FANG *et al.*, 2017; OTONI *et al.*, 2016; SUNG *et al.*, 2013; APPENDINI & HOTCHKISS, 2002). A grande vantagem de utilizar os agentes antimicrobianos nas embalagens é devido à redução de conservantes inseridos nos alimentos, obtendo um produto livre de conservantes (DICASTILLO *et al.*, 2016; OTONI *et al.*, 2016; HAN & BHAT, 2014).

Uma etapa muito importante desse processo é a seleção do tipo do agente antimicrobiano que será incorporado à embalagem, pois devem ser considerados os seguintes aspectos: alguns nutrientes presentes no alimento são ideais para a proliferação de alguns micro-organismos, suas propriedades (sabor, pH, temperatura e odor) não podem ser alteradas com a inclusão do agente antimicrobiano e deve também atender a legislação para cada tipo de micro-organismo (MANSO *et al.*, 2015; OTONI *et al.*, 2016; OLIVEIRA & OLIVEIRA, 2004).

Muriel-Galet *et al.* (2012) desenvolveram filmes constituídos de polipropileno e um copolímero etileno-álcool vinílico (EVOH) incorporados com os óleos essenciais de orégano e de citral com o objetivo de caracterizar a eficiência antimicrobiana das embalagens para saladas minimamente processadas. Os resultados mostraram que os OE funcionaram como agentes antimicrobianos reduzindo a flora de deterioração e inibiu o crescimento de micro-organismos patogênicos em saladas contaminadas. Porém eles observaram que o efeito foi mais eficaz para bactérias gram-negativas (*E. coli* e *Salmonella entérica*) do que nas gram-positivas (*L. monocytogenes*).

Wu *et al.* (2014) prepararam e caracterizam filme a base de gelatina, extraída de pele de peixe (carpa), com quitosana aditivado de óleo essencial de orégano (OEO) com o objetivo de avaliar as propriedades e atividade antimicrobiana do filme. Os resultados mostraram que o filme apresentou uma atividade antimicrobiana frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus*

*aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus enteritidis* e *Shigabacillus*, e que podia melhorar a barreira ao vapor de água e à luz. Concluíram também que essa película de gelatina-quitosana quando incorporadas do OEO tem um grande potencial em aumentar o tempo de prateleira dos peixes.

Hernández-González *et al.* (2017), estudaram os efeitos antimicrobiano do filme ativo de polissuccinimida aditivado com óleo essencial de orégano. Os resultados encontrados para atividade antimicrobiana desse biofilme demonstraram 3% de eficiência contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, com halos de inibição de 4 cm, porém não foi possível detectar a migração do timol e carvacrol presentes no óleo. Eles concluíram que os compostos presentes no óleo essencial de orégano possui ação contra micro-organismos e que pode ser utilizado como embalagem antimicrobiana.

Giaquinto *et al.* (2017) verificaram que o filme de PHB aditivado com óleo essencial de canola possui atividade antimicrobiana contra a *E. coli*.

Ribeiro-Santos *et al.* (2017) verificaram a eficácia de inibição da *E. coli* pelo OEA e afirmaram que os componentes  $\alpha$ -pineno e 1,8 cineol (eucalipto) são os principais componentes responsáveis pelo efeito antibacteriano do OEA.

## 2.6 PROPRIEDADES MECÂNICAS

As propriedades mecânicas dos materiais poliméricos são de fundamental importância para os filmes designados para embalagens de alimentos devido aos requisitos e/ou exigências que as diversas variedades de polímeros devem seguir para o melhor desempenho nas suas aplicações (ARRIETA *et al.* 2014; MCHUGH & SENESI, 2000).

O PHB é um biopolímero altamente quebradiço, por isso, a mistura dele com outros componentes de alta ou baixa massa molecular pode possibilitar uma melhora nas suas propriedades físicas e mecânicas (CAROFIGLIO *et al.*, 2017). Valores como módulo elasticidade, resistência à tração e deformação específica podem servir como base de comparação do desempenho mecânico entre os diversos tipos de polímeros.

A tensão é a força máxima aplicada a um filme em um teste de tração (GENNADIOS *et al.*, 1994) esta propriedade pode ser calculada através da Equação 1.

$$\sigma = \frac{F}{A} \quad (1)$$

Segundo Benavides *et al.* (2012), a incorporação de óleos essenciais pode reduzir a tensão máxima e aumentar a deformação específica do filme polimérico. Isto ocorre devido às características plastificantes do óleo no filme que apresenta estrutura heterogênea descontínua.

A deformação específica de ruptura pode ser obtida através da Equação 2.

$$\varepsilon = \left( \frac{\delta}{L} \right) \quad (2)$$

Onde  $\delta$  é a deformação e  $L$  é o comprimento do mesmo.

O módulo de elasticidade é a relação entre a tensão máxima e a deformação específica (CANAVAROLO, 2004), conforme verificado na Equação 3.

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} \quad (3)$$

Carofiglio *et al.* (2017) desenvolveram um filme de PHB, com águas residuais da azeitona (OMW) e 10% (p/p) de glicerol, com o objetivo de melhorar as propriedades mecânicas. Foi realizado o teste da força de tração e do módulo elástico nas amostras de PHB sem glicerol, PHB / OMW (100/0), PHB / OMW (70/30) e PHB / OMW (60/40). Verificou-se que houve uma redução do módulo de tração devido ao efeito plastificante do glicerol e do OMWR. O módulo elástico também houve uma grande redução com todas as amostras contendo PHB/OWMR em comparação às amostras de PHB que não possuíam plastificantes em sua composição.

## 2.7 DEGRADAÇÃO DE POLÍMEROS

A degradação de polímeros pode está relacionada à formação de radicais macromoleculares, devido à ação de uma força motriz externa (temperatura, radiações, estresse mecânico e etc.) e às reações subsequentes de tais radicais com as macromoléculas de polímero e oxigênio. As espécies oxigenadas instáveis formadas evoluem para a formação de

macromoléculas estáveis com grupos oxigenados e originam uma mudança da estrutura molecular (MANTIA *et al.*, 2017). Dentre as degradações que podem ser causadas em polímeros, tem-se a degradação térmica e a degradação por radiação de alta energia.

### 2.7.1 Degradação Térmica

Esse tipo de degradação pode ser definido como o processo desencadeado no material polimérico quando é submetido à ação do calor em atmosfera inerte. Dependendo dos componentes das misturas e da estrutura química, os efeitos podem ser muito diferentes. No geral, os estresses térmicos resultam na formação de produtos de decomposição (termólise) que, dependendo dos componentes da mistura, suas quantidades relativas e a temperatura, podem iniciar a degradação da mistura ou atuar como estabilizadores (UTRACKI & MUKHOPADHYAY, 2014).

A instabilidade térmica do PHB é uma das maiores desvantagens desse polímero, pois a diminuição de sua massa molecular ocorre em 170°C (Tabela 1). Além disso, a temperatura de degradação é muito próxima da temperatura de fusão, refletindo assim, em dificuldades ao processar o PHB. Um modo de diminuir a sua temperatura de fusão é através de modificação química e/ou física na estrutura polimérica, adicionando-se outro polímero (MACHADO *et al.*, 2010; MALINOVÁ *et al.*, 2011; BROZEK, 2011).

**Tabela 1** - Degradação térmica do Poli (hidroxibutirato) nas temperaturas de 180°C, 200°C e 220°C.

Amostra	Aquecimento		Massa Molecular g/mol <sup>-1</sup>
	° C	Min	
Poli (hidroxibutirato)	180	10	97000
	200	10	29000
	220	10	4500

Fonte: Chodak (2008)

Jakic *et al.* (2016) estudaram a estabilidade térmica das misturas de PHB poli (3-hidroxi-butirato) / poli (óxido de etileno) (PHB / PEO) nas concentrações 100/0, 80/20, 60/40, 50/50, 40/60, 20/80, 0/100 respectivamente, através das análises de termogravimetria não isotérmica em uma atmosfera inerte. Verificaram que a degradação térmica das misturas de PHB/PEO ocorre em duas fases e que tem início à temperaturas mais baixas. Também observaram que ao adicionar o PEO essa degradação ocorre mais lentamente, o que poderia ser uma indicação do efeito desestabilizador do PEO no PHB. Em relação a análise cinética das misturas, indicou a degradação em três estágios e que o PEO apresentou maior valor de energia de ativação, comparado ao PHB, confirmando sua estabilidade térmica superior ao PHB.

Gonzalez *et al.* (2005) verificaram que na degradação térmica do PHB, a faixa de temperatura empregada reflete diretamente no rendimento térmico e na composição dos produtos. Ocorre a produção de água em uma faixa de temperatura entre 170 e 220°C, como consequência do ácido originalmente presente e da condensação da hidroxila. A pirólise do PHB entre 200 e 300°C ocorre a formação dos monômeros, dímeros ou trímeros. Para finalizar, também verificaram que a pirólise a 500°C, os principais produtos formados são propeno e dióxido de carbono, provavelmente devido à decomposição do ácido 2- butanoico.

### **2.7.2 Degradação por radiação de alta energia**

Todo tipo de radiação eletromagnética com energia quântica ou cinética maior que as energias de dissociação de ligações químicas, pode ser definida como radiação de alta energia. Essa energia é sempre mais alta que as ligações existentes em polímeros, logo a incidência desse tipo de radiação em uma matriz polimérica irá provocar algum tipo de reação química. Os principais exemplos de radiação de alta energia são: radiação- $\gamma$ , raio-X e feixes de elétrons e nêutrons (DE PAOLI, 2008).

Segundo Akter *et al.*(2012), a radiação gama, na dose de 5 kGy, aumenta a força de tensão do filme de quitosana, devido efeito de reticulação, porém essa propriedade diminui significativamente se houver uma exposição na dose de 25kGy, em razão a degradação da cadeia de quitosana. Ali & Abdel Ghaffar (2017) verificaram que há um aumento da estabilidade térmica do filme polimérico em 5kGy, isto é, devido a formação de uma estrutura reticulada, fazendo com que a taxa de decomposição térmica diminui, no entanto se essa energia for aumentada para 20kGy, a taxa de decomposição térmica terá um aumento significativo.

Santos *et al.* (2009) estudaram a esterilização por radiação gama filme de PHB com o aditivo E (antioxidante secundário). Verificaram que houve uma proteção de 82,6% e uma redução de 8,6 para 1,5 cisões/100 eV na faixa de 0 – 35 kGy, ocasionada pelo aditivo E. Além disso, o comportamento biodegradável de filmes de PHB foi mudado devido à radiação  $\gamma$ , em que esta proporcionou a degradação molecular, facilitando o ataque enzimático. Houve a cisão da cadeia principal do PHB, quando este foi exposto a radiação, resultando na perda de massa e na liberação de gases como monóxido e dióxido de carbono. Também foi observado que a radiação de 25 e 50 kGy não influenciou na biodegradação dos filmes e o aditivo E não influenciou na cristalinidade do PHB.

### 3 MATERIAIS E METODOS

#### 3.1 MATERIAIS

Para a elaboração dos filmes ativos foram utilizados o polímero poli-3-hidroxi-butirato-PHB em pó, doado pela PHB Industrial, o polietilenoglicol-PEG (Sigma-Aldrich) de massa molecular 6000 g/mol, o óleo essencial de alecrim (Solua Comercial Ltda) e o solvente clorofórmio P.A. (Vetec). Todos os reagentes utilizados foram doados para a realização dos experimentos.

#### 3.2 METODOLOGIA

##### 3.2.1 Preparação dos filmes poliméricos

Os filmes foram preparados através do método de evaporação de solvente (*solution casting*). Foram preparadas quatro composições de filmes, variando o percentual de óleo essencial de alecrim (0%, 5%, 10% e 15% m/m) e mantendo constante a proporção 90% de PHB e 10% de PEG. A determinação da composição dos filmes foi estabelecida em estudos preliminares, realizados pelo grupo de pesquisa. A composição dos filmes está apresentando na Tabela 2. A massa total de cada filme foi de 1,4 g.

