



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE MATERIAIS

Fabiana Thayse dos Santos Silva

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES ATIVOS DE AMIDO
DE ARARUTA ADITIVADOS COM ÓLEO ESSENCIAL DE *Thymus vulgaris***

Recife

2018

Fabiana Thayse dos Santos Silva

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES ATIVOS DE AMIDO
DE ARARUTA ADITIVADOS COM ÓLEO ESSENCIAL DE *Thymus vulgaris***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais do Centro de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade Federal de Pernambuco para a obtenção do título de mestre em Ciência de Materiais.

Área de concentração: Materiais poliméricos.

Orientadora: Profa. Dra. Glória Maria Vinhas

Co-orientador: Prof. Dr. Fernando Hallwass

Recife

2018

Catálogo na fonte
Bibliotecária Arabelly Ascoli CRB4-2068

S586d Silva, Fabiana Thayse dos Santos
Desenvolvimento e caracterização de biofilmes ativos de amido de araruta aditivados com óleo essencial de *Thymus vulgaris* / Fabiana Thayse dos Santos Silva. – 2018.
72 f.: il., fig., tab.

Orientadora: Glória Maria Vinhas
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Ciência de Materiais. Recife, 2018.
Inclui referências e apêndices.

1. Materiais poliméricos. 2. Embalagem ativa. 3. Amido de araruta. 4. Óleo essencial de tomilho. I. Vinhas, Glória Maria (orientadora). II. Título.

547.7

CDD (22. ed.)

UFPE-FQ 2019-52

Fabiana Thayse dos Santos Silva

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES ATIVOS DE AMIDO
DE ARARUTA ADITIVADOS COM ÓLEO ESSENCIAL DE *Thymus vulgaris***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais do Centro de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade Federal de Pernambuco para a obtenção do título de mestre em Ciência de Materiais.

Área de concentração: Materiais poliméricos.

Data de aprovação: 15 / 08 / 2019

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Glória Maria Vinhas
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE
(Orientadora)

Profa. Dra. Yêda Medeiros Bastos de Almeida
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE
(Examinador interno)

Profa. Dra. Viviane Fonseca Caetano
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE (Examinador externo)

*Aos Meus Pais José Mário da Silva e
Marileide dos Santos Silvas por todo
apoio, incentivo, cuidado e amor
durante minha jornada acadêmica*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sua infinita graça e amor, o único que é merecedor de toda honra e de toda glória para todo o sempre.

A minha mãe Marileide dos Santos e meu pai José Mário, pelo apoio e incentivo em cada fase da minha vida, e a meu irmão Fábio Júlio companheiro em todos momentos, que sempre me apoiou e me auxiliou durante cada fase de minha vida acadêmica.

A meu namorado Tiago Santos pela paciência, carinho e atenção durante todos esses anos.

Aos amigos Eliada Andrade e Filipe Guedes, por sempre terem uma palavra de apoio e de ânimo, mesmo que nos momentos mais difíceis.

À toda minha família, que se alegra sempre com cada conquista, sempre me encorajando a seguir em frente.

A minha orientadora Prof^a Glória pela paciência e por todos os conhecimentos compartilhados durante todo esse período.

Ao amigo Paulo Victor, pelas vivências e conhecimentos que pudemos compartilhar durante esse processo.

Aos amigos Michelle Félix, Ivo Diego e Sônia Garcia, pertencentes ao Laboratório de Materiais Poliméricos, que sempre se mostraram dispostos a ensinar, contribuindo de forma direta para realização dessa conquista.

A Ceça e Giselle pela ajuda e conhecimentos compartilhados, no decorrer das análises realizadas no laboratório de microbiologia

Ao Departamento de Química Fundamental (DQF) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) que contribuiu com a realização da análise de cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC-MS).

Ao Laboratório de Polímeros e Nanoestruturas (LPN) do Departamento de Engenharia Nuclear (DEN) onde foi realizado a análise de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

Ao Instituto Federal de Tecnologia de Pernambuco (ITEP) onde foi realizada a difratometria de difração de raios-X (DRX).

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco pela minha formação.

*“Porque dele, e por meio dele, e para ele, são
todas as coisas. A ele seja a glória para
sempre. Amém!”.*

(BÍBLIA, Romanos 11,36)

RESUMO

A preocupação com a conservação de alimentos vem crescendo, dessa forma, estudos e desenvolvimento de novas tecnologias, que auxiliem nesse processo de durabilidade e estabilidade dos alimentos, vêm sendo realizados, dentre esses, podem ser citadas as embalagens ativas. Essas embalagens interagem com o alimento prolongando seu tempo de vida útil, dentre os diversos tipos de embalagens tem-se a embalagem ativa antimicrobiana. Nessa embalagem é adicionado à matriz polimérica um composto que possua ativos antimicrobianos. Esses aditivos, que podem ser de origem sintética ou natural, migram do filme para o alimento, inibindo crescimento de micro-organismos que possam causar a deterioração desse alimento. Visando um maior cuidado com a saúde do consumidor, têm-se substituído os aditivos sintéticos por agentes naturais. Os óleos essenciais têm sido utilizados como aditivos naturais em embalagens ativas, visto que possuem uma extensa variedade de agentes antimicrobianos em sua composição. O óleo essencial de tomilho, tem grande destaque, por possuir atividade antimicrobiana, conhecida e bastante elevada. Assim, foram desenvolvidos neste trabalho, biofilmes à base de amido de araruta aditivados com óleo essencial de tomilho como promissora aplicação como embalagem antimicrobiana. Para o óleo essencial de tomilho foi avaliada a sua atividade antimicrobiana por meio da análise de difusão em meio sólido, e sua composição por meio de Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas (GC-MS) e por Espectroscopia de Infravermelho (FTIR). Os filmes formulados foram analisados por meio de Difractometria de Raios-X (DRX), ensaio de tração, análises térmicas, permeabilidade ao vapor de água e a atividade antimicrobiana *in situ* do filme aditivado com óleo essencial. Por meio de GC-MS, foi observada a presença dos compostos ativos, cimeno, carvacrol e timol no óleo essencial de tomilho. O potencial antimicrobiano do óleo foi estudado por teste de difusão em meio sólido, utilizando-se as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, ambas bactérias foram sensíveis ao óleo essencial de tomilho, apresentando halos de 50,2mm e 49,7mm para *E. coli* e 92,7mm e 79,8mm para *S. aureus*. Através de análises de DRX foi observado que a adição de óleo diminuiu o grau de cristalinidade em menos de 2% nos filmes poliméricos, variação pequena, já que filmes de amidos são amorfos. Através da análise termogravimétrica (TGA) pode-se observar que a adição de óleo essencial tornou os filmes mais resistentes a temperatura, sem afetar a temperatura de degradação do amido, por meio da calorimetria diferencial exploratória (DSC) a adição de óleo não alterou significativamente a temperatura de fusão e a entalpia dos filmes formulados. A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi afetada com adição do óleo essencial apenas para o filme com 5% de óleo essencial de tomilho. Os filmes aditivados se tornaram mais flexíveis, o que foi observado por meio do ensaio de tração. No teste da atividade antimicrobiana *in situ* do filme, esse se mostrou ativo para a bactéria *E. coli*. Dessa forma, os filmes formulados apresentam grande potencialidade para serem utilizados como embalagem ativa antimicrobiana.

Palavras-chave: Embalagem ativa. Amido de araruta. Óleo essencial de tomilho.

ABSTRACT

Concern with food conservation has been growing, thus, studies and development of new technologies, which help in this process of food durability and stability, have been carried out, among which, active packaging can be cited. These packages interact with the food extending its shelf life, among the various types of packaging is the active antimicrobial packaging. In this package is added to the polymeric matrix a compound that has antimicrobial actives. These additives, which may be of synthetic or natural origin, migrate from film to food, inhibiting growth of microorganisms that may cause spoilage of that food. Aiming at greater attention to consumer health, synthetic additives have been replaced by natural agents. Essential oils have been used as natural additives in active packaging as they have a wide variety of antimicrobial agents in their composition. Thyme essential oil is very prominent because it has known and very high antimicrobial activity. Thus, were developed in this work, arrowroot starch biofilms added with thyme essential oil as promising application as antimicrobial packaging. For the thyme essential oil, its antimicrobial activity was evaluated by solid medium diffusion analysis and its composition by Mass Spectrometer Gas Chromatography (GC-MS) and Infrared Spectroscopy (FTIR). The formulated films were analyzed by X-ray Diffraction (XRD), tensile test, thermal analysis, water vapor permeability and in situ antimicrobial activity of the essential oil additive film. GC-MS showed the presence of the active compounds cimen, carvacrol and thymol in the thyme essential oil. The antimicrobial potential of the oil was studied by solid medium diffusion test, using the bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, both bacteria were sensitive to thyme essential oil, presenting halos of 50.2mm and 49.7mm for *E. coli*. and 92.7mm and 79.8mm for *S. aureus*. Through XRD analysis it was observed that the addition of oil decreased the degree of crystallinity by less than 2% in polymeric films, small variation, since starch films are amorphous. Through thermogravimetric analysis (TGA) it can be observed that the addition of essential oil made the films more temperature resistant, without affecting the starch degradation temperature, through the exploratory differential calorimetry (DSC) the oil addition did not change significantly. the melting temperature and enthalpy of the formulated films. Water vapor permeability (PVA) was affected with the addition of essential oil only for the 5% thyme essential oil film. The additive films became more flexible, which was observed through the tensile test. In the in situ test of antimicrobial activity of the film, it was active for *E. coli* bacteria. Thus, the formulated films have great potential to be used as active antimicrobial packaging.

Keywords: Active packaging. Starch of arrowroot. Thyme essential oil

Lista de Figuras

Figura 1 –	Funcionamento de Embalagens Ativas	16
Figura 2 –	Tomilho (<i>Thymus vulgaris</i>)	21
Figura 3 –	Estrutura Química Timol (a) Carvacrol (b) Cimenol (c)	22
Figura 4 –	Estrutura química da amilose (a) e amilopectina (b)	24
Figura 5 –	Plantação de Araruta e Rizomas	28
Figura 6 –	Preparo do Filme sob agitação em Banho-maria:	32
Figura 7 –	Teste de Permeabilidade ao Vapor de Água.....	36
Figura 8 –	Equipamento de Ensaio de Tração EMIC	38
Figura 9 –	Armazenamento das amostras de queijo.....	39
Figura 10 –	Espectro de Infravermelho do Óleo Essencial de Tomilho	41
Figura 11 –	Teste de inibição microbiana Óleo Essencial de Tomilho. (a e b) Escherichia coli (c e d) Staphylococcus aureus	43
Figura 12 –	Biofilmes formulados, (a)AP: Biofilme de Amido Puro, (b) A01: Biofilme de Amido /1% OET, (c)A02: Biofilme de Amido / 2,5% OET, (d) A05: Biofilme de Amido /5% de OET	45
Figura 13 –	Difratograma dos biofilmes de amido AP: Biofilme de Amido Puro, A01: Biofilme de Amido /1% OET, A02: Biofilme de Amido / 2,5% OET, A05: Biofilme de Amido /5% de OET	46
Figura 14 –	Termograma dos filmes de AP e dos filmes aditivados com 1, 2,5% e 5% (m/m) de óleo essencial de tomilho. (a) Curvas de TGA (b) Curvas derivadas da TGA (DTG).	50
Figura 15 –	Gráficos de DSC dos Biofilmes Formulados AP: Biofilme de Amido Puro, A01: Biofilme de Amido /1% OET, A02: Biofilme de Amido / 2,5% OET, A05: Biofilme de Amido /5% de OET	51
Figura 16 –	Amostras de Queijo Muçarela analisadas no Teste de Atividade Antimicrobiana in situ.....	54
Figura 17 –	Atividade Antimicrobiana do Biofilme de Amido Aditivado com 5% de OET	55

Lista de Tabelas

Tabela 1 –	Proporções dos Biofilmes	32
Tabela 2 –	Composição química do OET obtida por GC-MS	40
Tabela 3 –	Bandas Vibracionais Características do Timol, Carvacrol e Cimenó	42
Tabela 4 –	Espessura dos Biofilmes Formulados.....	45
Tabela 5 –	Valores de Permeabilidade ao Vapor de Água dos Biofilmes de Amido	48
Tabela 6 –	Estágios de Perda de Massa dos Filmes	49
Tabela 7 –	Parâmetros Térmicos dos Biofilmes	52
Tabela 8 –	Médias dos parâmetros mecânicos dos filmes de AP aditivados com óleo essencial de tomilho..	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A01	Biofilme de Amido de Araruta + Glicerol + 1% de Óleo Essencial de Tomilho
A02	Biofilme de Amido de Araruta + Glicerol + 2,5% de Óleo Essencial de Tomilho
A05	Biofilme de Amido de Araruta + Glicerol + 5% de Óleo Essencial de Tomilho
AA	Amido de Araruta
AP	Biofilme de Amido de Araruta + Glicerol
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
CSLI	<i>Manual Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
DEN	Departamento de Energia Nuclear
DRX	Difratometria de Raios-X
DSC	Calorimetria Diferencial Exploratória
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
GC-MS	Cromatografia Gasosa Acoplada com Espectrometria de Massas
ITEP	Instituto de Tecnologia de Pernambuco
LPN	Laboratório de Polímeros e Nanoestruturas
OE	Óleo Essencial
OET	Óleo Essencial de Tomilho
PVA	Permeabilidade ao Vapor de Água
TGA	Análise Termogravimétrica
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UR	Umidade Relativa

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
2.1	EMBALAGENS ATIVAS.....	16
2.2	ÓLEOS ESSENCIAIS.....	18
2.2.1	Óleo Essencial de Tomilho.....	20
2.3	AMIDO	23
2.3.1	Gelatinização e Retrogradação do Amido	25
2.4	ARARUTA	27
2.5	BIOFILMES DE AMIDO	29
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
3.1	MATERIAIS.....	31
3.2	MÉTODOS	31
3.2.1	Preparação dos filmes poliméricos.....	31
3.3	CARACTERIZAÇÕES	33
3.3.1	Caracterização do Óleo Essencial de Tomilho	33
3.3.1.1	<i>Cromatografia Gasosa Acoplada com Espectrometria de Massas (GC-MS)</i>	33
3.3.1.2	<i>Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i>	33
3.3.1.3	<i>Avaliação da atividade antimicrobiana pelo método do disco-difusão em Ágar</i>	34
3.3.2	Caracterização dos Biofilmes	34
3.3.2.1	<i>Aspectos Visuais e Espessura</i>	34
3.3.2.2	<i>Difratometria de Raios-X (DRX)</i>	34
3.3.2.3	<i>Permeabilidade ao vapor de água (PVA)</i>	35
3.3.3	Avaliação dos parâmetros térmicos dos biofilmes.....	36
3.3.3.1	<i>Análise Termogravimétrica (TGA)</i>	36
3.3.3.2	<i>Calorimetria diferencial exploratória (DSC)</i>	37
3.3.4	Avaliação dos parâmetros mecânicos dos biofilmes	37
3.3.4.1	<i>Ensaio de Tração</i>	37
3.3.5	Análise da atividade antimicrobiana do biofilme de amido com óleo essencial de tomilho	38
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1	CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO	40
4.1.1	Cromatografia Gasosa Acoplada com Espectrometria de Massas (GC- MS).....	40
4.1.2	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	41
4.1.3	Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de tomilho.....	42

4.2	CARACTERIZAÇÃO DOS BIOFILMES DE AMIDO.....	44
4.2.1	Espessura e Aspectos Visuais	44
4.2.2	Difratometria de Raios-X (DRX)	46
4.3.3	Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	47
4.4	AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS TÉRMICOS DOS BIOFILMES DE AMIDO 49	
4.4.1	Análise Termogravimétrica (TGA)	49
4.4.2	Calorimetria diferencial exploratória (DSC)	51
4.5	AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS MECÂNICOS DOS FILMES BIOFILMES DE AMIDO.....	53
4.5.1	Ensaio de Tração	53
4.6	ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO BIOFILME DE AMIDO	54
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	57
	REFERÊNCIAS	59
	APÊNDICE A – CROMATOGRAMA DE GC-MS DO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO	69
	APÊNDICE B – ESPECTRO DE MASSA DO CIMENO	70
	APÊNDICE C – ESPECTRO DE MASSA DO TIMOL.....	71
	APÊNDICE D – ESPECTRO DE MASSAS CARVACROL	72

1 INTRODUÇÃO

A conservação dos alimentos se mostra como uma das grandes preocupações da humanidade ao longo dos tempos, visto que os alimentos devem permanecer intactos e ausentes de contaminação e deterioração até o momento em que seja consumido. Nesse contexto, foram criadas embalagens, que visam proteger o alimento dos agentes externos, prolongando, assim, a sua vida útil (SOUSA et al., 2012).

Com o passar dos anos, o consumidor tem se mostrado cada vez mais exigente com a forma que os alimentos são conservados, além de preferir produtos mais próximo do natural. Uma alternativa para essa exigência da sociedade e da indústria, surge uma nova forma de condicionamentos de alimentos, as embalagens ativas. Nesses sistemas, são incorporados na embalagem, compostos que possuam um aditivo que interaja com o alimento, mantendo o produto alimentício em excelente condições quando for consumido, após um período mais prolongado de armazenamento (CARDOSO; SOUZA; GUIMARÃES, 2017).

Os aditivos acrescentados nas embalagens ativas podem ter variadas funções, dentre elas a ação antimicrobiana, que a principal função é inibir o crescimento de micro-organismos que podem deteriorar os alimentos, estendendo assim o prazo de vida útil do alimento (SABERI et al., 2017).

Visto que no ramo alimentício, a preocupação é garantir que os alimentos sejam saudáveis, nutritivos, saborosos e não cause nenhum dano a saúde do consumidor. Logo, uma boa alternativa é o uso de aditivos de origem natural, como os óleos essenciais, pois apresentam ótimo nível de segurança alimentar (CALO et al., 2015), e podem ainda apresentar atividade antimicrobiana e/ou antioxidante (KREPKER et al., 2017).

No processo de seleção de agente antimicrobiano, deve-se considerar a eficácia do mesmo contra os micro-organismos alvo. Dessa forma, dentre os diversos óleos essenciais existentes, destaca-se o óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*), que possui elevado potencial antimicrobiano (CUTILLAS et al., 2018; RYU et al., 2018; SADEKUZZAMAN et al., 2018).

