



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO TECNOLÓGICO  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E  
ENGENHARIA DE ALIMENTOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA  
QUÍMICA**

**ALVARO VARGAS JÚNIOR**

**BLENDAS DE POLIETILENO-AMIDO DUO-FUNCIONAIS:  
AÇÕES ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA EM PRODUTO  
CÁRNEO**

**FLORIANÓPOLIS (SC)  
2014**



**ALVARO VARGAS JÚNIOR**

**BLENDAS DE POLIETILENO-AMIDO DUO-FUNCIONAIS:  
AÇÕES ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA EM PRODUTO  
CÁRNEO**

Trabalho submetido ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina como pré-requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Engenharia Química.

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mara Gabriela Novy Quadri

**Coorientador:** Prof. Dr. Nei Fronza.

FLORIANÓPOLIS (SC)  
2014

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Vargas Júnior, Alvaro

Blendas de Polietileno-Amido Duo-Funcionais: Ações Antioxidante e Antimicrobiana em Produto Carne/ Alvaro Vargas Júnior; orientadora, Mara Gabriela Novy Quadri / coorientador, Nei Fronza –Florianópolis, SC; 2014. 132 pg.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programade Pós-Graduação em Engenharia Química.

Inclui referências

1. Engenharia Química. 2.Embalagem ativa. 3. Biodegradável. 4. Amido.5. Polietileno. 6. Ácido cítrico. I. Quadri, Mara Gabriela Novy. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós- Graduação em Engenharia Química. III. Título.

Alvaro Vargas Junior

**BLENDAS DE POLIETILENO-AMIDO DUO-FUNCIONAIS:  
AÇÕES ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA EM PRODUTO  
CÁRNEO**

Esta Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de Doutor em Engenharia Química e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

---

Prof. Dr. Ricardo Antonio Francisco Machado  
Coordenador

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mara Gabriela Novy Quadri  
Orientadora

---

Prof. Dr. Nei Fronza  
coorientador

**Banca Examinadora:**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cintia Soares

---

Prof. Dr. Marco Di Luccio

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Regina Salvador Ferreira

---

Prof. Dr. José Ricardo da Silva Rodrigues

---

Prof. Dr. Luiz Severo da Silva Junior

Florianópolis 11 de Julho de 2014.



## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, pelos passos firmes que realizo e muitíssimo obrigado pelas pessoas que conheci e fizeram parte deste trabalho e que certamente fazem parte da minha vida, as quais sou grato...

A professora Mara, por ter me acolhido, ter acreditado na ideia, pelas palavras sábias, orientações/reuniões/visitas que aconteceram em diversos locais além de Florianópolis, como Concórdia, Videira e Criciúma.

Ao grande colega, amigo e por que não dizer irmão, Nei Fronza, que participou de forma marcante e significativa deste trabalho e por minha sorte participa diariamente de minha vida. Meus sinceros agradecimentos pelos momentos eloquentes e alegres na realização deste trabalho e em nosso dia-a-dia.

A minha esposa, Andréia ou como costumeiramente a chamo Duda, pelo companheirismo, pela calma, tranquilidade e grande virtude de tornar as coisas para mim mais fáceis, sempre com olhar otimista.

A minha família, pela atenção e por entenderem minha ausência em alguns momentos importantes. Agradeço profundamente a minha mãe, Natalina e ao meu pai Álvaro (*in memoriam*). Estendo os agradecimentos a Cinthia, Dirceu e Daniele. Também de forma muito especial agradeço pelos momentos revigorantes aos meus afilhados: Lavínia, Isabela, Bernardo e Lívia.

Ao apoio dos colegas do Instituto Federal Catarinense: Andréia Dalla Rosa, Carina, Claudio, Diógenes, Fabi, Eduardo, Felipe, Gini, Gustavo, Lúcio, Maria Manuela, Mário, Neiva, Nelsi, Sheila e Vanessa. Também a direção pelas condições necessárias para realização deste trabalho.

Aos membros da banca de avaliação por aceitarem o convite, contribuírem e se disponibilizarem a analisar este trabalho.

Agradeço as Instituições e empresas que contribuíram em etapas importantes deste trabalho: UFSC, IFC Câmpus Concórdia, UFRGS, Videplast, Plascon e Braskem.

Enfim, a todos os que me apoiaram minha gratidão e meu muito obrigado!

## RESUMO

Nas últimas décadas a cadeia produtiva de alimentos foi alvo de inovações principalmente sob dois aspectos: a problemática do uso excessivo de aditivos incorporados diretamente aos alimentos, e quanto ao aumento do consumo de materiais plásticos tradicionais para a fabricação de embalagens que, por sua vez, impactam em questões ambientais. Neste contexto, foram elaborados filmes biodegradáveis multifuncionais com polímero natural (amido de milho) e polímero sintético (polietileno linear de baixa densidade - PELBD), nas concentrações de amido 10, 20, 30, 40, 50 %, denominados de F10, F20, F30, F40 e F50, respectivamente, aditivados com ácido cítrico como agente antioxidante, antimicrobiano e compatibilizante. Também foi produzido um filme controle (FC) somente de PELBD. A microscopia eletrônica de varredura demonstrou que a incorporação do amido provocou alterações na superfície devido a uma distribuição não uniforme e existência de cristais, principalmente nos filmes com maior proporção mássica de amido. Estas características influenciaram as propriedades mecânicas, com uma diminuição da Resistência máxima à Tração dos filmes com concentrações superiores a 10% da mistura de amido. Efeito semelhante foi percebido no Alongamento até a ruptura e Módulo de elasticidade. A solubilidade e o grau de intumescimento dos filmes em água aumentaram de forma diretamente proporcional à concentração de amido dos filmes. Em relação aos parâmetros de cor dos filmes foi observado um aumento na Luminosidade e na intensidade da cor vermelha ( $a^*$ ) principalmente para os filmes com maior adição de amido (F40 e F50). A cor amarela ( $b^*$ ) foi intensificada significativamente nos filmes F30, F40 e F50. Na análise termogravimétrica das *blendas* foi demonstrado que a degradação ocorre em três estágios, com mudanças relativas à proporção de amido, diferentemente do FC que degradou em apenas um estágio. Os espectros FT-IR para os diferentes filmes apresentaram bandas de absorção típicas dos grupos funcionais do PELBD com um aumento gradativo na intensidade dos picos característicos do amido de acordo com sua incorporação. Referente à condutividade elétrica dos filmes, esta aumentou com a adição da mistura de amido. Após caracterização, o filme foi avaliado quanto à atividade antioxidante/antimicrobiana na conservação de amostras de carne armazenadas em refrigeração. O filme F30 apresentou uma redução significativa dos índices de TBARs e no último dia de armazenamento nos valores de pH e na contagem bacteriana total da carne quando comparadas ao FC (não ativo). Foi

detectada uma melhora em relação à cor da carne embalada, com aumento significativo de  $a^*$  e *Chroma*, característicos da cor vermelha desejável de carnes bovinas. Na avaliação da migração do ácido cítrico em meio simulante, foi detectada migração a partir do segundo dia de armazenamento. A biodegradabilidade dos filmes foi confirmada pela inoculação em meio com *Aspergillus niger*, pela ação direta da enzima amilase e em solo. O filme ativo biodegradável se apresenta como uma boa alternativa para o armazenamento de carne bovina, tanto sob os aspectos de qualidade da carne, oxidação de gorduras, degradação microbiana e coloração, quanto pela necessária redução do uso de materiais plásticos convencionais na cadeia produtiva cámea.

**Palavras chave:** Embalagem ativa; Biodegradável; Amido; Polietileno; Ácido cítrico; Carne bovina.

## ABSTRACT

In recent decades the food chain was the target of innovations mainly in two aspects: the problem of excessive use of additives incorporated directly to food, and about of increased consumption of traditional plastics for the manufacture of packaging which, in turn, impact on environmental issues. In this context, biodegradable films with natural polymer (corn starch) and synthetic polymer (linear low density polyethylene - LLDPE) were prepared at concentrations of starch 10, 20, 30, 40, 50%, called F10, F20, F30, F40 and F50, respectively, with additives citric acid as antioxidant, antimicrobial and coupling agent. Also produced a film control (FC) only of LLDPE. The Scanning Electron Microscopy showed that the incorporation of starch caused changes on the surface of the films. These characteristics influence the mechanical properties of the films, with a decrease of Tensile Strength in concentrations higher than 10% of the starch. A similar effect was observed in Elongation at Break and Modulus of Elasticity. The water vapor permeability of the films was affected by the incorporation of starch, but was framed as moderate. The solubility and degree of swelling of the films in water increased in direct proportion to the concentration of starch films. Regarding the color parameters of the films was observed an increase in brightness and intensity of redness ( $a^*$ ) mainly for F40 and F50. The yellow color ( $b^*$ ) was significantly enhanced in F30, F40 and F50. In Thermogravimetric analysis of blends was shown deterioration in three stages, with changes on the proportion of starch, unlike FC has degraded in just one stage. The FT-IR spectra for the different films presented the typical absorption bands of the functional groups of LLDPE with a gradual increase in the intensity of the characteristic peaks of starch according to their incorporation. In relation the electrical conductivity of the films, was observed a increased with the addition of the mixture of starch. After characterization, the film was evaluated for antioxidant/antimicrobial activity in the conservation of meat samples stored under refrigeration. The film F30 showed a significant reduction of oxidation (TBARS), pH and total bacterial count of meat when compared with samples from FC (not active). An improvement was detected in relation to the color of packaged meat, with significant increase in  $a^*$  and Chroma, the desirable characteristic red color of beef. The migration of citric acid in simulating media was detected from the second day of storage. The biodegradability of the films was confirmed by inoculation in medium with *Aspergillus niger* by the direct action of the enzyme amylase and

soil. The biodegradable active film was presented as a good alternative for storage of beef, due to preserve aspects of meat quality like: lipid oxidation, microbial degradation and staining, and by reducing the use of conventional plastic materials in the meat production chain.

**Keywords:** Active packaging; Biodegradable; Starch; Polyethylene; Citric acid; Beef.

## LISTA DE ABREVIATURAS

- A - Alongamento na ruptura  
a\* - Parâmetro de cromacidade (verde-vermelho)  
AC - Ácido cítrico  
ATCC - *American Type Culture Collection*  
Aw - Atividade de água  
b\* - Parâmetro de cromacidade (azul-amarelo)  
BHA - Butilhidroxianosil  
BHT - Butilhidroxitolueno  
BPF - Boas Práticas de Fabricação  
C\* - Índice Chroma  
CTB - Contagem Bacteriana Total  
DSC - Calorimetria diferencial de varredura  
EVA - Etileno Acetato de Vinila  
EVOH - Etileno Álcool-Vinílico  
FAO - *Food and Agriculture Organization*  
FDA - *Food and Drug Administration*  
FT-IR - Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier  
GI - Grau de intumescimento em água  
GRAS - *Generally Recognised as Safe*  
INS - Sistema Internacional de Numeração (*International Numbering System*)  
L\* - Luminosidade (preto-branco)  
MA - Mistura de amido  
ME - Módulo de elasticidade  
MEV - Microscopiaeletrônica de varredura  
MIC - Concentração mínima inibitória (*Minimal Inhibitory Concentration*)  
OMb - Oximioglobina  
PCA - Ágar padrão para contagem (*Plate Count Agar*)  
PDA - Ágar batata dextrose (*Potato Dextrose Agar*)  
PE - Polietileno  
PEAD - Polietileno de alta densidade  
PEBD - Polietileno de baixa densidade  
PELBD - Polietileno linear de baixa densidade  
PEO - Poli (óxido de etileno)  
PG - Propil galato  
PHB - Polihidroxibutirato  
PHBV - Polihidroxibutirato-co-valerato

PLA - Ácido polilático  
PM -Perda de massa  
PP - Polipropileno  
PS - Poliestireno  
PVA - Permeabilidade ao Vapor de Água  
PVC - Poli (cloreto de vinila)  
RDC - Resolução da Diretoria Colegiada  
 $R_{máx}T$  - Resistência máxima a tração  
SA - Solubilidade total em água  
TBA - Ácido tiobarbitúrico (*Thiobarbituric Acid*)  
TBARs - Substâncias reagentes ao TBA (*Thiobarbituric Acid Reactive Substances*)  
TBHQ - Terc-butil-hidroquinona  
TCA - Ácido tricloroacético  
TGA -Análisetermogravimétrica  
TPO<sub>2</sub>-Taxa de Permeabilidade ao Oxigênio  
TPS - Amido termoplástico (*Thermoplastic Starch*)  
UFC.g<sup>-1</sup> - Unidade formadora de colônias por grama de amostra  
UFC/cm<sup>2</sup> - Unidade formadora de colônias por centímetro quadrado  
WI - Índice de Transparência (*Whiteness Index*)  
 $\Delta E$  - diferença de cor  
WVP - *Water Vapor Permeability*  
YI - Índice de amarelamento (*Yellowness Index*)

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Frequência de publicações envolvendo as palavras-chaves “ <i>blends</i> ” “ <i>Food packaging</i> ” .....	26
Figura 2 - Estrutura química e representação das frações do amido.....	32
Figura 3 - Curva de tração em função da deformação.....	38
Figura 4 - Estrutura do ácido cítrico.....	46
Figura 5 - Fluxograma esquemático da abordagem do estudo da produção de embalagens ativas biodegradáveis.....	56
Figura 6 - <i>Blenda</i> (a) e <i>blenda</i> triturada (b).....	69
Figura 7 - Foto do filme controle e das <i>blendas</i> F10, F20, F30, F40 e F50 contendo, respectivamente, 10, 20, 30, 40, 50% de mistura de amido.....	71
Figura 8 - Micrografias (1000x) do filme controle e das <i>blendas</i> F10, F20, F30, F40 e F50 contendo, respectivamente, 10, 20, 30, 40, 50% de mistura de amido.....	73
Figura 9 - Percentual de solubilidade de cada filme elaborado.....	77
Figura 10 - Atividade de água de cada filme elaborado.....	79
Figura 11 - Índice de “ <i>Amarelamento</i> ” ( <i>YI</i> ) dos filmes avaliados.....	83
Figura 12 - Curvas termogravimétricas para o filme controle (FC) e <i>blendas</i> de amido/PELBD (F10, F20, F30, F40 e F50).....	85
Figura 13 - Espectros de FT-IR para cada tratamento.....	87
Figura 14 - Determinação da condutividade elétrica do filme controle e das <i>blendas</i> de amido/PELBD F10, F20, F30, F40 e F50.....	88
Figura 15 - Evidência do crescimento de <i>Aspergillus niger</i> na superfície do filme FC (a) e nas <i>blendas</i> de amido/PELBD F10 (b), F20 (c), F30 (d), F40 (e) e F50 (f) após 21 dias de incubação a 25°C.....	91
Figura 16 - Percentual de perda de massa do filme FC e das <i>blendas</i> de amido/PELBD (F10 - F50) após 21 dias de armazenamento em meio inoculado com <i>Aspergillus niger</i> .....	92
Figura 17 - Resistência máxima a tração do filme FC e das <i>blendas</i> amido/PELBD (F10 - F50) após 21 dias de armazenamento em meio inoculado com <i>Aspergillus niger</i> .....	93
Figura 18 - Avaliação da perda de massa das <i>blendas</i> (F10-F50) e filme do controle (FC) submetidos à biodegradação em solo por 30; 60	

e 90 dias.....	96
Figura 19 - Migração do ácido cítrico do filme F30 para o meio simulantedurante o período de armazenamento.....	98
Figura 20 - Contagem bacteriana total (CBT) da carne embalada nos filmes FC e F30 durante o período de armazenamento.....	99
Figura 21 - Determinação dos níveis de TBARs da carne embalada nos filmes FC e F30 durante o período de armazenamento.....	101
Figura 22 - Coloração das carnes embaladas nos filmes FC (a) e F30 (b) no décimo dia de armazenamento.....	105
Figura 23 - pH das carnes embaladas nos filmes FC e F30 durante o armazenamento.....	106

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - <i>Blendas</i> de amido e polímeros sintéticos.....	35
Tabela 2 - Resumo dos agentes antimicrobianos <i>versus</i> micro-organismo alvo/suporte polimérico.....	43
Tabela 3 - Aditivos antioxidantes empregados em matrizes poliméricas.....	45
Tabela 4 - Microbiologia da carne: principais gêneros de bactérias deteriorantes, patogênicas e de bolores e leveduras.....	50
Tabela 5 - Abreviação dos materiais elaborados assim como as respectivas composições mássicas.....	57
Tabela 6 - Propriedades físicas das <i>blendas</i> de amido (F10 – F50) e do filme controle (FC).....	75
Tabela 7 - Resultado da análise de intumescimento dos filmes (F10-F50) e para filme controle (FC).....	78
Tabela 8 - Resultados dos parâmetros de cor L*, a* e b*, da variação de cor ( $\Delta E$ ) e do Índice de <i>transparência</i> (WI) das <i>blendas</i> (F10-F50) e para filme controle (FC).....	81
Tabela 9 - Resultados da Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA) dos filmes controle (FC) e <i>blendas</i> de amido/PELBD.....	89
Tabela 10 - Avaliação da perda de massa e da Resistência máxima a tração das <i>blendas</i> (F10-F50) e filme controle (FC) após biodegradação enzimática por alfa-amilase.....	94
Tabela 11 - Perda da Resistência máxima a tração ( $R_{m\acute{a}xT}$ ) (%) das <i>blendas</i> (F10-F50) e filme controle (FC) submetidos a biodegradação em solo por 30; 60 e 90 dias.....	97
Tabela 12 - Resultados dos parâmetros de cor L*, a* e b* e do Índice Chroma das carnes embaladas no filme controle (FC) e F30.....	102
Tabela 13 - Resultados da Atividade de água ( $A_w$ ) das carnes embaladas no filme controle (FC) e F30.....	107



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>23</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>27</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	27
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	27
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>29</b>
3.1 ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS POLÍMEROS VERSUS IMPACTO AMBIENTAL: CENÁRIO ATUAL.....	29
3.2 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS.....	30
3.3 AMIDO: CARACTERÍSTICAS PARA PRODUÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS.....	31
3.3.1 <i>Blendas</i> poliméricas de amido.....	34
3.4 EXTRUSÃO DE POLÍMEROS.....	36
3.5 INTEGRIDADE DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, MORFOLÓGICAS, MECÂNICAS, DE BARREIRA E DE TRANSLUCIDEZ.....	36
<b>3.5.1 Propriedades físico-químicas.....</b>	<b>37</b>
<b>3.5.2 Propriedades morfológicas e mecânicas.....</b>	<b>37</b>
<b>3.5.3 Propriedades de barreira.....</b>	<b>40</b>
<b>3.5.4 Propriedades ópticas.....</b>	<b>40</b>
3.6 EMBALAGENS ATIVAS.....	40
<b>3.6.1 Aditivos funcionais antimicrobianos e antioxidantes aplicados em embalagens para alimentos.....</b>	<b>42</b>
3.6.1.1 <i>Ácido cítrico</i> .....	46
<b>3.6.2 Migração do agente ativo.....</b>	<b>48</b>
<b>3.6.3 Legislação para embalagens ativas.....</b>	<b>48</b>
3.7 APLICAÇÃO DE FILMES ATIVOS EM CARNE.....	49
<b>3.7.1 Microbiologia da carne.....</b>	<b>49</b>
<b>3.7.2 Processos oxidativos na carne.....</b>	<b>52</b>
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>55</b>
4.1. ASPECTOS GERAIS DA TESE.....	55
4.2. OBTENÇÃO DAS <i>BLENDS</i> E FABRICAÇÃO DOS FILMES.....	56
<b>4.2.1. Formulação das <i>blendas</i> (misturas amido/PELBD) (primeira Etapa).....</b>	<b>56</b>

4.2.2. Obtenção dos <i>pellets</i> das misturas (segunda etapa) .....	58
4.2.3. Extrusão dos filmes (terceira etapa) .....	58
4.3. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES.....	58
4.3.1 Espessura e propriedades mecânicas dos filmes.....	58
4.3.2 Morfologia de superfície.....	59
4.3.3 Determinação das propriedades óptica dos filmes.....	60
4.3.4 Solubilidade e grau de intumescimento em água.....	60
4.3.5 Análises de FT-IR.....	61
4.3.6 Estudos térmicos.....	62
4.3.7 Atividade de água.....	62
4.3.8 Propriedades elétricas dos filmes.....	62
4.3.9 Permeabilidade ao vapor de água ( <i>PVA</i> ).....	63
4.4. ESTUDO DA BIODEGRADABILIDADE DOS FILMES.....	63
4.4.1. Biodegradação em meio inoculado com <i>Aspergillus niger</i> ....	64
4.4.2. Degradação enzimática.....	64
4.4.3 Biodegradação em solo.....	64
4.5 PREPARO DAS AMOSTRAS DE CARNE BOVINA, ACONDICIONAMENTO NO FILME ATIVO E AVALIAÇÃO DOS ÍNDICES DE QUALIDADE.....	65
4.5.1 Acondicionamento das amostras de carne nos filmes.....	65
4.5.2 Determinação de parâmetros de qualidade da carne: contagem bacteriana total (CBT), oxidação (TBARs), coloração, pH e atividade de água e durante o armazenamento.....	66
4.5.2.1 Avaliação microbiológica da carne durante o armazenamento.....	66
4.5.2.2 Avaliação da oxidação das carnes embaladas.....	66
4.5.2.3 Avaliação da coloração das carnes embaladas.....	67
4.5.2.4 Determinação do pH.....	67
4.5.2.5 Determinação da atividade de água ( <i>Aw</i> ) durante o armazenamento.....	67
4.6 AVALIAÇÃO DA MIGRAÇÃO DO ÁCIDO CÍTRICO DAS EMBALAGENS PARA O MEIO SIMULANTE.....	68
4.7 TRATAMENTO DE DADOS.....	68
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>69</b>
5.1. CARACTERÍSTICAS VISUAIS DOS FILMES	

BIODEGRADÁVEIS.....	69
5.2. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES.....	72
5.2.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	72
5.2.2 Espessura e Propriedades mecânicas dos filmes.....	74
5.3. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS FILMES.....	76
5.3.1 Solubilidade (SA) e Grau de intumescimento (GI) em água dos filmes.....	76
5.3.2 Atividade de água (Aw) dos filmes.....	79
5.3.3 Cor dos filmes.....	79
5.3.4 Propriedades termogravimétricas.....	83
5.3.5 Espectros na região do Infravermelho (FT-IR) .....	86
5.3.6. Espectroscopia de Impedância.....	87
5.3.7. Permeabilidade ao vapor de água.....	89
5.4. ESTUDO DE BIODEGRADAÇÃO.....	90
5.4.1 Biodegradação por <i>Aspergillus niger</i> .....	90
5.4.2 Degradação enzimática.....	94
5.4.3 Biodegradação em solo.....	95
5.5. AVALIAÇÃO DA MIGRAÇÃO DO ÁCIDO CÍTRICO E DO EFEITO FUNCIONAL DAS EMBALAGENS.....	97
5.5.1. Estudos de migração.....	98
5.5.2. Avaliação do efeito antimicrobiano e antioxidante.....	99
5.5.3 Coloração da carne.....	102
5.5.4 pH.....	106
5.5.5 Atividade de água (Aw) .....	107
6. CONCLUSÕES.....	109
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	111
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	113



# 1. INTRODUÇÃO

Não é de hoje a necessidade de pesquisas e/ou implementação de processos que atendam, mesmo que parcialmente, às exigências de consumidores quanto à conveniência, qualidade e praticidade que, por sua vez, modificam os padrões de consumo, impulsionando o desenvolvimento dos mais diferentes setores produtivos.

Neste sentido, a cadeia produtiva de alimentos, na última década, foi alvo de inovações em questões envolvendo produtividade e segurança alimentar. Por outro lado, estes grandes volumes de alimentos produzidos para atender os novos padrões de consumo, influenciaram negativamente dois aspectos de grande importância: o uso excessivo de aditivos conservadores nos alimentos (MURIEL-GALET et al., 2012; JUNQUEIRA et al., 2009), e o aumento do consumo de materiais plásticos tradicionais necessários para a fabricação de embalagens que, por sua vez, impactam em questões ambientais.

Desta forma, o uso de polímeros de fontes naturais e com maior degradabilidade na natureza, aliado ao conceito de conservação auxiliar por sistemas de embalagens ativas, poderiam atuar estrategicamente sob diferentes aspectos: conservação do alimento e redução do consumo de plásticos de fontes não renováveis e com maior biodegradabilidade.

Os sistemas de embalagens ativas podem ser descritos como sistemas auxiliares de conservação, nos quais uma ou mais substâncias são liberadas de forma controlada do envoltório para a superfície (região de maior contaminação) do alimento no qual está em contato. A liberação seletiva e controlada pode ser capaz de inibir e/ou controlar reações ou processos indesejáveis específicos, usualmente com a finalidade de aumentar a vida de prateleira de um alimento (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002), ou mesmo reduzir as quantidades dos aditivos intencionalmente adicionados aos produtos (SANTOS; SOARES; ENDO, 2009).

Diversos princípios ativos têm sido incorporados às embalagens com o intuito de torná-las ativas e estes são classificados de forma geral na literatura como naturais ou sintéticos. Dentre as substâncias sintéticas, destacam-se, por efeito, os sais inorgânicos liberadores de íons prata, a prata nano e microparticulada e os ácidos orgânicos e sais derivados. Dentre os oriundos de fontes naturais, os óleos e extratos

naturais de plantas e espécies condimentares que, na forma individual ou combinada, são frequentemente incorporados ao material de embalagem polietileno.

Os aditivos sintéticos merecem destaque no que se refere ao desempenho ativo, principalmente sob o aspecto de controle microbiológico de espécies patogênicas e deteriorantes de importância em alimentos. Contudo, são frequentemente alvo de críticas sob o aspecto toxicológico. Porém os antimicrobianos e antioxidantes naturais, muito embora não apresentem problemas relacionados ao aspecto toxicológico, estes aditivos, diferentemente dos sintéticos, geralmente não apresentam efeito considerável na vida de prateleira, estabilidade química e/ou térmica e padronização quanto à composição e grau de pureza, pois sua produção depende de fatores sazonais, além de, em muitos casos, agregarem características organolépticas indesejáveis nos produtos aos quais são utilizados. Ainda em se tratando de embalagens ativas, além dos fatores relacionados aos aditivos incorporados, o polímero constituinte também deve ser avaliado tanto em aspectos técnicos como também sob o ponto de vista ambiental.

Materiais com maior capacidade de degradação podem ser entendidos como aqueles obtidos através da substituição total ou parcial da fração de polímeros convencionais (derivados do petróleo) por polímeros naturais, e tais misturas são denominadas *deblendas* poliméricas ou mesmo *bioblandas* (RAHMAN et al., 2012; SIONKOWSKA, 2011). As *blendas* para elaboração de embalagens apresentam como grande vantagem, por sua vez, um avanço na produção de novos materiais poliméricos. Esses materiais visam combinar propriedades desejáveis dos polímeros sintéticos (alta resistência mecânica e ao impacto, alta barreira contra gases, transparência e maleabilidade) com propriedades dos polímeros naturais (biodegradabilidade, biodisponibilidade e fonte renovável). Assim, são produzidos materiais com propriedades novas e sinérgicas os quais, finalmente, possibilitam a incorporação de aditivos, gerando embalagens com atividades específicas.

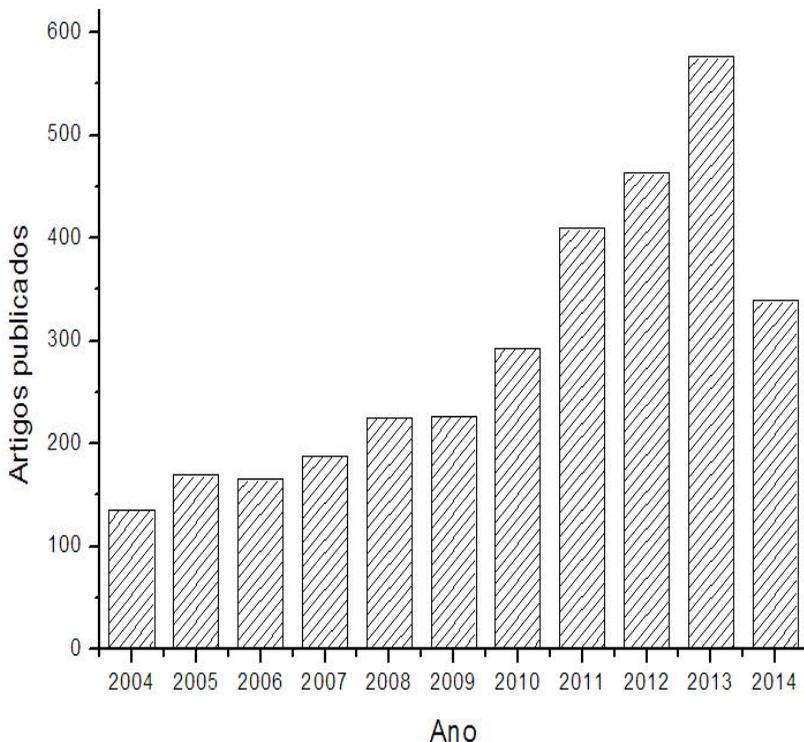
O estado da arte para as *blendas* aplicáveis à fabricação de embalagens mais biodegradáveis atingiu um nível de conhecimento que engloba procedimentos bem sistematizados para a produção de *blendas* de polímeros naturais como amido e polímeros sintéticos, mas enfrenta, por outro lado, uma série de desafios em se tratando da elaboração de

sistemas de embalagens ativas com esta base polimérica, como, por exemplo, adição de substância com capacidade antimicrobiana/antioxidante ou mesmo com outra potencialidade conservadora para alimentos. No foco de embalagens ativas com vistas à conservação de produtos cárneos, os ácidos orgânicos apresentam-se como uma alternativa viável, pois algumas espécies tem seu uso regulamentado por diversos organismos de controle ao redor do mundo, a exemplo do ácido cítrico, previsto neste trabalho com o aditivo funcional.