**Tabela 2** - Composição dos filmes de poli-3-hidroxi-butirato (PHB) / polietilenoglicol (PEG) nas concentrações de 0%, 5%, 10% e 15% de óleo essencial de alecrim (OEA).

Filme	PHB(g)	PEG (g)	OEA (g)
PHB/PEG	1,260	0,140	0,000
PHB/PEG/5%OEA	1,197	0,133	0,070
PHB/PEG/10%OEA	1,134	0,126	0,140
PHB/PEG/15%OEA	1,071	0,119	0,210

Fonte: autora

Em um béquer, contendo o PHB previamente pesado foram adicionados 50 mL de clorofórmio e colocado sob agitação por 5 h à temperatura de 60°C em um frasco de vidro com

tampa, para evitar a evaporação do solvente. Após esse período deixou-se em repouso por 12 h. Em seguida, colocou-se o frasco novamente sob agitação por mais 4h à temperatura ambiente. Após esse período, filtrou-se a solução filmogênica, utilizando um funil de vidro e um pedaço de algodão, com o objetivo de remover o material que não foi dissolvido e adicionou-se o PEG e deixando por mais 1h em agitação. Depois desse tempo, essa solução foi vertida em placas de Petri que foram deixadas em repouso até completa evaporação do solvente, obtendo-se assim filmes de PHB/PEG. Para os filmes de PHB/PEG/OEA tem-se uma etapa a mais após a adição do PEG. Depois do período de 1 h, após a adição do PEG, adiciona-se o óleo essencial de alecrim com a massa desejada. Colocou novamente essa solução sob agitação por 15 min à temperatura ambiente. Após esse tempo, a solução é vertida sob a placa de Petri e deixada sob repouso à temperatura ambiente, até que ocorra a evaporação total do solvente

### **3.2.2 Esterilização Por Radiação Gama**

Do total de filmes preparados, 60 filmes foram irradiados com radiação gama a uma temperatura ambiente utilizando como fonte de radiação o cobalto-60 ( $^{60}\text{Co}$ ), na dose de radiação gama de 25 kGy, dosagem necessária para a esterilização dos materiais poliméricos. O equipamento utilizado foi da Marca Gammacell, modelo GC 220.

### **3.2.3 Espectroscopia de Infravermelho Médio**

Os espectros de infravermelho médio dos filmes com e sem exposição à radiação gama, e do óleo essencial de alecrim foram obtidos usando-se o espectrofotômetro de infravermelho de Transformada de Fourier (FTIR). O equipamento utilizado foi Spectrum 400 da marca Perkin Elmer, utilizando as técnicas de reflectância total atenuada horizontal (*Horizontal Attenuated Total Reflectance* -HATR); e reflectância atenuada universal (*Universal Attenuated Total Reflectance*-UATR) para o registro dos espectros dos filmes e do óleo essencial de alecrim, respectivamente. Os espectros foram registrados utilizando as seguintes condições: faixa espectral de 4000 a 650  $\text{cm}^{-1}$ , resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e 16 varreduras.

### 3.2.4 Propriedades térmicas

#### 3.2.4.1 Calorimetria Diferencial Exploratória

Para a obtenção das propriedades térmicas dos filmes foi utilizada a técnica de calorimetria exploratória diferencial (DSC). A partir desta técnica foram determinadas as temperaturas de cristalização ( $T_c$ ), transição vítrea ( $T_g$ ) e fusão ( $T_f$ ); o fluxo de calor associado ao material; calor específico ( $C_p$ ); calor de fusão ( $\Delta H_f$ ) e o calor de cristalização ( $\Delta H_c$ ).

As análises foram realizadas usando-se uma quantidade de massa variando de 3 a 5 mg para cada formulação de filme preparado. Para a realização da pesagem foram utilizados cadinhos de alumínio que após o processo de pesagem foram vedados para a realização das análises. As leituras das análises foram realizadas no calorímetro da Marca Mettler Toledo, modelo DSC 1STAR<sup>o</sup>SYSTEM. Para a realização da leitura de aquecimento e resfriamento no programa. Os testes foram realizados em três etapas:

- Primeira etapa: Aquecimento de 0–200°C.

A primeira subida de aquecimento foi com uma taxa de 30°C/min até atingir a temperatura de 200°C.

- Segunda etapa: Resfriamento de 200 - 0°C.
- Na descida a taxa utilizada foi de 10°C/min.

Terceira etapa: Aquecimento 0 – 200°C.

Com uma taxa de 10°C/min na subida e descida.

Os resultados obtidos nessa análise foram tratados através dos programas Software Integral e o *Sigma Plot*.

#### 3.2.4.2. Análise Termogravimétrica

A análise termogravimétrica consiste no acompanhamento da variação da massa de uma determinada amostra, que está diretamente ligada à temperatura/tempo, enquanto é submetida a

uma variação controlada de temperatura sob uma atmosfera especificada. As análises de massa foram realizadas para filmes de PHB/PEG aditivados com óleo essencial de alecrim nas concentrações de 0%,5%, 10% e 15% m/m, de acordo com a massa total, antes e após a irradiação dos filmes.

Os parâmetros controlados nessa análise são a taxa de aquecimento, atmosfera do forno e composição/massa da amostra. Para a realização dessa análise foram utilizado em média 2 a 4 mg das amostras e inseridas em uma termobalança DTG – 60 H da Marca SHIMADZU, a uma temperatura de 10°C/min, sob atmosfera do gás nitrogênio a uma faixa de temperatura a 50 – 600°C.

### **3.2.5 Atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim**

A técnica difusão em disco foi utilizada para avaliar a atividade antimicrobiana do óleo de alecrim frente as bactérias de *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* e *Staphylococcus aureus*. Para a realização dessa análise, inicialmente foi transferido, assepticamente, 0,1 mL da suspensão microbiana das bactérias, e colocado na placa de Petri contendo o meio de cultura agar nutritivo, na ordem de  $10^7$  UFC/mL, de acordo com a escala de turvação de McFarland. Os discos de papel de filtro foram imersos no óleo e transferidos assepticamente para a superfície do meio de cultura inoculado. Para cada micro-organismo, essa análise foi realizada oito vezes. As placas foram incubadas durante 24 horas a uma temperatura de 35°C.

Após esse período foi verificado se houve inibição do crescimento microbiano em torno dos discos de papel e medido os seus halos, com o auxílio de um paquímetro.

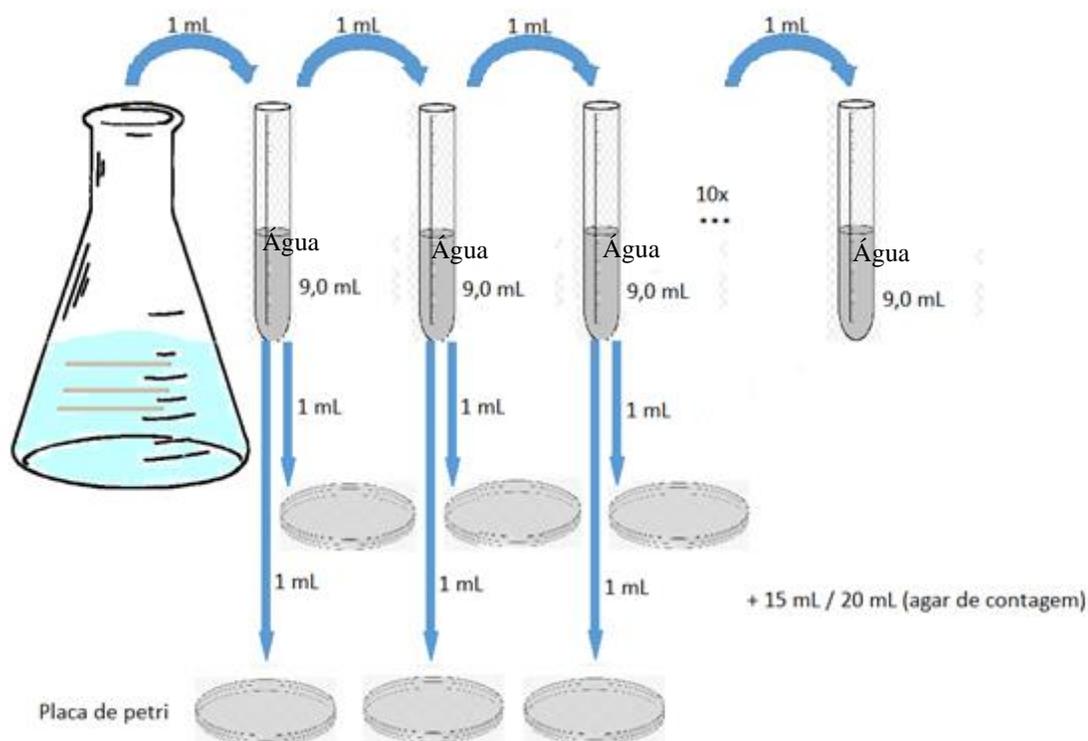
### **3.2.6 Atividade antimicrobiana do filme de PHB/PEG/OEA**

Essa análise foi realizada de acordo com a norma Japonesa JIS Z 2801:2000 adaptada. Foram utilizadas amostras de filmes de dimensão (5 x 5 cm<sup>2</sup>) para cada formulação de filme preparada. As amostras foram esterilizadas por radiação UV por 5 minutos cada lado. Após a esterilização, foi realizada a primeira etapa da análise que consiste em colocar cada amostra em uma placa de Petri e inocular com 0,4mL de suspensão microbiana de *Escherichia coli*. A amostra inoculada foi coberta com filme de polietileno, com mesma dimensão da amostra. As

placas contendo as amostras foram incubadas a uma temperatura de  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  durante o período de 24 h.

A segunda etapa da análise consistiu em colocar as amostras no Erlenmeyer contendo 30 mL de caldo nutriente, com a finalidade de recuperar as células microbianas. Foi retirado 1,0 mL desta suspensão e transferido para um tubo de ensaio contendo 9,0 mL de água salina (0,1%), passando por diluição dez vezes (Figura 4). As análises foram realizadas em triplicata para cada formulação de filmes.

**Figura 4** - Diluição seriada da suspensão microbiana.



Fonte: autora

Paralelamente pipetou-se 1 ml de cada diluição em duas placas petri e se adicionou entre 15 a 20 mL de agar de contagem na placa para que ocorra a solidificação do meio. Depois disso, a placa foi invertida e incubada a uma temperatura de  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 48h. Após este período foi verificado se houve o crescimento de colônias nos filmes de PHB/PEG e PHB/PEG/15%OEA.

### 3.2.7 Composição química do óleo essencial de alecrim

Para identificação da composição química do óleo essencial de alecrim foi utilizada a análise de cromatografia gasosa com espectrômetro de massa. O equipamento utilizado foi o Trace 1300 da Marca ThermoScientific. Para a realização dessa análise foi diluída 1mL da amostra em hexano (1:10). A coluna capilar utilizada foi a TGMS5 (30 m de comprimento × 0,250 mm de diâmetro interno × 0,25 µm de espessura). O programa de temperatura da coluna foi: 60°C (8 min) a 180°C à 3°C/min, 180-250°C à 10°C/min, 300°C (7 min). As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 270°C, o gás de arraste utilizado foi o hélio na pressão de 14Psi, em uma taxa de fluxo de entrada 1mL/min.

### 3.2.8 Propriedades mecânicas

Os ensaios mecânicos dos filmes expostos e não expostos à radiação gama foram realizados na máquina universal de ensaio modelo DL-500 MF da Marca EMIC. Os ensaios foram realizados seguindo a norma ASTM – D882, nas seguintes condições: corpo de prova de dimensão 2,5 x 7,5 cm<sup>2</sup>; temperatura ambiente (25°C); distância entre as garras de 4,0 cm; e velocidade de 5 mm/s. As propriedades mecânicas determinadas foram módulo de elasticidade, força de ruptura e deformação elástica.