Além da escolha do aditivo natural, o tipo de polímero a ser utilizado como matriz da embalagem é de grande importância no processo de produção da embalagem ativa. Visando um menor impacto ao meio ambiente, a utilização dos biopolímeros em embalagens ativas tem sido mais amplamente estudada (GARAVAND et al., 2017). Dentre os biopolímeros mais estudados pode-se destacar o amido, que é um polissacarídeo, que apresenta custo viável e possui a capacidade de formar filmes ou revestimentos incolores e inodoros, além de ser biodegradável (JEONG; SHIN, 2018; KIM et al., 2018). O amido pode ser proveniente de grãos, sementes, raízes ou tubérculos (ALVES; KLOSOSKI; MONTANHINI, 2006).

Dentre a vasta agricultura existente no Brasil, tem-se a araruta, planta não convencional para produção de amido, mas que possui uma alta reserva de amido em seus rizomas (NOGUEIRA; FAKHOURI; OLIVEIRA, 2018), que apesar desse fator, não é muito estudada para a formulação de biofilmes.

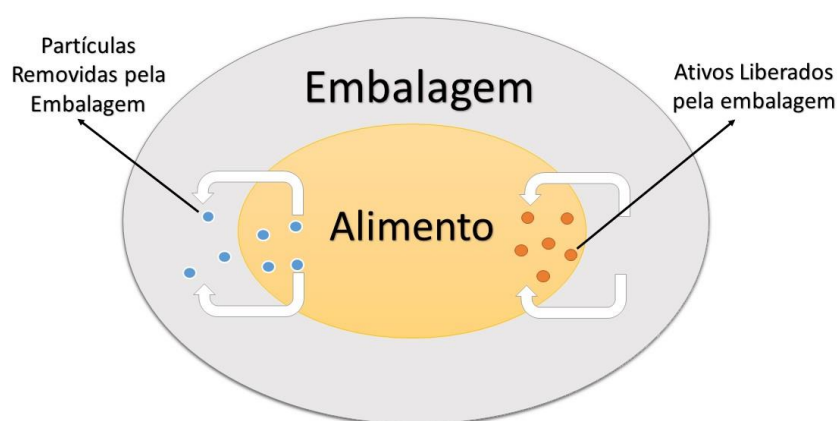
Desse modo, o principal objetivo deste trabalho foi desenvolver um biofilme ativo à base de amido aditivado com óleo essencial de tomilho (OET), que atenda aos critérios para uma embalagem ativa antimicrobiana no combate a micro-organismos patógenos. A avaliação da influência do óleo essencial nas propriedades mecânicas e térmicas dos biofilmes de amido também foi analisada, além do estudo da atividade antimicrobiana *in situ* de um dos biofilmes de amidos aditivado com óleo essencial.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 EMBALAGENS ATIVAS

Pode-se definir embalagem ativa como um sistema que interage com o produto e o seu meio, a fim de prolongar a vida útil do produto embalado, mantendo sua segurança e qualidade (FANG et al., 2017). As embalagens ativas funcionam da seguinte forma, elas podem liberar substâncias no alimento ou ao redor dele, ou absorvem e/ou removem substâncias que sejam liberadas pelo produto alimentício (Figura 1) (FABRA; LÓPEZ-RUBIO; LAGARON, 2016; AHMED et al., 2017).

Figura 1 – Funcionamento de Embalagens Ativas



Fonte: O Autor

Para a produção de embalagens ativas podem ser utilizados polímeros de origem petroquímica, biopolímeros ou polímeros biodegradáveis. Dentre esses, os mais utilizados são os biopolímeros, como as proteínas, os lipídios, os polissacarídeos, e as combinações entre eles formando blendas poliméricas (HAN; YU; WANG, 2018). Para as aplicações em embalagens ativas, os biopolímeros termoplásticos se mostram bastante promissores, pois são atóxicos, inodoros, biodegradáveis, comestíveis, além de apresentarem boa compatibilidade com compostos antimicrobianos naturais, como os óleos essenciais, por exemplo, (MOUSAVI; HASHEMI; LIMBO, 2018).

A funcionalidade das embalagens ativas variam conforme o sistema que é utilizado (RHIM; PARK; HA, 2013; GHAAANI et al., 2016), dentre essas temos: os removedores de O₂ e etileno (BOLUMAR et al., 2016), reguladores de umidade (VEJDAN et al., 2016), captadores e emissores de CO₂, embalagens antioxidantes (ROMAN; DECKER; GODDARD, 2016) e antimicrobianas (PAGNO et al., 2015) e dispositivos para controlar a liberação ou adsorção de aromas e odores.

O desenvolvimento e a pesquisa, sobre embalagens ativas, tem se voltado principalmente para o ramo das embalagens antimicrobianas, devido aos malefícios causados por alimentos contaminados por micro-organismos (KUREK et al., 2013; CASTILLO et al., 2017). Essas embalagens podem inibir ou postergar a microbiota ou as reações que ocorrem na superfície dos alimentos, que são responsáveis, normalmente, pela sua deterioração (CARVALHO et al., 2017).

Nesse tipo de embalagem ativa antimicrobiana, é incorporado ao polímero um agente que possua atividade antimicrobiana, e a sua eficácia se dá pelo fato desse agente migrar da matriz polimérica e ser liberado na parte interna da embalagem (SUNG et al., 2013), após essa liberação o agente inibe o crescimento de micro-organismos no alimento (REALINI; MARCOS, 2014).

Podem ser utilizados diversos agentes antimicrobianos, como os nitritos, sulfetos, antibióticos, porém os aditivos sintéticos causam efeitos colaterais à saúde humana. Por esse motivo, vêm se buscando utilizar agentes antimicrobianos de origem natural, que não causem danos ao consumidor, sendo obtido de fontes vegetais, como cravo, canela, tomilho (MANSO et al., 2014; AHMED et al., 2017; EJAZ et al., 2018).

Grande parte das plantas, em especial as aromáticas, são conhecidas por possuírem benefícios para a saúde humana, devido as suas propriedades biológicas, como capacidade anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana (COSTA et al., 2015). Esses aditivos provenientes de fontes vegetais, são utilizados na forma de extratos, óleos essenciais ou vegetais.

Estudos foram realizados por Medina-Jaramillo et al. (2017) utilizaram extratos de chá verde e manjerição em filmes de amido de mandioca. Os autores observaram uma elevada atividade antioxidante nos filmes formulados, visto que os filmes

apresentaram altos teores de polifenóis, que são os responsáveis pela atividade antioxidante, se mostrando capazes para utilização como revestimentos com a função de retardar a oxidação em produtos alimentícios.

Adilah et al. (2018) produziram filmes de gelatina de peixe, sendo adicionado extrato da casca da manga nas concentrações de 1, 3 e 5%. A adição do extrato proporcionou uma excelente atividade na remoção de radicais livres, quando comparados ao filme sem o extrato

Óleos vegetais quando adicionados a filmes, também podem funcionar como agente antimicrobiano. Abdel; Salama; Sabaa (2018) observaram que o óleo de mamona foi incorporado com sucesso, em diferentes concentrações aos filmes de alginato de sódio. Nas análises antimicrobianas realizadas, os filmes não apresentaram efeito inibitório para as bactérias gram-positivas *S. aureus* e *B. subtilis*, porém apresentou efeito inibitório satisfatório para bactérias gram-negativas, *S. typhi* e *E. coli*.

O trabalho, realizado por Dong et al. (2018), foi desenvolver uma embalagem ativa à base de polietileno contendo óleo essencial de canela e alecrim, os estudos realizados mostraram que as embalagens, formuladas com óleos separados e misturados retardaram o crescimento da bactéria *Enterobacteriaceae*.

Chen et al. (2018) produziram filmes de poli(álcool vínilico) incorporados com óleo essencial de cravo, e foi analisada as atividades antimicrobiana e antioxidante. Como resultado obtiveram filmes com atividade antimicrobiana e antioxidantes eficazes, inibindo o crescimento bacteriano e a oxidação lípidica do *Trichiurus haumela*.

Altan; Aytac; Uyar, (2018) produziram filmes à base de zeína e poli(ácido láctico) (PLA) incorporados com carvacrol por meio de eletrofição. Os filmes produzidos se mostraram capazes de serem utilizados na preservação de pães integrais, sendo assim, considerados filmes aptos para utilização como embalagens ativas.

2.2 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais (OE) são líquidos naturais aromáticos e voláteis que podem ser extraídos de variadas partes de plantas, como das raízes, das flores, sementes, folhas, cascas, frutos e até da planta inteira (KHORSHIDIAN et al., 2018).

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais é integralmente relacionada com os seus constituintes (KHORSHIDIAN et al., 2018). Um óleo essencial possui componentes que se resumem basicamente a compostos voláteis, como monoterpenos, hidrocarbonetos sesquiterpênicos, seus derivados oxigenados, e aldeídos alifáticos, ésteres e álcoois (DONSÌ; FERRARI, 2016).

Em relação aos OEs temos alguns compostos antimicrobianos mais ativos, e esses podem ser separados em quatro grupos, baseados em suas respectivas estruturas químicas, que são os terpenos, terpenóides, fenilpropenos e alguns outros, como por exemplo a alicina e os isotiocionatos (HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012).

Terpenos são hidrocarbonetos produzidos através da combinação de várias unidades de isopreno (C_5H_8). Os monoterpenos e os sesquiterpenos são considerados os terpenos principais, mas também podem estar presentes os terpenos de cadeias mais longas como os diterpenos e os triterpenos. O p-Cimeno e o limoneno, são exemplos mais conhecidos de terpenos (MARTINS et al., 2017).

Os terpenóides são considerados o grupo com maior diversidade de produtos naturais, sendo encontrados em quase todas as formas de vida, essa grande variedade faz com que possam ser aplicados de variadas formas (BIAN; DENG; LIU, 2017). São terpenos que foram modificados bioquimicamente por meio de enzimas que podem mover ou remover grupos metila, ao adicionarem oxigênio a molécula (HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012). Exemplos de terpenóides temos, o carvacrol, o timol e o mentol.

Os fenilpropenos compõem uma subfamília dentre diversos grupos de compostos orgânicos, denominados fenilpropanóides, que são sintetizados a partir do aminoácido fenilalanina presente nas plantas. Os que são comumente mais estudados são o eugenol, o isoeugenol, a vanilina, o safrol e o cinamaldeído (HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012).

De uma forma geral, os óleos essenciais são ricos em compostos que possuem alta atividade antimicrobiana, e em geral são os componentes majoritário dos óleos que mais contribuem para inibir o crescimento dos micro-organismos no alimento (KORDALI et al., 2008; WALENTOWSKA; FOKSOWICZ-FLACZYK, 2013).

Os óleos essenciais, quando utilizados em embalagens ativas possuem a função de minimizar ou até mesmo eliminar a presença de micro-organismos patógenos, responsáveis pela deterioração em produtos alimentares (BODINI et al., 2013), e possui a capacidade de reduzir o fenômeno da oxidação lipídica (RIBEIRO-SANTOS et al., 2017).

Bonilla et al. (2018) avaliaram o efeito da incorporação do óleo essencial de eugenol e/ou gengibre em filmes à base de gelatina, de quitosana e das blendas gelatina/quitosana. A incorporação de ambos os óleos promoveu aos filmes uma elevada atividade antioxidante, também foi observado que a adição de OE não alterou significativamente as propriedades de permeabilidade ao vapor de água dos filmes formulados, mas trouxe melhora nas propriedades mecânicas, tornando os filmes mais elásticos.

Foram desenvolvidos filmes de poli(ácido láctico) (PLA) incorporados com óleos essenciais de bergamota, erva-cidreira, alecrim ou cravo por Qin et al. (2017), após estudos foi percebido que todos os óleos essenciais utilizados modificaram as propriedades mecânicas, térmicas e ao vapor de água dos filmes, os OEs tornaram os filmes mais elásticos, a adição do OE de bergamota aumentou consideravelmente a permeabilidade do filme. Todos os filmes formulados apresentam inibição a *E. coli* e *B. subtilis*.

O estudo apresentado por HAN; YU; WANG, (2018) óleo essencial de canela foi adicionado aos filmes à base de alginato para a produção de embalagens ativas antimicrobianas, sendo observado que a adição de OE de canela conferiu uma elevada capacidade antimicrobiana as embalagens, frente a *E. coli* e *S. aureus*.

2.2.1 Óleo Essencial de Tomilho

O tomilho (*Thymus vulgaris*) é uma planta pertencente à família *Lamiaceae* originário do mediterrâneo (Figura-2). É utilizado desde a antiguidade para fins medicinais, e, atualmente, também é utilizado como condimento alimentar (GHASEMI; HASHEMI; GHAFAROKHI, 2013). As folhas e flores são utilizadas para o consumo como condimento, além de serem usadas no processo de extração do óleo essencial (DONEGÁ et al., 2014).

A família *Lamiaceae* possui 150 gêneros, em torno de 2800 espécies, distribuídas por todo mundo. Entre essas, as espécies que se destacam como a sálvia (*Salvia officinalis*), o manjeriço (*Ocimum basilicum*), o orégano (*Origanum vulgare* L.), a manjerona (*Origanum majorana* L.) e o tomilho (*Thymus vulgaris*), entre outras (ROCHA et al., 2012).

Figura 2 – Tomilho (*Thymus vulgaris*)



Fonte: Ghasemi; Hashemi; Ghahfarokhi (2013)

Hu et al. (2018) produziram nano-cápsulas com os óleos essenciais de canela, tomilho e gengibre utilizando quitosana com parede. Foi analisada a atividade antimicrobiana para *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*, tendo como resultado uma atividade antimicrobiana prolongada para as três bactérias, que se deu devido aos ativos antimicrobianos presentes nos óleos essenciais, que foram liberados no meio de forma gradativa.

Sotelo-Boyás et al. (2017) produziram nanopartículas de quitosana carregadas com óleo essencial de tomilho, e analisou-se sua atividade antimicrobiana para *S.*

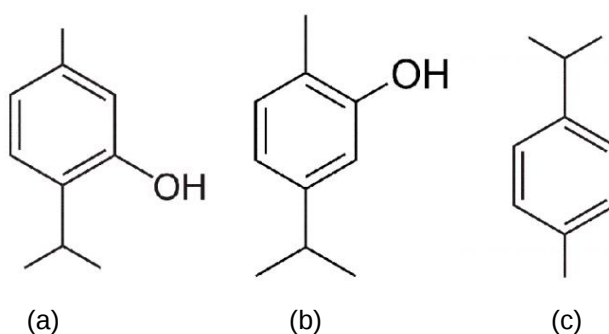
aureus, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* e *E. coli*, tendo apresentado poder de inibição para todas as bactérias analisadas.

Valderrama; Algecira; Albaracín (2016) adicionaram óleo essencial de tomilho a filmes de quitosana, afim de analisar o efeito dessa adição nas propriedades colorimétricas dos filmes.

Além desses polímeros, também é encontrado na literatura adição de tomilho do tipo *Thymus kotschyanus* a filmes à base de amido de milho, ou que contenham o amido na forma de blendas. Mehdizadeh et al. (2012) elaboraram filmes de amido e quitosana e adicionou óleo essencial de tomilho, avaliando sua atividade antimicrobiana, tendo observado que os filmes apresentaram atividade para *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. aureus* e *S. typhimurium*.

O óleo essencial de tomilho possui mais de 60 compostos, e grande parte deles possui propriedades antimicrobianas e antioxidantes para um amplo grupo de bactérias, Gram-positivas ou Gram-negativas, (PERDONES; CHIRALT; VARGAS, 2016). Os componentes majoritários do óleo essencial de tomilho são o timol, o carvacrol e o cimeno. O timol e o carvacrol possuem estruturas químicas similares, (Figura-3), e que tem sua atividade antimicrobiana conhecida. Já o cimeno não possui grupos funcionais na sua estrutura

Figura 3 – Estrutura Química Timol (a) Carvacrol (b) Cimeno (c)



Fonte: Hyltdgaard; Mygind; Meyer (2012)

O timol é composto fenólico monoterpênóide, que além da atividade antimicrobiana, possui atividade anti-inflamatória e antioxidante (YAO et al., 2018). O carvacrol também é um fenol monoterpênóide, sendo o constituinte marjoritário do orégano, composto da mesma família do tomilho, seu poder inibitório sobre o

crescimento de micro-organismos é conhecido e amplamente estudado (KUREK et al., 2013).

A forma de ação do timol e do carvacrol contra os micro-organismos ocorre através do rompimento da membrana citoplasmática, que aumenta a permeabilidade do meio, esse dano causa o vazamento dos componentes intracelulares e desregulação da função celular, ocasionando na morte do micro-organismo (XU et al., 2008).

Michalska-Sionkowska; Walczak; Sionkowska (2017) avaliaram a ação do timol em filmes à base de colágeno para funcionamento como embalagens ativas, tendo como resultados filmes ativos para as bactérias *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis*, *E. aerogenes*, *C. albicans*.

Arrieta et al. (2014) elaboraram filmes de caseinato de sódio e cálcio incorporados com carvacrol, nos filmes produzidos foi observado atividade antimicrobiana frente a *S. aureus* e *E. coli*.

Ramos et al. (2014) avaliaram a liberação de carvacrol e timol em filmes de polipropileno, os resultados do estudo da cinética de migração dos OEs no filme apresentaram uma migração lenta em simuladores de alimentos, e ambos aditivos permaneceram no polímero por um período de 15 dias. A atividade antioxidante do timol foi superior a do carvacrol.

O cimeno é classificado como um monoterpene e não possui elevada atividade antimicrobiana quando utilizado de forma isolada, porém possui a capacidade de potencializar a atividades de outros compostos, como o carvacrol por exemplo (HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012). O cimeno tem seu modo de ação contra micro-organismos, por meio de uma perturbação nas membranas desses micro-organismos, causando uma expansão na membrana, afetando o potencial de células que estariam intactas.