O ácido cítrico é uma substância multifuncional (antioxidante, antimicrobiana, acidulante e compatibilizante) que pode ser obtida, principalmente, por processos fermentativos de alguns micro-organismos sob condições controladas (biossíntese) e também por meio de extração a partir de fontes naturais. Tem seu uso aprovado e regulamentado para alimentos na União Europeia, Estados Unidos, Canadá, no Brasil e em outros países do MERCOSUL (FDA, 2013; BRASIL, 2010). No aspecto tecnológico, para esta substância, já foram relatados para esta substância efeitos antimicrobianos e antioxidantes em produtos cárneos (DIAS; ÁVILA; SCHWAN, 2011; GONZÁLEZ-FANDOS; HERRERA; MAYA, 2009; KE et al., 2009).

Assim, no âmbito da fabricação de filmes de maior biodegradabilidade para confecção de embalagens, observa-se um interesse crescente da comunidade científica em pesquisas com *blendas* na última década, conforme ilustra a Figura 1. Grande parte dessas publicações aborda a produção de filmes comestíveis e/ou biodegradáveis à base de polímeros naturais (principalmente amido de milho e fécula de mandioca), estudo de compatibilizantes entre diferentes polímeros (sejam eles naturais ou sintéticos), avaliação das propriedades físicas, óticas e de barreira das diferentes *blendas* elaboradas; porém, poucas ainda envolvem a potencialidade da incorporação de princípios ativos em *blendas* com objetivos de aplicação como embalagens ativas de alimentos.

**Figura 1:** Frequência de publicações envolvendo as palavras-chaves “*blends*” e “*food packaging*”.



Fonte: [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com).

Desta forma, o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis à base de *blendas* com atividade multifuncional, antioxidante e antimicrobiana, atribuídas pela adição de ácido cítrico, apresenta-se como uma alternativa com potencialidade de suprir as perspectivas de interesse industrial e científico, como: conservação de alimentos, minimização do uso de aditivos conservadores incorporados diretamente aos alimentos (perigo químico-toxicológico) e ainda diminuição do consumo de matérias-primas não renováveis com a redução do tempo de degradação das embalagens na natureza, comparada com o tempo requerido pelos polímeros sintéticos, que é estimado em aproximadamente 300 anos (OHTAKE et al., 1998) sob condições ambientais.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um filme biodegradável (composto de polímero natural e sintético) com atividades multifuncionais, abrangendo aquelas antimicrobianas e antioxidantes, pela ação do aditivo ácido cítrico, para aplicação no acondicionamento de carne bovina resfriada.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) desenvolver e padronizar, por extrusão direta, *masterbatches* tipo macarrão de polietileno linear de baixa densidade (PELBD) e amido de milho;
- b) produzir filmes a partir das *blendas* desenvolvidas;
- c) caracterizar e avaliar a morfologia e as propriedades mecânicas, térmicas, elétricas e físico-químicas dos filmes;
- d) avaliar as características colorimétricas dos filmes;
- e) realizar um estudo de tempo de degradação dos filmes elaborados;
- f) estudar o desempenho dos filmes em sistema real de acondicionamento cárneo;
- g) avaliar o potencial antimicrobiano e antioxidante da *blenda* de melhor desempenho como embalagem;
- h) comparar o desempenho dos filmes biodegradáveis ativos com aqueles produzidos por rota polimérica convencional.



### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS POLÍMEROS *VERSUS* IMPACTO AMBIENTAL: CENÁRIO ATUAL

O Brasil é um dos países de maior índice de consumo mássico de plásticos convencionais. Estima-se que o valor bruto da produção física de embalagens, em 2013, atingiu R\$ 51,8 bilhões e este montante deve-se, em grande parte aos grandes volumes produtivos da indústria de alimentos que, juntamente com outros segmentos industriais, alicerça o país (ABRE, 2014).

Os polímeros sintéticos estão presentes em diversas aplicações. No segmento de embalagens são amplamente usados para produtos farmacêuticos, agrícolas, químicos e alimentícios. Os plásticos mais utilizados são: polietilenos (PEBD: polietileno de baixa densidade; PEAD: polietileno de alta densidade; PELBD: polietileno linear de baixa densidade), polipropileno (PP), poliestireno (PS), poli(cloreto de vinila) (PVC), poliuretano, poli(tereftalato de etileno), poli(tereftalato de butileno) e *nylons* (SHAH et al., 2008). Segundo Ammalaa et al., (2011), esta ampla aplicação deve-se não somente ao baixo custo e suas favoráveis propriedades mecânicas e térmicas, mas também a estabilidade e durabilidade.

Se a estabilidade e a durabilidade são importantes requisitos para a aplicação destes materiais em embalagens, do ponto de vista ambiental estes fatores tornam-se sérios problemas. As poliolefinas são materiais inertes que consistem de longas sequências de carbono (SHAH et al., 2008). Estudos demonstraram que o polietileno enterrado em solo por 32 anos não apresentou degradação significativa. As taxas de degradação apresentadas são tão lentas que seria necessário aproximadamente 300 anos para degradação completa de um filme de 60 µm composto somente de PEBD no solo (OHTAKE et al., 1998).

Nos últimos anos tem ocorrido um considerável aumento de pesquisas relacionadas a polímeros biodegradáveis devido aos problemas associados a resíduos não degradáveis derivados dos plásticos convencionais provenientes do petróleo (CANCHÉ-ESCAMILLA et al., 2011; MÜLLER; PIRES; YAMASHITA, 2012).

Neste contexto, destaca-se que os produtos que empregam exclusivamente polímeros sintéticos convencionais como matéria-prima são considerados inertes ao ataque imediato de micro-organismos. Isso faz com que esses produtos apresentem um maior ciclo de vida útil e, conseqüentemente, acarretem sérios problemas ambientais, visto que, após o seu descarte, contribuem para o aumento da quantidade de resíduos plásticos no meio ambiente (CASARIN et al., 2013).

Esta última década foi importante para a conscientização das pessoas sobre os danos que o uso indiscriminado dos recursos pode causar ao meio ambiente, levando o consumidor a assumir uma atitude mais crítica em relação às suas opções de consumo. Características de produtos, que até há pouco tempo não eram consideradas essenciais no processo de escolha, passaram a representar um peso na percepção das pessoas em seus atos de compra, favorecendo produtos com características de preservação ambiental, não tóxicos, produzidos com matéria-prima de fontes renováveis e recicladas, ou seja, que causem menos impacto ao meio ambiente (DE BONA, 2007; PACHECO, 2001).

Recentemente, a produção e a utilização de biopolímeros, polímeros verdes e polímeros biodegradáveis surgem como importantes alternativas devido à viabilidade técnica e econômica e por apresentarem grande potencial de expansão (BRITO et al., 2011).

### 3.2 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS

Em relação aos polímeros biodegradáveis, estes podem ser provenientes de diferentes fontes: (a) naturais renováveis como: milho, celulose, batata e cana-de-açúcar; (b) bacterianas como: ácido butírico (origina polihidroxibutirato – PHB) e ácido valérico (origina polihidroxibutirato-co-valerato PHBV); e, (c) animais como: a quitina, quitosana ou proteínas. Outros polímeros biodegradáveis podem ser obtidos de fontes fósseis, petróleo ou da mistura entre biomassa e petróleo (CASARIN et al., 2013, FARIA; FRANCHETTI, 2010).

Neste contexto, enquadra-se a substituição, total quando possível ou mesmo parcial, dos polímeros convencionais por polímeros biodegradáveis na elaboração de embalagens e materiais plásticos em geral, sendo que tais misturas de materiais em polímeros são denominadas *blendas* poliméricas (SIONKOWSKA, 2011) ou

*bioblendas* (mistura entre polímeros naturais e sintéticos) (RAHMAN et al., 2012). Segundo Miranda e Carvalho (2011), comparada ao desenvolvimento de novos materiais, as *blendas* apresentam baixo custo e conferem grande versatilidade à indústria de transformação de plástico.

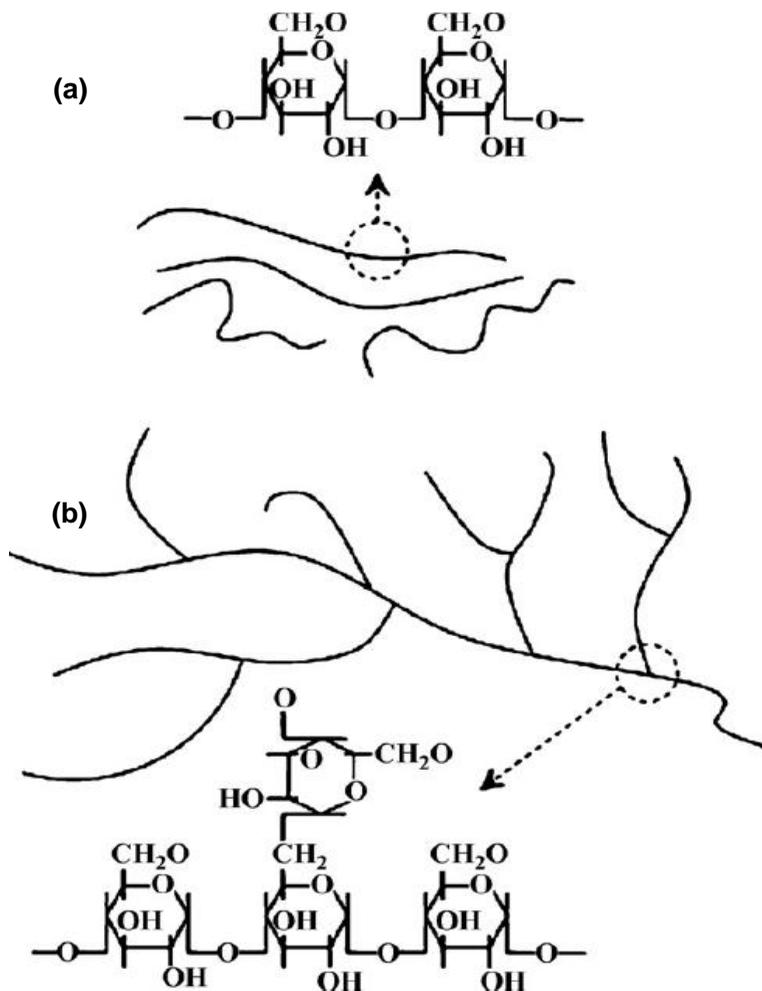
O desenvolvimento de novos materiais poliméricos derivados de fontes renováveis tem motivado recentemente um grande número de estudos, onde uma substituição de parte dos polímeros sintéticos por polímeros biodegradáveis constitui uma alternativa viável, uma vez que existe a possibilidade de misturar polímeros de naturezas diferentes, na forma de *blendas*, garantindo a sua aplicabilidade e, com isso, melhorar a biodegradabilidade do material resultante (FARIA; FRANCHETTI, 2010). Estes polímeros biodegradáveis são polímeros nos quais a degradação resulta da ação de micro-organismos de ocorrência natural como bactérias, fungos e algas (QUENTAL et al., 2010), podendo ser consumidos em semanas ou meses sob condições favoráveis de biodegradação (OLIVEIRA, 2009).

Neste contexto, o amido enquadra-se como um dos materiais mais promissores e versáteis para a produção de *blendas* biodegradáveis (MAA et al., 2009; BRITO *et al.*, 2011), pois além de ser produzido em grandes quantidades em praticamente todas as regiões do mundo, apresenta baixo custo e pode ser utilizado tanto na produção de insumos químicos básicos como na composição de polímeros termoplásticos (CARVALHO; CURVELO; AGNELLI, 2001).

### 3.3 AMIDO: CARACTERÍSTICAS PARA PRODUÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS

O amido é um polissacarídeo de reserva das plantas (LIU et al., 2009), e compreende, principalmente, duas frações: amilose(linear)eamilopectina(ramificada), conforme apresentado na Figura 2, as quais correspondem a 98-99% de seu peso seco.

**Figura 2:** Estrutura química e representação das frações do amido.



**Legenda:** (a) Amilose; (b) Amilopectina. Fonte: Liu et al. (2009).

O amido pode ser proveniente de uma grande variedade de plantas. Entre as principais citam-se: milho, mandioca, batata, arroz e trigo. A origem do amido é de grande importância para a preparação de materiais com diferentes propriedades, as quais podem estar relacionadas ao teor de amilose/amilopectina e ainda ao tamanho do grânulo de amido (VIEYRA; AGUILAR-MÉNDEZ; MARTÍN-MARTÍNEZ, 2013). Zullo e Iannace (2009) evidenciaram que o teor de amilose é um importante

parâmetro na produção de filme. Estes autores destacaram que os amidos comerciais, em geral, apresentam de 25-30% de amilose e grânulos com tamanho que varia de 15-20  $\mu\text{m}$ .

O processamento térmico dos polímeros à base de amido envolve múltiplas reações químicas e físicas como, por exemplo: difusão de água, expansão de grânulos, gelatinização, decomposição, fusão e cristalização (LIU et al., 2009). A gelatinização apresenta grande importância no processamento de produtos amiláceos e seu conceito clássico, e atual, refere-se à destruição da estrutura cristalina dos grânulos de amido (LELIEVRE, 1974; SULLIVAN; JOHNSON, 1964).

Ainda, ressalta-se que o amido apresenta uma forte característica hidrofílica que resulta em uma fraca interação interfacial na formação de *blendas* amido/polímero (polietileno), com a consequente perda de propriedades mecânicas (TUDORACHI et al., 2000). Desta forma, os pesquisadores adotaram diferentes metodologias para contornar estes problemas e, assim, utilizar o amido para desenvolvimento de matrizes biodegradáveis (GARG; JANA, 2011).

De uma forma geral, os trabalhos na área de produção de *blendas* de amido/polímeros sintéticos, em uma etapa prévia ao processamento da *blenda*, produzem uma termoplastização do amido, a qual está relacionada à destruição da estrutura cristalina do amido nativo, geralmente com o uso de um plastificante. O material obtido é referido como amido termoplástico (TPS, do inglês *Thermoplastic Starch*). A natureza e a concentração do agente plastificante podem influenciar fortemente as propriedades mecânicas e reológicas do TPS (IMRE; PUKÁNSZKY, 2013). Segundo Wilpiszewska e Spychaj (2011), os plastificantes utilizados são compostos polares de baixo peso molecular, tais como, água, uréia, formamida e glicerol. O uso combinado de plastificantes podem aperfeiçoar as vantagens e eliminar algumas das desvantagens do uso de plastificantes de forma individual (LIU et al., 2009).

Considerando as possibilidades tecnológicas de processamento, o amido é um dos polímeros naturais mais comumente utilizados em aplicações termoplásticas, devido a sua biodegradabilidade, abundante disponibilidade e baixo custo (PUSHPADASS; BHANDARI; HANNA, 2010). Aliado a estas características favoráveis, o Brasil ocupa papel de destaque na produção de amido, sendo o segundo produtor mundial de

mandioca, atrás apenas da Nigéria, e o terceiro produtor mundial de milho, atrás dos Estados Unidos da América e da China (FAO, 2007). Desta forma, este polissacarídeo tem sido considerado como ideal para a produção de *blendas* com polímeros sintéticos com maior biodegradabilidade.

### 3.3.1 *Blendas* poliméricas de amido

A modificação de polímeros através da produção de *blendas* é uma tecnologia bem definida, desenvolvida por volta do ano de 1970, queressurgiu com o advento dos biopolímeros. Neste contexto, os plásticos convencionais, como as poliolefinas, conforme já comentado, são lentamente degradados pelo ambiente. Entretanto, sua sensibilidade à degradação pode ser aumentada através da produção de *blendas* com componentes biodegradáveis como, por exemplo, o amido (IMRE; PUKÁNSZKY,2013).

O estado da arte para as *bioblendas* aplicáveis à elaboração de filmes mais biodegradáveis atingiu um nível de conhecimento promissor direcionado à produção e caracterização das *blendas* de amidos (nativos e TPS) e polímeros sintéticos, conforme apresentado na Tabela 1, mas enfrenta, por outro lado, uma série de desafios em se tratando da efetiva aplicação destes materiais como embalagens de alimentos em situações reais de uso. Dentre os desafios, as embalagens além de apresentarem características específicas como resistência, permeabilidade, maquinabilidade e soldabilidade, estas devem proporcionar a manutenção das características dos produtos durante toda vida de prateleira.

**Tabela 1:** *Blendas* de amido e polímeros sintéticos.

<b>Composição da <i>blenda</i>*</b>	<b>Método de preparo</b>	<b>Referência</b>
PEO/ Amido de trigo	Extrusão (rosca dupla)	YUA et al., 2013
PEAD/Amido termoplástico de trigo	Extrusão (rosca simples conectada a uma rosca dupla)	CERCLÉA;SARAZI NB; FAVISA, 2013
PEBD/Amido de milho nativo	Extrusão (rosca simples)	VIEYRA; AGUILAR- MÉNDEZ; MARTÍN- MARTÍNEZ, 2013
PEBD/Amido termoplástico de milho	Extrusão (rosca simples)	MIRANDA; CARVALHO, 2011
PEBD/Amido de milho nativo e PEBD/Amido propilado	Extrusão (rosca simples)	GARG; JANA, 2011
PEBD/Amido de milho nativo	Extrusão (rosca simples)	RUIZ; MARTÍNEZ; MÉNDEZ, 2011
PEBD/Amido de arroz	Extrusão (rosca simples)	EL-NAGGAR; FARAG, 2010
PELBD/Amido com plastificantes PEAD/Cornplast® (amido de milho) PEBD/Cornplast® (amido de milho)	Extrusão (rosca simples)  Prensa hidráulica	NING et al., 2007  SANTONJA- BLASCO et al., 2007
PEBD/Diferentes tipos de amido	Prensa hidráulica	VINHAS et al., 2007
PEBD/Amidos de milho modificados	Extrusão (rosca simples)	GARG; JANA, 2007
PEBD/Amido de batata e PEBD/Amido ftalato	Extrusão (rosca dupla)	THAKORE et al., 2001

\*Composição majoritária. Em alguns estudos foram adicionados aditivos para o processamento térmico das *blendas*. PEO: Poli(óxido de etileno); PEAD: polietileno de alta densidade; PEBD; polietileno de baixa densidade; PELDB: polietileno linear de baixa densidade.

De acordo com Miranda e Carvalho (2011), embora o polietileno seja um dos polímeros de grande potencial para formar *blendas* com o amido termoplástico, a sua baixa polaridade leva a *blendas* de baixa compatibilidade e, desta forma, diversos estudos têm sido realizados com o objetivo de melhorar a polimerização destes materiais e, assim, suas características.

### 3.4 EXTRUSÃO DE POLÍMEROS

Diversas técnicas têm sido utilizadas para processar os materiais à base de amido, dentre elas a moldagem por injeção, fusão por termoprensagem e a extrusão em suas diferentes formas, todas técnicas semelhantes às utilizadas no processamento de plásticos tradicionais à base de petróleo (LIU et al., 2009).

A extrusão é a técnica mais amplamente difundida para o processamento de polímeros à base de amido e suas vantagens incluem: capacidade de emprego de polímeros de alta viscosidade na ausência de solventes, ampla flexibilidade operacional (0 atm a 500 atm e 70 °C a 500 °C), a viabilidade de injeção múltipla de matérias-primas e o controle tanto do tempo de residência (distribuição), como do grau de mistura (VAN DUIN; MACHADO; COVAS, 2001).

Neste contexto, dependendo das condições de processamento e da composição da matéria-prima, a extrusão provoca ruptura do grão de amido, destruindo completamente a sua estrutura organizada de grânulos, diminuindo a viscosidade do meio, com liberação da amilose e amilopectina (CAMIRE; KRUMHAR, 1990), favorecendo a formação de *blendas*.

### 3.5 INTEGRIDADE DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, MORFOLÓGICAS, MECÂNICAS, DE BARREIRA E DE TRANSLUCIDEZ

Na elaboração de um filme polimérico para fins de acondicionamento de alimentos, faz-se necessário a observação de algumas propriedades fundamentais para uma boa adaptação do polímero à situação onde este deve ser aplicado. Dentre estas propriedades, devem ser consideradas, principalmente, as propriedades físico-químicas, morfológicas, mecânicas de tração, de barreira, além da

transparência e a temperatura de trabalho (SARANTOPOULOS et al., 2002).

### **3.5.1 Propriedades físico-químicas**

Em relação a análises de caracterização de polímeros, Agnelli (2001) considera uma das mais importantes a espectroscopia no infravermelho, pois proporciona informações em termos de identificação e/ou características estruturais e possíveis modificações pós-processamento.

Na análise térmica dos polímeros ou de *blendas* destaca-se a análise termogravimétrica (TGA: *Thermogravimetric Analyse*), a qual apresenta a variação de massa de uma amostra em função da temperatura ou do tempo a uma temperatura constante. Ainda, neste segmento, a técnica de calorimetria diferencial de varredura (DSC: *Differential Scanning Calorimeter*) pode ser utilizada para determinar as temperaturas de transições e o fluxo de calor associado do material, bem como a miscibilidade de *blendas* e a cristalinidade (LUCAS; SOARES; MONTEIRO, 2001).

### **3.5.2 Propriedades morfológicas e mecânicas**

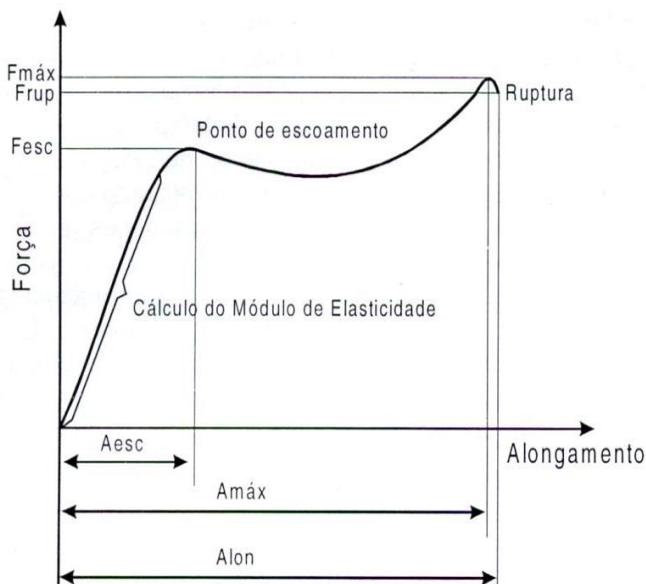
Durante o processo de fabricação dos filmes plásticos pode ocorrer uma série de defeitos que, por sua vez, podem influenciar no desempenho das embalagens confeccionadas com estes materiais (SARANTÓPOULOS et al., 2002). Neste contexto, a microscopia eletrônica de varredura (MEV) permite uma avaliação das informações estruturais das amostras, como a homogeneidade ou a presença de rupturas e falhas.

As propriedades mecânicas de um filme flexível monocamada estão associadas, principalmente, a dois fatores: características químicas do material polimérico e ao tipo de processo. Como características químicas, entende-se a estrutura química do material, a composição de *blendas*, a aditivação, a estrutura molecular, o peso molecular, a densidade, a temperatura de transição e o tipo de copolímero. O processo de fabricação, por sua vez, determina propriedades associadas à orientação das moléculas, como a ocorrência ou não de defeitos superficiais (SARANTÓPOULOS et al., 2002). As características mecânicas de filmes poliméricos podem ser avaliadas por meio de

ensaios técnicos que fornecem respostas quando estes materiais são submetidos a diversas condições de tensão-deformação (SEBIO, 2003).

Entre as propriedades mecânicas, encontram-se as de tração, as quais expressam a resistência do material à deformação por alongamento. Para determinação das propriedades de tração, o corpo de prova é submetido ao alongamento, a uma velocidade constante e controlada, registrando-se ao longo do ensaio a força, ou resistência, que o material oferece à deformação até a completa ruptura, conforme demonstrado na Figura 3. Deste gráfico, podem ser retiradas as demais propriedades mecânicas de interesse, como descrito por Sarantópoulos et al., (2002):

**Figura 3:** Curva de tração em função da deformação.



$F_{máx}$  = força máxima

$F_{rup}$  = força na ruptura

$F_{esc}$  = força no ponto de escoamento

$A_{lon}$  = alongamento no ponto de ruptura

$A_{máx}$  = alongamento na máxima força

$A_{esc}$  = alongamento no ponto de escoamento

Fonte: Sarantópoulos et al. (2002).

**a) Resistência máxima a tração (nominal)**

Trata-se da resistência máxima oferecida pelo material quando submetido à tração, ou relação entre a força medida pela área transversal inicial do corpo de prova. É expressa em MPa ou  $N/m^2$  ou ainda  $kgf/cm^2$ .

**b) Resistência à tração na ruptura**

É a resistência oferecida pelo material no ponto de ruptura, expressa em MPa ou  $N/m^2$  ou ainda em  $kgf/cm^2$ .

**c) Tensão de tração no ponto de escoamento**

A tensão de tração no ponto de escoamento é a resistência oferecida pelo material correspondente à deformação no ponto de escoamento, expressa em MPa ou  $N/m^2$  ou ainda  $kgf/cm^2$ .

**d) Porcentagem de alongamento**

É a relação percentual entre o alongamento do corpo de prova e seu comprimento inicial, podendo ser determinada para a situação de ruptura ou no ponto de escoamento.

**e) Módulo de elasticidade ou de Young**

Relação entre a tração e a deformação na região linear da curva *versus* deformação ( $T \times d$ ), conhecida como região elástica. Para a determinação do módulo de elasticidade, deve-se traçar uma tangente à curva  $T \times d$  na região linear inicial, e escolher qualquer ponto desta tangente, calculando-se a razão entre a tensão e a deformação correspondente. Este resultado é um indicador de rigidez do filme e deve ser expresso em MPa ou  $N/m^2$  ou ainda  $kgf/cm^2$ .

**f) Módulo secante**

Na impossibilidade de determinação exata da região elástica da curva de  $T \times d$  é utilizado um ponto específico de alongamento desde que localizado bem antes do ponto de escoamento, para o qual é determinada a relação entre a tensão de tração e deformação. Para filmes plásticos, é utilizado como referência 1% de alongamento. Expresso em MPa ou  $N/m^2$ , ou ainda  $kgf/cm^2$ , este parâmetro é considerado um indicativo de rigidez.

### 3.5.3 Propriedades de barreira

A permeabilidade de um material de embalagem pode estar relacionada a manutenção da vida de prateleira de um produto alimentício. Na realidade, muitas das reações químicas, bioquímicas ou microbiológicas podem ser minimizadas quando for possível evitar a passagem de gases ou vapor de água através das paredes da embalagem, pois várias destas reações podem ser aceleradas quando houver entrada de água ou gases, provocando alterações no alimento acondicionado (POUZADA; CASTRO, 2003).

Nas embalagens destinadas ao acondicionamento de produtos cárneos resfriados, as propriedades de barreira são de grande importância. Dentre elas destaca-se a permeabilidade ao vapor de água (PVA ou WVP: *water vapor permeability*), que está relacionada a perdas de massa (água) e/ou alterações na integridade do alimento (POUZADA; GOMES, 2003).

### 3.5.4 Propriedades ópticas

Entre as propriedades ópticas mais importantes dos polímeros pode se citar a absorção, a reflexão, o espalhamento e a refração da luz. A transparência, a opacidade e o brilho de um material plástico não estão diretamente relacionados com a estrutura química e com a massa molecular, mas são, principalmente, determinados pela morfologia do polímero (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

A embalagem plástica com elevado brilho e transparência constitui-se numa ferramenta valiosa para o setor de *marketing*, que sempre busca uma boa apresentação visual do produto. Por outro lado, muitas vezes a proteção contra a incidência de luz se faz necessária. Por este motivo, a transmissão da luz é uma propriedade importante para maioria das embalagens de alimentos, uma vez que a luz afeta a qualidade dos alimentos catalisando certas reações de degradação (BROWN, 1992).

## 3.6 EMBALAGENS ATIVAS

Tradicionalmente, o conceito de embalagem é de conter, proteger e veicular informações sobre o produto acondicionado, tudo isso minimizando interações entre o material da embalagem e o

conteúdo. Entretanto, o conceito tradicional da “mínima interação alimento/embalagem” vem sendo alterado justamente no sentido de proporcionar uma interação que objetiva preservar a qualidade e a segurança do alimento através de uma reação específica (SOARES et al., 2010). Desta forma, sistemas de embalagensativas e inteligentes representam tecnologias emergentes que podem ter implicações profundas sobre a qualidade, a segurança e a integridade dos alimentos embalados (BODAGHI et al., 2012).

Segundo Bolumar, Andersen e Orlie (2011), a tecnologia de empregar aditivos funcionais em embalagens oferece várias vantagens em comparação com a adição direta em produtos, dentre elas: menor quantidade de substância ativa necessária, a localização da atividade que é na superfície, a migração de ativos a partir da matriz para o alimento (efeito microbiano/antioxidante de proteção por mais tempo) e, ainda, a eliminação de passos adicionais do processamento industrial para introdução dos ativos, tais como mistura, por imersão ou pulverização.