### 3.2.9 Análise Estatística

As medições foram realizadas em triplicada para cada formulação de filme. Os resultados obtidos foram tratados através da análise de variância ANOVA, utilizando o programa *Statistica versão 7*. O teste de Duncan's foi utilizado para determinar se houve diferenças estatísticas no nível de 5% de significância.

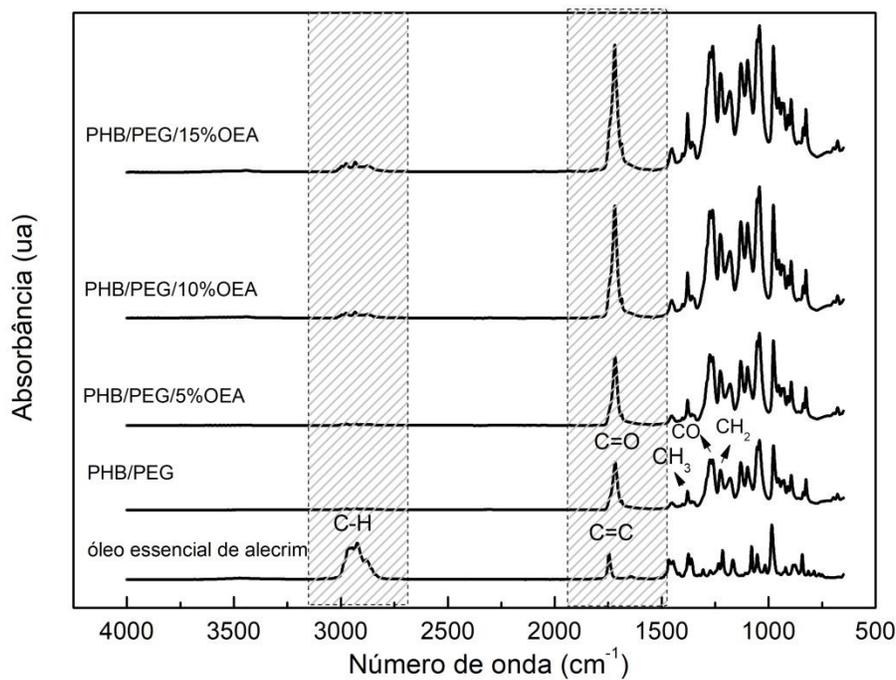
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ESPECTROS DE INFRAVERMELHO MÉDIO

Os espectros obtidos por infravermelho médio permitem identificar qualitativamente a presença de grupos funcionais devido as vibrações específicas das ligações químicas. Além da análise qualitativa, o espectro FTIR consegue realizar análise quantitativa, uma vez que as intensidades de absorção das bandas espectrais são proporcionais as concentrações dos compostos (SOUZA & POPPI, 2012).

A Figura 5 apresenta os espectros do infravermelho médio do óleo essencial de alecrim e dos filmes de PHB/PEG aditivados com óleo essencial de alecrim nas concentrações 0%, 5%, 10% e 15% m/m.

**Figura 5** - Espectros de infravermelho médio do óleo essencial de alecrim, do filme PHB/PEG e do filme PHB/PEG/OEA em diferentes composições.



Fonte: autora

Pela Figura 5 foi possível verificar as bandas características do PHB que podem ser visualizadas através dos seguintes picos máximos:  $1719\text{ cm}^{-1}$  (estiramento do C=O),  $1378\text{ cm}^{-1}$  (estiramento do  $\text{CH}_3$ ),  $1273\text{ cm}^{-1}$  (estiramento do C-O) e  $1227\text{ cm}^{-1}$  (deformação angular do  $\text{CH}_2$ ). O pico máximo de  $1719\text{ cm}^{-1}$  é referente a vibração do C=O presente no grupo éster do polímero. A banda presente na região  $1273\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída à fase cristalina do PHB (ARRIETA *et al.*, 2015; TANASE *et al.*, 2015). As bandas que se destacam no espectro do PHB puro podem estar diretamente relacionadas às fases amorfa e cristalina do polímero (HEITMANN *et al.*, 2016). Segundo Patil & Gaikwad (2011), o PEG apresenta bandas características com picos máximos em  $3425\text{ cm}^{-1}$ ,  $1109\text{ cm}^{-1}$  e a  $2889\text{ cm}^{-1}$ , que correspondem às vibrações de estiramento de O-H; estiramento C-O-C; e ao estiramento C-H, respectivamente. Os picos de PEG não foram identificados no espectro, devido a sua baixa concentração nas blendas poliméricas.

Ainda na Figura 5 é possível identificar as regiões do espectro referentes ao óleo de alecrim. As intensidades ilustradas correspondem à faixa de  $2990 - 2845\text{ cm}^{-1}$  (CH) e de  $1745\text{ cm}^{-1}$  (C=C). Boughendjioua & Boughendjioua (2017) encontraram o espectro do OEA nas regiões:  $3000-3250\text{ cm}^{-1}$ ;  $3150-3050\text{ cm}^{-1}$ ; e  $2000-1500\text{ cm}^{-1}$ , que correspondem ao estiramento do O-H do ácido carboxílico; estiramento C-H; e a deformação angular do C=C, respectivamente.

Na Figura 5, nas áreas hachuradas, foi possível verificar um aumento da intensidade do pico máximo nas regiões de  $2990 - 2845\text{ cm}^{-1}$  e  $1745\text{ cm}^{-1}$ . Esses picos podem ser atribuídos aos grupos C-H e C=C, característicos do óleo essencial de alecrim, mostrando assim um indicativo de que houve a incorporação do óleo no filme de PHB/PEG.

## 4.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO DE ALECRIM

A composição química do óleo de alecrim foi determinada por cromatografia gasosa. A identificação dos componentes foi baseada nos tempos de retenção e seus espectros de massa em comparação com um padrão. Os resultados estão apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3** - Composição química do óleo Essencial de Alecrim.

<b>Componentes</b>	<b>Composição (%)</b>
Eucalipto (1,8 Cineol)	46,66
$\alpha$ -Pino	16,93
1,7-Ácido octadecanóico	12,79
Bicyclo[2.2.1]heptano, 2,2-dimetil-3-metileno-, (1S)	4,66
Endo-Borneol	3,92
Cariofileno	3,9
o-cimeno	2,13
Acetato de borneol	1,16
$\alpha$ -mirceno	1,06
Outros compostos	6,79

Fonte: autora

Através da Tabela 3, verifica-se que o componente principal do óleo de alecrim é o eucalipto (46,66%), seguido pelo  $\alpha$ -Pino (16,93%) e 1,7 ácido octadecanóico (12,79%). Segundo Conde-Hernandez *et al.* (2017), a composição química do óleo de alecrim varia de acordo com a variedade do vegetal, país de origem, fatores climáticos, hora de colheita, entre outros fatores. Ozogulet *al.* (2017) encontraram 1,8 cineol com uma composição de 52,17%, cânfora (8,53%),  $\alpha$ -pino (12%), acetato de borneol (1,78%). Hciniet *al.* (2013) verificaram 9,23% em  $\alpha$ -pino, 5,48% em borneol, 33,08% em cânfora. Conde-Hernandez *et al.* (2017), relataram que os principais componentes no óleo essencial de alecrim foram o eucalipto (12,92%) e cânfora (18,21%).

### 4.3 PROPRIEDADES MECÂNICAS

Na Tabela 4 são mostrados os valores médios dos resultados dos ensaios mecânicos dos filmes de PHB/PEG e PHB/PEG/OEA não irradiados e irradiados. Foram analisadas as seguintes propriedades mecânicas: tensão máxima na ruptura, deformação específica e o módulo de elasticidade.

**Tabela 4** - Valores médios obtidos para as propriedades mecânicas tensão na ruptura, deformação específica e módulo de elasticidade dos filmes não irradiados e irradiados.

<b>Filmes não irradiados</b>	<b>Tensão Máxima (MPa)</b>	<b>Deformação Específica</b>	<b>Módulo de Elasticidade (MPa)</b>
PHB/PEG	38,58 ± 1,72 <sup>bA</sup>	3,87 ± 0,22 <sup>Ba</sup>	535,70 ± 29,52 <sup>aA</sup>
PHB/PEG - 5% OEA	36,35 ± 1,48 <sup>bA</sup>	3,92 ± 0,44 <sup>bA</sup>	461,10 ± 6,17 <sup>Aa</sup>
PHB/PEG - 10% OEA	44,05 ± 7,06 <sup>ab</sup>	4,77 ± 0,19 <sup>b</sup>	447,30 ± 22,30 <sup>a</sup>
PHB/PEG - 15% OEA	49,43 ± 3,04 <sup>a</sup>	8,89 ± 0,73 <sup>a</sup>	306,90 ± 35,08 <sup>b</sup>
<b>Filmes Irradiados</b>	<b>Tensão Máxima (MPa)</b>	<b>Deformação Específica</b>	<b>Módulo de Elasticidade (MPa)</b>
PHB/PEG	1,39 ± 0,45 <sup>bB</sup>	0,79 ± 0,17 <sup>aB</sup>	9,58 ± 41,16 <sup>Bb</sup>
PHB/PEG - 5% OEA	8,72 ± 0,45 <sup>aB</sup>	1,32 ± 0,17 <sup>aB</sup>	274,93 ± 41,16 <sup>aB</sup>

\*Os valores das colunas com diferentes letras, significam que são estatisticamente diferentes com  $p < 0,05$ .

Fonte : Autora

Os resultados obtidos para a tensão máxima, deformação específica e módulo de elasticidade dos filmes não irradiados mostraram que somente a incorporação de 15% m/m de OEA causa diferença estatísticas, com nível de significância de 5% pelo Teste de Duncan. Ou seja, a tensão máxima e a deformação específica aumentaram em 28,12%, 129,71%, respectivamente, enquanto o módulo de elasticidade reduziu 57,29%. O aumento na tensão máxima dos filmes contendo 15% de OEA pode ser justificado devido ao desenvolvimento de uma estrutura polimérica mais rígida, a qual necessita de uma maior força para rompê-la (BENAVIDES *et al.*, 2012). Já o aumento da deformação específica nos filmes de

PHB/PEG/OEA 15 % m/m quando se compara com a matriz PHB/PEG, mostra que houve possivelmente um efeito plastificante devido a incorporação do óleo essencial de alecrim na matriz polimérica (GHANBARZADEHA *et al.*, 2008; ABDOLLAHI *et al.*, 2012). E por último, a diminuição no valor do módulo de elasticidade dos filmes poliméricos caracteriza a redução da flexibilidade dos filmes de PHB/PEG quando adicionados de 15% de OEA.

Os resultados dos ensaios mecânicos para os filmes irradiados foram obtidos apenas para os filmes PHB/PEG e PHB/PEG/5%OEA, pois os demais filmes poliméricos contendo OEA (10 e 15% m/m) após a exposição à radiação gama tornaram-se muito quebradiços, impossibilitando os ensaios mecânicos dos mesmos.

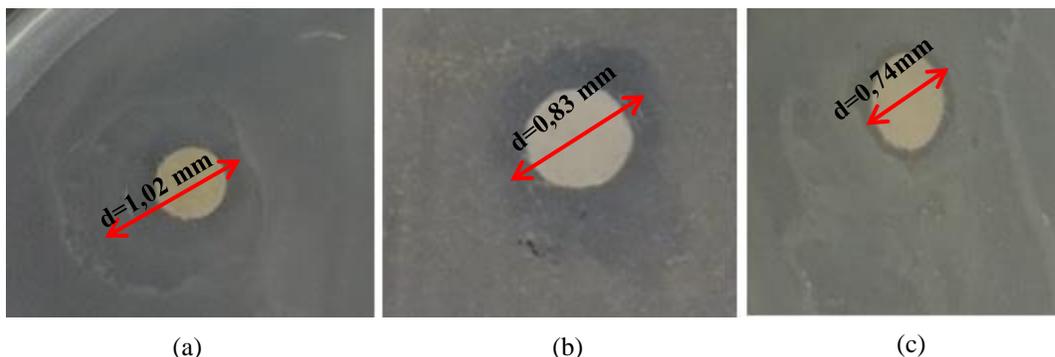
Comparando-se os valores das propriedades mecânicas dos filmes de PHB/PEG não irradiados com irradiados, verificou-se uma diminuição da tensão máxima, da deformação específica e do módulo elasticidade. Possivelmente a dosagem de 25kGy empregada provocou a degradação da matriz polimérica e em consequência a redução da resistência a tração dos filmes de PHB/PEG irradiados. O mesmo comportamento foi observado para os filmes poliméricos contendo 5% de OEA não irradiados e irradiados.