2.3 AMIDO

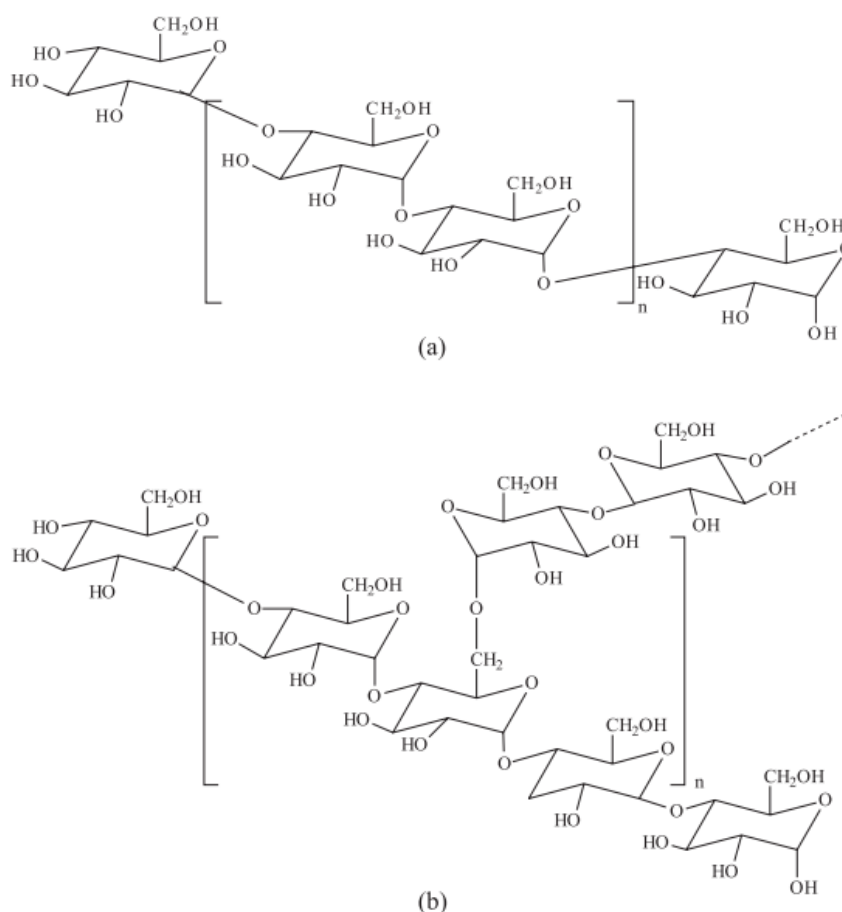
O amido é um polissacarídeo natural biodegradável, facilmente encontrado, amplamente disponível e de fácil obtenção (CAZÓN et al., 2017). Constitui a mais importante reserva de nutrição de todos os vegetais superiores, encontrado

principalmente em sementes, tubérculos, rizomas e bulbos (ALVES; KLOSOSKI; MONTANHINI, 2006; HEMAMALINI; GIRI DEV, 2018).

O amido é constituído por dois polímeros da glicose, a amilose e a amilopectina (VILLAS-BOAS; FRANCO, 2016), que possuem estruturas químicas distintas (Figura 4). Amilose é um polímero com poucas ramificações baseado principalmente em ligações α (1 $\rightarrow$ 4), que possui seu interior de natureza lipofílica (solúvel em lipídeos), sendo predominante em hidrogênios na sua estrutura química, o comprimento de sua cadeia varia de acordo com a fonte de extração do amido.

A amilopectina, que é considerada um dos maiores polímeros naturais, é altamente ramificada sendo baseada em ligações α (1 $\rightarrow$ 4), aproximadamente 95%, e α (1 $\rightarrow$ 6) 5%. As proporções desses componentes dependem diretamente da matéria-prima do amido (CORRADINI et al., 2007)

Figura 4 – Estrutura química da amilose (a) e amilopectina (b)



Fonte: Corradini et al. (2005)

Pode-se dizer que a cristalinidade do grânulo de amido se deve basicamente à amilopectina (BRIASSOULIS, 2004), embora a amilose, seja linear, não é responsável pela cristalinidade do amido, isso se deve, provavelmente, pelo fato de se conformar na forma de hélice, o que dificulta sua associação regular com outras cadeias (CORRADINI et al., 2007).

A estrutura e a forma dos grânulos de amido são inerentes a cada vegetal, e podem ser visualizadas através dos padrões de difração de raio x, sendo classificado em três tipos, A, B e C. O padrão A possui picos em aproximadamente 15°, 17°, 18°, 20° e 23°. O padrão B possui em 5°, 15°, 17°, 20°, 22° e 24°. Já o padrão C é um intermediário entre o padrão A e B (WANG; SHARP; COPELAND, 2011).

O tipo A é encontrado geralmente em amidos provenientes de cereais, os do tipo B é observado em amidos vindo de tubérculos, da banana verde e em amidos de milho que possuem um alto teor de amilose. Os do tipo C são encontrados em amidos vindos de leguminosas e sementes, sendo considerado uma junção do tipo A e B (INSUMOS, 2009).

O processo de formação dos biofilmes a base de amido depende diretamente do seu teor de amilose. Para que esse processo ocorra, é necessário que sua estrutura de grânulos seja destruída, formando uma matriz polimérica homogênea e amorfa, para isso acontecer se faz o procedimento de gelatinização do amido (CARLSTEDT et al., 2015).

2.3.1 Gelatinização e Retrogradação do Amido

A gelatinização pode ser definida como a associação de cadeias poliméricas através de pontes cruzadas, que origina uma rede tridimensional contínua, em que o líquido é apreendido e imobilizado em seu interior fazendo com que seja formada uma estrutura rígida e resistente.

Os grânulos de amido não são solúveis em água fria, formando apenas suspensões. Ao aquecer, os grânulos podem inchar moderadamente, se a temperatura for aumentada começam a surgir alguns poros na superfície desses grânulos e alguns de seus componentes solúveis (principalmente amilose) podem sofrer dissociação e se separar dos grânulos do amido (LI et al., 2018). Quando se chega na temperatura de gelatinização, os grânulos começam a inchar de forma

rápida e a suspensão tem sua viscosidade aumentada. Se continuarmos com o aquecimento o volume dos grânulos chega a um máximo e a viscosidade da suspensão atinge um máximo. Nas temperaturas mais elevadas o amido tem sua organização destruída e as regiões cristalinas do meio desaparecem e forma uma solução viscosa característica do processo de gelatinização do amido (PENG; ZHONGDONG; KENNEDY, 2007).

Após a gelatinização do amido, essa solução viscosa quando resfriado sofre um processo denominado retrogradação. Nesse processo as moléculas de amido, ao ser resfriada, perdem energia e as ligações de hidrogênio ficam mais fortes, desse modo as cadeias começam a se reassociar em um estado mais ordenado (DENARDIN; SILVA, 2009).

A retrogradação consiste de dois processos, a gelificação rápida da amilose que foi solubilizada durante o processo de gelatinização e a recristalização da amilopectina, que ocorre de forma mais lenta (KOHYAMA et al., 2004). A amilose tem forte tendência para se reassociar através da formação de pontes de hidrogênio com outras moléculas de amilose que estejam adjacentes, formando estruturas cristalinas de duplas hélices após um processo de esfriamento. Já a amilopectina retrograda numa taxa muito menor e durante um período longo de tempo e depende da concentração da amostra (DENARDIN; SILVA, 2009).

A retrogradação tem uma probabilidade maior de ocorrer em amidos que possuam alto teor de amilose, visto que estudos apresentam que o teor de amilose está intrinsecamente ligado ao processo de retrogradação (QUIROGA, 2015).

Nesse processo pode-se formar uma película filmogênica, devido ao rompimento da estrutura cristalina do amido, produzindo uma matriz amorfa e homogênea. No processo de gelatinização pode-se utilizar apenas água como solvente, porém o material formado será muito frágil, dessa forma a utilização de um plastificante pode ser feita. A adição dos plastificantes reduzem as interações entre as moléculas e aumentam a flexibilidade do filme, para utilizar um plastificante é necessário que conheça a compatibilidade do mesmo com o polímero ou biopolímero que será utilizado, juntamente com o conhecimento da proporcionalidade entre esses componentes (ROCHA et al., 2014).

No preparo de biofilmes à base de amido, costuma-se utilizar o glicerol como plastificante hidrofílico, especificamente no caso dos biofilmes de amido, visto que o

glicerol interage com as cadeias do amido, causando o aumento da cadeia molecular, e por consequência a hidrofília e a flexibilidade nos biofilmes (REIS et al., 2013). O glicerol, é produzido a partir da transesterificação de gorduras e óleos vegetais ou animais, é uma molécula pequena com grupos hidroxila que facilitam essa interação com o amido.

Filmes à base de amido podem ser obtidos através do método de *casting*, nesse método é realizada a solubilização do amido em um solvente, que para o amido é água, formando-se uma solução filmogênica, que em seguida é vertida sobre uma superfície para secagem e evaporação do solvente (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010). Nesse método, o que ocorre com os filmes à base de amido é que após a gelatinização dos grânulos em excesso de água, a amilose e a amilopectina se dispersam na solução aquosa, e no processo de secagem essas moléculas se reorganizam, formando a matriz contínua que dá origem aos filmes.

O Brasil possui uma grande diversidade de fontes de amido, que precisam ser estudadas, visto que cada tipo de amido possui propriedades físico-químicas distintas. Uma das fontes alternativas de amido é a araruta (*Maranta arundinacea* L.), planta que produz rizomas em que o amido é armazenado.

2.4 ARARUTA

A araruta (*Maranta arundinacea* L.) é uma planta indígena, originária das regiões tropicais da América do Sul. Sua região de ocorrência vai desde a Região Sudeste do Brasil até às Guianas (COELHO et al., 2005; PEPE et al., 2016). A araruta é considerada uma planta perene rizomatosa (Figura-5), os rizomas são caules subterrâneos que possuem a capacidade de armazenar nutrientes, além de acumularem amido para um desenvolvimento de uma nova planta (NEVES; COELHO; DE ALMEIDA, 2005). A araruta pode chegar a ter um caule articulado de 1,20m de altura, e a colheita do rizoma pode ser realizada dos 9 aos 12 meses seguidos do plantio.

São produzidos no Brasil três tipos de araruta: comum, creoula e banana, sendo as duas primeiras as predominantes em cultivo, sendo a variedade comum a

mais difundida comercialmente. Zárate; Vieira, (2005) relatam em seus estudos uma comparação entre a araruta do tipo comum e a do tipo creoula. A araruta comum produz a fécula de melhor qualidade, tendo seus rizomas de cor clara e recobertos por escamas. A do tipo ceroula tem seus rizomas na superfície do solo, precisam de um tratamento especial, tendo que ser lavadas por diversas vezes para que a fécula produzida não tenha baixa qualidade e obtenha cor preta.

Figura 5 – Plantação de Araruta e Rizomas



Fonte: Reddy (2015)

Tradicionalmente a araruta é utilizada na forma de polvilho, que é extraído dos rizomas após trituração, obtendo um material de consistência fibrosa que contém amido, depois esse material é peneirado e lavado para separação da fibra, e após isso é realizada a decantação para retirada da fécula, que é seca e pode ser utilizada para confecção de biscoitos, bolos, dentre outros (REDDY, 2015).

O amido extraído da araruta possui características únicas, que o tornam de melhor digestão, além do fato de não conter glúten. O amido de araruta apresenta temperatura de gelatinização por volta de 75°C, o que pode ser considerado elevado quando comparado aos amidos de outras fontes, como o de batata doce que tem temperatura de gelatinização a 61°C e o amido de mandioca a 65°C (HERNÁNDEZ-MEDINA et al., 2008). Seu teor de amilose varia entre 16 e 27%, como no estudo de Wang; Reddy; Xu, 2018 que encontrou 21,25% de teor de amilose para o amido de araruta.

2.5 BIOFILMES DE AMIDO

O uso dos polímeros convencionais tem causando um impacto severo ao meio ambiente, devido a isso, estudos, vêm sendo feitos para encontrar materiais alternativos, que contribuam para a preservação ambiental. Neste ramo temos os filmes biodegradáveis e os biofilmes (FAZELI; KELEY; BIAZAR, 2018; NOGUEIRA; FAKHOURI; OLIVEIRA, 2018). Uma vez que esses polímeros quando descartados de forma correta tem seu processo de decomposição favorecido, diferentemente dos polímeros convencionais que integram-se mais rapidamente à natureza sem contaminação ao meio ambiente (GARAVAND et al., 2017).

Os biofilmes são filmes produzidos a partir de materiais biológicos derivados de polissacarídeos, proteínas, lipídios, seus derivados ou da mistura desses materiais (GENSKOWSKY et al., 2015). Dentro dos polissacarídeos, o amido tem se destacado por sua alta capacidade de formação de matriz contínua, baixo custo, por ser abundante e renovável (MORENO et al., 2018; NOGUEIRA; FAKHOURI; OLIVEIRA, 2018).

Na literatura são encontrados trabalhos com amido proveniente de fontes variadas, como o amido de mandioca, pinhão, milho, araruta, quinoa (CORRADINI et al., 2005; LUCHESE et al., 2015; PAGNO et al., 2015; MONTEIRO et al., 2018; NOGUEIRA; FAKHOURI; OLIVEIRA, 2018).

Como dito anteriormente, para a produção de biofilmes a partir de amido, se faz necessário o uso de plastificantes, os mais utilizados são o glicerol ou sorbitol, a fim de que os filmes se tornem mais flexíveis, visto que os filmes apenas com amido se mostram quebradiços.

Soares et al. (2016) realizaram um estudo sobre a adição de dois tipos de plastificantes, o glicerol e a triacetina, em filmes de amido de milho, como resultado observou que a adição, de ambos plastificantes, melhorou a permeabilidade ao vapor de água dos filmes.

Nogueira; Fakhouri; Oliveira (2018) produziram filmes à base de amido de araruta, nesses filmes foi adicionado glicerol, em concentrações que variavam entre 9,95 – 24,08% (m/m), em relação ao amido, e nesses filmes foram analisadas as propriedades mecânicas e térmicas. Observaram que em relação a outros filmes à base de amido, como os de trigo, milho e batata, o amido de araruta apresentou maior

resistência tração. Mostrando que o amido de araruta tem grande potencial para a aplicação em biofilmes seja para revestimento ou embalagens.

Com potencialidade de formar filmes para embalagens de alimentos, os biofilmes de amido podem ser utilizados para desenvolvimento de embalagens ativas. Sendo importante investigar como ocorrerá a liberação do aditivo ativo da matriz do amido no alimento, bem como avaliar as principais características do filme com a presença do aditivo (BODINI et al., 2013).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

Foram utilizados os seguintes materiais:

- O amido de araruta: adquirido da empresa Araruta da Bahia.
- O glicerol da marca Química Moderna.
- O óleo essencial de tomilho branco (OET) da marca Lazlo

Todos os materiais foram utilizados sem nenhum tratamento prévio

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Preparação dos filmes poliméricos

Todos os filmes foram produzidos pelo método de *casting*. Para a produção dos biofilmes foi utilizado amido de araruta (AA), glicerol como plastificante, óleo essencial de tomilho e água destilada.

Foram produzidos filmes de 90 g, sendo estabelecidas as seguintes proporções: 8% de amido de araruta (m/m), 30% de glicerol (m/m) e 1%, 2,5% e 5% de óleo essencial de tomilho branco, as concentrações de glicerol e óleo essencial foram calculadas em relação a massa de amido utilizada, as proporções foram escolhidas após a realização de alguns testes.

Para o preparo das soluções filmogências, foram homogeneizados o amido e o glicerol em água destilada. Em seguida foram levados para agitação através de um mixer a 10.000 rpm, aquecidos em banho-maria a 90°C a fim de se obter a temperatura de gelatinização do amido, durante 10 minutos (Figura 6).

Figura 6 – Preparo do Filme sob agitação em Banho-maria:

Fonte: O Autor

A incorporação do OET ocorreu após a gelatinização do amido. Para isso pesou-se a massa de óleo a ser utilizada, e a solubilizou em um béquer com cerca de 1mL de água, em seguida adicionou-se a solução filmogênica e agitou-se por 1 minuto. A Tabela 1 apresenta as massas relativas a cada componente do biofilme, que foram nomeados da seguinte forma, amido puro (AP), amido com 1% de OET (A01), amido com 2,5% de OET (A02) e amido com 5% de OET (A05).

Tabela 1 – Proporções dos Biofilmes

Biofilme	Amido (g)	Glicerol (g)	Água (mL)	Óleo (g)
AP	7,2	2,16	80,64	-
A01	7,2	2,16	80,64	0,072
A02	7,2	2,16	80,64	0,180
A05	7,2	2,16	80,64	0,360

AP: Amido Puro, A01: Amido/1% OET, A02: Amido/2,5% OET, A05: Amido/5%

Fonte: O Autor

A solução filmogênica obtida foi vertida em transparências de polipropileno sobre placas de vidro e secadas em estufa de circulação de ar, a 40°C durante 3 horas.

3.3 CARACTERIZAÇÕES

3.3.1 Caracterização do Óleo Essencial de Tomilho

3.3.1.1 *Cromatografia Gasosa Acoplada com Espectrometria de Massas (GC-MS)*

A análise cromatográfica foi realizada na central analítica do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco. Foi realizada em cromatógrafo gasoso modelo Trace 1300 e o espectrômetro de massas do modelo ISQ Single Quadrupole, ambos da marca *ThermoScientific*.

Para a realização desta análise foi utilizada a temperatura de injetor de 220°C, temperatura do detector 240°C; velocidade linear (46,3 cm/seg), razão de split de 20 e fluxo total de 36,8mL/min. Além disso, o programa de temperatura utilizado foi 60°C/min, razão de aquecimento de 6°C/min até 100°C, com razão de 14°C/min até 240°C, com um tempo de análise total de 18,10 min.

3.3.1.2 *Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)*

Foi realizada a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier para verificar a presença de bandas característica de grupos funcionais dos compostos orgânicos presentes no óleo essencial de tomilho. O equipamento utilizado para realização desta técnica foi da marca Jasco, modelo FT/IR-4600 type A, nas seguintes condições: região do infravermelho na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} .

Essas análises foram realizadas no Laboratório de Polímeros e Nanoestruturas (LPN) do Departamento de Engenharia Nuclear (DEN) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

3.3.1.3 *Avaliação da atividade antimicrobiana pelo método do disco-difusão em Ágar*

Para avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de tomilho foram utilizadas as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Para os ensaios de difusão em meio sólido foram utilizados 4 discos de filtro de papel, (2 discos por bactéria) com 5,2 mm de diâmetro, que foram previamente esterilizados no equipamento de autoclave a 121°C durante 15 minutos. Após a esterilização, os discos foram embebidos no óleo essencial de tomilho e colocados em placas de Petri, que estavam previamente com o meio Agar nutritivo inoculado com 0,1 mL de suspensão bacteriana (10^{-4} na escala MacFarland). Posteriormente, a placa foi incubada durante 48 horas a 30°C. Após o período de incubação foi realizada a medida do halo de inibição com o auxílio de um micrômetro.

3.3.2 **Caracterização dos Biofilmes**

3.3.2.1 *Aspectos Visuais e Espessura*

Esta análise tem o intuito de avaliar a aparência dos biofilmes formulados. O filme deve ter uma superfície contínua e homogênea, ou seja, sem bolhas ou fissuras posteriores ao processo de secagem, nem conter partículas insolúveis ou poros abertos na sua superfície.