Entre os sistemas de embalagens ativas para alimentos, destacam-se as aditivadas com agentes antimicrobianos e antioxidantes que podem apresentar-se: contidos em sachês, funcionalizados na superfície ou incorporados diretamente em matrizes de embalagens (BOLUMAR; ANDERSEN; ORLIEN 2011; RESTUCCIA et al., 2010; CAMO; BELTRAN; RONCALES, 2008; KERRY; O'GRADY; HOGAN, 2006). Desta forma, o componente ativo encontra-se em contato com a superfície do produto, onde a maioria das reações químicas e microbiológicas ocorrem (SOARES et al., 2009), com uma liberação de forma controlada para o alimento, aumentando a eficiência de sua ação e com uma redução do impacto causado pelo uso abusivo de conservantes adicionados diretamente aos alimentos (QUINTAVALLA; VICINI, 2002), atendendo uma tendência atual do consumidor por alimentos com teores reduzidos de aditivos (OLIVEIRA, 2004).

Neste contexto, a presença, em uma embalagem ativa, de um agente antioxidante proporciona uma redução de processos oxidativos relacionados à oxidação lipídica. Já a aplicação de agentes antimicrobianos destaca-se como uma das melhores formas de reduzir, inibir ou retardar o crescimento superficial de micro-organismos em alimentos envasados, podendo prolongar sua vida útil e, conseqüentemente, estender a vida de prateleira (*shelf-life*) de produtos

embalados (BODAGHI et al, 2012; APPENDINI; HOTCHKISS, 2002).

### **3.6.1 Aditivos funcionais antimicrobianos e antioxidantes aplicados em embalagens para alimentos**

Várias substâncias ativas podem ser liberadas a partir de uma embalagem com a finalidade de aumentar a vida de prateleira do produto. A maior parte deste grupo de substâncias são os conservantes, que podem ser liberados controladamente sobre a superfície do alimento, através de difusão e evaporação a partir do filme, ou ainda por meio de reação química ou enzimática. A Tabela 2 apresenta exemplos de substâncias ativas, com atividade antimicrobiana, incorporadas a diferentes matrizes poliméricas.

**Tabela 2:** Resumo dos agentes antimicrobianos *versus* micro-organismo alvo/suporte polimérico.

<b>Antimicrobiano</b>	<b>Suporte polimérico</b>	<b>Micro-organismo</b>	<b>Referências</b>
<p><i>Ácidos orgânicos/anidridos:</i>  Propiônico, Benzóico, Sórbito, Málico, Lático</p>	Filmes comestíveis, EVA, PELBD, Poliamida	<p><i>Salmonella spp.</i>, <i>S. aureus</i>,  <i>Candida spp.</i>, <i>Penicillium spp.</i>, Bolores, <i>E. coli</i> O157:H7, Enterobactérias e Bactérias de carne a vácuo</p>	<p>RIVERO et al., 2013;  SMULDERS et al., 2013;  HAUSER; WUNDERLICH, 2011; VERMEIREN; DEVLIEGHERE; DEBEVERE, 2002.</p>
<p><i>Gases inorgânicos:</i>  SO<sub>2</sub>, Dióxido de cloro</p>	Várias poliolefinas, PVC	Bolores, bactérias e fungos	WELLINGHOFF, 1995
<p><i>Metais:</i>  Prata, Zinco</p>	Várias poliolefinas, Filmes de amido	Bactérias	BOSCHETTO et al., 2012; NAFCHI et al., 2012
<p><i>Fungicida:</i>  Benomil, Imazil</p>	PEBD	Fungos	WENG; HOTCHKISS, 1993
<p><i>Bacteriocinas:</i>  Nisina, Pediocinas, Lactinas</p>	Filmes comestíveis, Celulose, PEBD	Fungos filamentosos; Bactérias Gram-positivas	<p>PIRES et al., 2008;  PADGETT; HAN;  DAWSON, 1998;  SIRAGUSA; CUTTER;  WILLETT, 1999.</p>

---

<i>Enzimas:</i>	Acetato de celulose, Poliestireno, Filmes comestíveis.	Bactérias Gram-positivas	APPENDINI; HOTCHKISS, 1997; PADGETT; HAN; DAWSON, 1998.
Lizosima, Glucose-oxidase	Polietileno, Metilcelulose, <i>Blendas</i> de policaprolactona/ alginato	Listeria monocytogenes, Escherichia coli, Salmonella typhimurium	TAKALA et al., 2013; RAMOS et al., 2012
<i>Naturais:</i>			
Timol, Carvacrol, Extrato de alecrim, dehortelã e decasca deoromã			

---

EVA: Etileno Acetato de Vinila; PELBD: Polietileno Linear de Baixa Densidade; PEBD: Polietileno de Baixa Densidade; PVC: Poli (Cloro de Vinila).

Dentre as causas de deterioração de alimentos, a oxidação lipídica afeta de forma significativa as características dos alimentos. Desta forma, diferentes substâncias ativas com propriedades antioxidantes podem ser incorporadas a sistemas de embalagem para prevenção de danos gerados por este processo. A Tabela 3 apresenta exemplos de substâncias antioxidantes.

**Tabela 3:** Aditivos antioxidantes empregados em matrizes poliméricas.

<b>Antioxidante</b>	<b>Suporte polimérico</b>	<b>Referências</b>
Polianilina	PELBD	NAND et al., 2013
Resveratrol e $\alpha$ -Tocoferol	PLA/Amido	HWANG et al., 2013
Ácido ascórbico, Ácido ferrúlico, Quercetina e Extrato de chá verde	EVOH	LÓPEZ-DE-DICASTILLO et al., 2012
Butilhidroxianosil (BHA), Butilhidroxitolueno (BHT), Propilgalato (PG) e Terc-butil-hidroquinona (TBHQ)	PLA	JAMSHIDIAN; TEHRANY; DESOBRY, 2012
Palmitato de ascorbil e $\alpha$ -Tocoferol	PLA	JAMSHIDIAN et al., 2012
Extrato de chá verde	EVOH	LÓPEZ-DE-DICASTILLO et al., 2011
Extrato de alecrim	PEBD	BOLUMAR; ANDERSEN; ORLIEN, 2011
$\alpha$ -Tocoferol	PEBD	GRACIANO-VERDUGO et al., 2010
$\alpha$ -Tocoferol, BHT e Polietilenoglicol	PLA	BYUN; KIM; WHITESIDE, 2010

PELBD: polietileno linear de baixa densidade; PLA: ácido polilático; EVOH: etileno álcool-vinílico; PEBD: polietileno de baixa densidade.

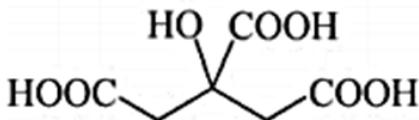
Diferentes compostos podem ser aplicados para uso em embalagens, sendo que a escolha do agente ideal deve considerar: tipo de alimento, método de processamento, armazenamento, micro-organismos envolvidos, níveis tóxicos (JAY, 1992), a legislação sobre a lista positiva de aditivos para materiais poliméricos em contato com o alimento (BRASIL, 2008) e, ainda, a lista positiva de aditivos alimentares autorizados para uso segundo as Boas Práticas de Fabricação (BRASIL, 2010b).

### 3.6.1.1 Ácido cítrico

O ácido cítrico foi isolado pela primeira vez e cristalizado a partir de suco de limão por Karl Wilhelm Scheele em 1784. Este ácido orgânico é encontrado como um constituinte natural de uma variedade de frutas cítricas, como abacaxi, pera, pêssego e figo (GREWAL; KALRA, 1995).

O ácido cítrico é um ácido tricarbóxico com o nome IUPAC de ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarbóxico (Figura 4), com propriedades multifuncionais e utilizações em aplicações tanto domésticas quanto industriais (ANASTASSIADIS; REHM, 2006).

**Figura 4:** Estrutura do ácido cítrico.



**Fonte:** BRASIL, 2010a.

Vários micro-organismos já foram empregados na produção de ácido cítrico através de processos de fermentação e estes incluem os fungos *Aspergillus awamori*, *Aspergillus niger*, *Penicillium janthinelum* as leveduras: *Yarrowia lipolytica*, *Candida tropicalis*, *Candida oleophila*, *Candida guilliermondii*, e as bactérias *Bacillus licheniformis*, *Paraffinens arthrobacter* e *Corynebacterium sp.* (BETIKU; ADESINA, 2013).

No Sistema Internacional de Numeração (*INS: International Numbering System*), o aditivo ácido cítrico encontra-se registrado com o

número 330 (BRASIL, 2010b). De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada - RDC n. 45 (2010b) que dispõe sobre aditivos alimentares autorizados para uso segundo as Boas Práticas de Fabricação (BPF), o ácido cítrico encontra-se cadastrado como acidulante, agregador de sabor, antioxidante e agente sequestrante, sem um limite definido de uso. Esta legislação autoriza o uso de ácido cítrico em diferentes alimentos, com limite *quantum satis* (q.s.), ou seja, quantidade suficiente para obter o efeito tecnológico desejado.

Nos Estados Unidos o ácido cítrico encontra-se na listagem de substâncias com afirmação como GRAS (*Generally Recognised As Safe* - GRAS 21 CFR 184.1033) definida pelo FDA (*Food and Drug Administration*) (FDA, 2013).

Referente à atividade, González-Fandos; Herrera e Maya (2009) avaliaram o efeito do ácido cítrico sobre o crescimento bacteriano em coxas de aves mergulhadas em soluções com diferentes concentrações e armazenadas a 4°C por 8 dias. O tratamento com 0,156 M de ácido cítrico apresentou um efeito significativo na inibição de *Listeria monocytogenes* e na contagem bacteriana de mesófilos e psicrófilos. Doležalová et al., (2010) avaliaram o efeito de ácidos orgânicos sobre o *shelf-life* de carcaças de frango refrigeradas. Neste estudo foi demonstrado que a aplicação de ácido cítrico inibiu o crescimento microbiano na superfície das carcaças e prolongou sua vida de prateleira. Ainda, Dias, Ávila e Schwan (2011) avaliaram o efeito inibitório do ácido cítrico, e outros ácidos orgânicos, através dos testes de difusão em disco e concentração mínima inibitória (MIC: *Minimal Inhibitory Concentration*) contra *Escherichia coli* isolada de salsicha de carne suína. O ácido cítrico inibiu o crescimento bacteriano nos testes *in vitro* e, quando adicionado diretamente em salsichas de carne suína contaminadas com *E. coli*, proporcionaram uma redução significativa deste micro-organismo. Ke et al. (2009) avaliaram cortes cárneos bovinos injetados com ácido cítrico, e posteriormente tangleados, e observaram efeitos antioxidantes significativos para este composto. Além disso, demonstraram que a carne tratada com ácido cítrico não apresentou aumento do ácido tiobarbitúrico - TBA (indicativo que não ocorreu oxidação lipídica) durante 98 horas de armazenamento a 5°C.

O ácido cítrico, entre seus múltiplos usos, é também empregado na produção de filmes e *blendas* poliméricas como agente plastificante. Ning e colaboradores (2007) demonstraram, através de microscopia

eletrônica de varredura (MEV), que o ácido cítrico melhora a dispersão e a plastificação do amido em *blendas* com polietileno.

Apesar de estudos que comprovam as múltiplas atividades do ácido cítrico ainda existem poucos trabalhos relacionados a uso deste aditivo, considerado seguro do ponto de vista toxicológico, quando incorporado diretamente a filmes biodegradáveis com finalidade de prevenir o crescimento microbiano superficial, processos oxidativos e a conservação de produtos alimentícios.

### 3.6.2 Migração do agente ativo

Estudos têm identificado diferentes sistemas de embalagens ativas com a migração da substância para o alimento e sistemas onde não ocorre a migração (LÓPEZ et al., 2007; TOVAR et al., 2005; APPENDINI; HOTCHKISS, 2002). Em sistemas de embalagens onde ocorre a migração da substância ativa para a superfície do alimento, os principais processos relacionados a este efeito são a permeação e a difusão.

A taxa de libertação do agente ativo (antimicrobiano/antioxidante) a partir do material de embalagem é influenciada principalmente por fatores que incluem o método de fabricação do filme, as propriedades do agente ativo (volatilidade e polaridade), a interação química entre o agente ativo e as cadeias poliméricas, as alterações na embalagem induzidas pelo agente ativo, a hidrofobicidade e a hidrofilicidade do polímero, a composição do alimento, a atividade de água ( $A_w$ ) e o pH do alimento, bem como os fatores ambientais como as condições de armazenamento (temperatura e umidade relativa) (KUORWEL et al., 2013; LÓPEZ-DE-DICASTILLO et al., 2011; SUPPAKUL et al., 2003; WENG; HOTCHKISS, 1993).

### 3.6.3 Legislação para embalagens ativas

A migração de compostos da embalagem pode, além de comprometer a resistência química e mecânica do material, acarretar consequências toxicológicas ao consumidor. Os ensaios de migração podem ser realizados utilizando-se o próprio alimento ou, então, simulantes alimentícios devido à complexidade destes. Porém, os ensaios regulamentados

podem não ser adequados para avaliar a forma real como as embalagens vêm sendo utilizadas no contato com os alimentos, principalmente para uso doméstico, já que a mesma pode ser ideal para um produto e não ser adequada para outro (MELO, 2007).

Assim, o uso de substâncias já autorizadas para contato com alimentos e o uso de aditivos de grau alimentício, tornam-se importantes alternativas às pesquisas com embalagensativas (YAMADA, 2004). O agente ativo deve ser classificado como aditivo de embalagem, substância de contato com alimentos ou ainda como ingrediente alimentar (HAN, 2003).

A Resolução da Diretiva Colegiada (RDC) N. 17 apresenta a lista positiva de aditivos para materiais plásticos destinados à elaboração de embalagens e equipamentos em contato com alimentos. Esta legislação indica os aditivos permitidos para a fabricação de embalagens e equipamentos plásticos, com as restrições de uso, e limites de composição e de migração específica indicados (BRASIL, 2008).

Além dos aditivos para materiais plásticos determinados na RDC n. 17, esta legislação destaca a permissão, para uso em embalagens, de aditivos alimentares autorizados pelos regulamentos para alimentos (BRASIL, 2008), desde que cumpridas: as restrições fixadas para seu uso em alimentos, quando existirem, e que a quantidade do aditivo presente no alimento somado à que eventualmente possa migrar da embalagem não supere os limites estabelecidos para cada alimento (BRASIL, 2008).

### 3.7 APLICAÇÃO DE FILMES ATIVOS EM CARNE

De acordo com Sun e Holley (2012), a vida de prateleira das carnes vermelhas frescas é frequentemente determinada pela atividade de micro-organismos, que resulta no desenvolvimento de odores indesejáveis, formação de gás e limosidade e também pela influência de fatores bioquímicos relacionados à oxidação lipídica e de pigmentos gerando sabores impróprios e descoloração da superfície da carne.

### 3.7.1 Microbiologia da carne

Diversas são as origens e meios de contaminação da carne. Assim esta pode apresentar uma grande diversidade de micro-organismos, conforme apresentado na Tabela 4. Desta forma, algumas situações recebem destaque neste processo de formação da flora microbiana da carne, dentre estes: as condições ambientais, o processamento, a manipulação e os procedimentos de limpeza e sanificação das instalações (KINSMAN; BREIDENSTEIN; KOTULA, 1994).

**Tabela 4:** Microbiologia da carne: principais gêneros de bactérias deteriorantes, patogênicas e de bolores e leveduras.

Gêneros/Espécies microbianas	Referências
<i>Micro-organismos deteriorantes</i>	
<i>Pseudomonas-Acinetobacter-Moraxella</i> (bactérias aeróbias estritas)	PRICE; SCHWEIGERT, 1994; JAY, 2005
<i>Aeromonas</i> , <i>Enterococcus</i> e <i>Psychrobacter</i> (frequentemente isolados a partir de carnes frescas)	JAY, 2005
<i>Micrococcus</i> e <i>Achromobacter</i> (isolados de carne resfriada apresentando limosidade superficial)	LAWRIE, 2005
<i>Escherichia coli</i> biotipo 1, <i>Serratia liquefasciens</i> , <i>Pantoea agglomerans</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> e <i>E. Hafniae</i> (isolados a partir de carne bovina e suína fresca e congelada)	LAWRIE, 2005
<i>Micro-organismos patogênicos</i>	
<i>Salmonella</i> spp., <i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica (sorotipo O157), <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>C. botulinum</i> e <i>Bacillus cereus</i> .	ICMSF, 2001
<i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> e <i>E. coli</i> O157:H7	SOFOS;

(isolados em carne fresca)	GEORNARAS, 2010
<i>E. colinão</i> O157 (produtores de shigatoxina), <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> , <i>Escherichia albertii</i> e <i>Clostridium difficile</i> (emergentes e importantes em produtos cárneos)	SOFOS, 2008
<i>Gêneros de bolores</i>	
<i>Thamnidium</i> , <i>Mucor</i> e <i>Rhizopus</i> (hifas na carne); <i>Cladosporium</i> (produz pontos escuros ou “manchas negras”), <i>Penicillium</i> (produz “manchas verdes”) e <i>Sporotrichum</i> e <i>Chrysosporium</i> (produtores de manchas esbranquiçadas na carne)	JAY, 2005
<i>Gêneros de leveduras</i>	
<i>Candida</i> e <i>Rhodotorula</i> , sendo <i>C. lipolytica</i> e <i>C.</i> <i>zeylanoides</i> (as duas espécies mais abundantes presentes em carne bovina moída)	JAY, 2005

---

A disponibilidade de água e o oxigênio, bem como o pH, são os principais fatores que determinam se a microbiota deteriorante da carne será dominada por bactérias, bolores ou leveduras. Cortes de carne fresca armazenados sob refrigeração, com alta umidade, invariavelmente sofrerão o ataque de bactérias. Os bolores tendem a predominar quando a superfície da carne está ressecada ou o pH é muito baixo para o crescimento bacteriano. Nestas condições, geralmente, a deterioração de produtos cárneos não embalados é causada por bolores e leveduras (KINSMAN; BREIDENSTEIN; KOTULA, 1994).

A alteração da carne é inicialmente evidenciada pela presença de odor desagradável, que geralmente ocorre com um número de micro-organismos em torno de  $10^7$  UFC/cm<sup>2</sup>. Neste momento crítico, os micro-organismos passam da utilização de glicose à utilização de aminoácidos como substrato para o seu crescimento. Assim, o metabolismo bacteriano, nesta fase, passa a produzir uma mistura complexa de ésteres voláteis, álcoois, cetonas e compostos sulfurados que produzem os odores desagradáveis percebidos. Com a evolução do número de micro-organismos, se observa um aumento do pH, com a

produção de amoníaco e várias aminas. Quando a carne atinge uma contagem em torno de  $10^8$  UFC/cm<sup>2</sup> aparece uma limosidade superficial destacando outro indicio de alteração (ADAMS; MOSS, 1997).

### 3.7.2 Processos oxidativos na carne

A deterioração da carne não está relacionada somente a fatores extrínsecos como a atividade microbiana, mas também por fatores intrínsecos como a oxidação lipídica (SUN; HOLLEY, 2012). A oxidação lipídica é uma das principais razões para a deterioração da carne, o que leva a descoloração, a perda por gotejamento, a formação de odor e sabor desagradáveis e ainda a produção de compostos potencialmente tóxicos (MORRISSEY et al., 1998).

A oxidação lipídica na carne é uma reação em cadeia onde ácidos graxos insaturados são oxidados através de um processo de autooxidação por radicais livres catalisados pelos produtos da reação (SUN; HOLLEY, 2012).

Alterações na cor da carne estão intimamente relacionadas com a oxidação de lipídios e de pigmentos (BUCKLEY; MORRISSEY; GRAY, 1995). Em relação ao pigmento mioglobina, a carne muda de cor de um vermelho-cereja aceitável para um marrom indesejável, quando a oximioglobina é oxidada a metamioglobina (CHAN et al., 1995).

Desta forma, com o propósito de evitar a autooxidação de óleos e gorduras, e suas consequências, torna-se necessário uma redução na incidência de fatores que a favorecem, tais como: a manutenção do mínimo possível dos níveis de energia (luz e temperatura), da presença de traços de metais e o contato com o oxigênio e ainda com o impedimento da formação de radicais livres através do emprego de antioxidantes (SUN; HOLLEY, 2012).

Recentemente, Sun e Holley (2012) apresentaram diversas estratégias antimicrobianas e antioxidantes para reduzir patógenos e estender o *shelf-life* de carne fresca, entre elas o uso de embalagens ativas. Ainda entre os destaques, relataram a atenção direcionada à produção de filmes degradáveis de biopolímeros como alternativa as embalagens sintéticas tradicionais de alimentos.

Neste contexto, Kechichian et al. (2010) destacaram que as tendências incluem o desenvolvimento de materiais que tenham interação com o alimento, apresentando um papel ativo em sua preservação e também como uma alternativa, vista como promissora que é a incorporação da substância ativa ocorra em materiais de embalagem com propriedades biodegradáveis, como por exemplo, embalagens ativas com matriz polimérica produzidas a partir de *blendas* de polímero sintético e natural.



## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. ASPECTOS GERAIS DA TESE

Neste capítulo serão apresentados os aspectos do planejamento dos experimentos para elaboração das embalagens ativas biodegradáveis, assim como os métodos analíticos para caracterização dos filmes e da avaliação da vida de prateleira do alimento embalado.

Para tanto, dividiu-se a execução da tese em duas etapas: a) elaboração e avaliação de filmes biodegradáveis contendo amido e polietileno (*Etapa 1*); b) estudo do efeito multifuncional antioxidante e antimicrobiano de filmes ativos biodegradáveis no acondicionamento de alimentos (*Etapa 2*).

#### **a) Etapa 1: Desenvolvimento e avaliação da aplicabilidade dos materiais como embalagens**

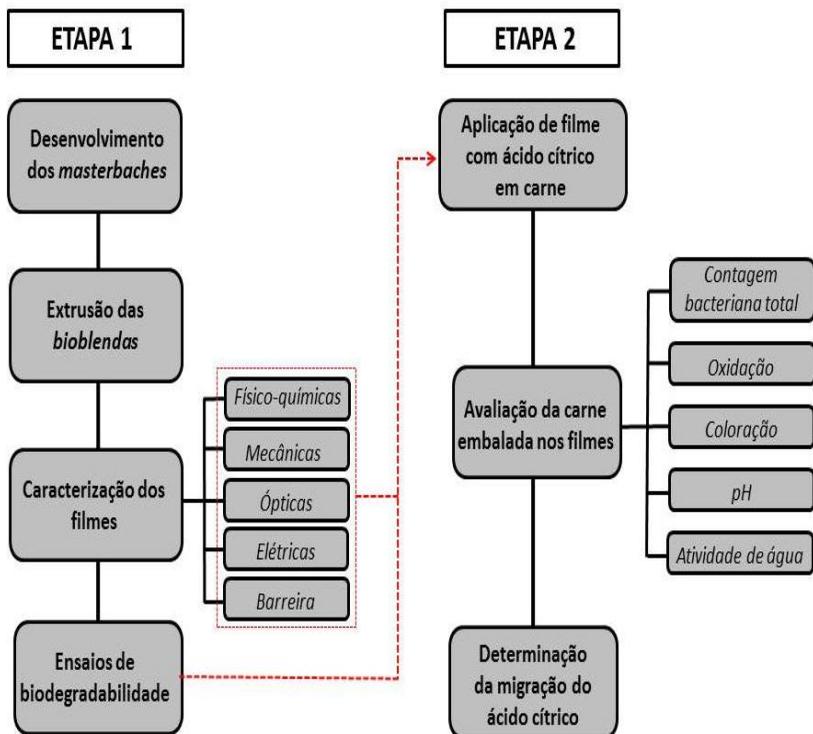
Na primeira etapa foram elaborados cinco filmes contendo diferentes proporções de polímero sintético e polímero natural. Os filmes foram avaliados quanto ao potencial de uso como embalagens para alimentos através da caracterização das propriedades morfológicas, mecânicas, de barreira, físico-químicas, elétricas e ópticas, juntamente com ensaios de biodegradabilidade. Posteriormente, o filme que apresentou melhor *desempenho*, aliando propriedades mecânicas, de barreira, físico-químicas, de biodegradação e características fundamentais de aplicação, como a possibilidade de produção de “saquetas” e manutenção da solda (maquinabilidade), foi destinado à produção de embalagens para teste no acondicionamento de alimentos.

#### **b) Etapa 2: Avaliação do efeito ativo no alimento**

Após a seleção da embalagem de melhor *desempenho* (propriedades e maquinabilidade), foi possível o estudo dentro da segunda etapa, focada na interação entre o componente ativo da embalagem (ácido cítrico contido no polímero) e o alimento. Para avaliação quanto à atividade multifuncional do filme, foi determinado o efeito antioxidante e antimicrobiano em amostras de carne bovina acondicionada na embalagem de melhor desempenho. Adicionalmente foram determinados os parâmetros físico-químicos e de coloração da carne acondicionada na respectiva embalagem. Um estudo acerca da

migração do ácido cítrico foi conduzido. A Figura 5 ilustra esquematicamente o planejamento supracitado.

**Figura 5:** Fluxograma esquemático da abordagem do estudo da produção de embalagens ativas biodegradáveis.



## 4.2. OBTENÇÃO DAS *BLENDA*S E FABRICAÇÃO DOS FILMES

Os filmes foram fabricados no Laboratório de embalagens do Instituto Federal Catarinense, Campus Concórdia, em três etapas: formulação das misturas poliméricas, obtenção dos *pellets* das misturas (*blendas*) e fabricação dos filmes.

### 4.2.1. Formulação das *blendas* (misturas amido/PELBD) (primeira etapa)

As *blendas* foram compostas por dois polímeros, um de natureza sintética e outro de fonte natural. O polímero natural

empregado foi o amido de milho comercial (Maizena<sup>®</sup>, Unilever, Brasil) e o sintético foi o Polietileno Linear de Baixa Densidade (PELBD), fornecido pela BRASKEM Petroquímica (Triunfo, Brasil), com o nome comercial de PELBD SLL 118/21 (*Green Linear Low Density*<sup>®</sup>), cujas especificações são: ponto de fusão de 116°C, índice de fluidez: 1,10 g/10 min e densidade: 0,917g/cm<sup>3</sup>. As misturas (detalhadas na Tabela 5) foram aditivadas com: glicerol (Sigma-Aldrich) e ácido cítrico (Sigma-Aldrich).

As *blendas* foram formuladas com PELBD e diferentes concentrações de misturas de amido (denominadas neste trabalho pela sigla MA). A mistura de amido compreende amido/glicerol/ácido cítrico (78,5/20/1,5) preparada de acordo com ensaios prévios e dados da literatura. O glicerol em quantidade inferior a 20% na não proporcionou maquinabilidade para as *blendas*. Em relação ao teor de ácido cítrico na mistura de amido, é importante destacar que a aplicação de uma quantidade superior a 1,5%, gera filmes quebradiços e de baixa qualidade. Além disto, nesta concentração de ácido cítrico foi identificada migração, a partir da embalagem, desta substância para meio simulante o que proporciona sua aplicação e avaliação como embalagem ativa. As quantidades utilizadas de cada componente são apresentadas na Tabela 5.

**Tabela 5:** Abreviação dos materiais elaborados assim como as respectivas composições mássicas.

<b>Materiais</b>	<b>Abreviações</b>	<b>PELBD (%)</b>	<b>*Amido de milho</b>	<b>*Glicerol (%)</b>	<b>*Ácido cítrico(%)</b>
Filme controle	FC	100	-	-	-
Filme	F10	90	6,85	3	0,15
Filme	F20	80	13,70	6	0,30
Filme	F30	70	20,55	9	0,45
Filme	F40	60	27,40	12	0,60
Filme	F50	50	34,25	15	0,75

\*Denominados neste trabalho como MA: Mistura de Amido (amido de milho, glicerol e ácido cítrico)

#### 4.2.2. Obtenção dos *pellets* das misturas (segunda etapa)

Cada formulação foi submetida ao processo de extrusão direta para obtenção dos *pellets* poliméricos com as seguintes condições de processo: 140 °C (zona 1), 140 °C (zona 2) e velocidade de rosca de 36 rpm em extrusora mono-rosca (AXPlásticos<sup>®</sup>, Brasil). Temperaturas superiores às utilizadas produziam *pellets* com manchas e quebradiços, já em temperaturas inferiores processo de extrusão da mistura não era possível. Os *pellets* obtidos de cada formulação foram acondicionados em frascos ao abrigo do ar e luz.

#### 4.2.3. Extrusão dos filmes (terceira etapa)

Na terceira etapa foi realizado o processo de obtenção dos filmes, o qual foi realizado via extrusora mono-rosca (AXPlásticos<sup>®</sup>, Brasil) em condições semelhantes àquelas praticadas em indústrias. A operação ocorreu com velocidade da rosca de 36 rpm e gradiente de temperatura programado de 150 °C para a zona 1, 150 °C para a zona 2 e 145 °C para a zona 3 (matriz plana – *flat die*). Tais condições favorecem o escoamento do material fundido e proporcionam a produção contínua de filmes planos. A alimentação das diferentes misturas (*blendas*), Tabela 5, foi realizada manualmente.

### 4.3. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

#### 4.3.1 Espessura e propriedades mecânicas dos filmes

A espessura dos filmes foi determinada utilizando-se um micrômetro Mainard<sup>®</sup> (Brasil) (precisão 1 µm; Modelo M 73011). Os valores de espessura foram obtidos pela média de cinco pontos de cada filme (extremidades e parte central) produzido imediatamente após a extrusão.