Já em relação ao efeito da presença de OEA nos filmes PHB/PEG irradiados, pode-se observar um aumento da tensão máxima e do módulo elasticidade justificados pela reação de reticulação nos filmes aditivados com 5% de OEA. Portanto, o filme de PHB/PEG/5%OEA irradiado se tornou mais resistente à tração e mais rígido quando comparado ao filme de PHB/PEG irradiado.

#### 4.4 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM

A análise microbiológica do óleo de alecrim foi avaliada após um período de incubação de 24 horas para as seguintes bactérias: *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus* e *Enterobacter aerogenes*. Na Figura 6, pode-se verificar que houve a formação do halo de inibição para as três bactérias avaliadas.

**Figura 6** - Teste de inibição microbiana em meio sólido (Ágar Nutritivo) do óleo essencial de alecrim para as bactérias: (a) *Escherichia Coli*; (b) *Staphylococcus aureus*; (c) *Enterobacter aerogenes*.



Fonte: Autora

O maior halo de inibição observado foi obtido no teste com a colônia da bactéria *Escherichia Coli* (Figura 6a), sendo o diâmetro do halo aproximadamente igual a 1,02 mm. Para o *Staphylococcus aureus* (Figura 6b) mediou-se um halo de inibição de 0,83 mm e para a colônia de *Enterobacter aerogenes* (Figura 6c) obteve-se um halo de inibição de 0,74 mm. De acordo com Pesavento *et al.* (2015), o óleo essencial de alecrim tem efeito bactericida para bactérias de gênero *Staphylococcus*. Silva *et al.* (2009) verificaram a ação antimicrobiana desse óleo para *E. coli*. O OEA tem maior efeito de inibição microbiana em menores concentrações para bactérias Gram negativas do que em Gram positiva, em função da presença de uma camada de peptidoglicano da parede celular menos espessa do que da bactéria gram positiva (PESAVENTO *et al.* 2015), efeito este, observado no presente estudo, uma vez que o maior halo de inibição foi obtido para *E. coli*, bactéria Gram negativa.

A atividade antimicrobiana de óleos essenciais é atribuída a sua alta hidrofobicidade, permitindo que eles atravessem as membranas bacterianas provocando perda de íons, redução potencial da membrana e perda de ATP (DI PASQUA *et al.*, 2006).

Segundo o Fernández-Lopez *et al.* (2005) e Skandamis & Nychas (2001), o efeito antimicrobiano do óleo de alecrim é devido a presença de 1.8 cineol e  $\alpha$ - pinene.

#### 4.5 TESTE DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA NO FILME PHB/PEG/OEA

Para o teste da atividade antimicrobiana foi utilizado o filme PHB/PEG e PHB/PEG/15%OEA não irradiado, pois esse último apresentou maior resistência à tração e efeito plastificante, desta forma, optou-se por realizar a atividade microbiana e comparar com o filme PHB/PEG sem óleo.

A atividade antimicrobiana dos filmes foi avaliada apenas para a *Escherichia coli*, em função dos melhores resultados encontrados para este micro-organismo no teste do halo de inibição realizado com o óleo de alecrim (Figura 8). Os resultados para contagem microbiológica do filme PHB/PEG e PHB/PEG 15% m/m estão apresentados na Tabela 5.

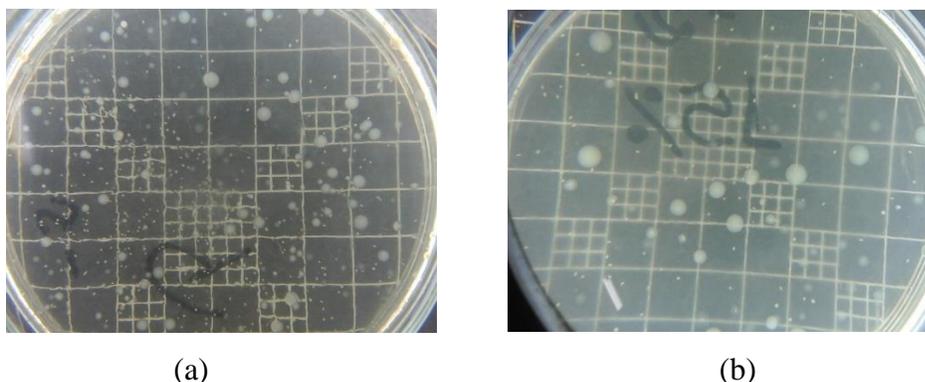
**Tabela 5** - Contagem bacteriana dos filmes de PHB/PEG com e sem óleo de alecrim não irradiado.

Filme	Colônias bacterianas (UFC/mL)
PHB/PEG	$2,31 \times 10^5$
PHB/PEG-15%OEA	$3,90 \times 10^4$

Fonte : Autora

Através da Tabela 5 pode-se observar que houve uma inibição de 83% do filme PHB/PEG aditivado com 15% m/m de óleo essencial de alecrim sobre a *Escherichia coli*. Segundo Burt (2004) e Zinoviadou *et al.* (2009), pelo fato dessa bactéria ser Gram negativa se torna menos resistente ao a efeito de óleos essenciais, pois a mesma possui uma parede celular hidrofílica, fazendo com que componentes hidrofóbicos não ultrapassem a parede celular. No entanto, Ojeda-Sana *et al.* (2013) e Ribeiro-Santos *et al.* (2017) verificaram a eficácia de inibição da *E. coli* pelo óleo em estudo, eles afirmaram que os componentes  $\alpha$ -pineno e 1,8 cineol (eucalipto) são os principais componentes responsáveis pelo efeito antibacteriano do OEA. A Figura 7 apresenta as unidades formadoras de colônia de *E. coli* nos filmes de PHB/PEG e PHB/PEG-15% OEA não irradiado.

**Figura 7** - Teste da atividade antimicrobiana: a) Filme de PHB/PEG; e b) Filme PHB/PEG-15% OEA.



Fonte: Autora

O efeito antibacteriano do óleo essencial de alecrim permaneceu, mesmo após incorporação no filme de PHB/PEG, comprovando assim a sua eficácia na inibição na bactéria em estudo (TORLAKA & DURMUS 2013).

#### 4.6 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

As propriedades térmicas dos filmes PHB/PEG e PHB/PEG aditivados com óleo essencial de alecrim nas concentrações de 5%, 10% e 15% foram avaliadas por calorimetria exploratória diferencial, através desses resultados é possível verificar o comportamento térmico do material.

Na Tabela 6 são mostrados os dados gerados a partir do DSC. O filme de PHB/PEG puro apresentou uma temperatura de fusão ( $T_m=167,8^\circ\text{C}$ ), o filme com 5% de OEA diminuiu a  $T_m$  do filme para  $164,34^\circ\text{C}$ . O filme com 10% de OEA obteve praticamente a mesma temperatura de fusão ( $T_m=168,78^\circ\text{C}$ ). Com 15% de OEA temperatura de fusão foi de  $162,9^\circ\text{C}$ . Os filmes analisados apresentaram uma diminuição do ponto de fusão com o aumento da quantidade percentual de OEA. A temperatura de fusão está próxima a temperatura de degradação do PHB de aproximadamente  $175^\circ\text{C}$ . A diminuição da  $T_m$  está relacionada o aumento da concentração do óleo essencial de alecrim (GIAQUINTO *et al.*, 2017; TONGNUANCHAN *et al.*, 2016). Exceto, com a aditivação com 10% m/m, esse comportamento pode ser atribuído a heterogeneidade da distribuição do óleo no filme.

**Tabela 6** - Resultados obtidos para a temperatura de fusão ( $T_m$ ), entalpia de fusão ( $\Delta H_m$ ) e grau de cristalinidade ( $X_m$ ) dos filmes não irradiados.

Filme – Não irradiados	$T_m(^{\circ}\text{C})$	$\Delta H_m(\text{kJ/kg})$	$X_m(\%)$
PHB/PEG	167,98	64,62	44,26
PHB/PEG/5%OEA	164,34	67,59	48,28
PHB/PEG/10%OEA	168,78	73,83	50,57
PHB/PEG/15%OEA	162,90	78,83	54,00

Fonte : Autora

A variação de entalpia aumentou com a incorporação do óleo essencial de alecrim, isso significa que o óleo aumentou o calor gerado. O aumento na concentração do óleo essencial de alecrim aumentou o crescimento de cristais e a recristalização devido a interação das cadeias poliméricas, diminuindo a sua mobilidade e permitindo o seu alinhamento, facilitando a formação de cristais. Esse mesmo comportamento foi observado por Giaquinto *et al.* (2017) no filme de PHB com adicionado a várias concentrações de óleo essencial de canola.

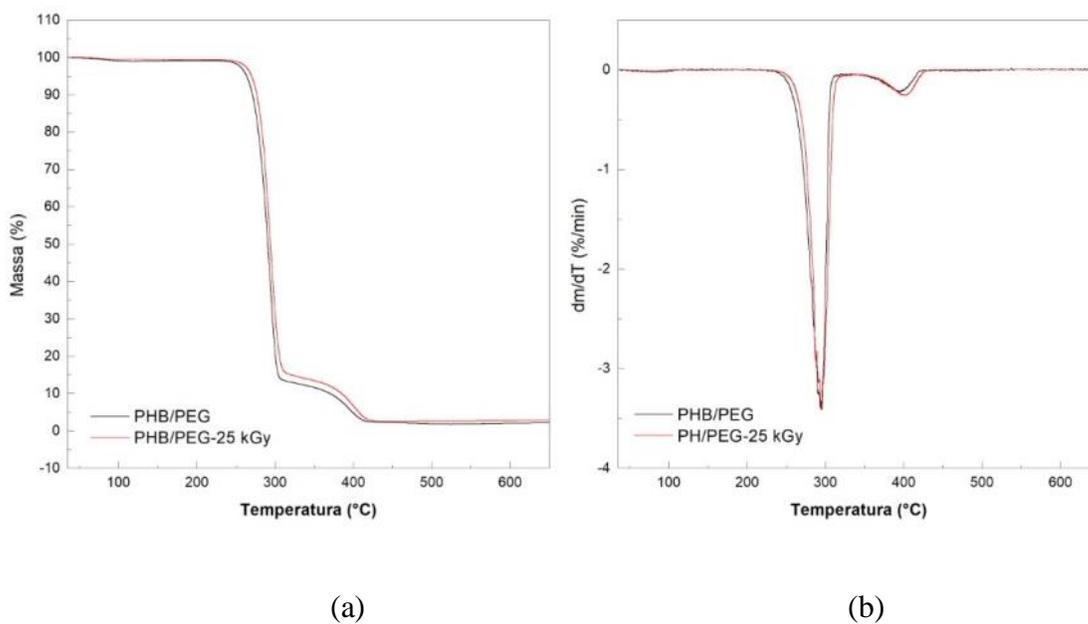
Os resultados das propriedades térmicas mostraram que o aumento do percentual em massa do óleo na blenda ocasionou diminuição da temperatura de fusão e um aumento na entalpia e no grau de cristalinidade dos filmes adicionados com o óleo essencial de alecrim.

#### 4.7 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

As análises de TGA foram realizadas nos filmes de PHB/PEG sem óleo essencial e nos filmes aditivados nas concentrações de 5%, 10% e 15%. A análise foi realizada com os filmes antes e após a irradiação gama de 25kGy.