A espessura média dos biofilmes foi medida com micrômetro de ponta plana (MITUTOYO, MODEL 103-137), com faixa de medida de 0,01mm, por meio de 3 medições em posições aleatórias em cada amostra de biofilme.

3.3.2.2 *Difratometria de Raios-X (DRX)*

A análise de Difratometria de Raios-X (DRX) foi realizada no Instituto Federal de Tecnologia de Pernambuco (ITEP). Os ensaios foram realizados em um difratômetro de raios X da marca Rigaku, modelo Ultima, operando com tensão de 40

kV e corrente de 20 mA, com velocidade do goniômetro de 2 teta = 2 graus/minuto, alcance angular de 5° a 50° (E) e com passo de 0,02°.

Foi calculado o grau de cristalinidade dos biofilmes formulados através da equação (1):

$$X_c = \frac{A_c}{A_c + A_a} \times 100\% \quad (1)$$

Onde, X_c é o grau de cristalinidade, A_c é a área da região cristalina e A_a a área região amorfa dos biofilmes analisados.

3.3.2.3 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) de cada biofilme produzido foi avaliada conforme o procedimento da norma ASTM (E96-95) (ASTM INTERNATIONAL, 2014) com um gradiente de 75% de Umidade Relativa (UR) a 25°C. A PVA foi medida em triplicata para cada formulação de filme produzida.

Para realização desta análise o procedimento foi o seguinte: preparou-se uma solução de cloreto de sódio (75% de UR) e a adicionou ao dessecador. Em seguida, foram utilizados 12 frascos de 30ml (3 por amostra) em que se adicionou Cloreto de Cálcio (CaCl_2) deixando um espaço de 1,5 cm entre o filme e o dessecante. Os

recipientes foram alocados no dessecador e foi efetuado vácuo (Figura 7). Durante 8 dias as amostras foram retiradas e pesadas e um novo vácuo realizado.

Figura 7 – Teste de Permeabilidade ao Vapor de Água



Fonte: O Autor

A permeabilidade ao vapor de água foi calculada através da equação (2):

$$PVA = \frac{\Delta m}{A \Delta t} \frac{X}{\Delta P} \quad (2)$$

Onde $\Delta m/\Delta t$ é o peso do ganho de umidade por unidade de tempo (g/s), X é a espessura média do filme (mm), A é a área da superfície do filme exposta (m^2) e ΔP é a diferença de pressão do vapor de água entre os dois lados do filme (Pa)

3.3.3 Avaliação dos parâmetros térmicos dos biofilmes

3.3.3.1 Análise Termogravimétrica (TGA)

Os filmes de amido puro e aditivado com OET nas concentrações de 1%, 2,5% e 5% foram analisadas por meio de testes termogravimétricos, afim de avaliar as taxas de perda de massa. Para tal, foram pesados aproximadamente 20mg de cada amostra e as mesmas foram introduzidas em uma termobalança da marca Shimadzu DTG 60H.

as análises ocorreram em uma faixa de temperatura de 25 – 600°C, utilizando-se uma taxa de aquecimento de 10°C/min sob atmosfera de nitrogênio.

3.3.3.2 *Calorimetria diferencial exploratória (DSC)*

Os parâmetros térmicos dos biofilmes de amido puro e aditivados com óleo essencial de tomilho nas concentrações de 1% 2,5% e 5% foram avaliados por meio de calorimetria diferencial exploratória (DSC), no equipamento da marca Mettler Toledo, modelo 1 STAR^e SYSTEM.

A massa das amostras que variou de 5mg a 8mg, a amostra a ser analisada foi introduzida em cadinhos de alumínio sob atmosfera de nitrogênio com um fluxo de 50mL/min. A análise térmica foi realizada utilizando uma faixa de temperatura de 25°C a 200°C.

3.3.4 **Avaliação dos parâmetros mecânicos dos biofilmes**

3.3.4.1 *Ensaio de Tração*

Para a realização do teste mecânico de tração foi utilizado o equipamento universal da marca EMIC 500 (Figura 8) seguindo a norma ASTM 882-12 (ASTM INTERNATIONAL, 2012), na temperatura ambiente e sem controle de umidade, aderindo os seguintes procedimentos:

- Velocidade da garra: 0,8 mm/seg;
- Distância inicial entre garras: 40 mm;
- Dimensão do corpo de prova: 2,5 x 7,5 cm.

Figura 8 – Equipamento de Ensaio de Tração EMIC



Fonte: O Autor

Os testes de tração foram realizados com os filmes de amido puro e aditivado com o OET nas concentrações de 1%, 2,5% e 5%. Utilizou-se um filme de cada formulação, e em cada filme foi obtido 6 corpos de prova. Para esses resultados foi aplicado o teste estatístico de Duncan, para avaliação das mudanças estatisticamente significativas.

3.3.5 Análise da atividade antimicrobiana do biofilme de amido com óleo essencial de tomilho

Para essa análise foi realizado pelo método de atividade antimicrobiana *in situ* descrito por Dannenberg et al. (2017).

Para a análise de atividade antimicrobiana *in situ* foi utilizado como matriz alimentar queijo muçarela obtido comercialmente e amostras do biofilme aditivado com 5% de OET, ambas as amostras tinham 4x4cm de área e espessura de 2,20mm. As amostras foram inicialmente expostas à luz ultravioleta, para a descontaminação das mesmas durante 15 minutos em ambos os lados. Após isso, as amostras de queijo foram contaminadas experimentalmente, em um lado, pela adição 0,1mL de suspensão bacteriana (0,5 na escala MacFarland) de *E. coli*, em seguida as amostras de filme foram colocadas sob o lado contaminado, em contato com o mesmo em seguida as amostras foram armazenadas em saco estéril, como é apresentado na Figura 9, previamente exposto à luz ultravioleta e armazenado a 4°C.

Figura 9 – Armazenamento das amostras de queijo



Fonte: O Autor

Para a quantificação de *E. coli* foi utilizado o método de contagens de células viáveis. Para a contagem bacteriana no queijo, a amostra, referente ao dia a ser analisado, foi lavada com 9mL de solução peptonada. Dessa lavagem foi retirado 1mL que foi utilizado para preparar diluições em série de cinco vezes em solução peptona (0,1%). Foi adicionado 1mL de cada suspensão em placas de 80x15mm, devidamente enumeradas, e em seguida adicionado o agar nutritivo. O procedimento foi realizado em duplicata e as placas incubadas a 35°C durante 48 horas durante 12 dias. Sendo analisadas no primeiro dia (zero), e após 3, 6, 10 e 12 dias.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO

4.1.1 Cromatografia Gasosa Acoplada com Espectrometria de Massas (GC-MS)

A fim de conhecer a composição química do óleo essencial de tomilho foi realizado o GC-MS, os principais constituintes estão apresentados na Tabela 2. O interesse principal dessa análise foi conhecer as proporções do Timol, Carvacrol e Cimenol, que são conhecidos por serem constituintes majoritários do OET.

Tabela 2 – Composição química do OET obtida por GC-MS

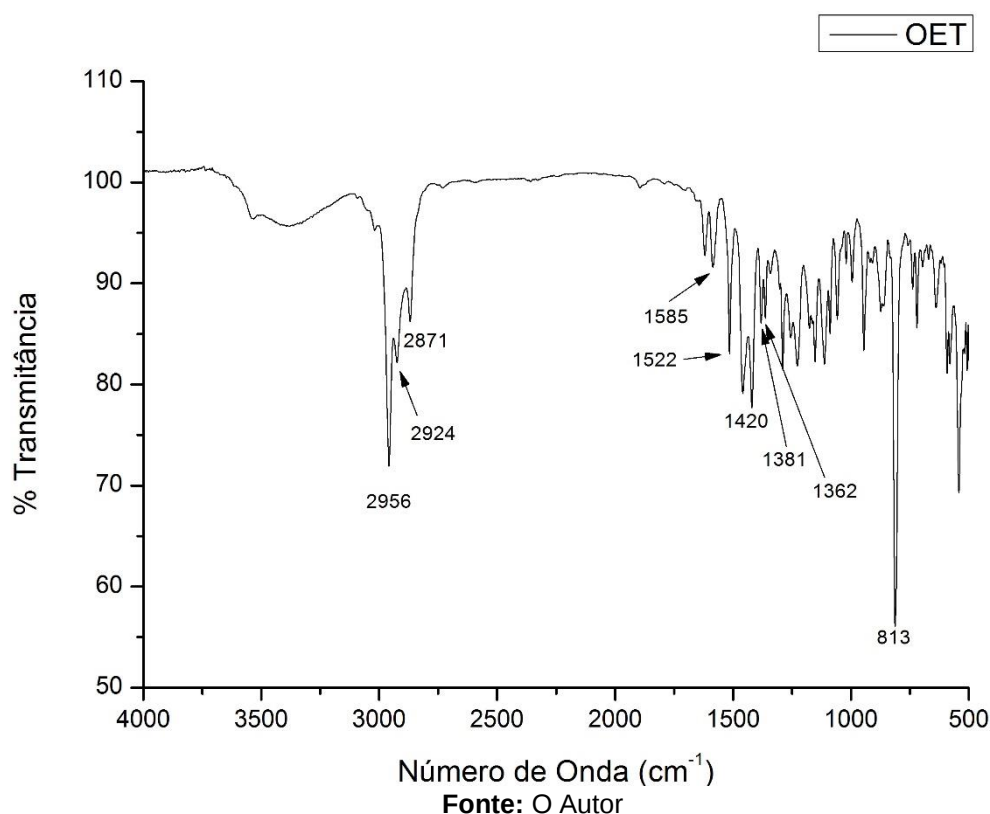
Através do MS de óleo de tomilho percebemos que o o carvacrol foram principais do OET. literatura também	Composto	(%)	Fonte: O Autor GC-MS cimenol, o timol e os constituintes Trabalhos da apresentam GC-essencial de
	o-Cimenol	52,16%	
	Timol	28,21%	
	Carvacrol	13,26%	
	Canfeno	2,64%	
	a-Terpineol	1,29%	
MS de óleo de tomilho tendo como componentes principais o cimenol, timol e carvacrol, respectivamente, (SADEKUZZAMAN et al., 2018), em outros trabalhos vemos esses mesmos constituintes principais, porém com quantidades que variam das encontradas nesse trabalho. Como no trabalho realizado por Carvalho et al. (2015) que encontrou os seguintes valores: timol (43,19%), cimenol (28,55%), e carvacrol (3,14%). No estudo apresentado por Gonçalves et al. (2017) foram apresentados os valores a seguir p-cimenol (15,51%), timol (53,57%); e carvacrol (6,93%). Resultados obtidos por Mahboubi et al. (2017) que foram timol (74,5%), cimenol (7,5%) e carvacrol (3,7%).	Outros compostos	2,81%	

As diferenças nos percentuais dos constituintes de óleos essenciais do mesmo tipo são decorrentes de fatores genéticos das plantas e/ou fatores ambientais, referentes ao cultivo da mesma (GONÇALVES et al., 2017). Dessa forma, pode-se constatar que o óleo essencial de tomilho possui os componentes majoritários encontrados na literatura, compostos esses que são os responsáveis pela atividade antimicrobiana do óleo, dessa forma antes da produção dos filmes foi realizado o estudo da atividade antimicrobiana do óleo essencial de tomilho.

4.1.2 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Foi realizada a espectroscopia de infravermelho para identificar bandas características dos compostos presentes no óleo essencial de tomilho, o espectro obtido está apresentado na Figura 10.

Figura 10 – Espectro de Infravermelho do Óleo Essencial de Tomilho



Analisando o espectro apresentado, percebe-se um grande número de bandas, que são decorrentes dos compostos presentes no óleo essencial de tomilho, sendo os majoritários o cimeno, o timol e o carvacrol. Referente ao cimeno, observamos

bandas características desse composto, como a banda encontrada em 813 cm^{-1} que é referente as ligações C-H, fora do plano existentes no cimeno, além da banda em 1420 cm^{-1} que se trata das ligações C=C do anel aromático, a banda em 1381 cm^{-1} é atribuída ao estiramento simétrico do grupo metil isopropil, sendo apresentado também uma banda em 1362 cm^{-1} referente ao estiramento simétrico desse mesmo grupo, em 1522 cm^{-1} tem-se uma banda relativa ao grupo fenil para-substituído.

Referindo-se as bandas referentes ao timol e carvacrol, as mesmas ocorrem nas mesmas regiões visto que são isômeros, as bandas relativas a esses compostos são apresentadas em 1585 cm^{-1} decorrentes de ligações C=C.

Além dessas também são observadas bandas em 2956 cm^{-1} , 2924 cm^{-1} , 2871 cm^{-1} essas bandas são referentes a estiramentos simétricos e assimétricos de ligações C-H, essas ligações estão presentes tanto no carvacrol, como no cimeno e no timol. Valderrama; Rojas (2017) realizaram estudos para determinação dos componentes principais do óleo essencial de tomilho, através de espectroscopia de infravermelho, os valores obtidos desses estudos são apresentados na Tabela 3, que estão em concordância com as bandas vibracionais encontradas nesse trabalho.

Tabela 3 – Bandas Vibracionais Características do Timol, Carvacrol e Cimeno

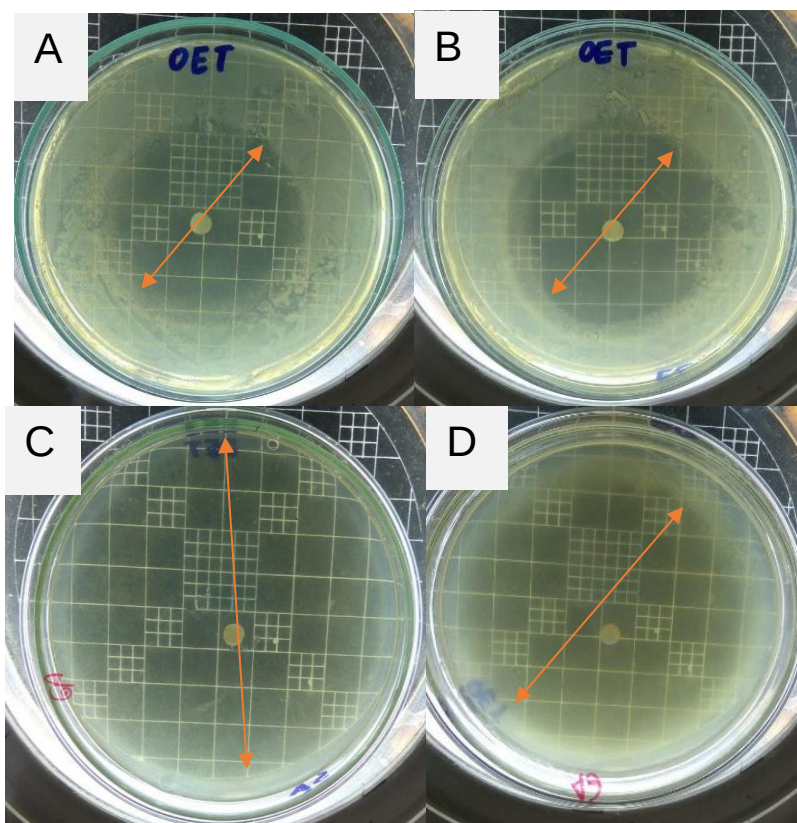
Atribuição da banda	Bandas no espectro de infravermelho (cm^{-1})
Cimeno	
C-H (estiramento simétrico e assimétrico)	3000 - 2850
C=C do anel aromático	1500-1400
Grupo metil isopropil (estiramento simétrico)	1381
Grupo metil isopropil (estiramento assimétrico)	1362
Phenyl para-substituído	1055-1019
C-H fora do plano	813
Timol e Carvacrol	
C-H (estiramento simétrico e assimétrico)	3000 - 2850
C=C	1600-1585
Grupo metil isopropil (estiramento simétrico)	1381
Grupo metil isopropil (estiramento assimétrico)	1362
Vibração do anel aromático	807, 811

Fonte: Valderrama; Rojas (2017)

4.1.3 Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de tomilho

Decorrido o período de incubação dos micro-organismos na presença do óleo essencial de tomilho (OET), observou-se que, o OET apresentou inibição ao crescimento microbiano para as duas bactérias estudadas, conforme pode ser observado na Figura 11. No caso da colônia da bactéria *Escherichia coli* o halo de inibição observado foi de 49,7 mm (Figura 11A), para a primeira placa e de 50,2 mm (Figura 11B) para a segunda, e para a colônia de *Staphylococcus aureus* os halos de inibição foram de 92,7 mm (Figura 11C) e 79,8 mm (Figura 11D) para as placas 1 e 2, respectivamente.

Figura 11 – Teste de inibição microbiana Óleo Essencial de Tomilho. (a e b) *Escherichia coli* (c e d) *Staphylococcus aureus*



Fonte: O Autor

De acordo com o CLSI (2015) os halos de inibição em relação a bactérias são classificados da seguinte forma: sucessível, quando o diâmetro for igual ou maior a 20,0 mm, intermediário para diâmetros entre 15,0 e 19,0 mm e resistente para diâmetros iguais ou inferiores a 14,0 mm.

Nas bactérias analisadas tivemos, tanto para a *E. coli* como para o *S. aureus*, halos de inibição superiores a 20,0mm, dessa forma podemos considerar que ambas foram extremamente sensíveis ao óleo essencial de tomilho. Outros estudos também observaram que o o óleo essencial de tomilho apresentou atividade antimicrobiana para *S. aureus* e *E. coli* (ROTA et al., 2008; GONÇALVES et al., 2013; CARVALHO et al., 2015; KAVAS; KAVAS; SAYGILI, 2015; ZHANG et al., 2016).

Na literatura também é conhecido o poder de inibição do óleo essencial de tomilho para outras espécies bacterianas. Ghabraie et al (2016), através do método de difusão em ágar, observou a atividade antimicrobiana do óleo essencial de tomilho para as bactérias *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* e *S. Typhimurium*. Além dessas também foi observado que o óleo essencial de tomilho apresentou atividade antimicrobiana para *Acinetobacter spp*, *Enterococcus sp* (ŁYSAKOWSKA; DENYS; SIENKIEWICZ, 2011; BILENLER et al., 2015)

Através desses dados, podemos observar que o óleo essencial de tomilho se mostrou propício a ser utilizado como agente antimicrobiano para a formulação de biofilmes de embalagens ativas.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS BIOFILMES DE AMIDO

4.2.1 Espessura e Aspectos Visuais

As espessuras relativas a cada biofilme formulado são apresentadas na Tabela 4. Percebe-se que a espessura não apresentou variação estatisticamente significativa para os filmes de amido de araruta com adição de 1% e 2,5% de OET quando comparado ao filme de amido puro. A espessura só teve alteração significativa para a formulação do filme com 5% de OET.