Em relação às propriedades mecânicas dos filmes, foram realizados os ensaios de tração versus deformação, incluindo a componente de Resistência Máxima a Tração ( $R_{máx}T$ ) (MPa) e Alongamento na ruptura ( $A$ ) (%), usando-se para estes parâmetros um medidor de ensaios universal (TimeGroup<sup>®</sup>, WDW 1E, 10kN, China). Também foi obtido o Módulo de elasticidade ( $ME$ ) (MPa). Os valores destas propriedades foram calculados segundo as Equações (1), (2) e (3). O pré-acondicionamento das amostras, assim como as dimensões dos

corpos de prova, foram realizados conforme descrito nas normas ASTM E171-94 (ASTM, 1996a) e ASTM D681-95 (ASTM, 1996b). Estes ensaios foram realizados no Laboratório de embalagens do Instituto Federal Catarinense, Campus Concórdia. Os ensaios foram realizados em triplicata de amostra.

$$R_{má T} \text{ (M Pa)} = \frac{F_{rup}}{A_{min}} \quad (1)$$

$$\text{Alongamento na Ruptura ( \% )} = \left( \frac{A_T}{DG} \right) 100 \quad (2)$$

$$\text{Módulo de elasticidade (MPa)} = \left( \frac{F_i}{A} \right) \left( \frac{DG}{A_i} \right) \quad (3)$$

Onde:

- F<sub>rup</sub>**: força registrada no ponto de ruptura (N);
- A<sub>min</sub>**: área mínima inicial do corpo-de-prova (m<sup>2</sup>) (e<sub>min</sub> × L);
- e**: espessura mínima inicial do corpo-de-prova (m);
- e<sub>min</sub>**: espessura média inicial do corpo-de-prova (m);
- L**: largura inicial do corpo-de-prova (m);
- A<sub>T</sub>**: alongamento total do corpo-de-prova até a ruptura (m);
- DG**: distância inicial entre as garras (m);
- F<sub>i</sub>**: força registrada no ponto *i*, localizado na região linear da curva (N);
- A**: área média inicial do corpo-de-prova (m<sup>2</sup>) (e × L);
- A<sub>i</sub>**: alongamento do corpo-de-prova no ponto *i* (m).

### 4.3.2 Morfologia de superfície

A morfologia da superfície dos filmes foi avaliada pelas imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (EVO50 - Carl Zeiss), operando em 30 kV com aumento de 1 kX. Cada amostra foi fixada em porta amostras de alumínio e a avaliação procedeu-se sem metalização. As análises foram realizadas no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

### 4.3.3 Determinação das propriedades ópticas dos filmes

As propriedades ópticas dos filmes foram avaliadas pelo Índice de Amarelamento ( $YI$  – *Yellowness index*), Índice de Transparência ( $WI$  – *Whiteness index*) e diferença de cor ( $\Delta E$ ) pelas Equações (4), (5) e (6), respectivamente, sugeridas por Ahmadi et al. (2012). Os parâmetros de cor definidos pela CIE (*Comission Internationale de l'Eclairage*), de cor  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , foram determinados instrumentalmente por colorímetro (Minolta® Color Reader, CR400, Japão) com fonte de luz padronizada. Os filmes foram colocados em superfície lisa de cor branca onde foram realizadas 5 leituras de cada amostra. Estes ensaios foram realizados no Laboratório de embalagens do Instituto Federal Catarinense, Campus Concórdia.

$$YI = 142,86 \left( \frac{b^*}{L^*} \right) \quad (4)$$

$$WI = 100 - \sqrt{(100-L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad (5)$$

$$E = \sqrt{(L^*-L)^2 + (a^*-a)^2 + (b^*-b)^2} \quad (6)$$

Onde:

$L^*$ :luminosidade amostra;

$L$ :luminosidade da placa padrão;

### 4.3.4 Solubilidade e grau de intumescimento em água

As determinações da solubilidade e intumescimento dos filmes foram realizadas de acordo com as técnicas descritas por Lee, Shim e Lee (2004), com algumas modificações. Estes ensaios foram realizados no Laboratório de embalagens do Instituto Federal Catarinense, Campus Concórdia.

Para a determinação da solubilidade total em água ( $SA$ ), amostras com área de  $36 \text{ cm}^2$  ( $6 \text{ cm} \times 6 \text{ cm}$ ) foram cortadas de cada

filme sendo, respectivamente submetidas a secagem a temperatura 70 °C por 48 h em estufa com circulação de ar (EduTec, Brasil). Ao término do tempo de secagem, as amostras foram acondicionadas em dessecador por 1 h para posterior determinação das massas iniciais ( $m_i$ ). Em seguida, cada amostra foi devidamente identificada e imersa em 30 mL de água destilada em erlenmeyers de 125 mL e colocadas sob agitação mecânica (Marconi, Dubnoff MA-093, Brasil) a 25 °C e 150 rpm por 24 h. Transcorridas 24 h, as amostras foram novamente secas por 48 h à temperatura de 70 °C em estufa com circulação de ar, resfriadas em dessecador (1 h) para determinação da massa final ( $m_f$ ). A solubilidade em água foi determinada gravimetricamente pela diferença entre a massa inicial e massa final em cada amostra, conforme apresentado na Equação (7). O procedimento foi realizado em sextuplicata.

$$\text{Solubilidade em água (SA)} \quad (m_i + m_f) \quad 100/m_i \quad (7)$$

O Grau de Intumescimento ( $GI$ ) em água foi determinado a partir de amostras de 36 cm<sup>2</sup> (6 cm x 6 cm) de cada filme, as quais foram pesadas ( $m_i$ ) e imersas em 75 mL de água destilada em erlenmeyers de 125 mL, acondicionadas em estufa com circulação e renovação de ar durante 6 h a 25 °C. Posteriormente foi removido o excesso de água da superfície dos filmes, com papel filtro (gramatura de 80 g/m<sup>2</sup> e porosidade de 3 micras, Nalgon, Brasil), pelo período de 1 minuto e, novamente, pesados ( $m_f$ ) para calcular a quantidade de água, conforme Equação (8), que cada filme absorveu durante as 6 h de contato com o solvente. O procedimento foi realizado em sextuplicata.

$$\text{Grau de intumescimento (GI)} \quad (m_f + m_i) \quad 100/m_i \quad (8)$$

#### 4.3.5 Análises de FT-IR

As transformações químicas dos polímeros pós-processo foram avaliadas nas amostras de filmes por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) em modo de transmitância com 32 varreduras e 4 cm<sup>-1</sup> de resolução (Shimadzu, IRPrestige-21). Para o amido e amido aditivado (contendo já o ácido cítrico e glicerol) os espectros foram obtidos com pastilhas de KBr de aproximadamente 1 mm de espessura e 5 mm de diâmetro. As análises

foram realizadas no Laboratório de Controle de Processos (LCP) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

#### 4.3.6 Estudos térmicos

A perda de massa pela degradação térmica do filme controle e das *blendas* de amido/PELBD foi determinada por análise de TGA (*Thermogravimetric analysis*) utilizando porta amostra de alumínio nas seguintes condições: amostras de aproximadamente 10 mg, atmosfera: nitrogênio (razão 50,0 mL/min.), velocidade de aquecimento: 12°C/min e intervalo de temperatura de análise de 0 a 600 °C, em um instrumento TA (Q50, Castle, DE). A degradação térmica do ácido cítrico também foi avaliada. Os estudos térmicos dos filmes foram realizados no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

#### 4.3.7 Atividade de água

A atividade de água dos filmes ( $A_w$ ) foi determinada utilizando-se um aparelho LabMaster<sup>®</sup>, Aw-Novasina AG CH-8853, operando-se a temperatura de 25 °C. As amostras foram cortadas em formato circular com 4 cm de diâmetro e, em seguida, colocadas em cápsulas para serem inseridas no equipamento para realização da leitura direta, após a calibração de sete amostras de água destilada de soluções padrão (SAL-T, Novasina com  $A_w$  de 0,064; 0,113; 0,328; 0,576; 0,753; 0,843 e 0,973). O ensaio foi realizado em triplicata. Estes ensaios foram realizados no Laboratório de embalagens do Instituto Federal Catarinense, Campus Concórdia.

#### 4.3.8 Propriedades elétricas dos filmes

As propriedades elétricas do filme controle e das *blendas* foram avaliadas por espectroscopia de impedância. Para a determinação das medidas de condutividade elétrica ( $S \times cm^{-1}$ ), amostras dos filmes foram recortadas e prensadas entre dois eletrodos de aço inoxidável montado sobre um suporte de resina epóxi (RODRIGUES et al., 2007). As medições foram realizadas com um equipamento de espectroscopia de impedância eletroquímica na frequência de 1 a 100 MHz e amplitude de voltagem sinusoidal de 10 mV. Todos os experimentos foram realizados a 25 °C.

### 4.3.9 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Para determinação da permeabilidade ao vapor de água (PVA), o filme controle e as *blendas* de amido/PELBD foram selados em células de vidro contendo sílica gel (tamanho de partícula 200-400 *mesh*) (Sigma-Aldrich), previamente seca em estufa a 105 °C por 4 horas (Umidade relativa = 0%) e, posteriormente, colocados em dessecadores com solução saturada de NaCl (Sigma-Aldrich). As células testadas foram pesadas periodicamente até atingir um estado estacionário. Os testes foram conduzidos em triplicata a uma temperatura de 20 °C de acordo com o método ASTM E96 (ASTM, 1996c), com algumas modificações, conforme descrito por López et al. (2013). Estes ensaios foram realizados no Laboratório de embalagens do Instituto Federal Catarinense, Campus Concórdia. A PVA foi calculada usando a Equação (9).

$$PVA = \frac{\left(\frac{m}{t}\right)}{A \cdot p} \quad (9)$$

onde:

**PVA:** permeabilidade ao vapor de água (g.mm/m<sup>2</sup>.dia.kPa)

**Δm/Δt:** calculado pela regressão linear dos dados de ganho de massa em função do tempo(g/dia);

**δ:** espessura do filme (mm)

**A:** área exposta do filme(m<sup>2</sup>);

**Δp:** é a diferença da pressão parcial de vapor de água através do filme (1,7535 kPa em 20 °C).

## 4.4. ESTUDO DA BIODEGRADABILIDADE DOS FILMES

Dentre as vantagens da produção de uma *bioblenda*, encontra-se a melhor capacidade de degradação em relação aos polímeros tradicionais (puros). Embora haja divergências na literatura, usualmente denomina-se tal capacidade de degradação de “biodegradação”. Neste contexto, a biodegradabilidade é uma característica de fundamental importância para *blendas* e, neste estudo, esta propriedade foi avaliada de 3 formas distintas: biodegradação em meio inoculado com *Aspergillus niger*, por sistema de degradação enzimática e pela biodegradação em solo. Todos os ensaios de biodegradabilidade dos filmes foram realizados no Instituto Federal Catarinense, Campus Concórdia.

#### 4.4.1. Biodegradação em meio inoculado com *Aspergillus niger*

O ensaio de biodegradabilidade biológica dos filmes foi realizado de acordo com o proposto por Mani e Bhattacharya (1998), com modificações, através da inoculação de amostras dos filmes (10 cm × 2,5 cm) com *Aspergillus niger* (ATCC 9642) em meio PDA (potato dextrose agar) e incubado em temperatura de 25 °C. Após 21 dias de incubação, os filmes foram examinados quanto à evidência de crescimento de colônias na superfície dos filmes, perda de massa (*PM*) e determinação da resistência máxima a tração ( $R_{m\acute{a}x}T$ ) (vide seção 4.3.1), de modo a avaliar as alterações decorrentes da biodegradação por *A. niger*. Os procedimentos analíticos de *PM* e  $R_{m\acute{a}x}T$  foram realizados em triplicata.

#### 4.4.2. Degradação enzimática

Para determinação da degradação enzimática pela enzima  $\alpha$ -amilase, foram preparadas amostras dos filmes (10 cm x 2,5 cm), as quais foram acondicionadas a temperatura de 70 °C por 48 h em estufa com circulação de ar (EduTec, Brasil) e posteriormente pesadas. Em seguida, as embalagens foram acondicionadas em uma solução contendo 15,0 mL de tampão fosfato (pH 7,0) e 0,1 mL da enzima  $\alpha$ -amilase (Thermamil<sup>®</sup>, Novozymes). As misturas foram incubadas por 96 horas a 37 °C em agitação a 150 rpm em *shaker* orbital (Nova Técnica, NT 712). Após término do período de degradação, as amostras foram removidas, lavadas e secas para determinação da perda de massa e das alterações na  $R_{m\acute{a}x}$  dos filmes decorrentes da ação da  $\alpha$ -amilase. Os procedimentos foram realizados de acordo com as determinações técnicas da enzima Thermamil (Novozyme) e Bajpai e Shrivastava (2005), com algumas modificações.

#### 4.4.3 Biodegradação em solo

As amostras foram enterradas em solo virgem (por denominação de origem, localizado na área de estudo Agrícola do Instituto Federal Catarinense Câmpus Concórdia – SC, solo argiloso e com pH 5,5) para posterior avaliação da perda de massa e resistência máxima a tração nos períodos de: 30, 60 e 90 dias. Cada conjunto de amostra foi composto de 10 corpos de prova (10 cm x 2,5 cm) de cada filme (FC, F10, F20, F30, F40 e F50). Para a verificação da perda de massa, os corpos de prova de cada amostra foram pesados antes de

serem submetidos ao contato com o solo para obtenção da porcentagem de perda de massa das amostras ao longo do tempo de biodegradação após o término de cada período (CASARIN et al., 2013). Também foram avaliadas as alterações na  $R_{max}T$  (vide seção 4.3.1) dos filmes decorrentes da biodegradação em solo.

#### 4.5 PREPARO DAS AMOSTRAS DE CARNE BOVINA, ACONDICIONAMENTO NO FILME ATIVO E AVALIAÇÃO DOS ÍNDICES DE QUALIDADE

Posteriormente a avaliação das propriedades mecânicas, físico-químicas, colorimétricas, de barreira, de biodegradabilidade e ainda de acordo com critérios como a maquinabilidade dos filmes quanto às características de resistência ao processo de produção de embalagem (“saquetas”), manutenção do vácuo e soldabilidade, o filme de melhor desempenho foi aplicado como embalagem para carne bovina e testado quanto a sua atividade duo-funcional, antioxidante e antimicrobiana, através dos índices de qualidade descritos a seguir.

##### 4.5.1 Acondicionamento das amostras de carne nos filmes

Foram utilizados cortes de carne bovina (quarto traseiro) oriundos do Frigorífico e Abatedouro Piloto do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Catarinense - IFC, Câmpus de Concórdia. As amostras foram coletadas ao término do período de *rigor mortis* e transportadas embaladas em bolsas de polietileno e caixas isotérmicas. A carne foi moída em disco 5 mm e as amostras individuais contendo, aproximadamente, 100 g de carne moída foram acondicionadas em cada embalagem. Posteriormente, as amostras foram acondicionadas em “saquetas” confeccionadas com a *blenda* (PELBD/amido/glicerol/ácido cítrico) de melhor maquinabilidade e com o filme controle (FC). Para cada tratamento foi realizado o acondicionamento de 20 amostras, correspondentes a duas amostras destinadas a cada dia de avaliação. O experimento foi realizado em duplicata.

Após acondicionar as amostras nas “saquetas”, estas foram embaladas em sistema de vácuo com seladora automática (Selovac<sup>®</sup>, modelo 3380). Após a selagem, as amostras foram armazenadas sob refrigeração à temperatura controlada (temperatura comercial de refrigeração de 5°C), em câmara B.O.D (ELETROlab, modelo 101/M3).

O tempo de armazenamento foi de 10 dias, sendo duas amostras de cada tratamento retiradas por dia para as avaliações microbiológicas, físico-químicas e colorimétricas.

#### **4.5.2 Determinação de parâmetros de qualidade da carne: contagem bacteriana total (CBT), oxidação (TBARs), coloração, pH e atividade de água durante o armazenamento**

##### *4.5.2.1 Avaliação microbiológica da carne durante o armazenamento*

As amostras de carne acondicionadas nos filmes foram avaliadas quanto à análise microbiológica para determinação da Contagem Bacteriana Total (CTB) de bactérias psicrotróficas, de acordo com as metodologias preconizadas pela *American Public Health Association* (APHA, 2001). As embalagens foram abertas após higienização de sua superfície com ácido peracético 0,02%. As amostras de carne foram pesadas ( $25 \pm 0,2$  g) diretamente em “saquetas” estéreis as quais foram adicionadas 225 mL de água peptonada (Difco<sup>®</sup>, USA) 0,1% e, então, homogeneizadas em *stomacher* (Marconi<sup>®</sup>, São Paulo, Brasil). A partir desta diluição, foram preparadas diluições decimais subsequentes utilizando-se o mesmo diluente. A contagem bacteriana total (CBT) foi realizada em agar PCA (*Plate Count Agar*) com inoculação em profundidade e, após incubação a 36 °C por 48 h, os resultados foram expressos em ciclos logaritmos ( $\log \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ ).

##### *4.5.2.2 Avaliação da oxidação das carnes embaladas*

A avaliação da oxidação das carnes embaladas nos filmes controle e ativo foi realizada através do método do ácido tiobarbitúrico (TBA - a evolução da concentração de TBA indica a formação de compostos oxidados), de acordo com o método descrito por Raharjo, Sofos e Schmidt (1992), com algumas modificações. Para determinação do TBA, foram pesadas 5 g da amostra, nas quais foram adicionadas 18 mL da solução de ácido tricloroacético (TCA) 5% juntamente com 0,5 mL da solução do antioxidante sintético butilhidroxitolueno (BHT) 0,15%. Esta mistura foi homogeneizada por 1 minuto, filtrada em papel filtro qualitativo para um balão volumétrico de 25 mL, o qual teve o volume completado por ácido tricloroacético 5% (m/V) (TCA). Posteriormente, uma alíquota de 2 mL do filtrado foi transferida para tubo de ensaio e acrescentado 2 mL do reagente TBA 0,08 M em ácido acético 50% (m/V), sendo que tal mistura permaneceu em repouso em banho-maria

fervente por 30 minutos e seguem para posterior resfriamento em água corrente. No conteúdo do tubo foi efetuada a leitura em espectrofotômetro (Biospectro SP-220, Brasil) a 531 nm. Foi utilizado o fator de conversão de 7,8 para o cálculo dos valores de TBARs – substâncias reagentes ao TBA (YILDIZ-TURP et al., 2010) e expressos em mg de malonaldeído por kg de amostra (TBARs – substâncias reagentes ao TBA), de acordo com a Equação (10). As análises foram realizadas em triplicata.

$$\text{TBARs (mg kg}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Absorbância}}{7,8} \quad (10)$$

#### 4.5.2.3 Avaliação da coloração das carnes embaladas

A determinação dos parâmetros de cor da carne acondicionada nos filmes controle e amido/PE foram realizadas conforme descrito anteriormente no item 4.3.3. A determinação das leituras de refletância foi executada diretamente em contato com as amostras. Foram realizadas cinco leituras por unidade de amostra em diferentes pontos. A partir dos dados obtidos foi calculado o índice *Chroma* ( $C^*$ ) (EAGERMAN; CLYDESDALE; FRANCIS, 1977), de acordo com a Equação (11).

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (11)$$

#### 4.5.2.4 Determinação do pH

As determinações do pH das amostras de carne foram realizadas com um potenciômetro de bancada da marca Lutron (modelo PH-221) equipado com eletrodo de inserção. O aparelho foi calibrado com solução tampão de pH 4,00 e pH 7,00.

#### 4.5.2.5 Determinação da atividade de água ( $A_w$ ) durante armazenamento

A determinação da atividade de água foi realizada utilizando-se um aparelho LabMaster<sup>®</sup> (Aw-Novasina, modelo AG CH-8853), operando-

se à temperatura de 25°C. As amostras foram colocadas em cápsulas para realização de leitura direta.

#### 4.6 AVALIAÇÃO DA MIGRAÇÃO DO ÁCIDO CÍTRICO DAS EMBALAGENS PARA O MEIO SIMULANTE

Para a determinação da migração de ácido cítrico dos filmes para um meio simulante, foram produzidas embalagens idênticas àquelas utilizadas para o acondicionamento da carne, tanto para o filme controle com para F30 nas dimensões 10 x 15 cm, nas quais foram adicionadas 130 mL do simulante água destilada, de acordo com a RDC n. 51 (BRASIL, 2010c). Estas embalagens foram armazenadas sob refrigeração a 5 °C em câmara B.O.D (ELETROlab, modelo 101/M3). O tempo de armazenamento foi de 10 dias, sendo três amostras de cada tratamento retiradas por dia para determinação do ácido cítrico migrado. A determinação do ácido cítrico migrado para o simulante foi realizada por titrimetria de neutralização, seguindo a metodologia definida pelo Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005), com adaptação a concentração da solução titulante de 0,1 M para 0,01 M de NaOH. O procedimento foi realizado em triplicata de amostra.

#### 4.7 TRATAMENTO DE DADOS

Todos os dados foram analisados estatisticamente, se necessário, com uso de análise de variância (ANOVA) para estimativa dos efeitos significativos ( $p < 0,05$ ) entre as amostras em resposta às variáveis do processo (tratamento, tempo, condição). O teste de Tukey foi utilizado para estimar as diferenças mínimas significativas entre as médias ao nível de 5% de significância utilizando-se o software *Statistica* versão 8 (*Statsoft*).

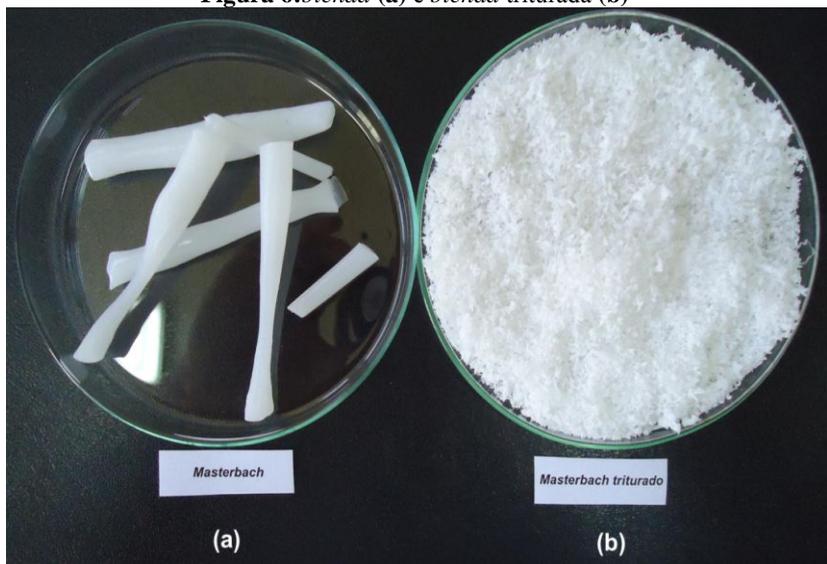
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. CARACTERÍSTICAS VISUAIS DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

Para elaboração dos filmes biodegradáveis, fez-se necessária a incorporação prévia do polímero natural (amido) ao polímero sintético (PELBD), em ordem crescente de concentração. Este procedimento visa à dispersão entre as duas espécies químicas da mistura. A polimerização e/ou incorporação propriamente dita entre as espécies poliméricas dos materiais contrapostos (unidades de *etileno* e  *$\alpha$ -D-Glicose*) ocorreu por ação do calor e da força de cisalhamento durante o processo de extrusão direta dos materiais.

Para tanto, a incorporação entre os polímeros deu-se pela adição das proporções estabelecidas dos polímeros, previamente secos, diretamente na extrusora, obtendo-se um *pellet* bicomponente (*masterbatches*), denominado neste estudo como *blenda*. Posteriormente ao processo de extrusão, as misturas foram trituradas. Na Figura 6 é mostrada a obtenção da *blenda* (macarrão) (a) e a *blenda* triturada (b).

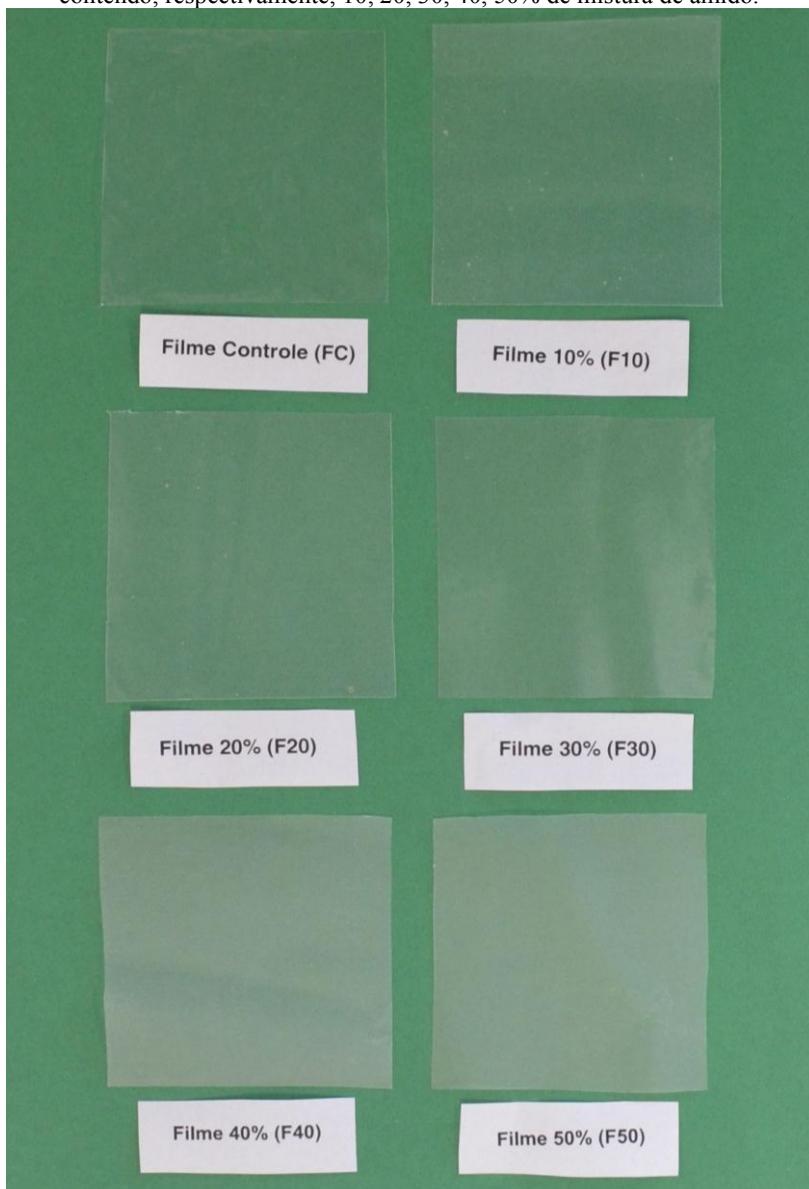
**Figura 6:** *blenda* (a) e *blenda* triturada (b)



O processo de extrusão foi realizado para todas as *blendas* nas cinco diferentes proporções da mistura de amido/PELBD. Entretanto, em uma avaliação visual primária, foram percebidas diferenças entre as superfícies das amostras (Figura 7), principalmente nos filmes nas concentrações de 40 e 50% (m/m) de mistura de amido. Estas diferenças sugerem alterações na morfologia de superfície. Também foram observadas alterações em relação à coloração dos filmes, sendo que mesmo por avaliação visual, pode-se perceber a intensificação da cor amarela proporcionalmente ao aumento da concentração de amido em cada tratamento. Não foi possível produzir filmes com incorporação de mistura de amido superior a 50%.

O filme controle (Figura 7-a) pode ser visualizado como o mais transparente e com topografia lisa, sendo aqui interpretado como mais homogêneo, já que este é composto apenas por PELBD. Os filmes adicionados de amido (Figura 7- b; c; d; e; e f) possuem em sua topografia regiões irregulares em se tratando de distribuição de partículas, caracterizando uma menor homogeneidade, principalmente em F10 e F20. Porém, não foram detectados, visualmente, furos ao longo da amostra.

**Figura 7:** Foto do filme controle e das *blendas* F10, F20, F30, F40 e F50 contendo, respectivamente, 10, 20, 30, 40, 50% de mistura de amido.