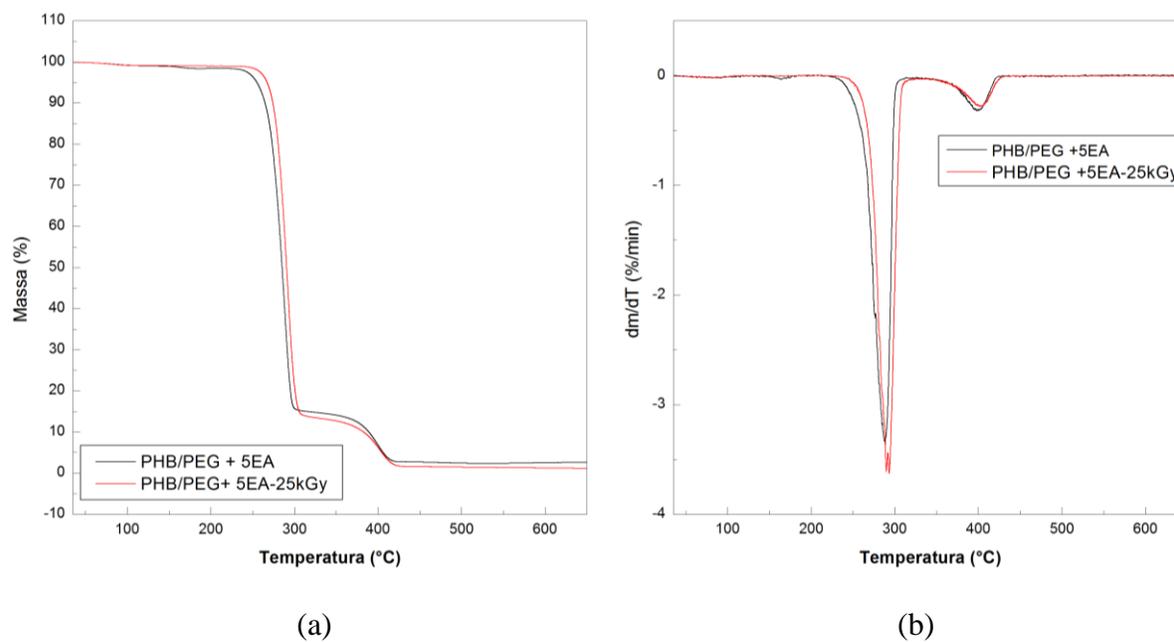
A Figura 8 (a) e (b), Figura 9 (a) e (b), Figura 10 (a) e (b) e a Figura 11 (a) e (b) ilustram a curva de decomposição térmica (TGA) e a derivada primeira (DTG), respectivamente, para os filmes de PHB/PEG sem óleo essencial, PHB/PEG +5% OEA, PHB/PEG +10% OEA e PHB/PEG +15% OEA, irradiado na dose de 25 kGy e não irradiado.

**Figura 8** - Curvas de TGA (a) e DTG (b) da amostra de PHB/PEG antes e após a irradiação gama



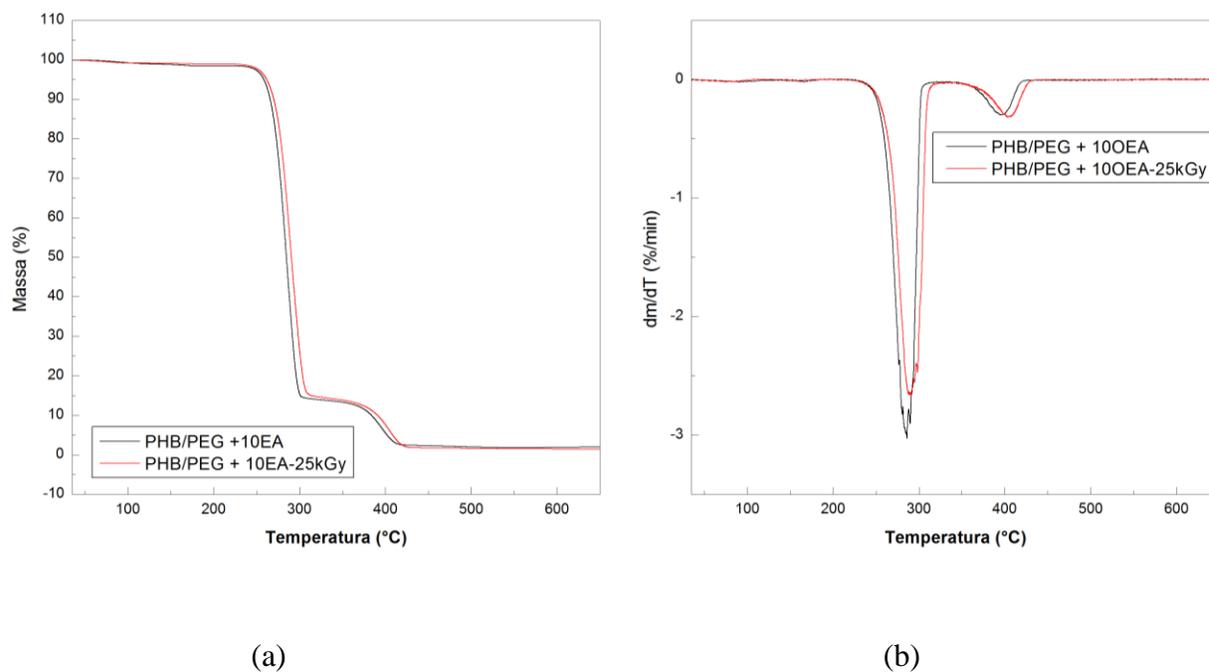
.Fonte: Autora

**Figura 9** - Curvas de TGA (a.) e DTG (b.) da amostra de PHB/PEG + 5%OEA antes e após a irradiação gama.



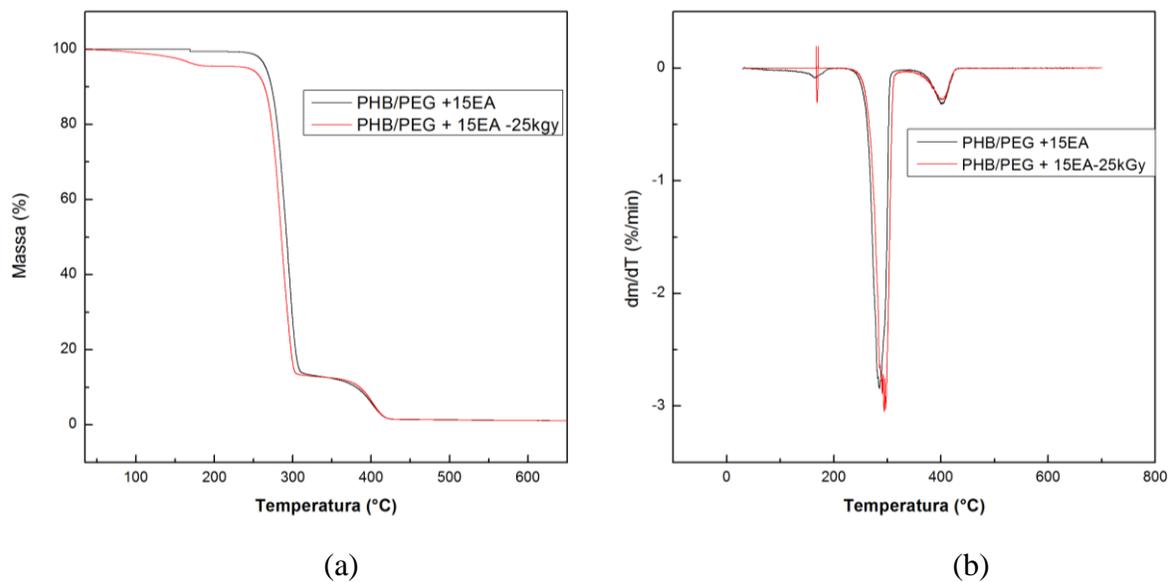
Fonte: Autora

**Figura 10** - Curvas de TGA (a.) e DTG (b.) da amostra de PHB/PEG + 10%OEA antes e após a irradiação gama.



Fonte: Autora

**Figura 11** - Curvas de TGA (a.) e DTG (b.) da amostra de PHB/PEG/+ 15%OEA antes e após a irradiação gama



Fonte: Autora

Os dados referentes a degradação térmica dos filmes PHB/PEG, PHB/PEG/5%OEA e PHB/PEG/10%OEA irradiados e não irradiados são ilustrados na Tabela 7. A degradação ocorreu em dois estágios. O primeiro estágio está relacionado à degradação térmica do PHB que ocorre na faixa de temperatura de 175°C (BLAZEK, 2012). Já, o segundo estágio corresponde a degradação térmica do PEG a qual ocorre em temperatura superior a 400°C (BLAZEK, 2012). Entretanto, para os filmes PHB/PEG/15%OEA a degradação térmica ocorreu em três estágios. O primeiro estágio foi relacionado a perda de água por evaporação. O segundo e terceiro estágio estão relacionados com a degradação térmica do PHB e PEG, respectivamente, como descrita anteriormente.

**Tabela 7** - Resultados obtidos para temperatura de degradação e a perda de massa para os filmes irradiados e não irradiados.

Amostras - Não irradiadas	1º estágio	Perda de Massa (%)	2º estágio	Perda de Massa (%)	3º estágio	Perda de Massa (%)
PHB/PEG	246 - 306°C	82,00	306 - 419°C	11,60	-	-
PHB/PEG + 5%OEA	234 - 308°C	82,00	308 - 420°C	12,67	-	-
PHB/PEG + 10%OEA	233 - 304°C	84,00	304 - 429°C	11,97	-	-
PHB/PEG + 15%OEA	86,22 - 235°C	0,08	235 - 303°C	79,73	307 - 424°C	13,78
Amostras - Irradiadas	1º estágio	Perda de Massa (%)	2º estágio	Perda de Massa (%)	3º estágio	Perda de Massa (%)
PHB/PEG - 25 kGy	256 - 314°C	84,00	314 - 424°C	13,04	-	-
PHB/PEG + 5%OEA - 25 kGy	244 - 308°C	83,00	308 - 423°C	12,34	-	-
PHB/PEG + 10%OEA - 25 kGy	233 - 311°C	84,15	311-429°C	11,81	-	-
PHB/PEG + 15%OEA - 25 kGy	86,22 - 242°C	5,00	242 - 310°C	81,00	310 - 424°C	12,42

A partir dos resultados encontrados na Tabela 7, foi possível observar que as temperaturas de degradação térmica do primeiro e do segundo estágio dos filmes PHB/PEG não irradiados diminuíram com o aumento da concentração do OEA. Possivelmente, a adição do OEA dos filmes de PHB/PEG enfraqueceu as interações entre as cadeias poliméricas e, desta forma, reduziu sua estabilidade térmica.

Comportamento semelhante foi identificado nos filmes de PHB/PEG irradiados em relação ao aumento da concentração do óleo essencial de alecrim.

Em relação ao efeito da irradiação nos filmes de PHB/PEG, foi verificado que nos filmes sem OEA e nos filmes contendo 5% de OEA, as temperaturas de degradação térmica do primeiro

e do segundo estágio foram superiores as temperaturas citadas para os filmes não irradiados. Portanto, a irradiação contribuiu para o aumento da estabilidade térmica dos filmes de PHB/PEG e do PHB/PEG + 5% OEA. Entretanto, nos filmes contendo 10 e 15% de OEA, a irradiação não alterou as temperaturas do primeiro e segundo estágio comparadas aos filmes não irradiados.

Em relação à perda de massa, também ilustrada na Tabela 7, pode-se observar que os filmes PHB/PEG sem óleo e nas concentrações de 5 e 10% m/m, não irradiados e irradiados, apresentaram maior perda de massa, mais que 80%, no primeiro estágio e no segundo mais que 11%. Já os filmes PHB/PEG/15%OEA, não irradiados e irradiados perderam no primeiro estágio 0,08% e 5% de massa, respectivamente. No segundo estágio, os filmes contendo 15% de OEA, não irradiados e irradiados, as perdas de massa foram de aproximadamente 80 e 81%, respectivamente. Em relação ao terceiro estágio as perdas de massa foram de aproximadamente 14 e 12%.