Amostra	Espessura (mm)
AP	0,1167 ± 0,03 ^a

Tabela 4 –
Biofilmes Formulados

A01	$0,1200 \pm 0,01^a$	Espessura dos
A02	$0,1300 \pm 0,01^a$	
A05	$0,1933 \pm 0,04^b$	

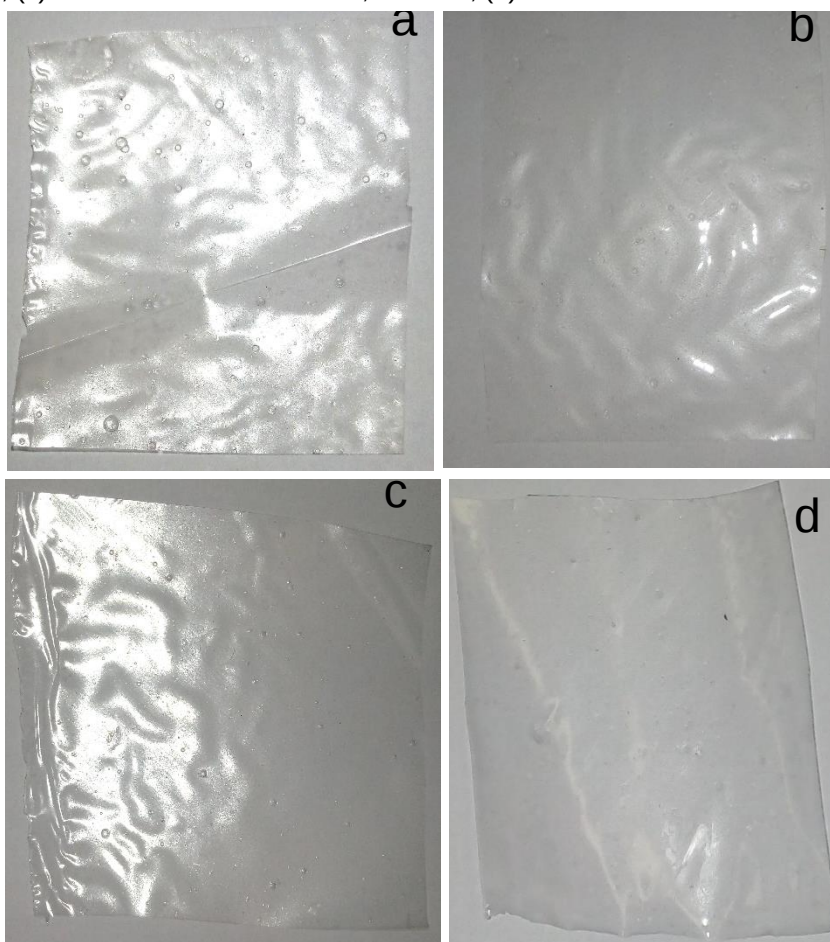
AP: Biofilme de Amido Puro, A01: Biofilme de Amido /1% OET, A02: Biofilme de Amido / 2,5% OET, A05: Biofilme de Amido /5% de OET

Médias seguidas de letras iguais na vertical não diferem significativamente ($p>0,05$) pelo teste de Duncan.

Fonte: O Autor

Os biofilmes produzidos (Figura 12) apresentaram superfície homogênea e sem rachaduras, em alguns casos pode perceber a formação de pequenas bolhas. A adição de OET não alterou a cor ou a transparência dos biofilmes formulados. Os filmes também foram removidos facilmente da transparência de polipropileno.

Figura 12 – Biofilmes formulados, (a)AP: Biofilme de Amido Puro, (b) A01: Biofilme de Amido /1% OET, (c)A02: Biofilme de Amido / 2,5% OET, (d) A05: Biofilme de Amido /5% de OET

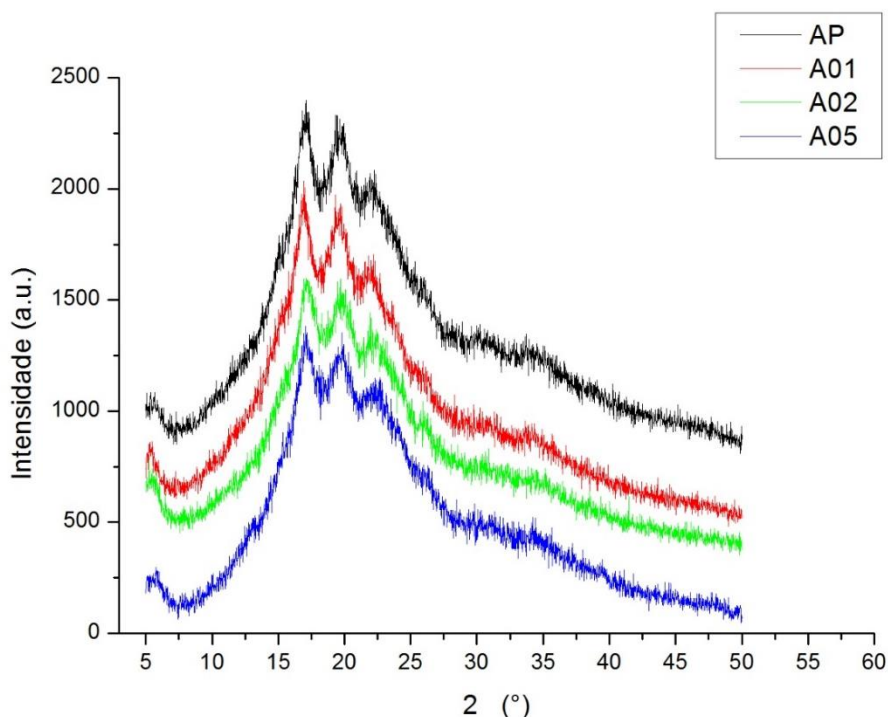


Fonte: O Autor

4.2.2 Difractometria de Raios-X (DRX)

A Figura 13 apresenta os difratogramas dos biofilmes de amido preparados nesse estudo.

Figura 13 – Difractograma dos biofilmes de amido AP: Biofilme de Amido Puro, A01: Biofilme de Amido /1% OET, A02: Biofilme de Amido / 2,5% OET, A05: Biofilme de Amido /5% de OET



Fonte: O Autor

Ao analisar os difratogramas, percebe-se que os biofilmes de amido apresentaram regiões amorfas e uma mistura dos polimorfos A e B. Entre os picos detectados, foram observados picos em $2\theta = 5,6^\circ$, $17,10^\circ$ e $22,32^\circ$ indicando uma mistura dos tipos A e B, sendo o pico em $5,6^\circ$ característico do amido de araruta, os três filmes aditivados com OET apresentaram os mesmos padrões do biofilme de amido puro.

O grau de cristalinidade de cada filme foi calculado, e os valores encontrados foram de 7,64% para o de amido puro, 7,07% para o biofilme A01; 6,84% para o biofilme A02 e de 6,303% para o biofilme A05. Sugere-se que a cristalinidade encontrada nos filmes esteja associada ao processo de retrogradação do amido, conforme relatado por Morales et al. (2015).

Foi observada uma diminuição do grau de cristalinidade dos filmes com a adição de OET, essa diminuição torna-se maior conforme aumenta-se o percentual de óleo presente no filme. Isso pode ocorrer por conta da formação de interações intermoleculares entre os componentes do óleo e do biofilme, que podem não favorecer a cristalização do amido (LIU et al., 2013). Essas interações dos componentes do óleo com a matriz polimérica (KECHICHIAN et al., 2010), podem ocasionar irregularidades na estrutura do filme, adicionalmente outro fator que pode diminuir a cristalinidade dos filmes é o fato de ocorrerem interações intermoleculares entre os componentes do óleo e da matriz polimérica que limitam os movimentos da cadeia, restringindo o processo de retrogradação do amido (ZHONG; SONG; LI, 2011).

Medina et al. (2016) em seu trabalho observaram que a adição de extrato de erva-mate causou uma diminuição na cristalinidade dos filmes de amido de mandioca, quanto maior a concentração de extrato, menor a cristalinidade, os autores atribuíram isso a adição do extrato, que impediu a ocorrência da retrogradação completa do amido, essa diminuição também indicaria que a adição do extrato aos filmes teve uma ação plastificante.

No biofilmes de amido de araruta e aditivados com OET formulados em nosso trabalho, ocorrem interações entre os componentes do OET e o filme, os sítios hidrofílicos presentes no timol e no carvacrol, podem interagir de forma direta com as hidroxilas presentes no amido, dessa forma as ligações de hidrogênio são enfraquecidas, e como consequência tem-se uma distância maior entre as cadeias poliméricas, formando poros na matriz do filme (DAVOODI; KAVOOSI; SHAKERI, 2017). A formação desses poros faz com que ocorra um aumento das regiões amorfas do filme, diminuindo assim a sua cristalinidade.

4.3.3 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Os resultados do teste de permeabilidade ao vapor de água são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Valores de Permeabilidade ao Vapor de Água dos Biofilmes de Amido

Biofilme	PVA (g.h-1.m-1. Pa-1).10 ⁻⁷	Espessura
AP	2,05 ± 1,61 ^a	0,12 ^a
A01	2,19 ± 1,72 ^a	0,13 ^a
A02	2,44 ± 2,06 ^a	0,14 ^a
A05	3,03 ± 1,82 ^b	0,18 ^b

AP: Biofilme de Amido Puro, A01: Biofilme de Amido /1% OET, A02: Biofilme de Amido / 2,5% OET, A05: Biofilme de Amido /5% de OET

Médias seguidas de letras iguais na vertical não diferem significativamente (p>0,05) pelo teste de Duncan.

Fonte: O Autor

Analisando os dados obtidos (Tabela 5) percebe-se que a PVA dos filmes à base de amido aditivados com 1 e 2,5% de OET não variou significativamente em relação ao filme de amido puro (AP), tendo variado significativamente apenas para o filme com 5% de OET. A variação da permeabilidade ao vapor de água de filmes à base de polissacarídeos está diretamente relacionada com a espessura dos filmes que são formulados, ao observar as espessuras dos biofilmes estudados, o biofilme A05 foi o que apresentou maior espessura, e o único que teve a PVA que variou significativamente, mostrando coerência dos resultados para os filmes aditivados com a concentração de 5% de OET.

Mali; Grossmann; Yamashita (2010) relataram que quanto maior for a espessura dos filmes poliméricos, maior será a sua PVA. No estudo realizado por Farias et al. (2012), foram elaborados filmes de amido de mandioca aditivados com polpa de acerola, quando analisou-se a PVA perceberam que os filmes de maior espessura foram os que demonstraram maiores valores de PVA, corroborando com os dados encontrados neste trabalho. Mali et al. (2004) observaram que filmes à base de amido plastificado com glicerol apresentavam valores PVA que variavam conforme a espessura, quanto maior a espessura maior a PVA do filme estudado.

A PVA em filmes a partir de polissacarídeos, como o amido, é algo complexo, porque os processos de difusão são dependentes do teor água presente no meio, além dos isoterms de sorção de água não serem lineares porque ocorre uma interação do amido com as moléculas de água. Bertuzzi et al. (2007) relata que à medida que o aumenta a espessura de filme de amido, proporciona uma resistência aumentada à transferência de massa através dele, que por consequência faz com que a pressão parcial de vapor de água no equilíbrio aumente na região interna do filme.

Analisando a literatura, percebe-se que a adição de OET em altas concentrações a filmes torna a matriz polimérica menos coesa, por conta da interação da cadeia com os compostos presentes no óleo essencial (PERDONES; CHIRALT; VARGAS, 2016). Filmes que possuem uma menor cristalinidade apresentam menor PVA (BRANDELERO; GROSSMANN; YAMASHITA, 2013).

Prestes et al. (2017) realizaram um estudo com filmes de Proteína do soro que foram aditivados com óleo essencial de orégano, que também possui carvacrol e timol na sua composição. Ao analisar a PVA dos filmes, percebeu que houve um aumento da permeabilidade nos filmes aditivados com óleo essencial de tomilho. Os autores justificaram esse aumento pela desestabilização da matriz polimérica causada pela adição do óleo, e também porque o óleo pode não ter se ligado completamente a cadeia polimérica, causando espaços nos filmes aumentando, assim, a permeabilidade dos mesmos.

4.4 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS TÉRMICOS DOS BIOFILMES DE AMIDO

4.4.1 Análise Termogravimétrica (TGA)

A decomposição térmica dos filmes de araruta puro (AP) e aditivados com OET ocorreu em dois estágios principais. Como pode ser observado na Tabela 6.

Tabela 6 – Estágios de Perda de Massa dos Filmes

Biofilmes	1º Estágio			2º Estágio		
	Ton (°C)	Toff (°C)	Tmáx (°C)	Ton(°C)	Toff (°C)	Tmáx
AP	45	173	87	215	400	319
A01	68	179	84	254	392	317
A02	68	178	79	248	394	318
A05	36	171	47	241	404	318

AP: Biofilme de Amido Puro, A01: Biofilme de Amido /1% OET, A02: Biofilme de Amido / 2,5% OET, A05: Biofilme de Amido /5% de OET

Fonte: O Autor

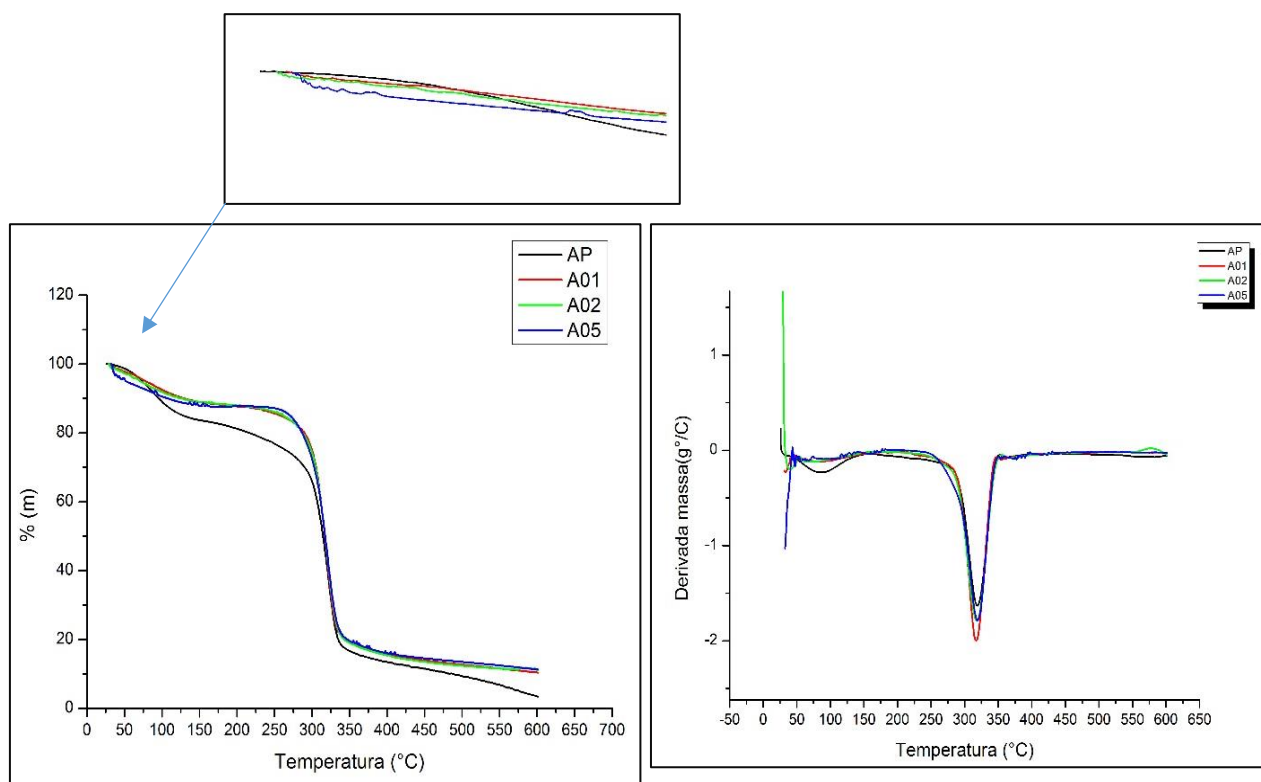
Na Figura 14 são apresentados os termogramas dos biofilmes (AP, A01, A02 e A05), sendo possível visualizar os estágios de degradação de cada filme.

O primeiro estágio de degradação dos filmes está relacionado com a eliminação de água presente em todos biofilmes formulados. As reações hidrotérmicas que

ocorrem em biofilmes à base de amido ocorrem de formas diferente, por conta da forma como os grânulos de amido e a água interagem, assim, essas variações podem ocorrer a partir de 30°C e provocando algumas alterações estruturais nos filmes poliméricos. (LIMA et al., 2012).

O segundo estágio de degradação para o filme de amido puro, é referente ao processo de evaporação do glicerol presente no filme, juntamente com o processo de degradação do amido, que ocorre a partir de 300°C. Nos biofilmes aditivados com OET, ocorre a evaporação do óleo essencial de tomilho, em torno de 74°C, no segundo estágio de ocorre a evaporação do glicerol juntamente com a degradação do amido.

Figura 14 – Termograma dos filmes de AP e dos filmes aditivados com 1, 2,5% e 5% (m/m) de óleo essencial de tomilho. (a) Curvas de TGA (b) Curvas derivadas da TGA (DTG).