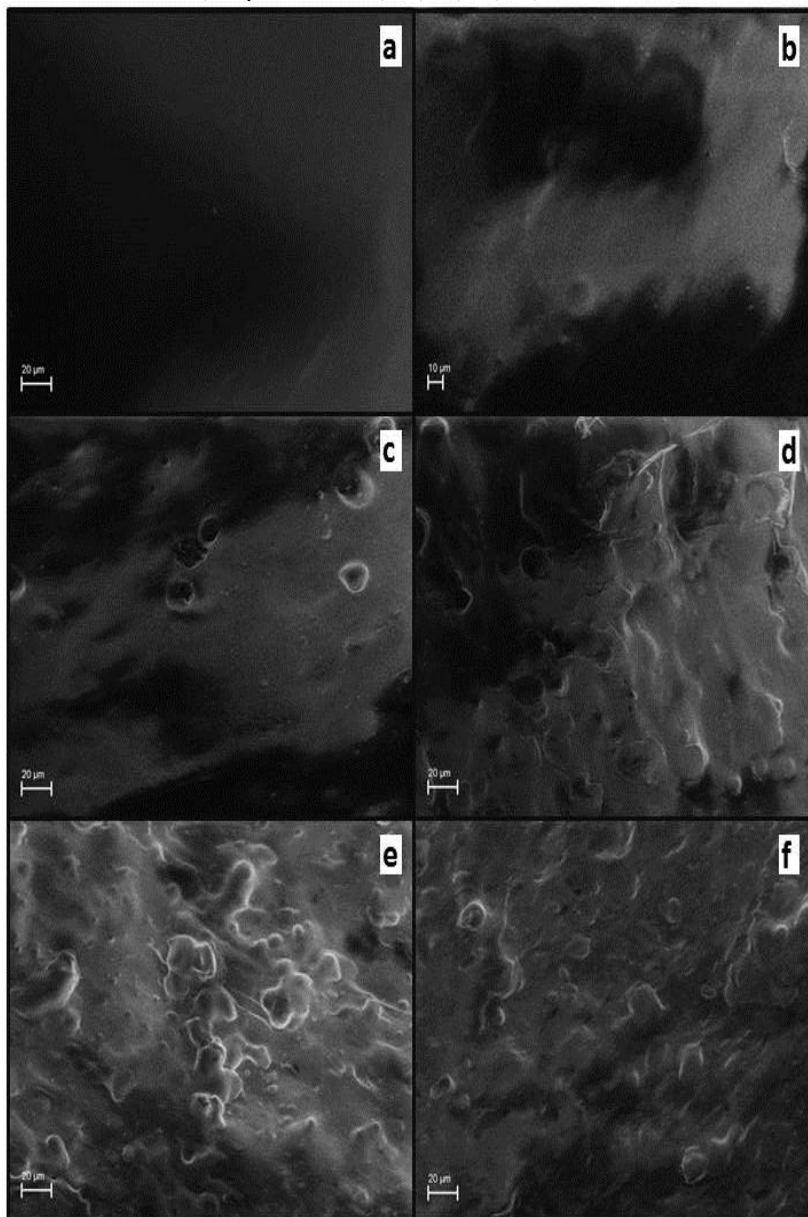
## 5.2. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

### 5.2.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As imagens obtidas das superfícies dos filmes avaliados (Figura 8) sugerem alterações na morfologia com o aumento da concentração da mistura de amido incorporado ao PELBD. Na comparação do filme controle (Figura 8-a) com micrografias apresentadas por Vieyra, Aguilar-Méndez e Martín-Martínez (2013), este filme pode ser visualizado como o filme mais liso e homogêneo, com poucas áreas características de lacunas de ar, tipicamente encontradas em materiais contendo puramente polietileno.

Já para os tratamentos contendo amido na formulação, foram observados dois comportamentos distintos em relação à homogeneidade dos materiais. Os filmes F10 e F20 apresentaram menor dispersão entre as fases poliméricas, acarretando na formação de grandes aglomerados, muito provavelmente compostos por amido não disperso (áreas mais claras da Figura 8-b e Figura 8-c) e, desta forma comprometendo a integridade morfológica dos respectivos filmes. Já nos filmes F30, F40 e F50, a irregularidade na topografia de superfície dos filmes foi proporcional à concentração de amido incorporado ao material (30, 40 e 50% m/m respectivamente), porém, sem formação de aglomerados visíveis e furos, indicando melhor dispersão entre os polímeros de composição. Tais resultados reforçam as características dos filmes observadas visualmente.

**Figura 8:** Micrografias (1000x) do filme controle e das *blendas* F10, F20, F30, F40 e F50 contendo, respectivamente, 10, 20, 30, 40, 50% de mistura de amido.



Por se tratar de uma mistura entre cadeias poliméricas de naturezas químicas diferentes, principalmente quanto à polaridade (GARG; JANA, 2007), a tensão de superfície tende a ser alta e o material resultante nem sempre é homogêneo (SILVEIRA et al., 2007; PIRES et al., 2008).

Outro fator que pode influenciar a falta de homogeneidade dos filmes atribui-se à diferença física entre o tamanho da partícula do PE em *pellets* em relação ao grânulo de amido, sendo estas de 2000  $\mu\text{m}$  e 15-20  $\mu\text{m}$ , respectivamente. A não homogeneidade entre as espécies ainda pode ser agravada com a presença de água livre na composição, indiferentemente às proporções.

Estas características referentes à homogeneização dos componentes das *blendas* podem estar relacionadas às condições estabelecidas durante o processo de extrusão, tais como: homogeneidade dos componentes da mistura (prévia e posteriormente a trituração das *blendas*), temperatura e ainda velocidade da rosca (LIU et al., 2009). Garg e Jana (2007) destacam ainda que, a fim de garantir a homogeneidade das misturas em nível microscópico, é necessário reduzir a tensão interfacial e, desta forma, proporcionar melhorias nas características dos componentes da mistura e, conseqüentemente, na homogeneidade. Ainda com as falhas passíveis de serem visualizadas, vale ressaltar que não houve regiões de furos e descontinuidade de cadeias poliméricas, tornado os filmes passíveis de aplicação em sistemas de vácuo.

### **5.2.2 Espessura e propriedades mecânicas dos filmes**

Os resultados apresentados na Tabela 6 mostram um aumento nos valores de espessura dos filmes obtidos para cada tratamento em relação ao filme controle. Entretanto, os valores não foram proporcionalmente significativos para todos os tratamentos. Percebeu-se que as quantidades de amido adicionadas ao PELBD (de 10 até 50%) formaram dois grupos distintos em relação à espessura quando comparados ao filme controle: um formado por F10 e F20 que se mostram igual à FC e outro grupo composto por F30, F40 e F50, diferentes estatisticamente de FC ( $p < 0,05$ ). Tal diferença pode ser associada diretamente às quantidades de amido incorporadas aos filmes, uma vez que este material não apresenta completa solubilidade no polímero PELBD, favorecendo a formação de aglomerados ao longo da

matriz polimérica, conforme pode ser também visualizado nas micrografias de superfície.

**Tabela 6:** Propriedades físicas das *blendas* de amido (F10 – F50) e do filme controle (FC).

Filme	Espessura ( $\mu\text{m}$ )	$R_{m\acute{a}x}T$ (MPa)	A (%)	ME (MPa)
FC	126,4 $\pm$ 6,6 <sup>bc</sup>	20,86 $\pm$ 1,56 <sup>a</sup>	680,55 $\pm$ 71,70 <sup>a</sup>	201,38 $\pm$ 7,82 <sup>a</sup>
F10	128,6 $\pm$ 12,7 <sup>bc</sup>	19,37 $\pm$ 1,17 <sup>a</sup>	448,32 $\pm$ 153,15 <sup>bc</sup>	198,39 $\pm$ 10,81 <sup>a</sup>
F20	130,8 $\pm$ 5,0 <sup>ab</sup>	12,71 $\pm$ 2,38 <sup>b</sup>	570,31 $\pm$ 95,10 <sup>ab</sup>	176,67 $\pm$ 21,58 <sup>ab</sup>
F30	139,4 $\pm$ 11,5 <sup>ac</sup>	10,25 $\pm$ 1,63 <sup>bc</sup>	366,33 $\pm$ 106,79 <sup>cd</sup>	163,02 $\pm$ 14,98 <sup>b</sup>
F40	150,4 $\pm$ 7,7 <sup>a</sup>	8,34 $\pm$ 1,38 <sup>c</sup>	249,44 $\pm$ 100,32 <sup>d</sup>	132,19 $\pm$ 10,94 <sup>c</sup>
F50	151,0 $\pm$ 16,6 <sup>a</sup>	7,29 $\pm$ 1,59 <sup>c</sup>	55,63 $\pm$ 19,98 <sup>e</sup>	106,36 $\pm$ 17,22 <sup>c</sup>

Nota: Os resultados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.  $R_{m\acute{a}x}T$ : resistência máxima a tração, A: alongamento até a ruptura, ME: módulo de elasticidade.

Versant et al. (1995) destacam ainda que as variações de espessura em filmes ativos são usualmente relacionadas de forma proporcional às quantidades mássicas do princípio ativo incorporado aos polímeros de constituição. Neste trabalho, as variações na espessura foram ainda maiores devido à adição do amido juntamente ao princípio ativo antimicrobiano e antioxidante (ácido cítrico).

Em relação às propriedades mecânicas, foi observado que as crescentes quantidades mássicas da mistura de amido adicionadas aos filmes influenciaram diretamente em parâmetros de importância de filmes destinados para embalagens de alimentos. No que se trata a resistência máxima a tração ( $R_{m\acute{a}x}T$ ) (Tabela 6), não houve diferença significativa com a adição de 10% de mistura de amido ao polímero (F10) quando comparado ao FC. Entretanto, os filmes contendo 20, 30, 40 e 50% da mistura de amido apresentaram diferença significativa em relação ao controle, sugerindo uma perda de  $R_{m\acute{a}x}T$  em concentrações superiores a 10% de incorporação da mistura de amido a matriz polimérica.

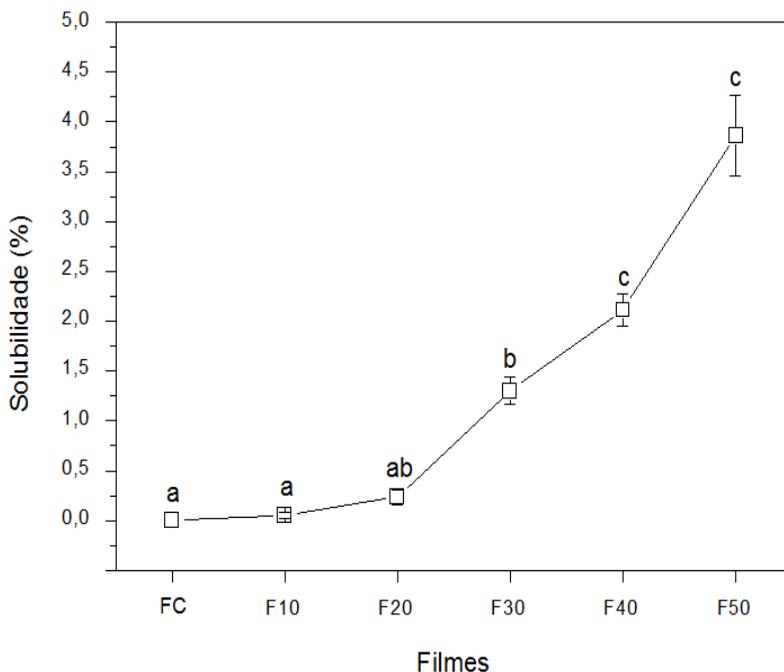
Segundo Walker, Tao e Torkelson (2007), independentemente do processo de fabricação, um aumento do conteúdo de amido na formulação de uma *blenda* com PE acarretará na diminuição da  $R_{máx}T$ . Os parâmetros alongamento até a ruptura ( $A$ ) e módulo de elasticidade ( $ME$ ) (Tabela 6) também apresentaram diminuição proporcional à adição do amido, com exceção do F10 para o parâmetro de  $ME$ .

Estes resultados observados nas *blendas* de PELBD/Amido podem estar relacionados à deficiente homogeneidade na mistura durante a fase de extrusão e neste contexto, trabalhos destacam que, em *blendas* poliméricas sintéticas, a adição de uma segunda fase imiscível à matriz usualmente resulta no decréscimo do alongamento (PEDROSO; ROSA, 2005), sendo esta propriedade considerada altamente sensível à interação entre as fases de uma mistura entre polímeros de diferente natureza (St-PIERRE et al., 1997). Ainda, Versant et al. (1995) afirmam que algumas partículas podem apresentar diferentes graus de incompatibilidade com a matriz polimérica, influenciando a homogeneidade em função da concentração adicionada, fato o qual pode explicar as alterações nas propriedades mecânicas do filmes PELBD/Amido.

### 5.3. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS FILMES

#### 5.3.1 Solubilidade (SA) e grau de intumescimento (GI) em água dos filmes

Em se tratando de filmes destinados ao acondicionamento de alimentos, torna-se necessário, além da avaliação das propriedades mecânicas, a determinação do comportamento destes materiais frente à água. Conforme pode ser observado na Figura 9, percebeu-se uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para a SA a partir da adição de 30% da mistura de amido no filme. Assim, os filmes F30, F40 e F50 apresentaram uma solubilidade crescente de 1,30; 2,11 e 3,86 %, respectivamente.

**Figura 9:** Percentual de solubilidade de cada filme elaborado.

Nota: Letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Resultados similares foram observados para o grau de intumescimento (Tabela 7). A menor diferença ( $p < 0,05$ ) ocorreu para F10 em relação aos demais tratamentos, que apresentaram tendência linear com o aumento da proporção mássica de amido incorporado aos filmes, fato que pode ser visto de forma significativa ( $p < 0,05$ ) nos tratamentos F40 e F50 quando comparados com os tratamentos F30 e F20.

**Tabela 7:** Resultado da análise de intumescimento dos filmes (F10-F50) e para filme controle (FC).

<b>Filme</b>	<b>Intumescimento em água (g H<sub>2</sub>O/g sólidos secos)</b>
F10	0,0010 ± 0,0006 <sup>a</sup>
F20	0,0086 ± 0,0018 <sup>b</sup>
F30	0,0156 ± 0,0086 <sup>b</sup>
F40	0,0303 ± 0,0121 <sup>c</sup>
F50	0,0429 ± 0,0116 <sup>c</sup>

Nota: Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Estes resultados podem ser atribuídos à maior formação de ligações dos domínios hidrofílicos do amido (hidroxilas) com o solvente, o que conseqüentemente proporciona maiores índices de SA e GI. Propriedades como solubilidade e intumescimento de filmes produzidos a partir de polímeros sintéticos e amido são esperadas devido às características do próprio amido (MIRANDA; CARVALHO, 2011) e muitas vezes a absorção de água pode ser aumentada ainda mais pela adição de glicerol como agente compatibilizante destes filmes, como é o caso deste estudo, conforme destacado por Ghasemlou, Khodaiyan e Oromiehie (2011) e Ahmadi et al. (2012).

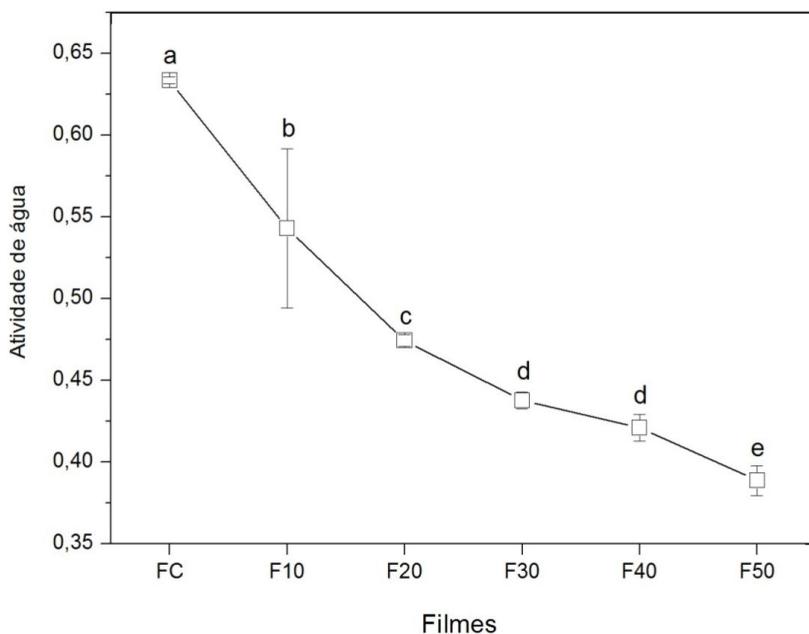
Bajpai e Shirivastava (2005) avaliaram *blendas* com amido e demonstraram uma relação de seu conteúdo com a taxa de intumescimento e atribuíram estes resultados ao fato do amido ser um biopolímero hidrofílico, o que certamente influenciou na hidrofilicidade da *blenda* e, conseqüentemente, na absorção de água.

Adicionalmente, vale ressaltar que os dados da literatura reportam que a biodegradabilidade de um filme é acentuada quando este apresentar aumento de solubilidade e intumescimento em água e, desta forma, mesmo que em partes, este poderá ser degradado com maior facilidade em condições ambientais, como por exemplo, no solo, onde é favorecida a absorção superficial de umidade e de micro-organismos como fungos e bactérias que crescem e utilizam o material como fonte de energia (GUOHUA et al., 2006).

### 5.3.2 Atividade de água ( $A_w$ ) dos filmes

A Figura 10 apresenta a atividade de água dos filmes FC e das *blendas* de amido/PELBD. Conforme pode ser observado, o aumento da fração de amido na mistura proporciona uma redução significativa na  $A_w$  ( $p < 0,05$ ). O filme contendo somente PELBD (FC) apresentou a maior  $A_w$  (0,634). As *blendas* apresentaram  $A_w$  de 0,543; 0,474; 0,434; 0,421 e 0,389, respectivamente, para F10, F20, F30, F40 e F50. Estes resultados podem estar relacionados ao fato do aumento do teor de amido na *blenda* (amido/PELBD) proporcionem uma ligação mais forte com a água, diminuindo sua atividade nos filmes.

**Figura 10:** Atividade de água de cada dos filmes elaborados.



Nota: Letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

### 5.3.3 Cor dos filmes

A cor de materiais plásticos destinados ao acondicionamento de alimentos, ou mesmo de uso geral, é outro fator de importância,

principalmente sob o aspecto comercial, uma vez que a visualização do produto interfere na decisão por parte dos consumidores. Neste sentido, avaliou-se o efeito dos diferentes níveis de adição da mistura de amido sobre a coloração do material resultante pelos parâmetros de cor *CIE-Lab* (coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ), índice de *amarelamento* (*YI – Yellowness index*), índice de *transparência* (*WI – Whiteness index*) e variação de cor ( $\Delta E$ ). Na Tabela 8 podem ser visualizados os resultados obtidos para cada parâmetro.

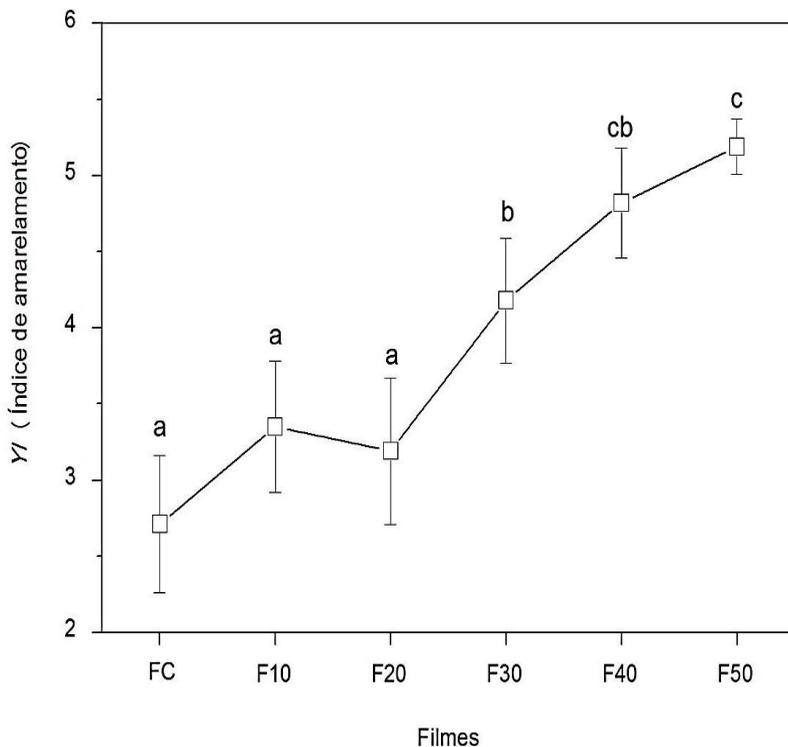
**Tabela 8:** Resultados dos parâmetros de cor L\*, a\* e b\*, da variação de cor ( $\Delta E$ ) e do Índice de *transparência* (WI) das *blendas* (F10-F50) e para filme controle (FC).

<b>Filme</b>	<b>L*</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>	<b><math>\Delta E</math></b>	<b>WI</b>
FC	89,70 ± 0,34 <sup>b</sup>	0,45 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,70 ± 0,28 <sup>d</sup>	1,39 ± 0,34 <sup>ac</sup>	89,55 ± 0,34 <sup>bc</sup>
F10	90,22 ± 0,44 <sup>ab</sup>	0,42 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,92 ± 0,27 <sup>d</sup>	0,90 ± 0,36 <sup>bede</sup>	90,02 ± 0,43 <sup>ac</sup>
F20	90,48 ± 0,25 <sup>a</sup>	0,39 ± 0,06 <sup>a</sup>	2,02 ± 0,30 <sup>d</sup>	0,69 ± 0,23 <sup>bd</sup>	90,26 ± 0,24 <sup>a</sup>
F30	90,41 ± 0,31 <sup>a</sup>	0,33 ± 0,06 <sup>a</sup>	2,64 ± 0,26 <sup>b</sup>	1,14 ± 0,19 <sup>ad</sup>	90,05 ± 0,30 <sup>ab</sup>
F40	90,78 ± 0,18 <sup>a</sup>	0,19 ± 0,06 <sup>b</sup>	3,07 ± 0,24 <sup>abc</sup>	1,39 ± 0,19 <sup>a</sup>	90,28 ± 0,15 <sup>a</sup>
F50	90,68 ± 0,12 <sup>a</sup>	0,14 ± 0,05 <sup>b</sup>	3,29 ± 0,11 <sup>ac</sup>	1,65 ± 0,22 <sup>a</sup>	90,11 ± 0,12 <sup>a</sup>

Observação: Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey. SD: Desvio Padrão.

Avaliando-se individualmente os parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) pode ser observado que o valor da coordenada referente à luminosidade ( $L^*$ ) apresentou, de forma generalizada, um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) com a incorporação de amido às *blendas* quando comparado ao FC. O parâmetro  $a^*$  (intensidade da cor vermelha) apresentou variação mais acentuada e significativa somente para os filmes com maior adição de amido (F40 e F50) quando comparado aos demais filmes com amido e também ao FC. A determinação da intensidade da cor amarela ( $b^*$ ) apresentou um aumento proporcional de acordo com a concentração mássica de amido incorporado ao filme, embora em alguns casos as diferenças não sejam significativas. Ainda referente a este parâmetro, os filmes F30, F40 e F50 foram significativamente diferentes dos demais.

Desta forma, corroborando com as diferenças nos parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , na avaliação global de diferença de cor ( $\Delta E$ ) houve valores de maior expressão para os filmes F30, F40 e F50, relacionado, principalmente, ao aumento de cor amarela em cada filme avaliado. Neste sentido, a crescente incorporação de amido aos filmes tornou-os mais amarelados, destacando-se o aumento significativo ( $p < 0,05$ ) no índice de *amarelamento* (YI) dos filmes F30, F40 e F50 quando comparado com os demais tratamentos, conforme mostrado na Figura 11. Este fato está associado às transformações sofridas pelo amido devido à alta temperatura de extrusão, a exemplo da reação de caramelização que ocorre com carboidratos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Porém, visualmente, todos os filmes apresentaram-se transparentes.

**Figura 11:** Índice de “Amarelamento” (YI) dos filmes avaliados

Nota: Letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

### 5.3.4 Propriedades termogravimétricas

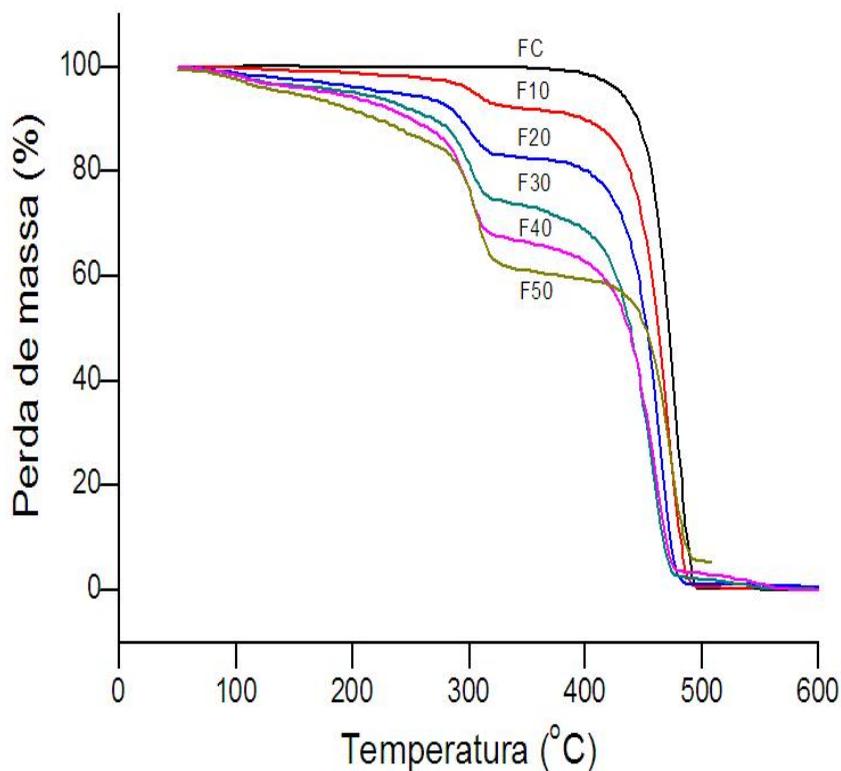
Com o intuito de investigar a influência da incorporação de amido na resistência térmica dos filmes também foram realizadas análises termogravimétricas (TGA: *thermogravimetric analysis*) (Figura 12), sendo obtidas as curvas de perda de massa devido à volatilização dos produtos de degradação em função da temperatura. Pode ser visualizado que a incorporação de amido afetou a estabilidade térmica e, conseqüentemente, a decomposição dos materiais.

Diferentemente do FC, composto apenas por PELBD e que apresentou degradação térmica em apenas uma fase, as *blendas* de

amido/PELBD, apresentaram três estágios, sendo o primeiro relacionado principalmente à perda do glicerol (contido na mistura de amido) e também de água (MA; YU; MA, 2005; MA et al., 2008) que ocorreu de 50°C a 130°C gerando perdas de 0,79%; 1,54%; 2,32%; 2,30% e 3,13% para os filmes F10, F20, F30, F40 e F50, respectivamente. Já no segundo estágio, a degradação térmica ocorreu em temperaturas próximas a 335°C, representando perdas mássicas de 6,97%; 15,55%; 21,80%; 26,47% e 33,23% para os mesmos filmes. Esta fase de decomposição está relacionada à pirólise do amido (AGGARWAL; DOLLIMORE, 1997; MANO; KONIAROVA; REIS, 2003). Estes filmes apresentaram um terceiro estágio de degradação devido à fase de despolimerização do material que compõe os filmes (GARG; JANA, 2011), com as respectivas perdas mássicas 92,24%; 89,91%; 75,88%; 71,23% e 63,64%.

O FC, composto somente de PELBD, apresentou a máxima estabilidade térmica, iniciando sua degradação em aproximadamente 400 °C, com decomposição de 99,89%. Estes valores estão de acordo com os reportados na literatura para decomposição das cadeias carbonadas deste tipo de polietileno (DIKOBÉ; LUYT, 2010).

**Figura 12:** Curvas termogravimétricas para o filme controle (FC) e blends de amido/PELBD (F10, F20, F30, F40 e F50)



Nota: Taxa de aquecimento de 20°C/min.

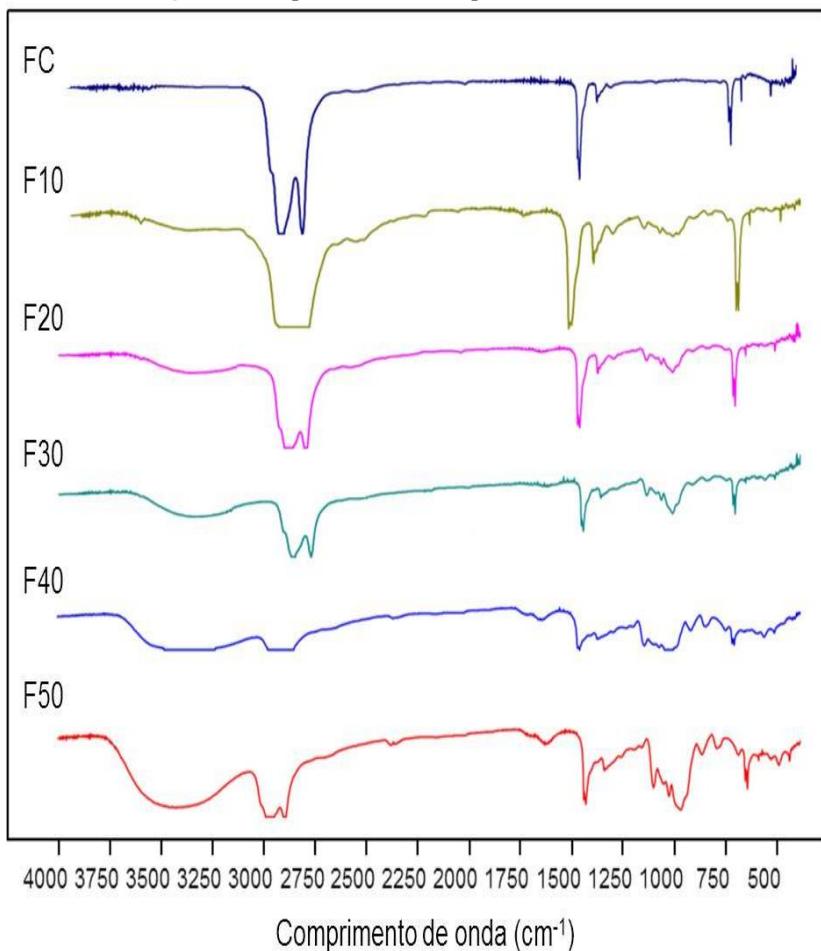
Analogamente, foi realizada a análise de TGA para o ácido cítrico, sendo obtida uma temperatura de decomposição de 231,54 °C, tornando-o passível de maquinabilidade na temperatura de extrusão adotada neste trabalho que foi de 150 °C para a zona 1, de 150 °C para a zona 2 e de 145 °C para a zona 3 (matriz plana – *flat die*).