## 5 CONCLUSÕES

Diante da avaliação das propriedades térmicas, químicas, mecânicas e microbiológicas dos filmes PHB/PEG puro e aditivados com óleo essencial de alecrim, foi possível obter as seguintes conclusões:

- Por meio da análise de infravermelho foi possível verificar que houve incorporação do óleo essencial de alecrim no filme polimérico de PHB/PEG. As bandas espectrais do PHB/PEG apareceram em uma região de 1750 a 750 $\text{cm}^{-1}$ , estando de acordo com a literatura.
- A utilização da radiação gama na dose de 25 kGy nos filmes de PHB/PEG/OEA alteraram as propriedades mecânicas dos filmes, tornando-os mais quebradiços. Verificou-se uma diminuição na tensão máxima e no módulo elasticidade em comparação aos filmes não irradiados.
- Através da caracterização cromatográfica foi possível concluir que os principais componentes do óleo essencial de alecrim em estudo é o eucalipto (46,66%), seguido pelo  $\alpha$ -Pinene (16,93%) e 1,7 ácidooctadecanóico (12,79%);
- Em relação à atividade antimicrobiana, foi verificado que o óleo essencial de alecrim inibiu o crescimento microbiano para *Escherichia Coli* (o qual obteve o maior halo de inibição), *Staphylococcus aureus* e *Enterobacteraerogenes*. O filme de PHB/PEG aditivado com 15% de óleo de alecrim inibiu o crescimento da bactéria Gram negativa *Escherichia Coli*, mostrando um grande potencial para ser aplicada como embalagem antimicrobiana;
- Por meio da análise de DSC foi verificado a variação de entalpia aumentou com a incorporação do óleo essencial de alecrim, isso significa que o óleo aumentou o calor gerado, mostrando assim, que o filme de PHB/PEG aditivado com o óleo diminui o efeito plastificante do filme, aumentando o crescimento dos cristais. Além disso o filme apresentou maior cristalinidade com o aumento no percentual do OEA e houve uma diminuição da temperatura de fusão;

➤ O processo de degradação térmica ocorreu em dois estágios para os filmes PHB/PEG puro e aditivado com 5% e 10%. E para o filme de PHB/PEG aditivados de 15% m/m de óleo essencial de alecrim irradiados e não irradiados ocorreu em três estágios. Também foi possível verificar que o óleo essencial de alecrim interferiu nas interações entre as cadeias poliméricas, reduzindo a sua estabilidade térmica.

## REFERÊNCIAS

- ABDOLLAHZADEH, E.; REZAEI, M.; HOSSEINI, H. Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. **Food control**, v. 35, p. 177-183, 2014.
- ABDOLLAHI, M.; REZAEI, M.; FARZI, G.; A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. **Journal of Food Engineering**, v.111, p. 343–350, 2012.
- ADILAH, Z.A.M.; HANANI, Z.A.N. Active packaging of fish gelatin films with *Morindacitrifolia* oil. **Food Bioscience**, v. 16, p. 66–71, 2016.
- AHAB, A.; ROHMAN, F.; ISKANDAR, F.; HARYANTO, F.; ARIF, I. A simple straightforward thermal decomposition synthesis of PEGcovered Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub>@PEG) nanoparticles. **Advanced Powder Technology**, v. 27, p. 1800–1805, 2016.
- AKTER, N.; KHAN, R.A.; SALMIERI, S.; SHARMIN, N.; DUSSAULT, D.; LACROIX, M.; Fabrication and mechanical characterization of biodegradable and synthetic polymeric films: Effect of gamma radiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v.81, p. 995-998, 2012.
- ALI, B.; AL-WABEL, N.; SHAMS, S.; AHAMAD, A.; KHAN, S. A.; ANWAR, F. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, p. 601–611, 2015.
- ALI, H.E.; ABEL GHAFAR, A.M.; Preparation and Effect of Gamma Radiation on The Properties and Biodegradability of Poly (Styrene/Starch) Blends. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 130, p. 411-420, 2017.
- AL-NAAMANI, L.; DOBRETSOV, S.; DUTTA, J.; Chitosan-zinc oxide nanoparticle composite coating for active foodpackaging applications. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.38, p. 231–237, 2016.
- APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J.H.; Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 3, p. 113 – 126, 2002.
- ARFAT, Y. A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; SUMPAVAPOL, P.; SONGTIPYA, P.; Properties and antimicrobial activity of fish protein isolate/fish skin gelatin film containing basil leaf essential oil and zinc oxide nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, v.41, p. 265-273, 2014.
- ARRIETA, M.P.; LÓPEZ, J.; LÓPEZ, D.; KENNY, J.M.; PEPONI, L.; Development of flexible materials based on plasticized electrospun PLA–PHB blends: Structural, thermal, mechanical and disintegration properties. **European Polymer Journal**, v.73, p. 433- 446, 2014.

ARRIETA, M.P; LOPEZ, J.; LOPEZ, D.; KENNY, J.M.; PEPONI.L.; Biodegradable electrospun bionanocomposite fibers based on plasticized PLA-PHB blends reinforced with cellulose nanocrystals. **Industrial Crops and Products**, v. 93, p. 290–301, 2016.

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

AZEREDO, H. M. C.; FARIA, J. A. F.; AZEREDO, A. M. C. Embalagens ativas para alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, p.337-341, 2000.

BADI, N.; Review Non-linear PEG-based thermoresponsive polymer systems. **Progress in Polymer Science**, 2016.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–475, 2008.

BENAVIDES, S.; VILALOBOS, R.; REYES, J. E. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. **Journal of Food Engineering**, v. 110, p. 232-239, 2012.

BLAZEK, G. R.; HUI, W. S. **Estudo da Blenda Poli (3-Hidroxibutirato) / Poli (Etileno Glicol)**. Dissertação de Mestrado, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

BOHMERT, K.; BALBO, I.; STEINBUCHER, A.; TISCHENDORF, G.; WILLMITZER, L.; Constitutive expression of the -ketothiolase gene in transgenic plants. A major obstacle for obtaining polyhydroxybutyrate-producing plants. **Plant Physiol**, v.128, p.1282-1290, 2002.

BONILLA, J.; VARGAS, M.; ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Physical properties of chitosan-basil essential oil edible films as affected by oil content and homogenization conditions. **Procedia Food Science**, v.1, p.50 – 56, 2011.

BORGES, E.L.; NOBRE, P.C.; SILVA, M.S.S.; JACOB, R. G.; LENARDÃO, E.J. Eder; PERIN, G. PEG-400 as a recyclable solvent in the synthesis of  $\alpha$ -arylthio-  $\alpha$ , $\beta$ -unsaturated esters, ketone and aldehyde under base and catalyst-free conditions. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v.4, p. 2004–2007, 2016.

BOTRE, D.A.; SOARES, N.F.F.; GERALDINE, R.M.; PEREIRA, R.M.; FONTES, E.A.F. Avaliação de filme incorporado com óleo essencial de orégano para a conservação de pizza pronta. **Revista Ceres**, v.57, p. 238-291, 2010.

BOUGHENDJOUA, H.; BOUGHENDJOUA, Z. Fourier transformed infrared spectroscopy analysis of constituents of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil from Algeria. **International Journal of Herbal Medicine**, v.5, p.110-113, 2017.

BRITO, G.F.; AGRAWAL, P.; ARAÚJO, E.M., MÉLO, T.J.A; Biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 6, p. 127-139, 2011.

BUGNICOURT, E.; CINELLI, P.; LAZZERI, A.; ALVAREZ, V. Polyhydroxyalkanoate (PHA): Review of synthesis, characteristics, processing and potential applications in packaging. **Express Polymer Letters**, v.8, p.791–808, 2014.

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

CACCAMO, M.T.; MAGAZÚ, S. Tagging the oligomer-to-polymer crossover on EG and PEGs by infrared and Raman spectroscopies and by wavelet cross-correlation spectral analysis. **Vibrational Spectroscopy**, v.85, p.222–227, 2016.

CALO, J. R.; GRANDALL, P. G.; O'Bryan, C.; RICKE, S. C. Essential oils as antimicrobials in food systems e A review. **FoodControl**, v.54, p.111-119, 2015.

CANAVAROLO Jr., S. V.; Técnicas de Caracterização de Polímeros, Artliber: São Paulo, 2004.

CAROFILIO, V.E.; STUFANO, P.; CANCELLI, N.; BENEDICTIS, V.M.; CENTRONE, D.; BENEDETTO, E.; CATALDO, A.; SANNINO, A.; DEMITRI, C.; Novel PHB/Olive mill wastewater residue composite based film: Thermal, mechanical and degradation properties. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v.5, p. 6001-6007, 2017.

CASARIN, S.A.; AGNELLI, J.A.M.; MALMONGE, S. M; ROSÁRIO F. Blendas PHB/Copoliésteres biodegradáveis – biodegradação em solo. **Polímeros**, v.23, p.115-122, 2013.

CATONI, S.E.M.; GOMES, C.A.T; TRINDADE, K.N.S; SCHEIDER A.L.S; SOLDI, V.; PEZZINI A.P.T. Obtenção de blendas de PHB/PEG para matrizes de sistema micro e nanoestruturados visando aplicação em liberação controlada de fármacos. **19º Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciências dos Materiais**. Santa Catarina, p.138-143, 2010.

CAVALCANTE, M.P.; TOLETO, A.L.M.M.; RODRIGUES E.J.R.; NETO, R.P.C; TAVARES, M.I.B.; Correlation between traditional techniques and TD-NMR to determine the morphology of PHB/PCL blends. **Polymer Testing**, v.58, p.159- 165, 2017.

CHEN, Y.; PARK, Y.; NODA, I.; JUNG, Y. M. Influence of polyethylene glycol (PEG) chain length on the thermal behavior of spin-coated thin films of biodegradable poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate)/PEG blends. **Journal of Molecular Structure**, v.1124, p.159-163, 2016.

CHODAK, I. Polyhydroxyalkanoates: Origin, Properties and Application. **Elsevier**, p. 451-477, 2008.

COELHO, N. S.; ALMEIDA, Y. M. B.; VINHAS, G. M. A biodegradabilidade da blenda Poli( $\beta$ -hidroxibutirato-co-valerato)/amido anfótero na presença de microrganismo. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 18, p. 270-276, 2008.

CONDE-HERNANDEZ, L.A.; ESPINOSA – VICTORIA, J.R.; TREJO, A.; GUERRERO-BELTRÁN, J.A.; CO<sub>2</sub>-supercritical extraction, hydrodistillation and steam distillation of essential oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis*). **Journal of food engineering**, v.200, p.81-86, 2017.

DE AZEREDO, H. M. C.; FARIA, J. A. F. & DE AZEREDO, A. M. C. Embalagens ativas para alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, p.337-341, 2000.

DE PAOLI, M. A. Degradação e Estabilização de Polímeros. **Chemkeys**, 2ª versão on-line (revisada), 2008.

DICASTILLO, C. L.; BUSTOS, F.; GUARDA, A.; GALOTTO, M. J. Cross-linked methyl cellulose films with murta fruit extract for antioxidant and antimicrobial active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v.60, p.335-344, 2016.

DI PASQUA, R.; HOSKINS, N.; BETTS, G.; MAURIELLO, G.; **Changes in Membrane Fatty Acids Composition of Microbial Cells Induced by Addition of Thymol, Carvacrol, Limonene, Cinnamaldehyde, and Eugenol in the Growing Media.** *Journal Agricultural Food Chemistry*, v.54, p. 2745–2749, 2006.

DO, C.V; NGUYEN, T.T.T.; PARK, J.S.; Fabrication of polyethylene glycol/polyvinylidene fluoride core/shell nanofibers via melt electrospinning and their characteristics. **Solar Energy Materials & Solar Cells**, v.104, p.131–139, 2012.