Fonte: O autor

Em geral filmes à base de amido, comumente, sofrem três estágios de degradação térmica: o primeiro até 100°C, onde ocorre a evaporação da água adsorvida ou água que esteja disponível; o segundo em cerca de 290°C onde ocorre

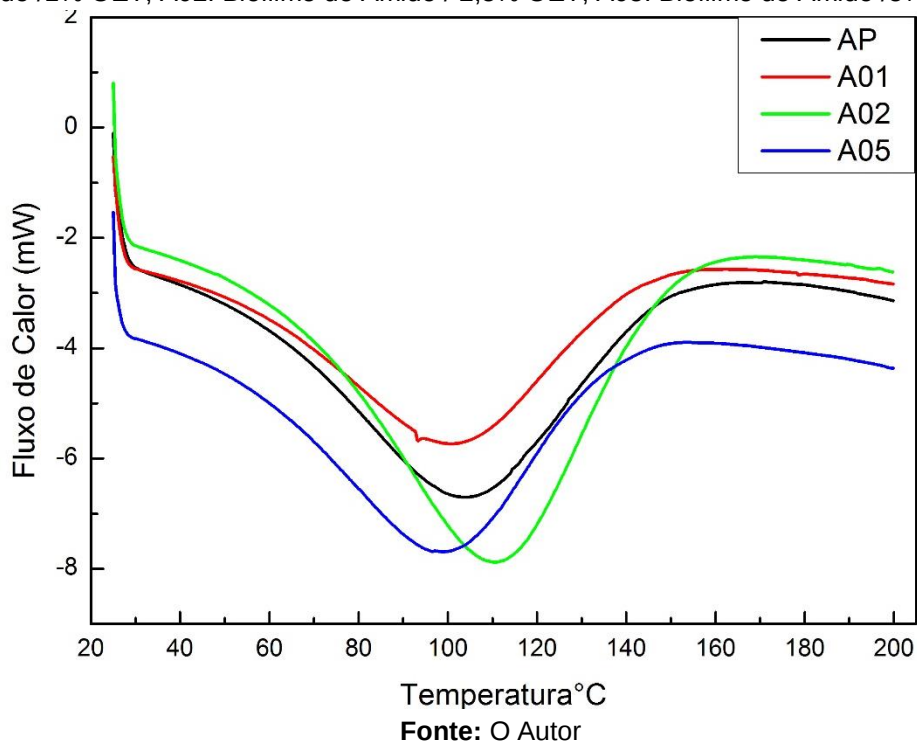
a evaporação do glicerol; e terceiro na faixa de 300°C onde acontece a degradação do amido (GUTIÉRREZ et al., 2015 e GUTIÉRREZ et al., 2018).

Voltando a analisar os termogramas (Figura 14), pode-se observar que a adição de 5% de óleo ao biofilme causou uma diminuição na temperatura de degradação inicial, referente a eliminação de água e provavelmente degradação de compostos da composição do óleo. Para o processo referente a degradação do filme que ocorre a partir do segundo estágio, houve uma estabilização térmica para os filmes com adições de 1 e 2,5% de OET.

4.4.2 Calorimetria diferencial exploratória (DSC)

A Figura 15 apresenta o termograma de DSC dos biofilmes formulados (AP, A01, A02 e A05). Nos termogramas foi observado apenas um pico endotérmico por conta da miscibilidade e da homogeneidade dos biofilmes formulados.

Figura 15 – Gráficos de DSC dos Biofilmes Formulados AP: Biofilme de Amido Puro, A01: Biofilme de Amido /1% OET, A02: Biofilme de Amido / 2,5% OET, A05: Biofilme de Amido /5% de OET



Os termogramas apresentados na Figura 15 apresentam os picos endotérmicos dos biofilmes formulados, estas temperaturas estão relacionadas com o derretimento da fase cristalina dos filmes que ocorre durante a retrogradação do amido, quando o

valor da temperatura de fusão diminui, indica que ocorreu uma redução na mobilidade das cadeias poliméricas, juntamente com uma diminuição do seu volume livre.(GUTIÉRREZ et al., 2018).

Não foi possível observar a temperatura de transição vítrea (T_g) dos biofilmes formulados. Alguns trabalhos na literatura apresentam a T_g de filmes à base de amido em regiões de temperatura negativa, faixa de temperatura que não pode ser obtida no equipamento de DSC utilizado para a análise nesse trabalho. Cieśła; Watzeels; Rahier, (2014) observaram a T_g de filmes à base de amido com e sem plastificante, sendo o glicerol o plastificante utilizado para os estudos, encontram o valor de T_g de -31°C para filmes sem a adição de glicerol e de -75°C para os filmes com a adição desse plastificante.

As temperaturas máximas, considerados os picos endotérmicos dos filmes formulados são apresentadas na Tabela 7, analisando os valores, podemos perceber que o biofilme A05 apresentou a menor temperatura de fusão que foi de $99,07^\circ\text{C}$ enquanto o biofilme apresentou o valor mais elevado, $110,97^\circ\text{C}$. Essas temperaturas máximas na faixa de 100°C estão relacionadas a evaporação de água presente nos biofilmes (LOPEZ et al., 2014).

Tabela 7 – Parâmetros Térmicos dos Biofilmes

Biofilme	Pico Endotérmico ($^\circ\text{C}$)	ΔH (J g^{-1})
AP	104,39	174,04
A01	100,65	151,48
A02	110,97	189,67
A05	99,07	183,41

AP: Biofilme de Amido Puro, A01: Biofilme de Amido /1% OET, A02: Biofilme de Amido / 2,5% OET, A05: Biofilme de Amido /5% de OET

Fonte: O Autor

4.5 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS MECÂNICOS DOS FILMES BIOFILMES DE AMIDO

4.5.1 Ensaio de Tração

Os ensaios mecânicos dos biofilmes ativos foram realizados para identificar as influências causadas pela adição do OET nas propriedades mecânicas dos filmes. Na realização desse estudo, foi aplicado o teste estatístico de Duncan, para avaliar as mudanças significativas ($p > 0,05$) nos parâmetros mecânicos entre os filmes puros e com a adição do óleo essencial.

Tabela 8 – Médias dos parâmetros mecânicos dos filmes de AP aditivados com óleo essencial de tomilho

Biofilme	Tensão na Força Máxima (Mpa)	Deformação Específica na Ruptura (%)	Módulo Elástico (Mpa)
AP	11,530 ± 3.352 ^a	29,170 ± 2,198 ^a	185,50 ± 14,995 ^a
A01	3,0235 ± 0,498 ^c	64,633 ± 6,602 ^c	24,733 ± 16,087 ^b
A02	7,3175 ± 1,410 ^b	14,174 ± 0,583 ^b	160,43 ± 48,263 ^a
A05	10,867 ± 0,670 ^a	27,033 ± 12,441 ^{ab}	200,00 ± 41,116 ^a

AP: Biofilme de Amido Puro, A01: Biofilme de Amido /1% OET, A02: Biofilme de Amido / 2,5% OET, A05: Biofilme de Amido /5% de OET

Médias seguidas de letras iguais na vertical não diferem significativamente ($p > 0,05$) pelo teste de Duncan.

Fonte: O Autor

Ao observarmos a Tabela 8, pode-se perceber que todas as propriedades estudadas sofreram alterações devido a adição de OET. Em relação a Tensão na força máxima, responsável pela resistência mecânica do filme, pode-se observar que adição de 1 e 2,5 % de OET nos filmes à base de amido, causou uma diminuição estatisticamente significativa, tornando os filmes menos resistentes em relação ao filme de amido puro. Entretanto, para os filmes com 5% de amido, essa propriedade é estatisticamente igual ao do amido puro.

Em relação a Deformação específica na ruptura, que nos mostra a flexibilidade e a capacidade de estiramento de um filme polimérico, percebe-se que houve um aumento significativo para o filme com 1% de OET e uma diminuição para as demais

concentrações de óleo. Comportamento semelhante pode ser observado para o módulo de elasticidade, que a adição de 1% do OET deixa o filme mais flexíveis e os outros percentuais, os filmes ficam mais rígidos.

No estudo realizado por Sapper et al (2018) foi observado que adições de OET, em pequenas concentrações, a filmes à base de amido de mandioca, tornaram o filme mais flexível, diminuindo seu módulo de elasticidade, mas, quando são adicionadas concentrações mais elevadas, o filme tem um aumento na sua rigidez, e consequentemente, o valor do módulo de elasticidade aumenta. Fator que ocorreu nos biofilmes produzidos e estudados, em que o filme com 1% de OET apresentou o menor módulo de elasticidade, sendo assim o filme mais flexível.

Foi observado que adição de 1% de OET aumentou a deformação específica nos biofilmes estudados, e diminuiu a tensão na força máxima. Esses fatos ocorreram da mesma forma nos estudos apresentados por Talón et al (2017) em relação a adição de extrato de tomilho a filmes de amido e a blendas de amido de ervilha/quitosana.

4.6 ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO BIOFILME DE AMIDO

As amostras do queijo muçarela em contato com os filmes de amido com OET foram analisadas nos dias 0, 2, 6, 9 e 12 após a inoculação da bactéria *E. coli*. As amostras de filmes e do queijo muçarela são apresentadas na Figura 16.

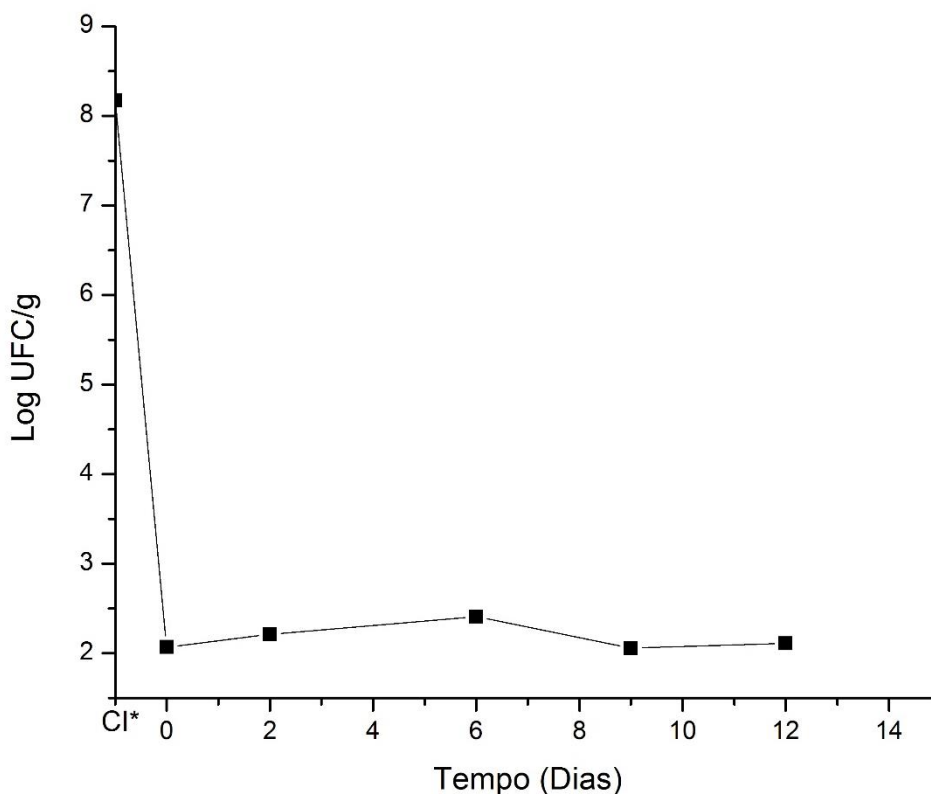
Figura 16 – Amostras de Queijo Muçarela analisadas no Teste de Atividade Antimicrobiana in situ



Fonte: O Autor

A Figura 17 apresenta o gráfico referente a análise antimicrobiana *in situ* (queijo muçarela fatiado) do biofilme de amido com 5% de OET, durante o período de 13 dias.

Figura 17 – Atividade Antimicrobiana do Biofilme de Amido Aditivado com 5% de OET



Fonte: O Autor

Ao observar a Figura 17, percebemos que o filme demonstrou atividade antimicrobiana desde o primeiro contato do filme com o alimento contaminado com a bactéria Gram-negativa *E. coli*. Imediatamente após acondicionamento do queijo com o biofilme A05, a contagem do dia 0, mostra uma redução significativa de 8,17 para 2,07 log UFC/g, nos dias seguintes essa redução se manteve, sendo de 2,21 log UFC/g para o dia 2; 2,41 log UFC/g para o dia 6; 2,06 log UFC/g para o dia 9 e encerrando com 2,11 log UFC/g para o dia 12.

Através dos dados apresentados nesses resultados, pode-se observar que houve uma rápida liberação do OET, que ocorreu desde o primeiro instante de contato do alimento com a embalagem. O OET possui compostos que são apolares, o queijo muçarela é um alimento que possui cerca de 27,7% de lipídeos em sua composição (INMETRO,) e o amido possui regiões em sua estrutura que são lipofílicas, assim esse ambiente de composição química compatível, facilitou o processo de migração

do óleo presente no interior do filme, ocorrendo uma melhor dispersão do agente antimicrobiano na superfície do queijo.

Comportamento semelhante a este foi observado por Dannenberg et al. (2017) que observaram que filmes de acetato de celulose aditivados com óleo essencial de pimenta rosa reduziram a quantidade de colônias para *S. aureus* e *L. monocytogenes* na concentração de 2% de óleo essencial em fatias de queijo muçarela, durante 12 dias de análise.

A atividade antimicrobiana do OET para *E. coli* também foi observada por Kavas; Kavas; Sayagili, (2015), que analisaram a atividade antimicrobiana de filmes à base de proteína do soro aditivados com 1,5% de óleo essencial de tomilho ou de cravo utilizados como revestimentos para queijo do tipo Kashar, durante os 60 dias de análise, os resultados mostraram que os filmes contendo OET diminuíram consideravelmente a contagem de colônias.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As conclusões principais referentes aos estudos realizados sobre os biofilmes de amido de araruta aditivados com 1, 2,5 e 5% de óleo essencial de tomilho são apresentadas a seguir:

Por meio da Cromatografia Gasosa acoplada por Espectrometria de Massas (GC-MS) pode-se encontrar o teor dos componentes principais do óleo essencial de tomilho, que apresentou 52,16% de o-cimeno, 28,21% de timol e 13,26% de carvacrol. Através da Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) foi possível comprovar a presença dos componentes majoritários (Cimeno, Timol e carvacrol) através do aparecimento de bandas características de cada composto nos espectros de infravermelho dos biofilmes formulados.

A atividade antimicrobiana por difusão em meio sólido do óleo essencial de tomilho apresentou excelente nível de inibição para as bactérias *Escherichia coli*, e *Staphylococcus aureus*. Desse modo, indicando que o óleo essencial possui um elevado potencial para utilização como agente antimicrobiano em embalagens ativas.

A adição do óleo essencial de tomilho aos filmes de amido diminuiu a taxa de cristalinidade dos mesmos, fator que pode ser observado através da análise de difração de raios-x, essa diminuição se dá por conta de uma desorganização causada na matriz polimérica, em relação as interações intermoleculares dos componentes do óleos com a cadeia do polímero. Por meio de DRX também puderam ser observados os picos referentes a filmes de amido, tendo os biofilmes formulados sendo caracterizados com um polimorfo com uma mistura do tipo A e B.

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) só foi alterada significativamente com a adição de 5% de óleo essencial, essa adição de óleo foi a única, entre os estudos realizados, que alterou significativamente a espessura do biofilme, que por consequência aumentou a PVA do biofilme de amido, a espessura é um fator primordial para a PVA em biofilmes à base de polissacarídeos.

Por meio das análises termogravimétricas dos biofilmes de amido, foi observado que a adição de óleo essencial de tomilho tornou os filmes mais resistentes a temperatura e que essa adição não alterou a temperatura de degradação do amido, que para todos os biofilmes ocorreu em valores por volta de 310°C. Nas análises de

Calorimetria Diferencial exploratória (DSC) pode-se observar que adição do óleo essencial pouco alterou as temperaturas de fusão dos filmes elaborados.

Por meio do teste estatístico de Duncan, pode-se analisar que apenas os filmes com adição de 1 e 2,5% (m/m) de óleo essencial alteraram significativamente os parâmetros mecânicos dos filmes estudados, o filme aditivado com 1% de óleo essencial foi o que se mostrou mais flexível, tendo o menor módulo de elasticidade e o maior valor de deformação específica na ruptura. Em relação ao biofilme aditivado com 5% de óleo essencial percebe-se que suas propriedades mecânicas são semelhantes as do biofilme sem a adição de óleo.

Através da análise de atividade antimicrobiana *in situ* do biofilme de amido aditivado com 5% de óleo essencial de tomilho, foi avaliado que, o filme aditivado inibiu significativamente o crescimento microbiano da bactéria *E. coli* nas amostras de queijo muçarela, podendo ser observada a migração do óleo essencial de tomilho de migrar do filme desde o primeiro contato com o alimento, essa rápida migração ocorreu por conta da afinidade entre os componentes do óleo, do filme e do queijo.

Diante das considerações exibidas, podem ser realizados estudos futuros, como por exemplo, a análise antimicrobiana *in situ* dos filmes aditivados com óleo essencial de tomilho, nas concentrações de 1 e 2,5% e do filme de amido puro, a fim de conhecer o processo de migração do óleo essencial presente no filme, em concentrações inferiores, e analisar o poder de inibição dos mesmos ao crescimento microbiano da *E. coli*.

REFERÊNCIAS

- ABDEL, A. M. S.; SALAMA, H. E.; SABAA, M. W. Biobased alginate/castor oil edible films for active food packaging. **Lwt**, v. 96, n. May, p. 455–460, 2018.
- ADILAH, A. N.; JAMILAH, B.; NORANIZAN, M. A.; HANANI, Z. A. N. Utilization of mango peel extracts on the biodegradable films for active packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 16, n. May 2017, p. 1–7, 2018.
- AHMED, I.; LIN, H.; ZOU, L.; BRODY, A. L.; LI, Z.; QAZI, I. M.; PAVASE, T. R.; LV, L. A comprehensive review on the application of active packaging technologies to muscle foods. **Food Control**, v. 82, p. 163–178, 2017.
- ALTAN, A.; AYTAC, Z.; UYAR, T. Carvacrol loaded electrospun fibrous films from zein and poly(lactic acid) for active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 81, p. 48–59, 2018.
- ALVES, T. M.; KLOSOSKI, S. J.; MONTANHINI, M. T. M. Produção e caracterização de amidos de mandioca modificados. **Revista AGROTEC**, v. 36, n. ISSN 0100-7467, p. 58–64, 2006.
- ARRIETA, M. P.; PELTZER, M. A.; LÓPEZ, J.; GARRIGÓS, M. D. C.; VALENTE, A. J. M.; JIMÉNEZ, A. Functional properties of sodium and calcium caseinate antimicrobial active films containing carvacrol. **Journal of Food Engineering**, v. 121, n. 1, p. 94–101, 2014.
- ASTM INTERNATIONAL. ASTM D882: Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. **ASTM Standards**, p. 12, 2012.
- ASTM INTERNATIONAL. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials 1. **ASTM Standards**, p. 1–13, 2014.
- BERTUZZI, M. A.; CASTRO VIDAURRE, E. F.; ARMADA, M.; GOTTIFREDI, J. C. Water vapor permeability of edible starch based films. **Journal of Food Engineering**, v. 80, n. 3, p. 972–978, 2007.
- BIAN, G.; DENG, Z.; LIU, T. Strategies for terpenoid overproduction and new terpenoid discovery. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 48, p. 234–241, 2017.
- BILENLER, T.; GOKBULUT, I.; SISLIOGLU, K.; KARABULUT, I. Antioxidant and antimicrobial properties of thyme essential oil encapsulated in zein particles. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 30, n. 5, p. 392–398, 2015.
- BÍBLIA, N. T. Romanos. In BÍBLIA. Português. **Bíblia Sagrada**. Traduzida por João Ferreira de Almeida. Sociedade Bíblica do Brasil. Barueri, São Paulo, 3ª edição, 2018, p.872
- BODINI, R. B.; SOBRAL, P. J. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; CARVALHO, R. A. Properties of gelatin-based films with added ethanol-propolis extract. **LWT - Food Science and Technology**, v. 51, n. 1, p. 104–110, 2013.
- BOLUMAR, T.; LAPEÑA, D.; SKIBSTED, L. H.; ORLIEN, V. Rosemary and oxygen scavenger in active packaging for prevention of high-pressure induced lipid oxidation in pork patties. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 7, p. 26–33, 2016.