### 5.3.5 Espectros na região do infravermelho (FT-IR)

A espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR: *Fourier transform infrared spectroscopy*) foi utilizada com o intuito de verificar e confirmar a presença de bandas características dos componentes presentes na composição das *blendas*, bem como possíveis interações entre eles durante o processo de fabricação dos filmes.

Primeiramente, percebe-se, na Figura 13, o predomínio de bandas de absorção típicas dos grupos funcionais do PELBD, como 2852, 2915, 1472 e 719  $\text{cm}^{-1}$  que indicam deformação axial simétrica e também assimétrica de  $\text{CH}_2$  na cadeia polimérica. Entretanto, com a redução da fração PELBD em relação ao amido e demais componentes da mistura contida na MS incorporado nas *blendas* (F10, F20, F30, F40 e F50), percebe-se uma variação simultânea na frequência e intensidade, principalmente das bandas na região de 1472 e 719  $\text{cm}^{-1}$ . Em contrapartida foi evidenciado um aumento gradativo na intensidade dos picos característicos do amido, como 3350  $\text{cm}^{-1}$  relacionados à deformação axial da O-H (KWEON et al., 2000; PARK et al., 2000), em 1026  $\text{cm}^{-1}$  referente à deformação axial da C-O e um em 1150  $\text{cm}^{-1}$  relacionado à deformação axial das ligações glicosídicas C-O-C (PAWLAK; MUCHA, 2003). Devido às absorções características do amido presentes na faixa de 1000 a 1200  $\text{cm}^{-1}$  e 3200 a 3500  $\text{cm}^{-1}$ , não foi possível identificar bandas características referentes aos demais componentes da mistura de amido incorporadas ao polietileno para produção dos filmes.

**Figura 13:** Espectros de FT-IR para cada tratamento



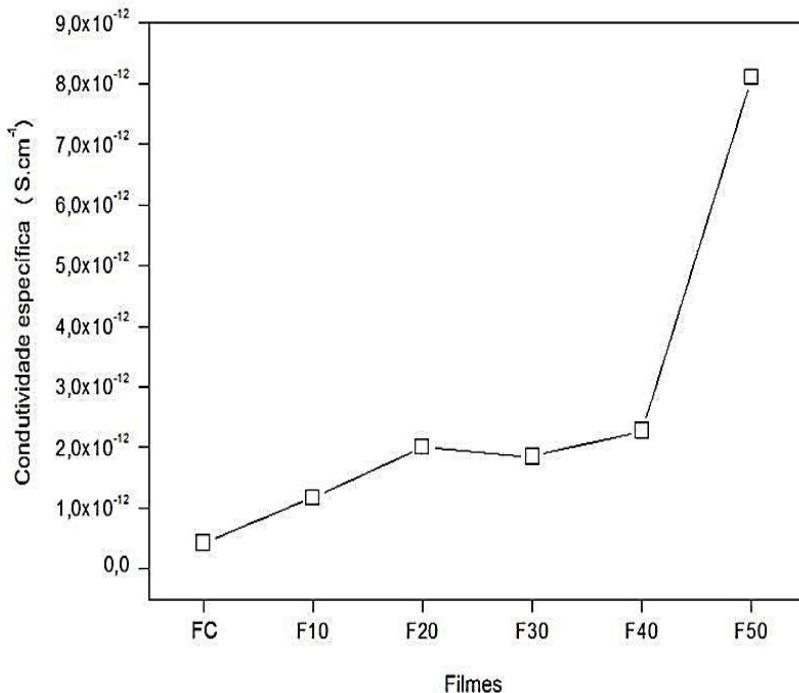
Nota: filme controle (FC) *blendas* de amido/PELBD (F10, F20, F30, F40 e F50).

### 5.3.6. Espectroscopia de Impedância

A Figura 14 demonstra o efeito da adição da mistura de amido (MA) na condutividade elétrica das *blendas* e no FC. Os dados indicam que a condutividade elétrica aumentou com a adição da mistura de amido nos filmes. A condutividade elétrica do FC, composto apenas por LLDPE, foi de  $4,2 \times 10^{-13} \text{ S} \times \text{cm}^{-1}$ . Em contrapartida, as

blendas apresentaram condutividades elétricas de  $1,17 \times 10^{-12}$ ;  $2,01 \times 10^{-12}$ ;  $1,85 \times 10^{-12}$ ;  $2,27 \times 10^{-12}$  e  $8,10 \times 10^{-12}$  S.cm<sup>-1</sup> para os filmes F10, F20, F30, F40 e F50, respectivamente. Um expressivo aumento de cerca de 6 vezes na condutividade elétrica foi detectado com a adição de 50% da mistura de amido (MA), como demonstrado na Figura 14.

**Figura 14:** Determinação da condutividade elétrica do filme controle e das blendas de amido/PELBD F10, F20, F30, F40 e F50



As propriedades elétricas são reforçadas quando o material apresenta uma característica mais aglomerada. Assim, da mesma forma que outros autores salientaram, acredita-se que com o aumento do teor de mistura de amido na matriz PELBD, a mobilidade da rede e a densidade das moléculas portadoras de carga potencial também são aumentadas, o que influencia a condutividade elétrica (FIM et al., 2013). Além disso, a inserção de grupos polares na cadeia aumenta a sua condutividade e hidrofiliçidade (SANGEETHA, 2005). Neste contexto,

a inserção crescente dos domínios polares da MA nas *blendas* pode explicar este expressivo aumento observado na condutividade.

### 5.3.7. Permeabilidade ao vapor de água

Os resultados de Permeabilidade ao Vapor de Água (*PVA*) do filme controle e das *blendas* de amido/PELBD encontram-se listados na Tabela 9. Conforme esperado, a menor *PVA* foi para o FC, de 0,0109 g.mm/m<sup>2</sup>.dia.kPa. Resultados semelhantes, com uma baixa *PVA*, também foram demonstrados para filmes de polietileno (80 µm de espessura) por Parris et al. (1995). Já para as *blendas*, as maiores *PVA* foram encontradas para os filmes F10 e F20, respectivamente, 0,3175 e 0,3308 g.mm/m<sup>2</sup>.dia.kPa. Estes resultados podem ser explicados pelas micrografias destes filmes, que apresentaram formação de grandes aglomerados, com comprometimento de suas integridades morfológicas (Seção 5.3.1). Já nos filmes F30, F40 e F50, a irregularidade dos filmes foi menor e proporcional à concentração de amido incorporado, o que também pode explicar a *PVA* inferior para estes filmes.

**Tabela 9:** Resultados da Permeabilidade ao Vapor de Água (*PVA*) do filme controle (FC) e *blendas* de amido/PELBD

Filmes	<i>PVA</i> (g.mm/m <sup>2</sup> .dia.kPa)		
FC	0,0109	±	0,0090 <sup>c</sup>
F10	0,3175	±	0,0418 <sup>a</sup>
F20	0,3308	±	0,0353 <sup>a</sup>
F30	0,2152	±	0,0385 <sup>b</sup>
F40	0,2484	±	0,0314 <sup>b</sup>
F50	0,2282	±	0,0117 <sup>b</sup>

Observação: Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Os filmes poliméricos, de acordo com uma faixa de valores para a *PVA*, podem ser classificados como pobres (10 a 100 g.mm/m<sup>2</sup>.dia.kPa), moderados (0,10 a 10 g.mm/m<sup>2</sup>.dia.kPa) ou bons (0,01 a 0,10 g.mm/m<sup>2</sup>.dia.kPa) quanto a permeabilidade ao vapor de

água. Desta forma, com esta classificação, todas as *blendas* amido/PELBD avaliadas apresentam moderada barreira ao vapor de água (KROCHTA; DE MULDER-JOHNSTON, 1997).

#### 5.4. ESTUDO DE BIODEGRADAÇÃO

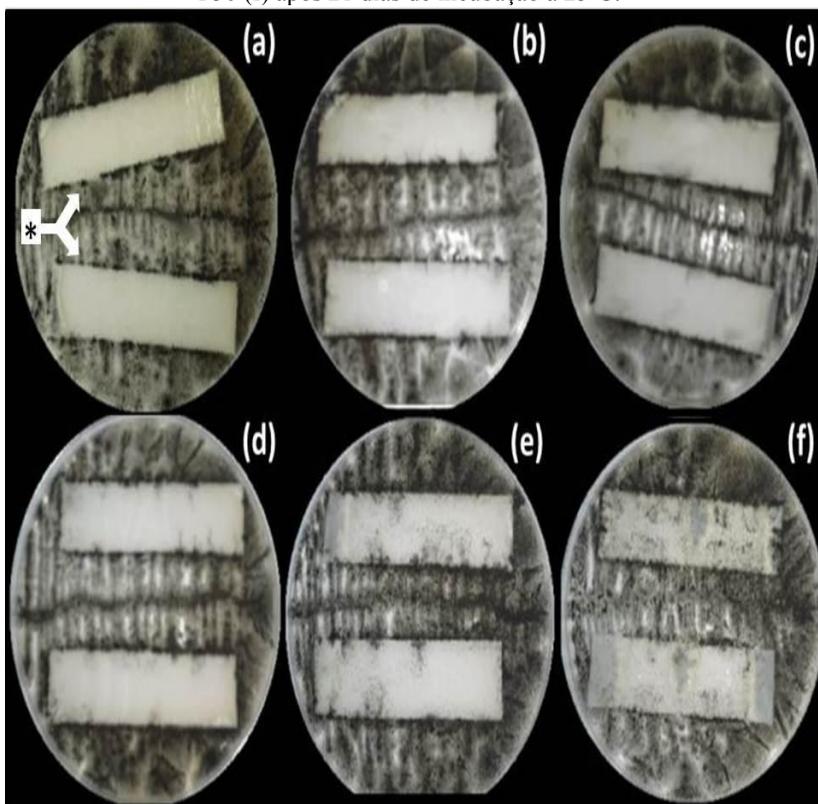
Ao testar os fenômenos de degradação de plásticos no meio ambiente, existe um problema geral sobre os tipos de testes a serem aplicados e as conclusões que podem ser obtidas. Em princípio, os testes podem ser subdivididos em três categorias: testes de campo, testes de simulação e os testes laboratoriais (MÜLLER, 2003). Nesta seção serão apresentados 3 testes realizados, bem como as conclusões obtidas em cada um deles e correlações entre os mesmos.

##### 5.4.1 Biodegradação por *Aspergillus niger*

Os polímeros biodegradáveis são caracterizados pela degradação através da ação de enzimas produzidas por micro-organismos como fungos e bactérias (THARANATHAN, 2003). De acordo com Tharanathan (2003), a biodegradação de polímeros envolve algumas etapas, como o ataque dos micro-organismos na superfície do polímero, o desenvolvimento dos micro-organismos com a utilização do polímero como fonte de carbono e sua consequente degradação. A Figura 15 apresenta o crescimento fúngico (*Aspergillus niger*) no FC (PELBD) e nas *blendas* amido/PELBD. Os resultados revelam que não houve crescimento fúngico na superfície do filme FC. O fato de não haver crescimento deve-se, propriamente, à estrutura química do PELBD, o qual é formado por ligações carbono-carbono não susceptíveis ao ataque microbiano (SHAH; BANDOPADHYAY; BELLARE, 1995).

Em contrapartida, após 21 dias de incubação, o crescimento fúngico foi claramente visível nas superfícies dos filmes compostos por *blendas* de amido e PELDB, principalmente nas formulações de maior proporção de amido, F30, F40 e F50, como pode ser visto na Figura 15. As *blendas* de amido/PE apresentam uma fase contínua de amido que proporciona ao material, além de um caráter hidrofílico, uma facilidade ao acesso da amilase produzida pelos micro-organismos para efetuarem a degradação (El-SHAFFI et al., 1998; BONHOMME et al., 2003).

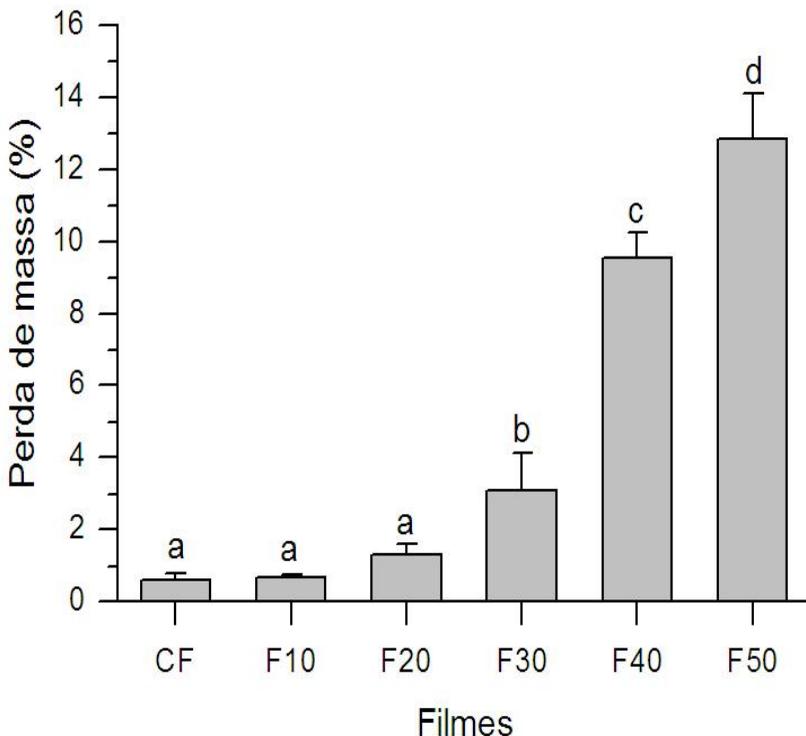
**Figura 15:** Evidência do crescimento de *Aspergillus niger* na superfície do filme FC (a) e nas *blendas* de amido/PELBD F10 (b), F20 (c), F30 (d), F40 (e) e F50 (f) após 21 dias de incubação a 25°C.



Nota: (\*) representa duplicata dos filmes (10 cm × 2,5 cm) inoculados em meio contendo *Aspergillus niger* (região escura presente na placa circular de PDA) .

Da mesma forma que foi observado um maior crescimento fúngico superficial para F30, F40 e F50, os mesmos filmes apresentaram deterioração significativa ( $p < 0,05$ ) em termos de perdas de massa (Figura 16) correspondentes a 3,09%, 9,56% e 12,83%, respectivamente. Tal observação pode estar relacionada à ação de degradação realizada pela enzima amilase produzida pelo *A. niger* que é capaz de atacar as ligações  $\alpha$  1-4 e  $\alpha$  1-6 da fração de amido das *blendas*, utilizando-as como fonte de energia para seu crescimento e desenvolvimento (PASCOAL; MITIDIERI; FERNANDES, 2011).

**Figura 16:** Percentual de perda de massa do filme FC e das *blendas* de amido/PELBD (F10 - F50) após 21 dias de armazenamento em meio inoculado com *Aspergillus niger*.

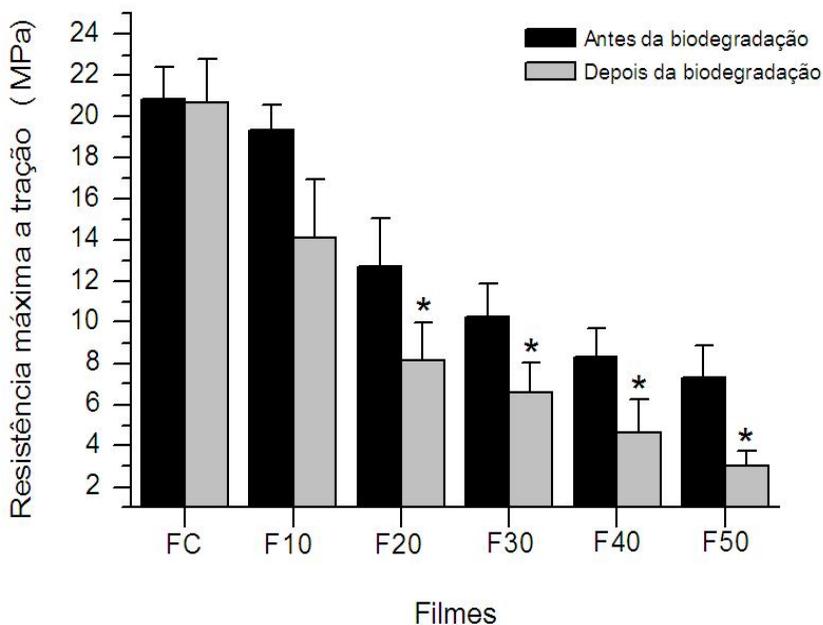


Nota: Letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

É bem conhecido que o tempo de vida útil de um filme depende principalmente, da retenção de suas propriedades mecânicas, e que alguns micro-organismos podem utilizar a fração de amido presente em embalagens contendo este polímero como fonte preferencial de carbono e, assim, causar à erosão da superfície, ocasionando redução da resistência à tração (NISHIDA; TOKIWA, 1993). Vieyra, Martín-Martínez e Aguilar-Méndez (2011), assumiram a medida da resistência máxima à tração como uma medida de biodegradação de *blendas* após serem submetidas às condições de degradação.

Assim, torna-se relevante avaliar o dano causado pelo *A. niger* nas *blendas* de amido/PELBD também por medida de suas propriedades mecânicas (SUNILKUMAR et al., 2012). A avaliação dos filmes biodegradáveis após 21 dias de incubação em meio contendo *A. niger* resultou em perdas acentuadas na resistência máxima à tração ( $R_{max}T$ ), como pode ser visto na Figura 17. Enquanto o FC apresentou uma redução de somente 0,99% no parâmetro de  $R_{max}T$ , os filmes obtidos a partir das *blendas* contendo amido apresentaram reduções significativas ( $p < 0,05$ ) de 27,16%, 36,25%, 35,46% para F10, F20, F30 e ainda mais expressivas para F40 e F50, com 44,81% e 58,44%, respectivamente. Estas características indicam que as *blendas* tornaram-se mais fracas com o processo de biodegradação. Sunilkumar et al. (2012) ao avaliarem *blendas* biodegradáveis atribuíram esta redução da resistência à presença de microfissuras induzidas pela degradação.

**Figura 17:** Resistência máxima a tração do filme FC e das *blendas* amido/PELBD (F10 - F50) após 21 dias de armazenamento em meio inoculado com *Aspergillus niger*



Nota: (\*) Representa diferença significativa, para o filme antes da biodegradação e depois da biodegradação, ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey

### 5.4.2 Degradação enzimática

A Tabela 10 apresenta os resultados da perda de massa e da redução da  $R_{máx}T$  dos filmes FC e das *blendas* de amido/PELBD após submetidos ao processo de degradação enzimática por amilase. O FC (PELBD), como esperado devido aos resultados obtidos anteriormente com a biodegradação por *A. niger*, não apresentou nenhuma alteração significativa frente à ação da amilase, certamente devido à estrutura deste componente não servir de substrato, prontamente útil, para a enzima (SHAH; BANDOPADHYAY; BELLARE, 1995).

Em contrapartida, após a incubação das *blendas* de amido/PEBDL em meio contendo amilase, foram evidentes a degradação pela ação enzimática medida tanto pela perda de massa quanto pela redução da  $R_{máx}T$  dos filmes (Tabela 10).

**Tabela 10:** Avaliação da perda de massa e da Resistência máxima a tração das *blendas* (F10-F50) e filme controle (FC) após biodegradação enzimática por  $\alpha$ -amilase.

Filme	Perda de massa (%)	Redução da $R_{máx}T$ (%)
FC	-	-
F10	0,48	8,05
F20	0,31	6,28
F30	4,65	11,10
F40	4,92	10,96
F50	7,98	14,78

Nota: (-) manteve as características sem alteração.

Os filmes apresentaram deterioração significativa ( $p < 0,05$ ) em termos de perdas de massa (Tabela 10), principalmente para aqueles com maior teor de mistura de amido, sendo de 4,65; 4,92 e 7,98% para F30, F40 e F50, respectivamente. Tal observação pode estar relacionada à ação de degradação do amido pela ação da enzima amilase (PASCOAL; MITIDIERI; FERNANDES, 2011).

No que se refere à resistência máxima a tração ( $R_{máx}T$ ), podem ser observados dados semelhantes à perda de massa. Os filmes obtidos a

partir das *blendas* contendo amido apresentaram reduções significativas ( $p < 0,05$ ) na  $R_{max}T$ , de 8,05 e 6,28% para F10, F20 e ainda mais expressivas para F30, F40 e F50, com 11,10; 10,96 e 14,78%, respectivamente.

De acordo com Bajpai e Shrivastava (2005), a degradação *in vitro* do amido induzida por  $\alpha$ -amilase pode ocorrer pelas seguintes formas: por erosão da superfície da *blenda*, pela difusão da enzima para o interior da *blenda* ou pela combinação das duas formas, o que culmina em alterações significativas nas propriedades dos materiais.

### 5.4.3 Biodegradação em solo

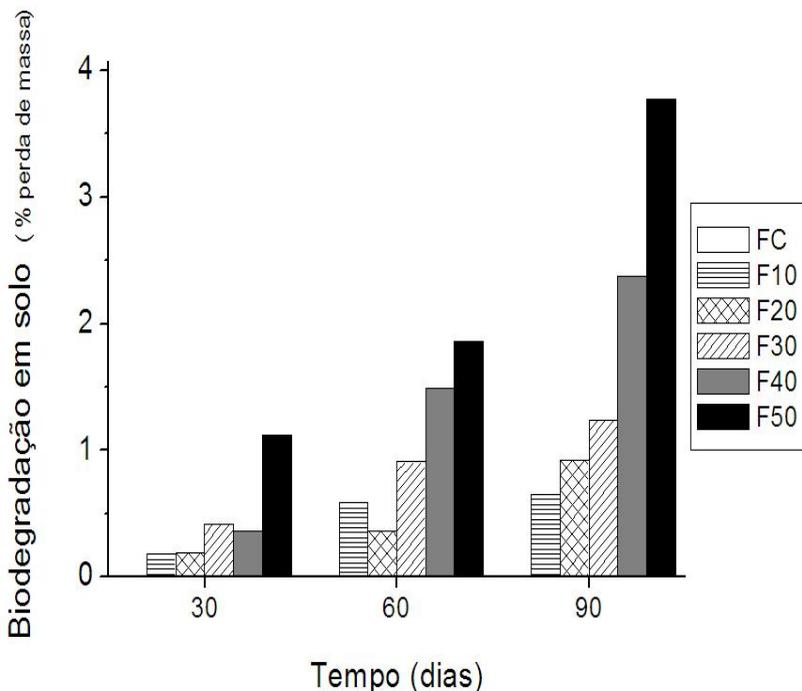
A degradação de *blendas* de amido/PELBD no solo, provavelmente ocorre em duas etapas: (i) uma simples hidrólise que degrada a fração de amido sem afetar o PE; e, (ii) posterior a degradação do amido pelas enzimas microbianas que geram em nível superficial fragmentos da mistura de polímero, a assimilação do PE pelos micro-organismos do solo (SHIMAO, 2001).

O solo apresenta uma ampla diversidade de micro-organismos. Em 1 g de solo encontram-se mais que  $10^7$  células procarióticas (GANS; WOLINSKY; DUNBAR, 2005). Neste contexto, os microrganismos, tanto bactérias como fungos, estão envolvidos na degradação de plásticos naturais e sintéticos. A biodegradação de plásticos prossegue ativamente sob diferentes condições no solo de acordo com suas propriedades, pois os micro-organismos responsáveis pela degradação diferem uns dos outros em suas condições ideais de crescimento em solo (SHAH et al., 2008).

A Figura 18 apresenta os resultados referentes à perda de massa dos filmes FC e das *blendas* de amido/PELBD após permanecerem enterradas por 30, 60 e 90 dias. Conforme pode ser observado, ocorreram alterações nos filmes (perdas de massa) em todos os períodos de avaliação: 30, 60 e 90 dias. Como esperado, o polímero sintético (FC) não apresentou indícios de degradação. Entretanto, quando este polímero foi adicionado de amido (*blendas*), o processo de degradação foi proporcional, o que pode ser observado na Figura 18 que demonstra, de uma forma generalizada, perdas de massa crescentes tanto em função da proporção de amido presente na *blenda* ( $F10 < F20 < F30 < F40 < F50$ ),

quanto em função do tempo de processo de biodegradação (30, 60 e 90 dias).

**Figura 18:** Avaliação da perda de massa das *blendas* (F10-F50) e do filme controle (FC) submetidos à biodegradação em solo por 30, 60 e 90 dias.



Vieyra, Martínez e Méndez (2011) destacaram que as propriedades mecânicas, dentre elas a  $R_{máx}T$ , de *blendas* poliméricas submetidas à biodegradação em solo podem ser afetadas pela erosão da superfície do polímero em função da ação provocada por micro-organismos presentes no solo, os quais utilizam o polímero com fonte de carbono.

Neste contexto, foi realizada a determinação da  $R_{máx}T$  do filme FC e das *blendas* de amido/PELBD após 30, 60 e 90 dias de contato com o solo. Os resultados encontram-se apresentados na Tabela 11. O FC não apresentou alterações significativas ao longo do processo de

biodegradação. Já as *blendas* apresentaram um redução na  $R_{máx}T$ , mais expressivas com o aumento da proporção de amido presente na *blenda* no decorrer do processo (30, 60 e 90 dias), indicando sinais de biodegradação.

**Tabela 11:** Perda da Resistência máxima a tração ( $R_{máx}T$ ) (%) das *blendas* (F10-F50) e filme controle (FC) submetidos à biodegradação em solo por 30, 60 e 90 dias

Filmes	Redução da $R_{máx}T$ (%) em diferentes tempos de biodegradação em solo		
	30 dias	60 dias	90 dias
FC	0,05 <sup>cA</sup>	0,11 <sup>eA</sup>	0,13 <sup>eA</sup>
F10	0,04 <sup>cA</sup>	0,44 <sup>dB</sup>	0,99 <sup>dB</sup>
F20	0,38 <sup>bA</sup>	0,69 <sup>dB</sup>	3,82 <sup>cC</sup>
F30	0,37 <sup>bA</sup>	2,29 <sup>cB</sup>	5,41 <sup>bC</sup>
F40	0,42 <sup>bA</sup>	3,02 <sup>bB</sup>	5,78 <sup>bC</sup>
F50	1,10 <sup>bA</sup>	6,01 <sup>aB</sup>	9,50 <sup>bC</sup>

Observação: Letras minúsculas iguais na mesma coluna e maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

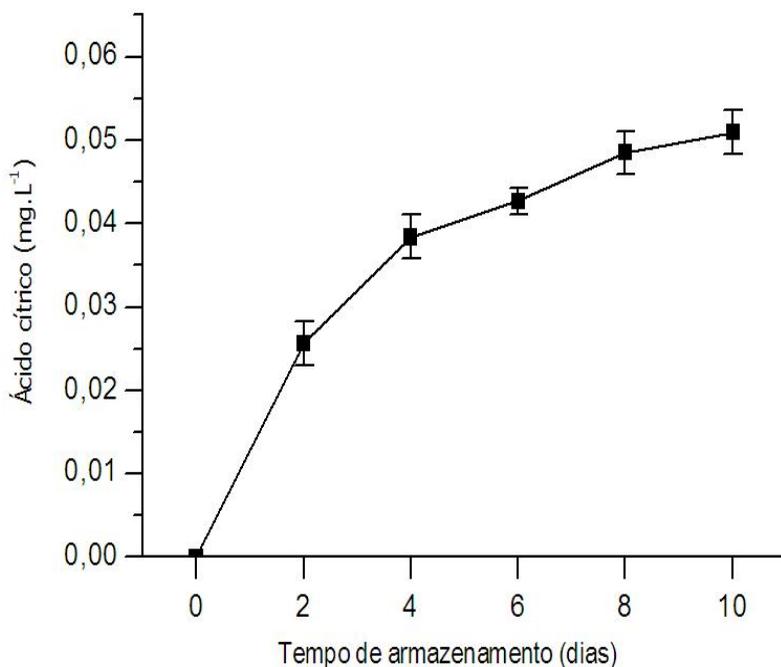
## 5.5. AVALIAÇÃO DA MIGRAÇÃO DO ÁCIDO CÍTRICO E DO EFEITO FUNCIONAL DAS EMBALAGENS

Após a avaliação dos filmes quanto a suas propriedades mecânicas, físico-químicas, colorimétricas, de barreira e de biodegradabilidade concomitante a critérios como a maquinabilidade dos filmes quanto às características de resistência ao processo de produção de embalagem (“saquetas”), manutenção do vácuo e soldabilidade, o filme F30 foi selecionado como o de melhor desempenho frente a estas condições, e desta forma foi aplicado como embalagem para carne bovina e testado quanto a sua atividade duofuncional, antioxidante e antimicrobiana, através dos índices de qualidade apresentados a seguir.

### 5.5.1. Estudos de migração

A Figura 19 apresenta a migração do AC durante o período de armazenamento. Neste contexto, foi detectado AC a partir do segundo dia de armazenamento, representando uma dose inicial migrada de  $0,0256 \text{ mg.L}^{-1}$ , seguido dos valores de  $0,0384$ ;  $0,0427$ ;  $0,0485$  e  $0,0510 \text{ mg.L}^{-1}$  para os dias 4, 6, 8 e 10, respectivamente.