DUAN, Y.; ZHANG, Y.; DONG, H.; ZHENG, X.; WANG, Y.; LI, H.; LIU, Q. ZHANG, J. Effect of dietary poly- $\beta$ -hydroxybutyrate (PHB) on growth performance, intestinal health status and body composition of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Fish & Shellfish Immunology**, v.60, p.520-528, 2017.

FABRA, M. J.; LÓPEZ-RUBIO, A.; AMBROSIO-MARTÍN, J.; LAGARON, J.M. Improving the barrier properties of thermoplastic corn starch-based films containing bacterial cellulose nanowhiskers by means of PHA electrospun coatings of interest in food packaging. **Food Hydrocolloids**, v.61, p. 261-268, 2016.

FANG, Z.; ZHAO, Y.; WARNER, R.D.; JOHNSON, S. K. Active and intelligent packaging in meat industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 61, p.60-71, 2017.

FABRIS, S.; FREIRE, M.T.A.; REYES, F. G. R. Embalagens plásticas: tipos de materiais, contaminação de alimentos e aspectos de legislação. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 19, p.059-070, 2006.

FARIA A. U.; FRANCHETTI, S. M. M.; Biodegradação de filmes de polipropileno (PP), Poli (3-hidroxibutirato) (PHB) e blendas de PP/PHB por microrganismos das águas do Rio Atibaia. **Polímeros**, v.20, p. 141 -147, 2010.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; ZHI, N.; ALESON-CARBONELL, L.; PEREZ-ALVAREZ, J. A.; KURI, V. Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. **Meat Science**, v.69, p.371-380, 2005.

FIGUEIREDO, T. V. B.; CAMPO, M. I.; SOUSA, L. S.; SILVA, J.R.; DRUZIANA, J. I. Produção e caracterização de polihidroxialcanoatos obtidos por fermentação da glicerina bruta residual do biodiesel. **Industrial Crops and Products**, v.93, p.290–301, 2014.

FOUDA, M.M.G; EL-AASSAR, M.R.; EL FAWAL, G.F.; HAFEZ, E. E. ; MARSY, S. H. D. M.; ABDEL-MEGEED, A.k-Carrageenan/poly vinyl pyrrolidone/polyethylene glycol/silvernanoparticles film for biomedical application. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.74,p.179–184, 2015.

GEBRU, K. A.; DAS, C.; Effects of solubility parameter differences among PEG, PVP and CA on the preparation of ultrafiltration membranes: Impacts of solvents and additives on morphology, permeability and fouling performances. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 25, p.911-923,2017.

GENNADIOS, A., BRANDENBURG, A. H., PARK, J.W., WELLER, C.L.,&TESTIN, R. F. Water vapor permeability of wheat gluten and soy protein isolate films. **Industrial Crops and Products**, v.2, p.189 – 195, 1994.

GHANBARZADEHA, B.; OROMIEHI, A.R.; Biodegradable biocomposite films based on whey protein and zein: Barrier, mechanical properties and AFM analysis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.43, p.209–215, 2008.

GHALIA, M. A; DAHMAN, Y. Investigating the effect of multi-functional chain extenders onPLA/PEG copolymer properties.**International Journal of Biological Macromolecules**,v.95, p.494–504, 2017.

GHASEMLOU, M.; ALIHEIDARI, N.; FAHMI, R.; SHOJAEE-ALIABADI, S.; KESHAVARZ, B.; CRAN, M.J.; KHAKSAR, R.; Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils. **Carbohydrate Polymers**,v.98, p.1117– 1126, 2013.

GIAQUINTO, C.;GIAQUINTO, C.D.M.; SOUZA, G. K. M.; CAETANO, V.F.;VINHAS, G. M.; Evaluation of the mechanical and thermal properties of PHB/canola oil films. **Polímeros**. V. 27, p.201-207, 2017

GOMEZ-ESTACA, J.; LOPEZ-DI-CASTILLO, C.;HERNANDEZ-MUNOZ, P.; CATALÁ, R.; GAVARA, R.; Advances in antioxidante active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 35, p.42-51, 2014.

GOONOO, N.; LUXIMON, A.B.; PASSANHA, P.; ESTEVES, S.; SCHONHERR, H.; JHURRY, D.; Biom mineralization potential and cellular response of PHB and PHBV blends with natural anionic polysaccharides. **Materials Science and Engineering**,v.76, p.13-24, 2017.

GONTARD, N. Active packaging. In: SOBRAL, P.J.A.; CHUZEL, G., eds. **Workshop sobre biopolímeros**. Pirassununga, FZEA, 1997. p. 23-27, 1997.

GONZÁLEZ, J. W.; YEGUERMAN, C.; MARCOVECCHIO, D.; DELRIEUX, C.; FERRERO, A.;BAND, B.F.; Evaluation of sublethal effects of polymer-based essential oils nanoformulation on the german cockroach. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.130, p.11–18, 2016.

GONZALEZ, A.; IRUSTA, L.; FERNÁNDEZ-BERRIDI, M. J.; IRIARTE, M.; IRUIN, J. J. Application of pyrolysis/gas chromatography/Fourier transform infrared spectroscopy and TGA

techniques in the study of thermal degradation of poly(3-hydroxybutyrate). **Polymer Degradation and Stability**, v. 87, p. 347-354, 2005.

HAN, J.H.; Antimicrobial packaging systems. Innovations in food packaging. **Food Science and Technology**, p.80 – 107, 2005.

HAN, C.V.; BHAT, R. In vitro control of food-borne pathogenic bacteria by essential oils and solvent extracts of underutilized flower buds of *Paeoniasuffruticosa* (Andr.) **Industrial Crops and Products**, v.54, p. 203–208, 2014.

HCINI, K.; SOTOMAYOR, J.A.; JORDAN, M.J.; BOUZID, S.; Chemical Composition of the Essential Oil of Rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) of Tunisian Origin. **Asian Journal of Chemistry**; v. 25, p. 2601-260, 2013.

HEITMANN, A. P.; PATRÍCIO, P. S.O.; COURA, I. R.; PEDROSO, E F.; SOUZA, P.P.; MANSUR, H.S.; MANSUR, A.; OLIVEIRA, L. C.A.; Nanostructured niobium oxyhydroxide dispersed Poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) films: Highly efficient photocatalysts for degradation methylene blue dye. **Applied Catalysis B: Environmental**, v.189, p.141–150, 2016.

HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M.; BERUMEN, C.M. P.; RUÍZ, H. S.; SALAZAR, C.V. R.; PAZ, J.F.H.; OLIVAS-ARMENDÁRIZ, I.; MARTEL-ESTRADA, S.A.; GONZÁLEZ, C.A. R. Polysuccinimide functionalized with oregano's essential oil extracts, na antimicrobial extended release bio-material. **Materials Letters**, v.191, p.73–76, 2017.

IULIANELLI, G. C. V; TAVARES, M. I.B.; AZEVEDO, R.S.; PAIXÃO, M.S.; Obtenção e caracterização de nanocompósitos PHB/Argila. In: **Congresso Brasileiro de Polímeros**, v.12, 2013.

JAKIC, M.; VRANDECIC, N. S.; ERCEG, M.; Thermal degradation of poly (3-hydroxybutyrate)/ poly(ethylene oxide) blends: Thermogravimetric and kinetic analysis. **European Polymer Journal**, v.81, p.376-385, 2016.

JALALI-HERAVI, M.; MOAZENI-POURASIL, R. S.; SEREHTI, H. Elimination of chromatographic and mass spectrometric problems in GC–MS analysis of Lavender essential oil by multivariate curve resolution techniques: Improving the peak purity assessment by variable size moving window-evolving factor analysis. **Journal of Chromatography B**, v.983–984, p. 83-80, 2015.

JARAMILLO, C.M.; GUTIÉRREZ, T.J.; GOYANES, S.; BERNAL, C.; FAMÁA, L; Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 150 – 159, 2016.

KO, P.T; LEE, I.C.; CHEN, M.C.; TSAI, S. W. Polymer microneedles fabricated from PCL and PCL/PEG blends for transdermal delivery of hydrophilic compounds. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v.51, p.1-8, 2015.

KOBAYASHI, M.; KOIDE, T.; HYON, S.H. Tribological characteristics of polyethylene glycol (PEG) as a lubricant for wear resistance of ultra-high-molecular-weight polyethylene (UHMWPE)

)in artificial knee join. **Journal of the mechanic Behavior of Biomedical material**,v.38, p.33-38, 2014.

KREPKER, M.; SHEMESH, R.; POLEG, Y.D.; KASHI, Y.; VAXMAN, A.; SEGAL, E.; Active food packaging films with synergistic antimicrobial activity.**FoodControl**, 2017.

MACHADO, M.L.C.; PEREIRA, N.C.; MIRANDA, L.F.; TERENCE, M.C.; Estudo das propriedades mecânicas e térmicas do polímero poli-3-hidroxi-butirato (PHB) /pó de madeira. **Polímeros**, v.20, p.65-71, 2010.

MAJID, I.; NAYIK, G. A. N.; DAR, S.M.; NANDA, V. Novel food packaging technologies: Innovations and future prospective. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, 2016.

MALINOVÁ, L; BROZEK, J. Mixtures poly((R)-3-hydroxybutyrate and poly(L-lactic acid) subject to DSC. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**,v. 103, p. 653-660, 2011.

MANTIA, F.P. L.; MORREALE, M.; BOTTA, L.; MISTRETTA, M.C.; CERAULO, M.; SCAFFARO, R.; Degradation of polymer blends: A brief review. **Polymer Degradation and Stability**, v.145,p.79-92, 2017.

MARTUCCI, J.F.; GENDE, L.B.; NEIRA, L.M.; RUSECKAITE,R.A.; Oregano and lavender essential oils as antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films. **Industrial Crops and Products**,v.71,p.205–213, 2015.

MANSO, S.; BECERRIL, R.; NERÍN, C.; GÓMEZ-LUS, R.; Influence of pH and temperature variations on vapor phase action of an antifungal food packaging against five mold strains. **Food Control**,v.47, p.20-26, 2015.

MCHUGH, T.H., &SENESE, E. Sorbitol vs Glycol – plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. **Journal of Agricultural and Food chemistry**, v.42, 841-845, 2000.

SHIMIZU, T.; UKAWA, M.; ANDO, H.; KURATA, Y.; ISHIDA, T.; Ganglioside inserted into PEGylated liposome attenuates anti-PEG immunity. **Journal of Controlled Release**, v.250, p.20–26, 2017.

MEIRA, S. M. M.; ZEHETMEYER, G.; WERNER, J. O.; BRANDELLI, A.; A novel active packaging material based on starch-halloysite nanocomposites incorporating antimicrobial peptides. **Food Hydrocolloids**, v.63, p.561 -570, 2017.

MOZUMDER, M. S. I.; GONZALEZ, L. G.; WEVER, H.; VOLCKE, E. I. P. Model-based process analysis of heterotrophic-autotrophic poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) production. **Biochemical Engineering Journal**,v. 114, p.202–208, 2016.

MULLA, M.; AHMED, J.; AL-ATTAR, H.; CASTRO-AGUIRRE, E.; ARFAT, Y.A.; AURAS, R. Antimicrobial efficacy of clove essential oil infused into chemically modified LLDPE film for chicken meat packaging. **Food Control**,v.73,p.663-671, 2017.

MURIEL-GALET, V.; CERISUELO, J. P.; LÓPEZ-CARBALLO, G.; LARA, M.; GAVARA, R.; HERNÁNDEZ-MUNOZ, P. Development of antimicrobial films for microbiological control of packaged salad. **International Journal of Food Microbiology**, v.157, p.195–201, 2012.

OGIWARA, Y.; ROMAN, M.; DECKER, E.; GODDARD, J. M. Iron chelating active packaging: Influence of competing ions and Ph value on effectiveness of soluble and immobilized hydroxamatechelators. **Food Chemistry**, v.196,p.842–847, 2016.