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

BRANDELERO, H.; GROSSMANN, M. V.; YAMASHITA, F. Hidrofilicidade de Filmes de Amido / Poli (Butileno Adipato Co - Tereftalato) (Pbat) Adicionados de Tween 80 e Óleo de Soja. **Polímeros**, v. 23, n. 2, p. 270–275, 2013.

BRIASSOULIS, D. An overview on the mechanical behaviour of biodegradable agricultural films. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 12, n. 2, p. 65–81, 2004.

CALO, J. R.; CRANDALL, P. G.; O'BRYAN, C. A.; RICKE, S. C. Essential oils as antimicrobials in food systems - A review. **Food Control**, v. 54, p. 111–119, 2015.

CARDOSO, L. G.; SOUZA, C. O. de; GUIMARÃES, A. G. Prospecção Tecnológica de Patentes sobre a Utilização de Embalagens Antimicrobianas em Alimentos. **Cadernos de Prospecção**, v. 10, n. 1, p. 14–23, 2017.

CARLSTEDT, J.; WOJTASZ, J.; FYHR, P.; KOCHERBITOV, V. Understanding starch gelatinization: The phase diagram approach. **Carbohydrate Polymers**, v. 129, p. 62–69, 2015.

CARVALHO, D. D. M.; TAKEUCHI, K. P.; GERALDINE, R. M.; DE MOURA, C. J.; SILVEIRA, M. F. A. Active film of cellulose acetate incorporated with nanosuspension of curcumin | Filme ativo de acetato de celulose incorporado com nanosuspensão de curcumina. **Polimeros**, v. 27, p. 70–76, 2017.

CARVALHO, R. J. de; SOUZA, G. T. de; HONÓRIO, V. G.; SOUSA, J. P. de; CONCEIÇÃO, M. L. da; MAGANANI, M.; SOUZA, E. L. de. Comparative inhibitory effects of *Thymus vulgaris* L. essential oil against *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and mesophilic starter co-culture in cheese-mimicking models. **Food Microbiology**, v. 52, p. 59–65, 2015.

CASTILLO, L. A.; FARENZENA, S.; PINTOS, E.; RODRÍGUEZ, M. S.; VILLAR, M. A.; GARCÍA, M. A.; LÓPEZ, O. V. Active films based on thermoplastic corn starch and chitosan oligomer for food packaging applications. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 14, n. March, p. 128–136, 2017.

CAZÓN, P.; VELAZQUEZ, G.; RAMÍREZ, J. A.; VÁZQUEZ, M. Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 136–148, 2017.

CHEN, C.; XU, Z.; MA, Y.; LIU, J.; ZHANG, Q.; TANG, Z.; FU, K.; YANG, F.; XIE, J. Properties, vapour-phase antimicrobial and antioxidant activities of active poly(vinyl alcohol) packaging films incorporated with clove oil. **Food Control**, v. 88, p. 105–112, 2018.

CIEŚLA, K.; WATZEELS, N.; RAHIER, H. Effect of gamma irradiation on thermophysical properties of plasticized starch and starch surfactant films. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 99, p. 18–22, 2014.

CLSI. **M02-A12 Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard— Twelfth Edition**. [s.l: s.n.]

COELHO, I. da S.; SANTOS, M. da C. F.; ALMEIDA, D. L. de; SILVA, E. M. R. da; NEVES, M. C. P. **Como plantar e usar a Araruta**. [s.l.: s.n.]

CORRADINI, E.; LOTTI, C.; MEDEIROS, E. S. De; CARVALHO, A. J. F.; CURVELO, A. a. S.; MATTOSO, L. H. C. Estudo comparativo de amidos termoplásticos derivados do milho com diferentes teores de amilose. **Polímeros**, v. 15, p. 268–273, 2005.

CORRADINI, E.; TEIXEIRA, E. D. M.; AGNELLI, J. A. M.; MATTOSO, L. H. C. Amido Termoplástico. **Embrapa**, p. 27, 2007.

COSTA, D. C.; COSTA, H. S.; ALBUQUERQUE, T. G.; RAMOS, F.; CASTILHO, M. C.; SANCHES-SILVA, A. Advances in phenolic compounds analysis of aromatic plants and their potential applications. **Trends in Food Science and Technology**, v. 45, n. 2, p. 336–354, 2015.

CUTILLAS, A. B.; CARRASCO, A.; MARTINEZ-GUTIERREZ, R.; TOMAS, V.; TUDELA, J. Thyme essential oils from Spain: Aromatic profile ascertained by GC–MS, and their antioxidant, anti-lipoxygenase and antimicrobial activities. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 26, n. 2, p. 529–544, 2018.

DANNENBERG, G. da S.; FUNCK, G. D.; CRUXEN, C. E. dos S.; MARQUES, J. D. L.; SILVA, W. P. da; FIORENTINI, Â. M. Essential oil from pink pepper as an antimicrobial component in cellulose acetate film: Potential for application as active packaging for sliced cheese. **LWT - Food Science and Technology**, v. 81, p. 314–318, ago. 2017.

DAVOODI, M.; KAVOOSI, G.; SHAKERI, R. Preparation and characterization of potato starch-thymol dispersion and film as potential antioxidant and antibacterial materials. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 173–179, 2017.

DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. da. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, p. 945–954, 2009.

DONEGÁ, M. A.; FEREZINI, G.; MELLO, S. C.; MINAMI, K.; SILVA, S. R. Recipientes e substratos na produção de mudas e no cultivo hidropônico de tomilho (*Thymus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 2, p. 271–274, 2014.

DONG, Z.; XU, F.; AHMED, I.; LI, Z.; LIN, H. Characterization and preservation performance of active polyethylene films containing rosemary and cinnamon essential oils for Pacific white shrimp packaging. **Food Control**, v. 92, p. 37–46, 2018.

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

EJAZ, M.; ARFAT, Y. A.; MULLA, M.; AHMED, J. Zinc oxide nanorods/clove essential oil incorporated Type B gelatin composite films and its applicability for shrimp packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 15, n. June 2017, p. 113–121, 2018.

FABRA, M. J.; LÓPEZ-RUBIO, A.; LAGARON, J. M. Use of the electrohydrodynamic process to develop active/bioactive bilayer films for food packaging applications.

Food Hydrocolloids, v. 55, p. 11–18, 2016.

FANG, Z.; ZHAO, Y.; WARNER, R. D.; JOHNSON, S. K. Active and intelligent packaging in meat industry. **Trends in Food Science and Technology**, v. 61, n. 2, p. 60–71, 2017.

FARIAS, M. G.; FAKHOURI, F. M.; CARVALHO, C. W. P. de; ASCHERI, J. L. R. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE FILMES COMESTÍVEIS DE AMIDO ADICIONADO DE ACEROLA (*Malpighia emarginata* D.C.) *Mônica*. v. 35, n. 3, p. 546–552, 2012.

FAZELI, M.; KELEY, M.; BIAZAR, E. Preparation and characterization of starch-based composite films reinforced by cellulose nanofibers. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 116, p. 272–280, 2018.

GARAVAND, F.; ROUHI, M.; RAZAVI, S. H.; CACCIOTTI, I.; MOHAMMADI, R. Improving the integrity of natural biopolymer films used in food packaging by crosslinking approach: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 687–707, 2017.

GENSKOWSKY, E.; PUENTE, L. A.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; MUÑOZ, L. A.; VIUDA-MARTOS, M. Assessment of antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with maqui berry (*Aristotelia chilensis*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 1057–1062, 2015.

GHAANI, M.; COZZOLINO, C. A.; CASTELLI, G.; FARRIS, S. An overview of the intelligent packaging technologies in the food sector. **Trends in Food Science and Technology**, v. 51, p. 1–11, 2016.

GHABRAIE, M.; VU, K. D.; TATA, L.; SALMIERI, S.; LACROIX, M. Antimicrobial effect of essential oils in combinations against five bacteria and their effect on sensorial quality of ground meat. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, p. 332–339, 2016.

GHASEMI, P. A.; HASHEMI, M.; GHAFAROKHI, F. T. Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. **Industrial Crops and Products**, v. 48, p. 43–48, 2013.

GONÇALVES, G. M. S.; SREBERNICH, S. M.; BRAGAGNOLO, N.; MADALOZZO, E. S.; MERHI, V. L.; PIRES, D. C. Study of the composition of *Thymus vulgaris* essential oil, developing of topic formulations and evaluation of antimicrobial efficacy. v. 7, n. 23, p. 1736–1745, 2013.

GONÇALVES, N. D.; PENA, F. de L.; SARTORATTO, A.; DERLAMELINA, C.; DUARTE, M. C. T.; ANTUNES, A. E. C.; PRATA, A. S. Encapsulated thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil used as a natural preservative in bakery product. **Food Research International**, v. 96, p. 154–160, 2017.

GUTIÉRREZ, T. J.; HERNIOU-JULIEN, C.; ÁLVAREZ, K.; ALVAREZ, V. A. Structural properties and in vitro digestibility of edible and pH-sensitive films made from guinea arrowroot starch and wastes from wine manufacture. **Carbohydrate Polymers**, v. 184, p. 135–143, 2018.

GUTIÉRREZ, T. J.; MORALES, N. J.; PÉREZ, E.; TAPIA, M. S.; FAMÁ, L. Physico-

chemical properties of edible films derived from native and phosphated cush-cush yam and cassava starches. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 3, p. 1–8, 2015.

HAN, Y.; YU, M.; WANG, L. Physical and antimicrobial properties of sodium alginate/carboxymethyl cellulose films incorporated with cinnamon essential oil. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 15, p. 35–42, 2018.

HEMAMALINI, T.; GIRI DEV, V. R. Comprehensive review on electrospinning of starch polymer for biomedical applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p. 712–718, 2018.

HERNÁNDEZ-MEDINA, M.; TORRUCO-UCO, J. G.; CHEL-GUERRERO, L.; BETANCUR-ANCONA, D. Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 718–726, 2008.

HU, J.; ZHANG, Y.; XIAO, Z.; WANG, X. Preparation and properties of cinnamon-thyme-ginger composite essential oil nanocapsules. **Industrial Crops and Products**, v. 122, p. 85–92, 2018.

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R. L. Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, n. JAN, p. 1–24, 2012.

INMETRO. RELATÓRIO SOBRE ANÁLISE DE GORDURA E COLESTEROL EM QUEIJOS. **Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior**, p. 1–32, [s.d.]

INSUMOS, E. Amidos: Fontes, Estruturas e Propriedades Funcionais. **Aditivos e Ingredientes**, v. 63, p. 26–37, 2009.

JEONG, O.; SHIN, M. Preparation and stability of resistant starch nanoparticles, using acid hydrolysis and cross-linking of waxy rice starch. **Food Chemistry**, v. 256, n. January, p. 77–84, 2018.

KAVAS, G.; KAVAS, N.; SAYGILI, D. The Effects of Thyme and Clove Essential Oil Fortified Edible Films on the Physical, Chemical and Microbiological Characteristics of Kashar Cheese. **Journal of Food Quality**, v. 38, n. 6, p. 405–412, 2015.

KECHICHIAN, V.; DITCHFIELD, C.; VEIGA-SANTOS, P.; TADINI, C. C. Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 7, p. 1088–1094, 2010.

KHORSHIDIAN, N.; YOUSEFI, M.; KHANNIRI, E.; MORTAZAVIAN, A. M. Potential application of essential oils as antimicrobial preservatives in cheese. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 45, n. March 2017, p. 62–72, 2018.

KIM, S.; YANG, S. Y.; CHUN, H. H.; SONG, K. Bin. High hydrostatic pressure processing for the preparation of buckwheat and tapioca starch films. **Food Hydrocolloids**, v. 81, p. 71–76, 2018.

KOHYAMA, K.; MATSUKI, J.; YASUI, T.; SASAKI, T. A differential thermal analysis of the gelatinization and retrogradation of wheat starches with different amylopectin chain lengths. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, n. 1, p. 71–77, 2004.

KORDALI, S.; CAKIR, A.; OZER, H.; CAKMAKCI, R.; KESDEK, M.; METE, E.

Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 18, p. 8788–8795, 2008.

KREPKER, M.; SHEMESH, R.; DANIN POLEG, Y.; KASHI, Y.; VAXMAN, A.; SEGAL, E. Active food packaging films with synergistic antimicrobial activity. **Food Control**, v. 76, p. 117–126, 2017.

KUREK, M.; MOUNDANGA, S.; FAVIER, C.; GALIĆ, K.; DEBEAUFORT, F. Antimicrobial efficiency of carvacrol vapour related to mass partition coefficient when incorporated in chitosan based films aimed for active packaging. **Food Control**, v. 32, n. 1, p. 168–175, 2013.

LI, Y.-D.; XU, T.-C.; XIAO, J.-X.; ZONG, A.-Z.; QIU, B.; JIA, M.; LIU, L.-N.; LIU, W. Efficacy of potato resistant starch prepared by microwave–toughening treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 192, p. 299–307, jul. 2018.

LIMA, B. N. B.; CABRAL, T. B.; C. NETO, R. P.; TAVARES, M. I. B.; PIERUCCI, A. P. T. Estudo do amido de farinhas comerciais comestíveis. **Polímeros**, v. 22, n. 5, p. 486–490, 2012.

LIU, H.; ADHIKARI, R.; GUO, Q.; ADHIKARI, B. Preparation and characterization of glycerol plasticized (high-amylose) starch-chitosan films. **Journal of Food Engineering**, v. 116, n. 2, p. 588–597, 2013.

LOPEZ, O.; GARCIA, M. A.; VILLAR, M. A.; GENTILI, A.; RODRIGUEZ, M. S.; ALBERTENGO, L. Thermo-compression of biodegradable thermoplastic corn starch films containing chitin and chitosan. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, n. 1, p. 106–115, 2014.

LUCHESI, C. L.; FRICK, J. M.; PATZER, V. L.; SPADA, J. C.; TESSARO, I. C. Synthesis and characterization of biofilms using native and modified pinhão starch. **Food Hydrocolloids**, v. 45, p. 203–210, 2015.

ŁYSAKOWSKA, M.; DENYS, A.; SIENKIEWICZ, M. The activity of thyme essential oil against *Acinetobacter* spp. **Central European Journal of Biology**, v. 6, n. 3, p. 405–413, 2011.

MAHBOUBI, M.; HEIDARYTABAR, R.; MAHDIZADEH, E.; HOSSEINI, H. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus* species and *Zataria multiflora* essential oils. **Agriculture and Natural Resources**, v. 51, n. 5, p. 395–401, 2017.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCÍA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, n. 2, p. 129–135, 2004.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: Produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 137–156, 2010.

MANSO, S.; PEZO, D.; GÓMEZ-LUS, R.; NERÍN, C. Diminution of aflatoxin B1 production caused by an active packaging containing cinnamon essential oil. **Food Control**, v. 45, p. 101–108, 2014.

- MARTINS, M. A. R.; SILVA, L. P.; FERREIRA, O.; SCHRÖDER, B.; COUTINHO, J. A. P.; PINHO, S. P. Terpenes solubility in water and their environmental distribution. **Journal of Molecular Liquids**, v. 241, p. 996–1002, 2017.
- MEDINA-JARAMILLO, C.; OCHOA-YEPES, O.; BERNAL, C.; FAMÁ, L. Active and smart biodegradable packaging based on starch and natural extracts. **Carbohydrate Polymers**, v. 176, n. August, p. 187–194, 2017.
- MEDINA, J. C.; GUTIÉRREZ, T. J.; GOYANES, S.; BERNAL, C.; FAMÁ, L. Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 150–159, 2016.
- MEHDIZADEH, T.; TAJIK, H.; RAZAVI ROHANI, S. M.; OROMIEHIE, A. R. Antibacterial, antioxidant and optical properties of edible starch-chitosan composite film containing *Thymus kotschyanus* essential oil. **Veterinary Research Forum**, v. 3, n. 3, p. 167–173, 2012.
- MICHALSKA-SIONKOWSKA, M.; WALCZAK, M.; SIONKOWSKA, A. Antimicrobial activity of collagen material with thymol addition for potential application as wound dressing. **Polymer Testing**, v. 63, p. 360–366, 2017.
- MONTEIRO, M. K. S.; OLIVEIRA, V. R. L.; SANTOS, F. K. G.; BARROS NETO, E. L.; LEITE, R. H. L.; AROUCHA, E. M. M.; SILVA, R. R.; SILVA, K. N. O. Incorporation of bentonite clay in cassava starch films for the reduction of water vapor permeability. **Food Research International**, v. 105, n. May 2017, p. 637–644, 2018.
- MORALES, N. J.; CANDAL, R.; FAMÁ, L.; GOYANES, S.; RUBIOLO, G. H. Improving the physical properties of starch using a new kind of water dispersible nano-hybrid reinforcement. **Carbohydrate Polymers**, v. 127, p. 291–299, 2015.
- MORENO, O.; ATARÉS, L.; CHIRALT, A.; CRUZ-ROMERO, M. C.; KERRY, J. Starch-gelatin antimicrobial packaging materials to extend the shelf life of chicken breast fillets. **Lwt**, 2018.
- MOUSAVI, K. A.; HASHEMI, S. M. B.; LIMBO, S. Antimicrobial agents and packaging systems in antimicrobial active food packaging: An overview of approaches and interactions. **Food and Bioprocess Technology**, v. 111, p. 1–19, 2018.
- NEVES, M. C. P.; COELHO, I. da S.; DE ALMEIDA, D. L. Araruta: Resgate de um Cultivo Tradicional. **Embrapa**, p. 4, 2005.
- NOGUEIRA, G. F.; FAKHOURI, F. M.; OLIVEIRA, R. A. de. Extraction and characterization of arrowroot (*Maranta arundinaceae* L.) starch and its application in edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 186, n. January, p. 64–72, 2018.
- PAGNO, C. H.; COSTA, T. M. H.; DE MENEZES, E. W.; BENVENUTTI, E. V.; HERTZ, P. F.; MATTE, C. R.; TOSATI, J. V.; MONTEIRO, A. R.; RIOS, A. O.; FLÔRES, S. H. Development of active biofilms of quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) starch containing gold nanoparticles and evaluation of antimicrobial activity. **Food Chemistry**, v. 173, p. 755–762, 2015.
- PENG, L.; ZHONGDONG, L.; KENNEDY, J. F. The study of starch nano-unit chains in the gelatinization process. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, n. 2, p. 360–366, 2007.
- PEPE, L. S.; MORAES, J.; ALBANO, K. M.; TELIS, V. R. N.; FRANCO, C. M. L.