**Figura 19:** Migração do ácido cítrico do filme F30 para o meio simulante durante o período de armazenamento



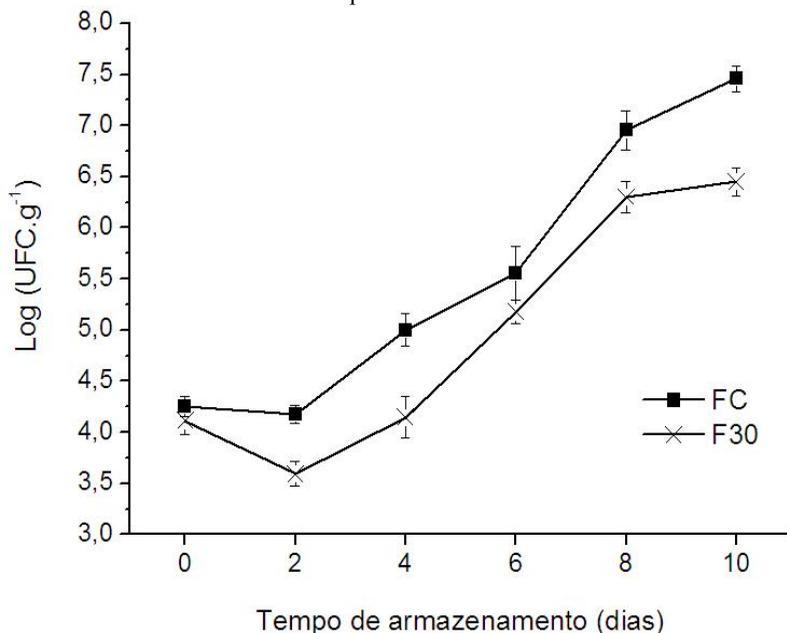
Sabe-se que a liberação de um princípio ativo de um polímero para um meio pode ser influenciada principalmente pela polaridade das partes envolvidas (KUORWEL et al., 2013; LÓPEZ-DE-DICASTILLO et al., 2011; SUPPAKUL et al., 2003), o que pode explicar a facilidade de migração do AC das embalagens para a água, a qual foi utilizada como meio simulante.

### 5.5.2. Avaliação do efeito antimicrobiano e antioxidante

De acordo com Sun e Holley (2012), a vida de prateleira das carnes vermelhas frescas é frequentemente determinada pela atividade de micro-organismos, que resulta no desenvolvimento de odores indesejáveis, formação de gás e limosidade e também pela influência de fatores bioquímicos relacionados à oxidação lipídica e de pigmentos gerando sabores indesejáveis e descoloração da superfície da carne.

Na Figura 20 pode ser observada uma redução da população microbiana sob o aspecto da Contagem Bacteriana Total (CBT) da carne acondicionada no filme F30 em relação ao FC, resultando na redução de aproximadamente 1 log da população microbiana ao final do tempo de avaliação (6,44 e 7,46 log UFC.g<sup>-1</sup>), em cujo ponto também foi detectada a maior concentração migrada de AC (seção 5.5.1). Tal redução deve-se ao efeito antimicrobiano do AC em carnes resfriadas, previamente descrito na literatura por González-Fandos, Herrera e Maya (2009), Doležalová et al. (2009) e Dias, Ávila e Schwan (2011).

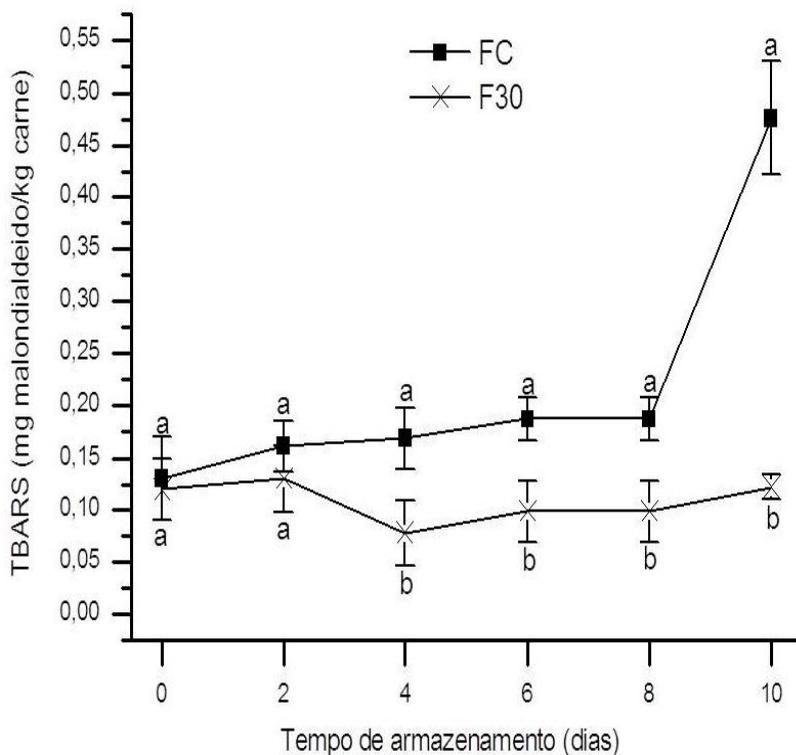
**Figura 20:** Contagem bacteriana total (CBT) da carne embalada nos filmes FC e F30 durante o período de armazenamento



Adicionalmente, destaca-se que a liberação do AC da embalagem proporciona uma redução da carga microbiana no decorrer do armazenamento, a qual, conseqüentemente, está relacionada à formação de características indesejáveis à carne. Normalmente, quando alterações em relação à viscosidade e limosidade são detectadas, significa que populações de bactérias deteriorantes superiores a  $10^6 \text{UFC.g}^{-1}$  certamente estão presentes no alimento. Porém, em algumas situações são necessárias populações microbianas de  $10^7$  ou até mesmo  $10^8 \text{UFC.g}^{-1}$  do alimento para haver alterações perceptíveis em relação à viscosidade, odor e cor da carne (JAY, 1992). Para o filme controle a contagem bacteriana total a partir do oitavo dia foi superior a  $10^7 \text{UFC.g}^{-1}$ . Já para o F30, a população microbiana manteve-se em torno de  $10^6 \text{UFC.g}^{-1}$ , proporcionando a manutenção das características desejáveis da carne, como manutenção da cor, ausência de limosidade e odores desagradáveis.

Um comportamento similar ao observado quanto ao efeito antimicrobiano também foi verificado em relação ao efeito antioxidante, como mostrado na Figura 21. Pode-se observar que as amostras de carne acondicionadas no F30 mostraram uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) a partir do quarto dia de armazenamento, mantendo-se distantes e significativamente diferentes das amostras acondicionadas no FC durante todo o tempo de avaliação.

**Figura 21:** Determinação dos níveis de TBARs da carne embalada nos filmes FC e F30 durante o período de armazenamento



Nota: Letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

No último dia de avaliação (décimo dia) a diferença no índice de TBARs (mg malondialdeído/kg carne) das amostras de carne acondicionadas no filme F30 em comparação ao FC foi a mais expressiva, com índice de cerca de 4 vezes menor, representando valores de 0,12 e 0,48 de TBARs, respectivamente.

Ke et al. (2009) demonstraram o efeito antioxidante do ácido cítrico em cortes cárneos bovinos resfriados pelo teste de TBA. Sherd et al. (2000) apontaram como o limiar para detecção de rancidez pelos consumidores índices de TBARs de 0,5 mg/kg, índice a partir do qual os consumidores são capazes de detectar rancidez (SHEARD et al., 2000).

Neste estudo, partimos da hipótese que o efeito antioxidante da embalagem está relacionado à migração AC (reconhecidamente um efetivo antioxidante) para a carne, pois os resultados apresentam uma correlação entre a taxa de liberação (mostrados na seção 5.5.1) e a redução no índice de TBARs.

### 5.5.3 Coloração da carne

Os parâmetros instrumentais de coloração das carnes acondicionadas nos filmes F30 e FC (Tabela 12) foram determinados e a principal alteração ocorreu no parâmetro  $a^*$  (coordenada correspondente também à cor vermelha). Em similaridade ao efeito antioxidante, previamente discutido na seção 5.5.2 deste trabalho, as maiores diferenças no teor de vermelho (carne desejável) foram instrumentalmente demonstrados pelo aumento nos valores de  $a^*$  que ocorreram de forma significativa ( $p < 0,05$ ) a partir do quarto dia de avaliação, indicando, desta forma, uma intensificação na formação de OMB em relação ao tratamento FC que, por sua vez, apresentou menores valores de  $a^*$ , indicando a saturação da cor e maior formação da metamioglobina. Adicionalmente, as amostras armazenadas em F30 apresentaram um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) do Índice *Chroma*, a partir do sexto dia de armazenamento, quando comparadas com o FC.

**Tabela 12:** Resultados dos parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  e do Índice *Chroma* das carnes embaladas no filme controle (FC) e F30

Tempo (dias)	$L^*$	
	FC	F30
0	47,75 ± 7,62 <sup>aA</sup>	51,32 ± 1,28 <sup>aA</sup>
2	48,74 ± 3,72 <sup>aA</sup>	56,64 ± 3,69 <sup>aA</sup>
4	50,82 ± 2,38 <sup>aA</sup>	52,45 ± 3,28 <sup>aA</sup>
6	55,61 ± 3,21 <sup>aA</sup>	45,93 ± 1,72 <sup>aA</sup>
8	45,98 ± 1,69 <sup>aA</sup>	50,09 ± 3,77 <sup>aA</sup>
10	48,90 ± 1,88 <sup>aA</sup>	49,89 ± 4,74 <sup>aA</sup>
	$a^*$	
	FC	F30
0	18,68 ± 3,31 <sup>aA</sup>	21,54 ± 2,11 <sup>aA</sup>
2	20,39 ± 2,97 <sup>aA</sup>	19,92 ± 1,36 <sup>aA</sup>

4	$16,86 \pm 1,04$ <sup>aA</sup>	$19,80 \pm 0,71$ <sup>aB</sup>
6	$14,48 \pm 1,05$ <sup>aA</sup>	$23,50 \pm 3,08$ <sup>aB</sup>
8	$15,58 \pm 2,19$ <sup>aA</sup>	$19,92 \pm 1,81$ <sup>aB</sup>
10	$15,64 \pm 1,49$ <sup>aA</sup>	$20,13 \pm 2,38$ <sup>aB</sup>
<b>b*</b>		
	FC	F30
0	$10,59 \pm 2,36$ <sup>aA</sup>	$14,03 \pm 3,26$ <sup>aA</sup>
2	$13,67 \pm 1,00$ <sup>aA</sup>	$15,48 \pm 0,51$ <sup>aA</sup>
4	$14,72 \pm 1,14$ <sup>aA</sup>	$12,94 \pm 0,10$ <sup>aA</sup>
6	$12,61 \pm 2,74$ <sup>aA</sup>	$13,63 \pm 1,22$ <sup>aA</sup>
8	$12,28 \pm 1,04$ <sup>aA</sup>	$13,56 \pm 0,90$ <sup>aA</sup>
10	$13,18 \pm 1,90$ <sup>aA</sup>	$14,32 \pm 2,61$ <sup>aA</sup>
<b>Chroma</b>		
	FC	F30
0	$21,66 \pm 2,09$ <sup>aA</sup>	$25,79 \pm 2,91$ <sup>aA</sup>
2	$24,57 \pm 2,87$ <sup>aA</sup>	$25,24 \pm 1,10$ <sup>aA</sup>
4	$22,40 \pm 1,11$ <sup>aA</sup>	$23,65 \pm 0,62$ <sup>aA</sup>
6	$19,25 \pm 2,32$ <sup>aA</sup>	$27,18 \pm 3,22$ <sup>aB</sup>
8	$19,85 \pm 2,19$ <sup>aA</sup>	$24,14 \pm 1,05$ <sup>aB</sup>
10	$20,48 \pm 2,01$ <sup>aA</sup>	$24,82 \pm 1,84$ <sup>aA</sup>

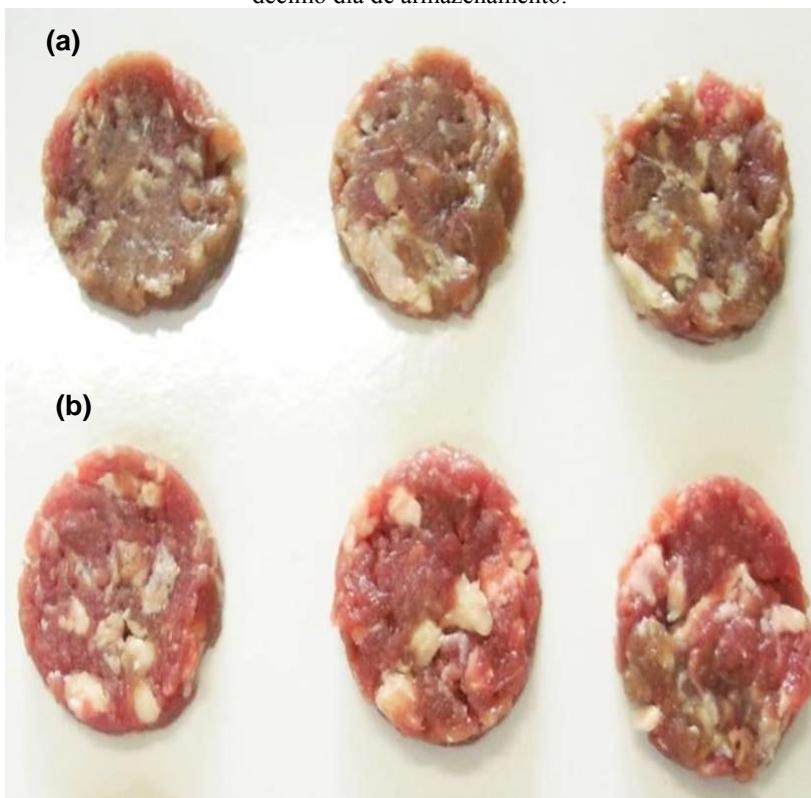
Observação: Letras minúsculas iguais na mesma coluna e maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Ainda é importante destacar que a medida colorimétrica da coordenada a\* para as carnes embaladas no filme F30 no último dia de armazenamento apresentou um valor médio de 20,13 ( $\pm 2,38$ ), resultados muito próximos aos obtidos por VENTURINI (2003) quando estudou a coloração de carne bovina (contrafilé) nas mesmas condições com valor para a\* de 19,70 ( $\pm 0,6$ ).

Existe uma dificuldade em estabelecer uma relação direta entre a coloração aparente da carne *versus* os parâmetros colorimétricos instrumentais. No entanto, a coloração vermelha se sobressai como um fator crítico na aceitabilidade de carnes vermelhas (ISDELL et al., 2003) e, desta forma, os resultados obtidos demonstraram valores significativamente superiores da coordenada  $a^*$  (coloração vermelha) para as carnes embaladas no filme ativo (F30), o que pode ser claramente confirmado também visualmente na Figura 22.

A Figura 22 apresenta as amostras de carne embaladas no FC e no F30 no último dia de armazenamento. Destaca-se a coloração vermelho-cereja desejável para carne bovina embalada com o F30, característico da oximioglobina (OMb). Buckley et al., (1995) e Morrissey et al., (1998) destacaram que as alterações na cor da carne estão intimamente relacionadas com a oxidação de lipídios e de pigmentos.

**Figura 22:** Coloração das carnes embaladas nos filmes FC (a) e F30 (b) no décimo dia de armazenamento.



Nota: imagens referentes à triplicata de amostra.

A cor da carne é principalmente dependente do estado de oxidação química do pigmento mioglobina, que pode ser encontrado em três formas distintas: desoximioglobina (coloração vermelho-púrpura com baixa aceitabilidade pelos consumidores), metamioglobina (coloração marrom geralmente associada à falta de frescor) e oximioglobina (coloração tecnicamente conhecida como vermelho-cereja desejável para as carnes) (HOOD; RIORDAN, 1973; FAUSTMAN; CASSENS, 1990; RENERRE, 1990; TROY; KERRY, 2010).

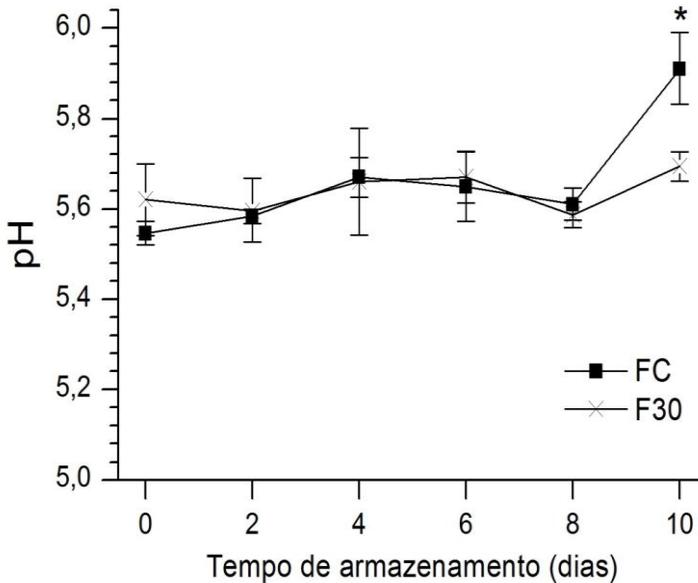
Neste contexto, este expressivo resultado em relação à coloração da carne possivelmente está relacionado à capacidade de

prevenção da oxidação por parte do ácido cítrico proveniente da embalagem ativa, cuja atividade impede à oxidação da mioglobina e, conseqüentemente, evita a produção de uma coloração indesejável para carne. Chan et al.,(1995) destacaram que quando a oximioglobina é oxidada a metamioglobina, a carne muda de cor de um vermelho-cereja aceitável para um marrom indesejável. Estas características podem ser claramente visualizadas na Figura 22 para as amostras embaladas nos filmes F30 e FC (sem a proteção do ácido cítrico).

### 5.5.4 pH

A Figura 23 apresenta o resultado do pH das amostras de carne embaladas nos filmes FC e F30. Os valores de pH das carnes embaladas tanto em FC quanto em F30 mantiveram-se com pequenas variações até o último dia de armazenamento, no qual foi observado um valor de pH significativamente inferior para F30 quando comparado com FC ( $p < 0,05$ ), com valores de 5,6 e 5,9 respectivamente.

**Figura 23:** pH das carnes embaladas nos filmes FC e F30 durante o armazenamento.



Nota: (\*) diferença significativa ( $p < 0,05$ )

É importante ressaltar que o pH tem uma relação direta com a qualidade microbiológica da carne. Assim, altos valores de pH estão relacionados a um aumento do número de micro-organismos que causam deterioração, resultando em uma alta atividade proteolítica e produção de compostos básicos que ocasionam o aumento do pH da carne (LAVIERI; WILLIAM, 2014). Neste trabalho, estas evidências também foram confirmadas, pois no último dia de armazenamento da carne, além da determinação da maior contagem bacteriana (seção 5.5.2), foi evidenciado o mais expressivo aumento do pH das carnes não protegidas com a embalagem ativa (F30).

### 5.5.5 Atividade de água ( $A_w$ )

A disponibilidade de água pode favorecer o crescimento de bactérias, bolores e leveduras e, assim, afetar a segurança e a qualidade dos alimentos. Neste contexto, foi avaliado e comparado o efeito dos filmes na atividade de água de carnes bovinas embaladas em F30 e FC durante o período de armazenamento. O valor inicial da  $A_w$  das amostras de carnes embaladas em F30 e em FC foi de 0,981, sendo que as determinações posteriores em diferentes dias de armazenamento não apresentaram alterações significativas para este valor (Tabela 13).

**Tabela 13:** Resultados da Atividade de água ( $A_w$ ) das carnes embaladas no filme controle (FC) e F30

Tempo (dias)	$A_w$	
	FC	F30
0	0,981 ± 0,01 <sup>aA</sup>	0,981 ± 0,01 <sup>aA</sup>
2	0,979 ± 0,05 <sup>aA</sup>	0,975 ± 0,05 <sup>aA</sup>
4	0,980 ± 0,01 <sup>aA</sup>	0,980 ± 0,01 <sup>aA</sup>
6	0,979 ± 0,01 <sup>aA</sup>	0,980 ± 0,01 <sup>aA</sup>
8	0,980 ± 0,01 <sup>aA</sup>	0,980 ± 0,01 <sup>aA</sup>
10	0,980 ± 0,01 <sup>aA</sup>	0,981 ± 0,01 <sup>aA</sup>

Observação: Letras minúsculas iguais na mesma coluna e maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Desta forma, ambos os filmes (controle e filme ativo) apresentaram comportamentos semelhantes com relação à  $A_w$  do produto, demonstrando que mesmo com a incorporação do polímero amido em PELBD (para produção de F30) ocorreu a manutenção da  $A_w$  do produto embalado em níveis semelhantes a um filme tradicional (feito somente de PELBD, FC).

## 6. CONCLUSÕES

O trabalho realizado proporcionou a verificação de etapas, processos e características fundamentais para obter *blendas* poliméricas de amido/PELBD que possibilitem sua aplicação como embalagem para alimento. Também foi evidenciada a potencialidade da incorporação do ácido cítrico como substância multifuncional em filmes com o objetivo de torná-lo ativo contra processos oxidativos e microbiológicos.

Em relação ao processo de extrusão e as características das *blendas* poliméricas de amido/PE conclui-se que:

- a incorporação da mistura de amido ao PELBD pelo processo de extrusão apesar de influenciar em suas propriedades mecânicas, físico-químicas, colorimétricas, térmicas e de barreira proporciona a produção de filmes com maquinabilidade, soldabilidade e resistência aptos a aplicação como embalagem de produto cárneo.

Quanto à atividade multifuncional das embalagens produzidas a partir das *blendas* de amido/PELBD aditivadas com ácido cítrico conclui-se que:

- a embalagem ativa foi eficiente na manutenção das características de qualidade da carne, reduzindo o processo de oxidação bem como a contagem bacteriana total e ainda promoveu o desenvolvimento de uma coloração vermelho cereja nas amostras de carne, característica que é de extrema importância sob o ponto de vista de aplicação comercial.

Além da padronização da produção de *bioblendas* pelo processo de extrusão e do desenvolvimento de um material de embalagem com atividade multifuncional, o filme sofreu degradação pela ação do *Aspergillus niger*, da enzima amilase e em solo, fato o qual o caracteriza como filme ativo biodegradável.

Deste modo, com base nos pontos avaliados e considerando a necessidade de novos métodos de conservação dos alimentos aliados a práticas mais sustentáveis do ponto de vista danos ambientais e consumo de recursos naturais conclui-se que o filme biodegradável de amido de milho e PELBD com atividade multifuncional atribuída ao

ácido cítrico apresenta-se como uma boa alternativa para o armazenamento de carne bovina.

## 7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Analisar o ciclo de vida dos filmes em diferentes condições de armazenamento.
- Testar a incorporação na forma de *blendas* de diferentes polímeros naturais degradáveis para produção de filmes para alimentos.
- Explorar a potencialidade da Espectroscopia por Impedância para estudo de embalagens para alimentos.
- Realizar a análise sensorial dos produtos para teste de aceitabilidade.
- Testar a eficiência dos filmes em outros produtos alimentícios, tanto de origem animal quanto vegetal.
- Avaliar os filmes após serem submetidos ao processo de biodegradação por Microscopia Eletrônica de Varredura.
- Avaliar o custo de produção do filme ativo.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRE - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMBALAGENS. Disponível em: <http://www.abre.org.br/jornal/news108/index.htm>. Acesso em: 29 de março de 2014.

ADAMS, M. R.; MOSS, M. O. **Microbiologia de los Alimentos**. Zaragoza : Acribia, 1997, 464 p.

AGGARWAL, P.; DOLLIMORE, D. The combustion of starch, cellulose and cationically modified products of these compounds investigated using thermal analysis. **Thermochemica Acta**, v. 291, p. 65-72, 1997.

AGNELLI, J.A.M. **Introdução a materiais poliméricos**. Aperfeiçoamento em tecnologia de polímeros, São Paulo/São Carlos. UFSCAR/NRPP, 282 p., 2001.

AHMADI, R; KALBASI-ASHTARI, A.; OROMIEHIE, A.; YARMAND, M.S.; JAHANDIDEH, F. Development and characterization of a novel biodegradable edible film obtained from psyllium seed (*Plantago ovata* Forsk). **Journal of Food Engineering**, v. 109 (4), p. 745-751, 2012.

AL-HASSAN, A.A.; NORZIAH, M. H. Starch–gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. **Food Hydrocolloids**. v. 26, p. 108-117, 2012.

AMERICAN Society Standard Testing and Materials – ASTM. **Standard specification for standard atmosphere for conditioning and testing flexible barriers materials – E171-94**. Philadelphia: ASTM, 1p. 1996. a

AMERICAN Society Standard Testing and Materials – ASTM. **Standard Practice for Conditioning Plastics and Electrical Insulating Materials form testing – D681-95**. Philadelphia: ASTM, 3p. 1996. b

AMERICAN Society Standard Testing and Materials – ASTM. **Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials - E96**. Philadelphia: ASTM, 13p. 1996. c

AMMALAA, A.; BATEMANA, S.; DEANA, K.; PETINAKISA, E.; SANGWANA, P.; WONGA, S.; YUANA, Q.; YUA, L.; PATRICKB,

C.; LEONG, K.H. An overview of degradable and biodegradable polyolefins. **Progress in Polymer Science**. v. 36, p. 1015-1049, 2011.

ANASTASSIADIS, S.; REHM, H. Oxygen and temperature effect on continuous citric acid secretion in *Candida oleophila*. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 9(4), p. 26-39, 2006.

APHA. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4 ed. Washington, D.C.: APHA, 2001. 676 p.

APPENDINI, P., HOTCHKISS, J. H. Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. v. 3, p 113-126, 2002.

APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J.H. Immobilization of lysozyme on food contact polymers as potential antimicrobial films. **Packaging Technology and Science**, v. 10, p. 271-279, 1997.

BAJPAL, A.K.; SHRIVASTAVA, J. In vitro enzymatic degradation kinetics of polymeric blends of crosslinked starch and carboxymethyl cellulose. **Polymer International** v.54 (11), p. 1524-1536, 2005.

BETIKU, E.; ADESINA, O.A. Statistical approach to the optimization of citric acid production using filamentous fungus *Aspergillus niger* grown on sweet potato starch hydrolyzate. **Biomass and bioenergy**, v. 55, p. 350-354, 2013.

BODAGHI, H., MOSTOFI, Y., OROMIEHIE, A., ZAMANI, Z., GHANBARZADEH, B., COSTA, C., CONTE, A., DEL NOBILE, M. A. Evaluation of the photocatalytic antimicrobial effects of a TiO<sub>2</sub> nanocomposite food packaging film by in vitro and in vivo tests. **LWT - Food Science and Technology**, v. 1-5, 2012.

BOLUMAR, T.; ANDERSEN, M.L.; ORLIEN, V. Antioxidant active packaging for chicken meat processed by high pressure treatment. **Food Chemistry**, v. 129, p.1406-1412, 2011.

BONHOMME, S.; CUER, A.; DELORT, A-M.; LEMAIRE, J.; SANCELME, M.; SCOTT, G. Environmental biodegradation of

polyethylene. **Polymer Degradation and Stability**, v. 81, p. 441-452, 2003.

BOSCHETTO, D.L.; LERIN, L.; CANSIAN, R.; PERGHER, S.B.C.; DI LUCCIO, M. Preparation and antimicrobial activity of polyethylene composite films with silver exchanged zeolite-Y. **Chemical Engineering Journal**, v. 204, p. 210-216, 2012.

BRASIL. **Farmacopéia Brasileira**. 5ª ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010. 546 p. a

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n. 45, de 03 de novembro de 2010. **Dispõe sobre aditivos alimentares autorizados para uso segundo as Boas Práticas de Fabricação (BPF)**. 2010. b

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n. 51, de 26 de novembro de 2010. **Dispõe sobre migração em materiais, embalagens e equipamentos plásticos destinados a entrar em contato com alimentos**. 2010. c

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 17, de 17 de março de 2008. *Anexo*

**Listado de aditivos para materiais poliméricos destinados à elaboração de embalagens e equipamentos em contato com alimentos**. 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**, 2005.

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

BROWN, W.E. **Plastics in food packaging** – properties, design and fabrication. New York: Marcel Dekker Inc., 1992, p. 7-8, 539p.

BUCKLEY, D.J.; MORRISSEY, P.A.; GRAY, J.I. Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. **Journal of Animal Science**. v. 73, p. 3122-3130, 1995.

BYUN, Y.; KIM, Y.T.; WHITESIDE, S. Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with  $\alpha$ -tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 239-244, 2010.

CAMIRE, M.E; KRUMHAR, K. Chemical and nutritional changes in foods during extrusion. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 29, p. 35-57, 1990.

CAMO, J., BELTRAN, J.A., RONCALES, P. Extension of the display life of lamb with an antioxidant active packaging. **Meat Science**, v. 80, p.1086-1091, 2008.

CANCHÉ-ESCAMILLA, G; CANCHÉ-CANCHÉ, M.DUARTE-ARANDA,S. CÁCERES-FARFÁN, M. BORGES-ARGÁEZ, R. Mechanical properties and biodegradation of thermoplastic starches obtained from grafted starches with acrylics. **Carbohydrate Polymers**.86, p. 1501-1508, 2011.

CARVALHO, A.J.F.; CURVELO, A.A.S.; AGNELLI, J.A.M. A first insight on composites of thermoplastic starch and kaolin. **Carbohydrate Polymers**, 45, p.189-194, 2001.

CASARIN, S.A.; AGNELLI, J.M.A.; MALMONGE, S.M.; ROSÁRIO, F. Blendas PHB/Copoliésteres Biodegradáveis: Biodegradação em Solo. **Polímeros**, 23(1), p. 115-122, 2013.

CERCLÉA, C.; SARAZINB, P.; FAVISA, B.D. High performance polyethylene/thermoplastic starch blends through controlled emulsification phenomena. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, p. 138-148, 2013.