OJAH, S. M.; REZAEI, M.;RAZAVI, S. H.; HOSSEINI, S. M. H. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. **Food Chemistry**,v.122,p.161–166, 2010.OJEDA-SANA, A. M.; VAN BAREN, C. M.; ELECHOSA, M. A.; JUÁREZ, M. A.; MORENO, S.; New insights into antibacterial and antioxidant activities of rosemary essential oils and their main components.**Food Control**, v.31, p. 189–195, 2013.

OLIVEIRA, L.M.; OLIVEIRA, P.A.P.L.V.; Revisão: principais agentes antimicrobianos utilizados em embalagens plásticas. **Brazil Journal of Food Technology**, v.7, p.161 -165, 2004.

OTONI, C. G.; ESPITIA, P. J.P.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; MCHUGH, T.H.; Trends in antimicrobial food packaging systems: Emitting sachets and absorbent pads. **Food Research International**,v.83,p.60–73, 2016.

OZOGUL, Y.; YUVKA, I.; UCAR, Y.; DURMUS, M.; KOSKER, A.R.; OZ, M.; OZOGUL, F.; Evaluation of effects of nanoemulsion based on herb essential oils (rosemary, laurel, thyme and sage) on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during ice storage. **Food Science and Technology**, v.75, p. 677 – 684, 2017.

PACHEKOSKI, W.M.; DALMOLIN, C.; AGNELLI, J.A. M; Blendas Poliméricas Biodegradáveis de PHB e PLA para Fabricação de Filmes. **Polímeros**, v. 24, p. 501-507, 2014.

PARRA, D. F.; FUSARO, J.; GABOARDI, F.; ROSA, D. S.; Influence of poly (ethylene glycol) on the thermal, mechanical, morphological, physical-chemical and biodegradation properties of poly (3-hydroxybutyrate).**Science Direct**, v. 91, p.1954-1959, 2006.

PARRA, D.F.; ROSA, D.S.; REZENDE, J.; PONCE, P.; LUGÃO, A.B.; Biodegradation of  $\gamma$  irradiated poly-hydroxybutyrate (PHB) films blended with poly (ethyleneglycol).*Journal Polym Environ*, 2011.

PATIL, M. P.; GAIKWAD, N. J.Characterization of gliclazide-polyethylene glycol solid dispersion and its effect on dissolution.**Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.47, p. 161-166, 2011.

PAUL, E. L.; CAMPOS, T. F.; MANO, V.;Glicólise do poli (3-hidroxibutirato) por via enzimática. **Química Nova**, v. 37, p. 487-491, 2014.

PÉREZ-PÉREZ C. REGALADO-GONZÁLEZ C., RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ C. A., BARBOSA-RODRÍGUEZ J. R. & VILLASEÑOR-ORTEGA F. Incorporation of antimicrobial

agents in food packaging films and coatings. **Advances in Agricultural and Food Biotechnology**, p.193-216, 2006.

PESAVENTO, G.; CALONICO, C.; BIBLIA, A.R.; BARNABELI, M.; CALESINI, F.; ADDONA, R.; MENCARELLI, L.; CARMAGNINI, L.; MARTINO, M.C. D.; NOSTRO, A. L.; Antibacterial activity of Oregano, Rosmarinus and Thymus essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. **Food Control**, v.54, p.188-199, 2015.

PHB Industrial S.A.; **Biocycle – ciclo de vida**. Site, 2016. Disponível em <http://www.biocycle.com.br/site.htm>. Acesso em 03 Fevereiro, 2017.

PRAKASH, B.; KEDIA, A.; MISHRA, P.K.; DUBEY, N.K.; Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities e Potentials and challenges. **FoodControl**, v.47, p. 381-391, 2015.

QUENTAL, A.C.; CARVALHO, F.P.; TADA, E.S.; FELISBERTI, M.I.; Blendas de PHB e seus copolímeros: Miscibilidade e Compatibilidade. **Process Biochemistry**, v.49, p365-37, 2010.

RAI, M.; PARALIKAR, P.; JOGEE, P.; AGARKAR, G.; INGLE, A. P.; DERIT, M.; ZACCHINO, S. Synergistic antimicrobial potential of essential oils in combination with nanoparticles: Emerging trends and future perspectives. **International Journal of Pharmaceutics**, v.519, p.67–78, 2017.

RAO, T. R.; OMKARAM, I.; BRAHMAM, K. V.; RAJU, C.L.; Role of copper content on EPR, susceptibility and optical studies in poly(vinylalcohol) (PVA) complexed poly(ethyleneglycol) (PEG) polymer films. **Journal of Molecular Structure**, v.1036, p.94–101, 2013.

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

REALINI, C.E.; MARCOS, B. Active and intelligent packaging systems for a modern society. **Meat Science**, v.98, p.404-419, 2014.

RIZZOLO, A.; BIANCHI, G.; POVOLO, M.; MIGLIORI, C.A.; CONTARINI, G.; PELIZZOLA, V.; CATTANEO, T. M. P. Composição de compostos voláteis e atividade antioxidante de fatias de presunto cozidas embaladas em uma embalagem ativa baseada em própolis. **Embalagem de alimentos e prateleira**, v.8, p.41-49, 2016.

RIBEIRO – SANTOS, R.; ANDRADE, M.; MELO, N.R.M.; SANCHES-SILVA, A. Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. **Trends in Food Science & Technology**, v.61, p132-140, 2017.

RIBEIRO-SANTOS, R.; ANDRADRE, M.; MELO, N. R.; SANTOS, F. R.; NEVEZ, I. A.; CARVALHO, M. G.; SANCHES-SILVA, A.; Biological activities and major components determination in essential oils intended for a biodegradable food packaging. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p.201–210, 2017.

ROBERTS, M.J; BENTLEY, M.D.; HARRIS, J.M. Chemistry for peptide and protein PEGylation. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.64, p.116–127, 2012.

ROONEY, M. Reactive packaging materials for food preservation. In: **Proceedings of the First Japan-Australia Workshop on Food Processing**, p. 78-82, 1992.

SAINI, P.; ARORA, M.; KUMAR, M. N. V. Poly(lactic acid) blends in biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.107, p.47–59, 2016.

SANTOS, R. F. S.; ARAÚJO, E. S.; FERREIRA, C. R. C.; RIBEIRO, A. S. Radiolytic stabilization of poly(hydroxybutyrate). **Radiation Physics and Chemistry**, v. 78, p. 85-91, 2009.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; ALVES, R.V.; OLIVEIRA, L.M.; GOMES, T.C. **Embalagens com atmosfera modificada**. Campinas: CETEA/ITAL, p. 99 – 114, 1996.

SARIER, N.; ARAT, R.; MENCELOGLU, Y.; ONDER, E.; BOZ, E.C.; OGUZ, G. Production of PEG grafted PAN copolymers and their electrospun nanowebs as novel thermal energy storage materials. **Thermochimica Acta**, v.643 p.83–93, 2016.

SEYDIM, A.C.; SARIKUS, G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. **Food Research International**, v.39, p. 639 – 644, 2006.

SIGMA-ALDRICH, Site, 2016. Disponível em <<http://www.biocycle.com.br/site.htm>>. Acesso em Janeiro de 2017.

SILVA, L. F.; GOMEZ, J. G. C.; ROCHA, R. C. S.; TACIRO, M. K.; PRADELLA, J. G. C. Produção biotecnológica de poli-hidroxialcanoatos para geração de polímeros biodegradáveis no Brasil. **Química Nova**, v. 30, p. 1732-1743, 2007.

SILVA, M.T.N.; USHIMARU, P.I.; BARBOSA, L.N.; CUNHA, M.L.R.S.; JUNIOR, F.; Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas frente a linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, p.257-262, 2009.

SILVA, I. D. L. **DESENVOLVIMENTO DE FILME ATIVO ANTIMICROBIANO DE PHB/PEG INCORPORADO COM ÓLEO ESSENCIAL DE EUGENIA CARYOPHYLLATA**. Dissertação de Mestrado. UFPE, 2017.

SHIRAISHI, K.; KAWANO, K.; MAITANI, Y.; AOSHI, T.; ISHII, K. J.; SANDA, Y.; MOCHIZUKI, S.; SAKURAI, K.; YOKOYAMA, M.; Exploring the relationship between anti-PEG IgM behaviors and PEGylated nanoparticles and its significance for accelerated blood clearance. **Journal of Controlled Release**, v. 234, p.59–67, 2016.

SKANDAMIS, P. N.; NYCHAS, G. J. E. Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. **Journal of Applied Microbiology**, v.91, p.1011-1022, 2001.

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

SOUZA, G.K.M.; **Avaliação das propriedades da blenda de poli (3-Hidroxibutirato) (PHB)/Quitosana após processo de esterilização térmica ou radiolítica**. Dissertação de Mestrado. Recife, Pernambuco: Universidade Federal de Pernambuco, 2015, 93p.

SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte 1. **Química Nova**, v. 35, p. 223-229, 2012.

STIEVEN, A.C.; MOREIRA, J.J.; SILVA, C.F. Óleos essenciais de uvaia (*Eugenia piryformis* cambes): avaliação das atividades antimicrobiana e antioxidante. **Eclética Química**. v. 34, p.7 - 13, 2009.

SUPPAKUL, P.; Cinnamaldehyde and Eugenol: Use in Antimicrobial Packaging. **Antimicrobial Food Packaging**,p.479–490, 2016.

SUNG, S.Y.;SIN, L. T.; TEE, T.T.; BEE, S.T.; RAHMAT, A.R.; RAHMAN W.A.W.A.; TAN, A.C.; VIKHRAMAN, M. Antimicrobial agents for food packaging Applications. **Trends in Food Science & Technology**,v.33, p.110-123, 2013.

TANASE, E. E.; POPA, M. E.; RÂPA, M.; POPA, O.; PHB/Cellulose fibers based materials: physical, mechanical and barrier properties. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 6, p. 608-615, 2015.

TONGNUANCHAM, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; PISUCHPEN, S.; OSAKO, K.; Mechanical, thermal and heat sealing properties of fish skin gelatin film containing palm oil and basil essential oil with different surfactants. **Food Hydrocolloids**, v.56, p.93 – 107, 2016.

UTRACKI, L.;MUKHOPADHYAY, P.; GUPTA, R. K. Polymer blends: Introduction. **Polymer Handbook**.Netherlnds Springer, 2014.

VOJKOVSKY, T.; SULLIVAM, B.; SILL, K.N.; Synthesis of heterobifunctional polyethylene glycols: Polymerization from functional initiators. **Polymer**, v.105, p.72-78, 2016.

WEN, P.; ZHU, Ding-He; WU, H.; Zong, M-H.; JING, Y-R.; HAN, S-Y.; Encapsulation of cinnamon essential oil in electrospun nanofibrous film for active food packaging. **Food Control**, v.59, p. 366-376, 2016.

WYSOCZANSKA, K.; MACEDO, E.; Effect of molecular weight of polyethylene glycol on the partitioning of DNP-amino acids: PEG (4000, 6000) with sodium citrate at 298.15 K. **Fluid Phase Equilibria**, v.428, p.84-91, 2016.

WU, J.; GE, S.; LIU, H.; WANG, S.; CHEN, S.; WANG, J.; LI, J.; ZHANG, Q. Properties and antimicrobial activity of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin-chitosan films

incorporated with oregano essential oil for fish preservation. **Food packing and shelflife**,v.2, p.7 – 16, 2014.

ZAHNAN, H. E.D. M.; ABOU-TALEB, H. K.; ABDELGALEIL, S.A.M. Adulticidal, larvicidal and biochemical properties of essential oils against *Culex pipiens* L. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v.20,p.133–139, 2017.

ZHANG, P.; SUN, F.; LIU, S.; JIANG, S. Anti-PEG antibodies in the clinic: Current issues and beyond PEGylation. **Journal of Controlled Release**,v.244,p.184–193, 2016.

ZINOVIADOU, K. G.; KOUTSOUMANIS, K. P.; BILIADERIS, C. G., 2009. Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. **Meat Science**, v.82, p.338–345, 2016.