Effect of heat-moisture treatment on the structural, physicochemical, and rheological characteristics of arrowroot starch. **Food Science and Technology International**, v. 22, n. 3, p. 256–265, 9 abr. 2016.

PERDONES, Á.; CHIRALT, A.; VARGAS, M. Properties of film-forming dispersions and films based on chitosan containing basil or thyme essential oil. **Food Hydrocolloids**, v. 57, p. 271–279, 2016.

PRESTES, S.; OLIVEIRA, L. F.; BERTAN, L. C.; VASCONCELLOS, C. M.; DE RENSIS, B.; BILCK, A. P.; CRISTINA, P.; VIANNA, B. Whey protein-based films incorporated with oregano essential oil. **Polímeros**, v. 27, n. 2, p. 158–164, 2017.

QIN, Y.; LI, W.; LIU, D.; YUAN, M.; LI, L. Development of active packaging film made from poly (lactic acid) incorporated essential oil. **Progress in Organic Coatings**, v. 103, p. 76–82, 2017.

QUIROGA, A. L. B. Amidos Estrutura E Fontes. **Food Ingredients Brasil**, p. 35–2015, 2015.

RAMOS, M.; BELTRÁN, A.; PELTZER, M.; VALENTE, A. J. M.; GARRIGÓS, M. del C. Release and antioxidant activity of carvacrol and thymol from polypropylene active packaging films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, n. 2, p. 470–477, 2014.

REALINI, C. E.; MARCOS, B. Active and intelligent packaging systems for a modern society. **Meat Science**, v. 98, n. 3, p. 404–419, 2014.

REDDY, P. P. Plant protection in tropical root and tuber crops. **Plant Protection in Tropical Root and Tuber Crops**, p. 1–336, 2015.

REIS, R. C.; CÔRREA, P. C.; DEVILLA, I. A.; SANTOS, E. S.; ASCHERI, D. P. R.; SERVULO, A. C. O.; E SOUZA, A. B. M. Drying of yam starch (*Discorea* ssp.) and glycerol filmogenic solutions at different temperatures. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 651–656, 2013.

RHIM, J. W.; PARK, H. M.; HA, C. S. Bio-nanocomposites for food packaging applications. **Progress in Polymer Science**, v. 38, n. 10–11, p. 1629–1652, 2013.

RIBEIRO-SANTOS, R.; ANDRADE, M.; MELO, N. R. de; SANCHES-SILVA, A. Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. **Trends in Food Science and Technology**, v. 61, p. 132–140, 2017.

ROCHA, R. P. da; MELO, E. de C.; BARBOSA, L. C. de A.; CORBÍN, J. B.; BERBET, P. A. Influência do processo de secagem sobre os principais componentes químicos do óleo essencial de tomilho. **Revista Ceres**, v. 59, n. 5, p. 731–737, 2012.

ROCHA, G. O.; FARIAS, M. G.; CARVALHO, C. W. P. de; ASCHERI, J. L. R.; GALDEANO, M. C. Filmes compostos biodegradáveis a base de amido de mandioca e proteína de soja. **Polímeros**, v. 24, n. 5, p. 587–595, 2014.

ROMAN, M. J.; DECKER, E. A.; GODDARD, J. M. Biomimetic polyphenol coatings for antioxidant active packaging applications. **Colloids and Interface Science Communications**, v. 13, p. 10–13, 2016.

ROTA, M. C.; HERRERA, A.; MARTÍNEZ, R. M.; SOTOMAYOR, J. A.; JORDÁN, M. J. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis*

and *Thymus hyemalis* essential oils. **Food Control**, v. 19, p. 681–687, 2008.

RYU, V.; MCCLEMENTS, D. J.; CORRADINI, M. G.; MCLANDSBOROUGH, L. Effect of ripening inhibitor type on formation, stability, and antimicrobial activity of thyme oil nanoemulsion. **Food Chemistry**, v. 245, n. September 2017, p. 104–111, 2018.

SABERI, B.; CHOCKCHAI SAWASDEE, S.; GOLDING, J. B.; SCARLETT, C. J.; STATHOPOULOS, C. E. Characterization of pea starch-guar gum biocomposite edible films enriched by natural antimicrobial agents for active food packaging. **Food and Bioproducts Processing**, v. 105, p. 51–63, 2017.

SADEKUZZAMAN, M.; MIZAN, M. F. R.; KIM, H. S.; YANG, S.; HA, S. Do. Activity of thyme and tea tree essential oils against selected foodborne pathogens in biofilms on abiotic surfaces. **LWT - Food Science and Technology**, v. 89, p. 134–139, 2018.

SAPPER, M.; WILCASO, P.; SANTAMARINA, M. P.; ROSELLÓ, J.; CHIRALT, A. Antifungal and functional properties of starch-gellan films containing thyme (*Thymus zygis*) essential oil. **Food Control**, v. 92, p. 505–515, 2018.

SOARES, I. F. de O.; FAKHOURI, F. M.; GIRALDI, A. L. F. de M.; BUONTEMPO, R. C. Síntese E Caracterização De Biofilmes De Amido Plastificados Com Glicerol Ou Triacetina. **FOCO: caderno de estudos e pesquisas**, v. 0, n. 7, 2016.

SOTELO-BOYÁS, M.; CORREA-PACHECO, Z.; BAUTISTA-BAÑOS, S.; GÓMEZ Y GÓMEZ, Y. Release study and inhibitory activity of thyme essential oil-loaded chitosan nanoparticles and nanocapsules against foodborne bacteria. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 103, p. 409–414, 2017.

SOUSA, L. C. F. S.; SOUSA, J. da S.; BORGES, M. da G. B.; MACHADO, A. V.; SILVA, M. J. S. da; FERREIRA, R. T. F. V.; SALGADO, A. B. Tecnologia de embalagens e conservação de alimentos quanto aos aspectos químico e microbiológico. **Universidade Federal de Campina Grande. Centro de Saúde e Tecnologia Rural – CSTR. Campus de Patos – PB.**, v. V. 8, n. 1, n. 1, p. 19–27, 2012.

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 and Technology**, v. 33, n. 2, p. 110–123, 2013.

TALÓN, E.; TRIFKOVIC, K. T.; NEDOVIC, V. A.; BUGARSKI, B. M.; VARGAS, M.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Antioxidant edible films based on chitosan and starch containing polyphenols from thyme extracts. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 1153–1161, 2017.

VALDERRAMA, A. C. S.; ROJAS, G. C. de. Traceability of Active Compounds of Essential Oils in Antimicrobial Food Packaging Using a Chemometric Method by ATR-FTIR. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 08, n. 11, p. 726–741, 2017.

VALDERRAMA, B. N.; ALGECIRA, E. N. A.; ALBARACÍN, H. W. Efeito do armazenamento sobre a cor de filmes de quitosana. **Polímeros**, v. 26, n. spe, p. 25–36, 2016.

VEJDAN, A.; OJAGH, S. M.; ADELI, A.; ABDOLLAHI, M. Effect of TiO₂ nanoparticles

on the physico-mechanical and ultraviolet light barrier properties of fish gelatin/agar bilayer film. **LWT - Food Science and Technology**, v. 71, p. 88–95, 2016.

VILLAS-BOAS, F.; FRANCO, C. M. L. Effect of bacterial β -amylase and fungal α -amylase on the digestibility and structural characteristics of potato and arrowroot starches. **Food Hydrocolloids**, v. 52, 2016.

WALENTOWSKA, J.; FOKSOWICZ-FLACZYK, J. Thyme essential oil for antimicrobial protection of natural textiles. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 84, p. 407–411, 2013.

WANG, S.; SHARP, P.; COPELAND, L. Structural and functional properties of starches from field peas. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1546–1552, 2011.

WANG, X.; REDDY, C. K.; XU, B. A systematic comparative study on morphological, crystallinity, pasting, thermal and functional characteristics of starches resources utilized in China. **Food Chemistry**, v. 259, n. March, p. 81–88, 2018.

XU, J.; ZHOU, F.; JI, B. P.; PEI, R. S.; XU, N. The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 174–179, 2008.

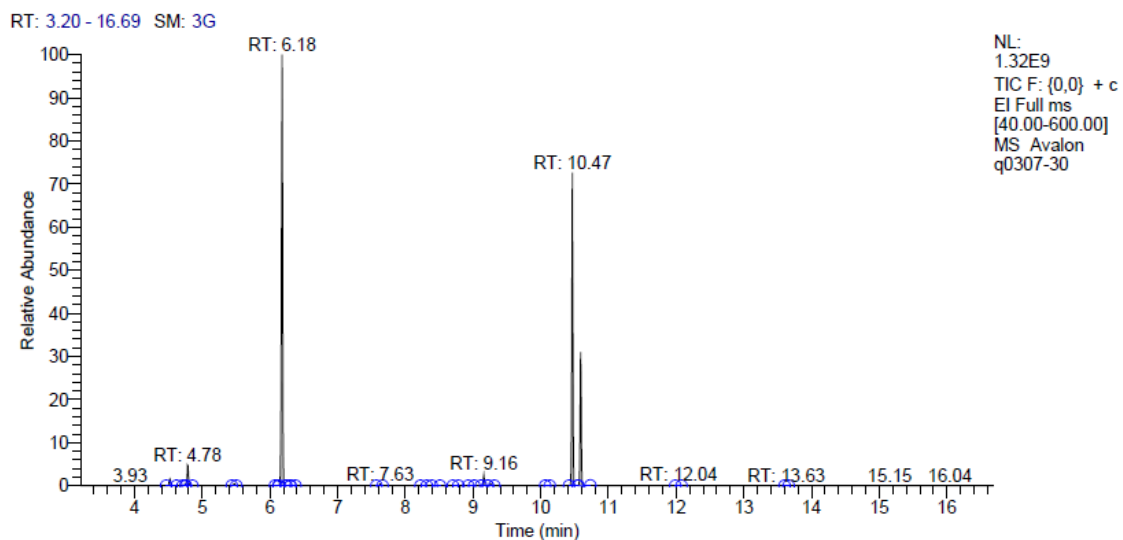
YAO, L.; HOU, G.; WANG, L.; ZUO, X. shu; LIU, Z. Protective effects of thymol on LPS-induced acute lung injury in mice. **Microbial Pathogenesis**, v. 116, n. December 2017, p. 8–12, 2018.

ZÁRATE, N. A. H.; VIEIRA, M. do C. Produção da araruta “Comum” proveniente de três tipos de propágulos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 5, p. 995–1000, 2005.

ZHANG, Y.; MA, Q.; CRITZER, F.; DAVIDSON, P. M.; ZHONG, Q. Organic thyme oil emulsion as an alternative washing solution to enhance the microbial safety of organic cantaloupes. **Food Control**, v. 67, p. 31–38, 2016.

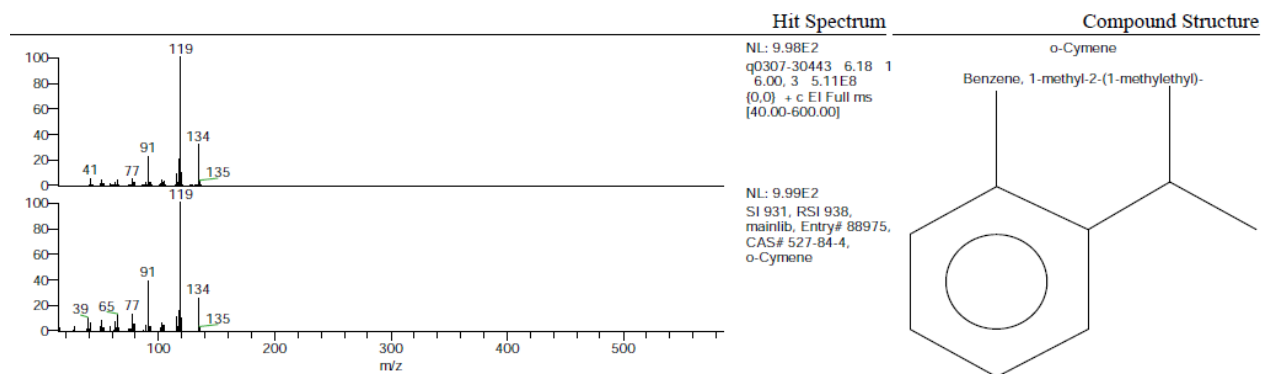
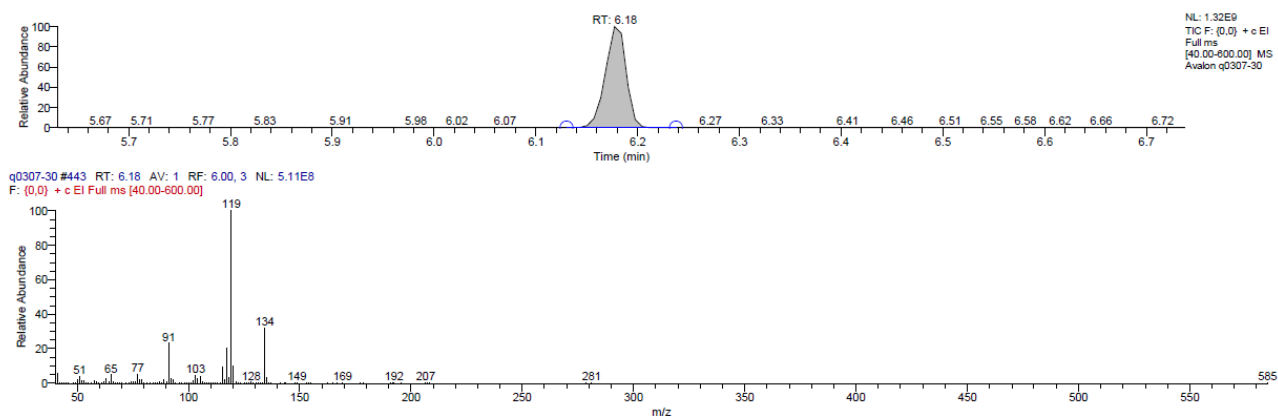
ZHONG, Y.; SONG, X.; LI, Y. Antimicrobial, physical and mechanical properties of kudzu starch-chitosan composite films as a function of acid solvent types. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 1, p. 335–342, 2011.

APÊNDICE A – CROMATOGRAMA DE GC-MS DO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO

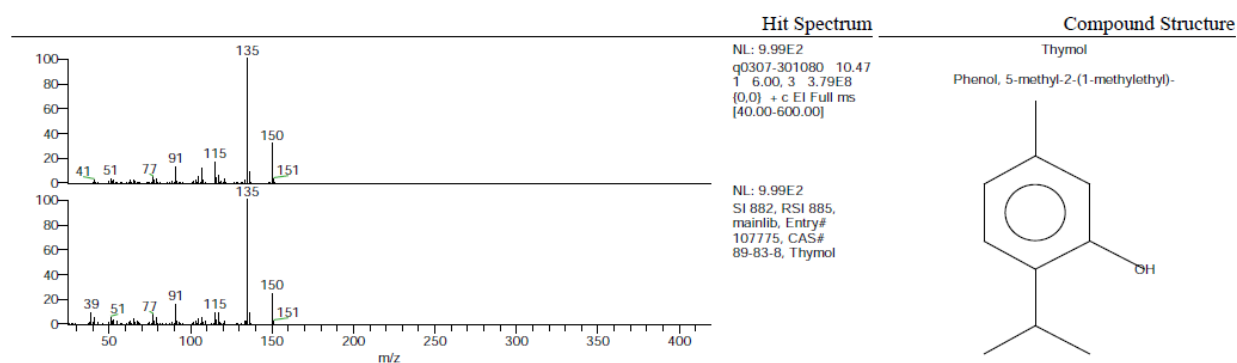
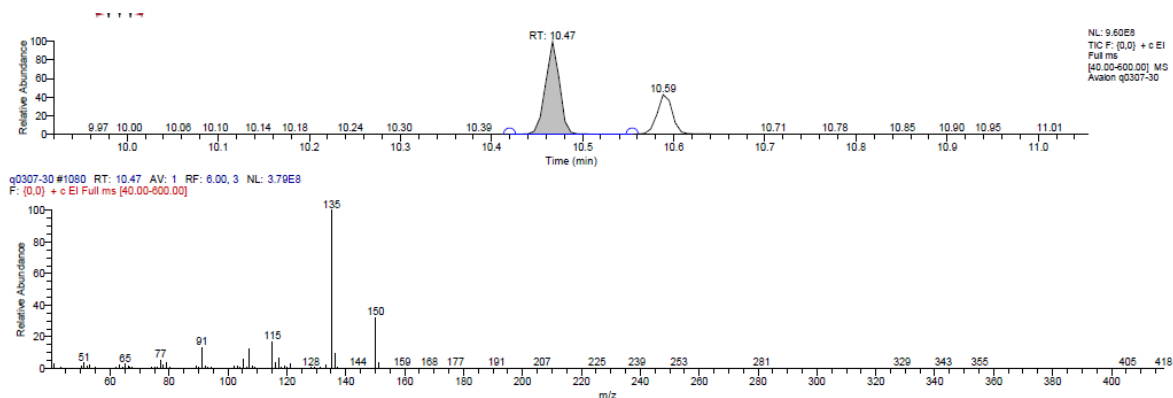


RT	Composto	Área (%)
6,18	Cimeno	52,16
10,47	Timol	28,21%
10,59	Carvacrol	13,27%

APÊNDICE B – ESPECTRO DE MASSA DO CIMENO



APÊNDICE C – ESPECTRO DE MASSA DO TIMOL



APÊNDICE D – ESPECTRO DE MASSAS CARVACROL