CHAN, W.K.M.; HAKKARAINEN, K.; FAUSTMAN, C.; SCHAEFFER, D.M.; SCHELLER, K.K.; LIU, Q. Color stability and microbial growth relationships in beef as affected by endogenous  $\alpha$ -tocopherol. **Journal of Food Science**, v. 60, p. 966–971, 1995.

DAMODARAN, S., PARKIN, K.L., FENNEMA, O.R. **Química de alimentos de Fennema**, 4th ed., Porto Alegre: Artmed, 2010.

DE BONA, J. C. **Preparação e Caracterização de Filmes Biodegradáveis a partir de Blendas de Amido com Polietileno.** Dissertação- Tese. Universidade Federal de Santa Catarina. Centro Tecnológico. Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos. Florianópolis, SC. 2007.

DIAS, F.S.; ÁVILA, C.L.S; SCHWAN, R.F. In situ inhibition of *Escherichia coli* isolated from fresh pork sausage by organic acids. **Journal of Food Science**, v. 76 (9), p. 605-610, 2011.

DIKOBÉ, D.G.; LUYT, A.S. Comparative study of the morphology and properties of PP/LLDPE/wood powder and MAPP/LLDPE/wood powder polymer blend composites **Polymer Letters**, v. 4(11), p. 729-741, 2010.

DOLEŽALOVÁ, M.; MOLATOVÁ, Z.; BUŇKA, F.; BREZINA, P.; MAROUNEK, M. Effect of organic acids on growth of chilled chicken skin microflora. **Journal of Food Safety**, v. 30, p. 353-365, 2010.

EAGERMAN, B.A.; CLYDESDALE, F.M.; FRANCIS, F.J. Determination of fresh meat color by objective methods. **Journal of Food Science**, 42, p. 707-710, 1977.

EI-NAGGARA, M.M.A; FARAGB, M.Gh. Physical and biological treatments of polyethylene–rice starch plastic films. **Journal of Hazardous Materials**, v. 176, p. 878-883, 2010.

EL-SHAFEI, H.A.; EL-NASSER, N.H.A.; KANSOAH, A.L.; ALI, A.M. Biodegradation of disposable polyethylene by fungi and *Streptomyces* species. **Polymer Degradation and Stability**, v. 62, p. 361-365, 1998.

FARIA, A.U.; FRANCHETTI, S.M.M. Biodegradação de Filmes de Polipropileno (PP), Poli(3-hidroxibutirato) (PHB) e Blenda de PP/PHB por Microrganismos das Águas do Rio Atibaia. **Polímeros**.20, p.141-147, 2010.

FAUSTMAN, C.; CASSENS, R.G. The biochemical basis for discoloration in fresh meat: a review. **Journal of Muscle Foods**, v. 1, p. 217-243, 1990.

FIM, F.C.; BASSO, N.R.S;GRAEBIN, A.P.; AZAMBUJA, D.S.;GALLAND, G.B. Thermal, Electrical, and Mechanical Properties of Polyethylene–Graphene Nanocomposites Obtained by In Situ Polymerization. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 128 (5), p. 2630-2637, 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO.– “FAOSTAT.**Statistical database Agriculture**”, FAO, Rome, Italy, 2007.

FDA – Food and Drugs Administration.**Code of Federal Regulations**.Part 184 - Direct food substances affirmed as generally recognized as safe sec. 184.1033: citric acid. Disponível em: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=184.103>. Acesso: 23 de julho de 2013.

GARG, S.; JANA, A.K. Effect of Propylation of Starch with Different Degrees of substitution on the Properties and Characteristics of Starch-Low Density Polyethylene Blend Films. **Journal of Applied Polymer Science**, vol. 122, p. 2197-2208, 2011.

GARG, S.; JANA, A.K. Studies on the properties and characteristics of starch–LDPE blend films using cross-linked, glycerol modified, cross-linked and glycerol modified starch **European Polymer Journal**, v. 43, p. 3976-3987, 2007.

GANS, J.; WOLINSKY, M.; DUNBAR, J. Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil. **Science**, v. 309, p. 1387-1390, 2005.

GHASEMLOU, M.; KHODAIYAN, F.; OROMIEHIE, A. Physical, mechanical, barrier, an thermal properties of polyol-plasticized biodegradable edible film made from kefiran. **Carbohydrate polymers**, v. 84(1), p. 477-483, 2011.

GONZÁLEZ-FANDOS, E.; HERRERA, B.; MAYA, N. Efficacy of citric acid against *Listeria monocytogenes* attached to poultry skin during refrigerated storage. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, p. 262-268, 2009.

GRACIANO-VERDUGO, A.Z.; SOTO-VALDEZ, H.; PERALTA, E.; CRUZ-ZÁRATE, P.; ISLAS-RUBIO, A.R.; SÁNCHEZ-VALDES, S.; SÁNCHEZ-ESCALANTE, A.; GONZÁLEZ-MÉNDEZ, N.; GONZÁLEZ-RÍOS, H. Migration of  $\alpha$ -tocopherol from LDPE films to corn oil and its effect on the oxidative stability. **Food Research International**, v. 43, p. 1073-1078, 2010.

GREWAL, H.S.; KALRA, K.L. Fungal production of citric acid. **Biotechnology Advances**, v. 13(2), p. 209-234, 1995.

GUOHUA, Z.; YA, L.; CUILAN, F.; MIN, Z.; CAIQIONGA, Z.; ZONGDAO, C. Water resistance, mechanical properties and biodegradability of methylated-cornstarch/poly(vinyl alcohol) blend film. **Polymer Degradation and Stability**, v. 91, p. 703-711, 2006.

HAN, J.H. **Antimicrobial Food Packaging**. In: AHVENAINEN, RAIJA. Novel food packaging techniques. CRC Press: Woodhead Publishing Limited. Cambridge, Inglaterra. 2003.

HAUSER, C.; WUNDERLICH, J. Antimicrobial packaging films with a sorbic acid based coating. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 197-202, 2011.

HOOD, D.E.; RIORDAN, E.B. Discoloration in pre-packaged beef: measurement by reflectance spectrophotometry and shopper discrimination. **Journal of Food Technology**, v. 8, p. 333-343, 1973.

HWANG, S.W.; SHIM, J.K.; SELKE, S.; SOTO-VALDEZ, H.; MATUANA, L.; RUBINO, M.; AURAS, R. Migration of  $\alpha$ -tocopherol and resveratrol from poly(L-lactic acid)/starch blends films into ethanol. **Journal of Food Engineering**, v. 116 (4), p. 814-828, 2013.

ICMSF. The International Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Microorganismos de los Alimentos 6. Ecología microbiana de los productos alimentarios**. Zaragoza : Acirbia, 2001, 593 p.

IMRE, B.; PUKÁNSZKY, B. Compatibilization in bio-based and biodegradable polymer blends. **European Polymer Journal**. v. 49(6), p. 1215-1233, 2013.

ISDELL, E.; ALLEN, P.; DOHERTY, A.; BUTLER, F. Effect of packaging cycle on the colour stability of six beef muscles stored in a modified atmosphere mother pack system with oxygen scavengers. **International Journal of Science and Technology**, v. 38, p. 623-632, 2003.

JAMSHIDIAN, M.; TEHRANY, E.A.; DESOBRY, S. Release of synthetic phenolic antioxidants from extruded poly lactic acid (PLA) film. **Food Control**, v. 28, p. 445-455, 2012.

JAMSHIDIAN, M.; TEHRANY, E.A.; IMRAN, M.; AKHTAR, M.J.; CLEYMAND, F.C.; DESOBRY, S. Structural, mechanical and barrier properties of active PLA-antioxidant films. **Journal of Food Engineering**, v. 110, p. 380-389, 2012.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**, 6ª Ed. Tradução de Eduardo Cesar Tondo [et al.]. Porto Alegre: Artmed, 2005, 711 p.

JAY, J.M. **Modern Food Microbiology**. 4ª Ed. Chapman & Hall, New York, 1992.

JUNQUEIRA, M. S.; SOARES, N. de F. F.; REIS, R. C.; CARNEIRO, J. de D. S.; BENICIO, R. T.; YOKOTA, S. R. C. Efeito de embalagens ativas no escurecimento enzimático de batatas (*Solanum tuberosum*) fatiadas e minimamente processadas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 3. p: 613-618, jul/dez. 2009.

KE, S.; HUANG, Y.; DECKER, E.A.; HULTIN, H.O. Impact of citric acid on the tenderness, microstructure and oxidative stability of beef muscle. **Meat Science**, v. 82. p. 113-118, 2009.

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, p. 1088-1094, 2010.

KERRY, J.P.; O'GRADY, M.N.; HOGAN, S.A. Past, current and potential utilization of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: a review. **Meat Science**, v. 74, p. 113-130, 2006.

KINSMAN, D.M.; BREIDENSTEIN, B.C.; KOTULA, A.W. **Muscle Foods**. New York : Chapman & Hall, Inc., 1994, 573 p.

KROCHTA, J. M., DE MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities, **Food Technology**, v.51(2), p.61-74, 1997.

KUORWEL, K.K; CRAN, M.J.; SONNEVELD, K.; MILTZ, J.; BIGGER, S.W. Migration of antimicrobial agents from starch-based films into a food simulant. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, p. 432-438, 2013.

KWEON, D-K.; CHA, D-S.; PARK, H-J.; LIM, S-T. Starch-g-polycaprolactone copolymerization using diisocyanate intermediates and thermal characteristics of the copolymers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 78(5), p. 986-993, 2000.

LAVIERI, N.; WILLIAMS, S.K. Effects of packaging systems and fat concentrations on microbiology, sensory and physical properties of ground beef stored at  $4 \pm 1$  °C for 25 Days. **Meat Science**, 2014. [In Press]

LAWRIE, R. A. **Ciência da Carne**, 6ª ed. Tradução de Jane Maria Rubensam. Porto Alegre : Artmed, 2005, 384 p.

LEE, K.Y.; SHIM, J.; LEE, H.G. Mechanical properties of gellan and gelatin composite films. **Carbohydrate Polymers**, 56, p. 251-254, 2004.

LELIEVRE, J. Starch gelatinization. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 18, p. 293-296, 1974.

LIU, H.; XIE, F.; YUA, L.; CHENA, L.; LI, L. Thermal processing of starch-based polymers. **Progress in Polymer Science**.34, 1348–1368, 2009.

LÓPEZ, P.; SÁNCHEZ, C.; BATLLE, R.; NERÍN, C. Development of flexible antimicrobial films using essential oils as active agents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55(21), p. 8814-8824, 2007.

LÓPEZ, O.V.; ZARITZKY, N.O.; GROSSMANN, M.V.E.; GARCÍA, M.A. Acetylated and native corn starch blend films produced by blown extrusion. **Journal of Food Engineering**, v. 116(2), p. 286-297, 2013.

LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C.; CATALA, R.; GAVARA, R.; HERNANDEZ-MUNOZ, P. Food applications of active packaging EVOH films containing cyclodextrins for the preferential scavenging of undesirable compounds. **Journal of Food Engineering**, v.104, p. 380-386, 2011.

LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C.; CATALA, R.; GAVARA, R.; HERNANDEZ-MUNOZ, P. Food applications of active packaging EVOH films containing cyclodextrins for the preferential scavenging of undesirable compounds. **Journal of Food Engineering**, v. 104, p. 380-386, 2011.

LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C.; GÓMEZ-ESTACA, J.; CATALÁ, R.; GAVARA, R.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P. Active antioxidant packaging films: Development and effect on lipid stability of brined sardines. **Food Chemistry**, v. 131, p. 1376-1384, 2012.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. **Caracterização de polímeros: Determinação de Peso Molecular e Análise Térmica**. Editora E-papers Serviços Editoriais. Rio de Janeiro – RJ, Brasil, p. 151-323, 2001.

MA, X.; CHANG, P. R.; YU, J.; WANG, N. Preparation and properties of biodegradable poly(propylene carbonate)/thermoplastic dried starch composites.

**Carbohydrate Polymers**, v. 71(2), p. 229-234, 2008.

MA, X.F.; YU, J.G.; MA, Y.B. Urea an formamide as a mixed plasticizer for thermoplastic wheat flour. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 111-116, 2005

MAA, X.; CHANG, P.R.; YANG, J.; YU, J. Preparation and properties of glycerol plasticized-pea starch/zinc oxide-starch bionanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, 75, p. 472–478, 2009.

MANI, R. BHATTACHARYA, M. Property's injection moulded starch/synthetic polymer blends-III. Effect of amylopectin to amylase ratio in starch, **European Polymer Journal**, v. 34, p. 1467-1475, 1998.

MANO, J.F.; KONIAROVA, D.; REIS, R. L. Thermal properties of thermoplastic starch/synthetic polymer blends with potencial biomedical applicability. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**. v. 14(2), p. 127-135, 2003.

MELO, N.R. **Migração de plastificante e avaliação de propriedades mecânicas de filmes de poli(cloreto de vinila) para alimentos**. Teses do programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Viçosa/MG, 2007.

MIRANDA, V.R.; CARVALHO, A.J.F. Blendas Compatíveis de Amido Termoplástico e Polietileno de Baixa Densidade Compatibilizadas com Ácido Cítrico. **Polímeros**, 21 (5), p. 353-360, 2011.

MORRISSEY, P.A.; SHEEHY, P.J.A.; GALVIN, K.; KERRY, J.P.; BUCKLEY, D.J. Lipid stability in meat and meat products. **Meat Science**. v. 49, p. 73-86, 1998.

MÜLLER, R.J. **Biodegradability of polymers**: regulations and methods for testing. In: Steinbüchel, A. (Ed.) *Biopolymers*, v. 10. Weinheim: Wiley-VHC, 2003.

MÜLLER, C.M.O.; PIRES, A.T.N.; YAMASHITA, F. Characterization of thermoplastic starch/poly(lactic acid) blends obtained by extrusion and thermopressing. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 23 (3), p.426-434, 2012.

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

NAFCHI, A.M.; ALIAS, A.K.; MAHMUD, S.; ROBAL, M. Antimicrobial, rheological, and physicochemical properties of sago starch films filled with nanorod-rich zinc oxide. **Journal of Food Engineering**, v. 113 (4), p. 511-519, 2012.

NAND, A.V.; SWIFT, S.; UY, B.; KILMARTIN, P.A. Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of biocompatible low density polyethylene/polyaniline blends. **Journal of Food Engineering**, v. 116, p. 422-429, 2013.

NING, W.; JIUGAO, Y.; XIAOFEI, M.; YING, W. The influence of citric acid on the properties of thermoplastic starch/linear low-density polyethylene blends. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p. 446-453, 2007.

NISHIDA, H.; TOKIWA, Y. Distribution of poly( $\beta$ -hydroxybutirate) and poly( $\epsilon$ -caprolactone) aerobic degrading microorganisms in different environments. **Carbohydrate Polymers**, v. 59, p. 1-9, 1993.

OHTAKE, Y.; KOBAYASHI, T.; ASABE, H.; MURAKAMI, N.; ONO, K. J. Oxidative degradation and molecular weight change of LDPE buried under bioactive soil for 32–37 years. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 70, p. 1643-1648, 1998.

OLIVEIRA, L. M. Embalagens ativas e inteligentes para produtos cárneos. *Revista Nacional da Carne*, v. 329, 2004.

OLIVEIRA, M. “Por que o plástico demora tanto tempo para desaparecer na natureza?”, **O Florense**. 2009.

PACHECO, E.B. Análise de impacto ambiental devido a resíduos poliméricos, 2001. **Plástico moderno**. Disponível em <<http://www.plasticomoderno.com.br/revista/pm308/poluicao.htm>> acesso dia 30 de abril de 2013.

PADGETT, T.; HAN, I.Y.; DAWSON, P.L. Incorporation of food-grade antimicrobial compounds into biodegradable packaging films. **Journal of Food Protection**, v. 61, p. 1330-1335, 1998.

PARK, J.W.; IM, S.S.; KIM, S.H.; KIM, Y.H. Biodegradable polymer blends of poly(L-lactic acid) and gelatinized starch. **Polymer Engineering & Science**, v. 40(12), p. 2539-2550, 2000.

PARRIS, N.; COFFIN, D.R.; REMON, F.J.; PESSEN, H. Composition factors affecting the water vapor permeability and tensile properties of hydrophilic films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.43, p.1432-1435, 1995.

PASCOAL, A.M.; MITIDIERI, S.; FERNANDES, K.F. Immobilisation of  $\alpha$ -amylase from *Aspergillus niger* onto polyaniline. **Food and Bioproducts Processing**, v. 89(4), p. 300-306, 2011.

PAWLAK, A.; MUCHA, M. Thermogravimetric and FTIR studies of chitosan blends. **Thermochimica Acta**, v. 396, p. 153-166, 2003.

PEDROSO, A.G.; ROSA, D.S. Mechanical, thermal and morphological characterization of recycled LDPE/corn starch blends. **Carbohydrate polymers**, 59, 1-9, 2005.

PIRES, A. C. S.; SOARES, N. F. F.; ANDRADE, N. J.; SILVA, L. H.; CAMILLOTO, G.; CAMPOS, B. P. Development and Evaluation of Active Packaging for Sliced Mozzarella Preservation. **Packaging Technology & Science**. n.7, p. 375-383, 2008.

POUZADA, A.S.(coord); CASTRO, A.G. **Embalagens para a indústria alimentar**. Instituto Piaget, Ciência e Técnica, 2003. 610p.

PRICE, J. F.; SCHWEIGERT, B. S. **Ciencia de la Carne y de los Productos Carnicos**. Zaragoza : Acribia, 1994, 581 p.

PUSHPADASS, H.A.; BHANDARI, P.; HANNA, M.A. Effects of LDPE and glycerol contents and compounding on the microstructure and properties of starch composite films **Carbohydrate Polymers**, v. 82(4), p. 1082-1089, 2010.

QUENTAL, A.C.; CARVALHO, F.P., TADA, E.S.; FELISBERTI, M.I.-Blendas de PHB e seus copolímeros: miscibilidade e compatibilidade. **Química Nova**, 33, p.438, 2010.

QUINTAVALLA, S., VICINI, L. Antimicrobial Food Packaging In Meat Industry. **Meat Science**, n. 62, p: 373-380, 2002.

RAHARJO, S.; SOFOS, J. N.; SCHMIDT, G. R. Improved speed, specificity and limit of determination of an aqueous acid extraction

thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 12, p. 2182-2185, 1992.

RAHMAN, M.M.; KARIM, R.; MUSTAFA, A.I.; KHAN, M. A. Preparation and Characterization of Bioblends from Gelatin and Linear Low Density Polyethylene (LLDPE) by Extrusion Method. **Journal of Adhesion Science and Technology**, v. 26, p.1281-1294, 2012.

RAMOS, M.; JIMÉNEZ, A.; PELTZER, M.; GARRIGÓS, M.C. Characterization and antimicrobial activity studies of polypropylene films with carvacrol and thymol for active packaging. **Journal of Food Engineering**, v. 109 (3), p. 513-519, 2012.

RENERRE, M. Review: factors involved in the discoloration of beef meat. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 25, p. 613-630, 1990.

RIVERO, S.; GIANNUZZI, L.; GARCÍA, M.A.; PINOTTI, A. Controlled delivery of propionic acid from chitosan films for pastry dough conservation. **Journal of Food Engineering**, v. 116 (2), p. 524-531, 2013.

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

RODRIGUES, I.R.; FORTE, M.M.C.; AZAMBUJA, D.S.; CASTAGNO, K.R.L. Synthesis and characterization of hybrid polymeric networks (HPN) based on polyvinyl alcohol/chitosan. **Reactive and Functional Polymers**, v 67, p. 708-715, 2007.

RUIZ, H.V.; MARTÍN-MARTÍNEZ, E.S.; AGUILAR MÉNDEZ, M.A. Biodegradability of polyethylene–starch blends prepared by extrusion and molded by injection: Evaluated by response surface methodology. **Starch**, v. 63, p. 42-51, 2011.

SANGEETHA, D. Conductivity and solvent uptake of proton exchange membrane based on polystyrene(ethylene-butylene)polystyrene triblock polymer. **European Polymer Journal**. v. 41 (11), p. 2644-2652, 2005.

SANTONJA-BLASCO, L.; CONTAT-RODRIGO, L.; MORIANA-TORRO, R.; RIBES-GREUS, A. Thermal Characterization of Polyethylene Blends with a Biodegradable Masterbatch Subjected to Thermo-Oxidative Treatment and Subsequent Soil Burial Test. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 106, p. 2218-2230, 2007.

SANTOS, D. A. A.; SOARES, N. F. F.; ENDO, E. UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA (UFV). **Filme antiestruçura para emprego em vegetais**. BR Patente de Invenção - PI07022735-4A2. 20jul2007, 10mar.2009.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L., OLIVEIRA, L. M., PADULA, M., COLTR O, L., ALVES, R. M. V., GARCIA, E. E. C. **Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ITA L, 267p. 2002.

SCIENCE DIRECT. Frequência de publicações envolvendo as palavras-chaves “*bioblends*” “*Food packaging*”. Disponível em <[www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)> Data de acesso: 08/04/2014.

SEBIO, L. **Desenvolvimento de plástico biodegradável a base de amido de milho e gelatina pelo processo de extrusão**: Avaliação das propriedades mecânicas, térmicas e de barreira. Campinas: UNICAMP, 2003. Tese de doutorado em Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2003.

SHAH, P. B.; BANDOPADHYAY, S.; BELLARE, J. R. Environmentally degradable starch filled low density polyethylene. **Polymer Degradation and Stability**, v. 47, p. 165-173, 1995.

SHAH, A. A.; HASAN, F.; HAMEED, A.; AHMED, S. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. **Biotechnology advances**, v. 26, p. 246-265, 2008.

SHEARD, P. R.; ENSER, M.; WOOD, J. D.; NUTE, G. R.; GILL, B. P.; RICHARDSON, R. I. Shelf life and quality of pork products with raised n-3 PUFA. **Meat Science**, v. 55, p. 213-221, 2000.

SHIMAO, M. Biodegradation of plastics. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 12, p. 242-247, 2001.

SILVEIRA, M. F. A., SOARES, N. F. F., GERALDINE, R. M.; ANDRADE, N.J.; BOTREL, D.A.; GONÇALVES, M.P.J. Active film incorporated with sorbic acid on pastry dough conservation. **Food Control**. v. 18, p. 1063-1067, 2007.

SIONKOWSKA, A. Current research on the blends of natural and synthetic polymers as new biomaterials: Review. **Progress in Polymer Science**, v.36, p.1254-1276, 2011.

SIRAGUSA, G.R.; CUTTER, C.N.; WILLETT, J.L. Incorporation of bacteriocin in plastic retains activity and inhibits surface growth of bacteria on meat. **Food Microbiology**, v. 16, p. 229-235, 1999.

SMULDERS, F.J.M.; PAULSEN, P.; VALI, S.; WANDA, S. Effectiveness of a polyamide film releasing lactic acid on the growth of *E. coli* O157:H7, Enterobacteriaceae and Total Aerobic Count on vacuum-packed beef. **Meat Science**, v. 95(2), p. 160-165, 2013.

SOARES, N. F. F.; SA, S. C. A.; SANTIAGO-SILVA, P. et al. **Active and intelligent packaging for milk and milk products**. In: Engineering aspects of milk and dairy products. Coimbra, J. S. R., TEIXEIRA, J. A. (editores), Taylor & Francis Group, 2010.

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

SOFOS, J. N. Challenges to meat safety in the 21st century. **Meat Science**, v. 78, p. 3–13, 2008.

SOFOS, J. N. GEORNARAS, I. Overview of current meat hygiene and safety risks and summary of recent studies on biofilms, and control of *Escherichia coli* O157:H7 in nonintact, and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat, meat products. **Meat Science**, v. 86, p. 2-14, 2010.

ST-PIERRE, N.; FAVIS, B.D.; RAMSAY, B.A.; RAMSAY, J.A.; VERHOOGT, H. Processing and characterization of thermoplastic starch/polyethylene blends. **Polymer**, v. 38, p. 648-655, 1997.

SULLIVAN, J.W.; JOHNSON, J.A. Measurement of starch gelatinization by enzyme susceptibility. **Cereal Chemistry**, v.41, p. 73-77, 1964.

SUN, X.D.; HOLLEY, R.A. Antimicrobial and antioxidative strategies to reduce pathogens and extend the shelf life of fresh red meats. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v. 11, p. 340-354, 2012.

SUNILKUMAR, M.; FRANCIS, T.; THACHIL, E. T.; SUJITH, A. Low density polyethylene-chitosan composites: a study based on biodegradation. **Chemical Engineering Journal**, v. 204-206, p. 114-124, 2012.

SUPPAKUL, P.; MILTZ J.; SONNEVELD, K.; BIGGER, S. W. Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications. **Journal of Food Science**. v. 68 n.2, p 408-420, 2003.

TAKALA, P.N.; VU, K.D., SALMIERI, S.; KHAN, R.A.; LACROIX, M. Antibacterial effect of biodegradable active packaging on the growth of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in fresh broccoli stored at 4 °C. **LWT - Food Science and Technology**, v. 53, p.499-506, 2013.

THAKORE, I.M.; DESAI, S.; SARAWADE, B.D.; DEVI, S. Studies on biodegradability, morphology and thermomechanical properties of LDPE/modified starch blends **European Polymer Journal**, v. 37, p. 151-160, 2001.

THARANATHAN, R.N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science & Technology**, v. 14, p. 71-78, 2003.

TOVAR, L.; SALAFRANCA, J.; SANCHEZ, C.; NERIN, C. Migration studies to assess the safety in use of a new antioxidant active packaging.

**Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53(13), p. 5270-5275, 2005.

TROY, D.J.; KERRY, J.P. Consumer perception and the role of science in the meat industry. **Meat Science**, v. 86, p. 214-226, 2010.

TUDORACHI, C.N.; CASCAVAL, M. RUSU, M. PRUTEANU, M. Testing of polyvinyl-alcohol and starch mixtures as biodegradable polymeric materials. **Polymer test**, v. 19, p 785-799, 2000.

VAN DUIN, M.; MACHADO, A.V.; COVAS, J. A look inside the extruder: evolution of chemistry, morphology and rheology along the extruder axis during reactive processing and blending. **Macromolecular Symposia**, v. 170, p. 29-39, 2001.

VENTURINI, A. C. **Embalagem de transporte (masterpack) com atmosfera modificada e absorvedores de oxigênio para aumento de vida útil de carne bovina**. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de São Paulo – UNESP. 2003.

VERMEIREN, L.; DEVLIGHIERE, F.; DEBEVERE, J. Effectiveness of some recent antimicrobial packaging concepts. **Food Additives and Contaminants**, v. 19, p. 163-171, 2002.

VERSANT, E.F.; VAN, D.E.R.; VOORT, P.; VRANCKEN, K.C. **Characterization and chemical modification of the silica surface**. In: Studies in surface science and catalysis. Amsterdam: Elsevier Science BV, 1995.

VIEYRA, H.; MARTÍN-MARTÍNEZ, E.S.; AGUILAR-MÉNDEZ, M.A. Biodegradability of polyethylene-starch blends prepared by extrusion and model by injection: evaluated by response surface methodology. **Starch**, v. 63, p. 42-51, 2011.

VIEYRA, H.; AGUILAR-MÉNDEZ, M.A.; MARTÍN-MARTÍNEZ, E.S. Study of Biodegradation Evolution During Composting of Polyethylene–Starch Blends Using Scanning Electron Microscopy. **Journal of Applied Polymer Science**, p. 845-853, 2013.

VINHAS, G.M.; LIMA, S.M.; SANTOS, L.V.; LIMA, M.A.G.A.; ALMEIDA, Y.M.B. Evaluation of the Types of Starch for Preparation of LDPE/Starch Blend. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, p.361-370, 2007.

WALKER, A.M.; TAO, Y.; TORKEKSON, J.M. Polyethylene/starch blends with enhanced oxygen barrier and mechanical properties: effect of granule morphology damage by solid-state shear pulverization. **Polymer**, v. 48, p. 1066-1074, 2007.

WANG, M.; ZHAO, F.; GUO, Z.; DONG, S. Poly(vinylidene fluoride-hexafluoropropylene)/organo-montmorillonite clays nanocomposite lithium polymer electrolytes. **Electrochimica Acta**, v. 49( 21), p. 3595-3602, 2004.

WELLINGHOFF, S. **Chlorine dioxide generating polymer packaging films**. US Patent: 360 5, 609, 1995.

WENG, Y.-M.; HOTCHKISS, J.H. Anhydrides as antimycotic agents added to polyethylene films for food packaging. **Packaging Technology and Science**, v. 6 (3), p.123-128, 1993.

WILPISZEWSKA, K.; SPYCHAJ, T. Ionic liquids: media for starch dissolution, plasticization and modification. **Carbohydrate Polymers**, v. 86(2), p. 424-428, 2011.

YAMADA, E. **Desenvolvimento de sistema de embalagem antimicrobiana**. In: Boletim CTCTecnocarnes, VolXIV. Ital, Campinas – SP, 2004.

YILDIZ-TURP, G.; SERDAROGLU, M. Effects of using plum puree on some properties of low fat beef patties. **Meat Science**, v. 86, p. 896-900, 2010.

YUA, F.; PRASHANTHAA, K.; SOULESTINA, J.; LACRAMPEA, M-F.; KRAWCZAKA, P. Plasticized-starch/poly(ethylene oxide) blends prepared by extrusion. **Carbohydrate Polymers**, v. 91 p. 253-261, 2013.

ZULLO, R.; IANNACE, S.; The effects of different starch sources and plasticizers on film blowing of thermoplastic starch: Correlation among

process, elongational properties and macromolecular structure. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 376-383, 2009.