



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

FLÁVIA DEBIAGI

**DESENVOLVIMENTO DE BANDEJAS BIODEGRADÁVEIS
DE AMIDO, BAGAÇO DE MANDIOCA E ÁLCOOL
POLIVINÍLICO COM A INCORPORAÇÃO DE AGENTES
ANTIMICROBIANOS**

Londrina
2013

FLÁVIA DEBIAGI

**DESENVOLVIMENTO DE BANDEJAS BIODEGRADÁVEIS
DE AMIDO, BAGAÇO DE MANDIOCA E ÁLCOOL
POLIVINÍLICO COM A INCORPORAÇÃO DE AGENTES
ANTIMICROBIANOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito final ao Título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Prof.Dra. Suzana Mali de Oliveira
Co-orientadora: Prof.Dra. Renata Katsuko Takayama Kobayashi

Londrina
2013

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

D286d Debiagi, Flávia.
Desenvolvimento de bandejas biodegradáveis de amido, bagaço de mandioca e álcool polivinílico com a incorporação de agentes antimicrobianos / Flávia Debiagi. – Londrina, 2013.
166 f. : il.

Orientador: Suzana Mali de Oliveira.
Coorientador: Renata Katsuko Takayama Kobayashi.
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2013.
Inclui bibliografia.

1. Alimentos – Embalagens – Teses. 2. Produtos de ação antimicrobiana – Teses. 3. Revestimentos para comestíveis – Teses. 4. Compósitos poliméricos – Teses. I. Oliveira, Suzana Mali de. II. Kobayashi, Renata Katsuko Takayama. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. IV. Título.

CDU 664.004.3

FLÁVIA DEBIAGI

**DESENVOLVIMENTO DE BANDEJAS BIODEGRADÁVEIS DE
AMIDO, BAGAÇO DE MANDIOCA E ÁLCOOL POLIVINÍLICO COM A
INCORPORAÇÃO DE AGENTES ANTIMICROBIANOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito final ao Título de Mestre em Biotecnologia.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra Suzana Mali de Oliveira
UEL – Londrina - PR

Prof^a. Dra Maria Inês Rezende
UEL – Londrina - PR

Prof^a. Dra Maria Victória Eiras Grossmann
UEL – Londrina - PR

Londrina, 07 de março de 2013.

Dedico esse trabalho as duas princesas da minha vida: minha mãe (Tereza) e minha irmã (Renata). Obrigada por estarem comigo em cada passo da vida, certo ou errado, sempre me apoiando, motivando e ensinando a ser uma pessoa melhor. AMO MUITO VOCÊS!!

AGRADECIMENTOS

Á Deus, meu refúgio e força, onde sempre encontrei respostas para os meus problemas.

Á minha orientadora Profa. Dra. Suzana Mali de Oliveira, pela forma amiga como conduziu esse trabalho, por estar sempre disposta a me ajudar, por confiar em mim durante esses (6) anos de convivência, por não me deixar desistir, por despertar em mim o interesse pela pesquisa e pela profissão acadêmica, por estar sempre pronta a escutar e a ensinar, por me estimular a ir atrás dos meus objetivos, enfim por vencer os desafios ao meu lado. Serei sempre grata a você.

Á minha co-orientadora Prof. Dr. Renata Katsuko Takayama Kobayashi, pessoa com um coração enorme. Obrigada pelos conhecimentos compartilhados, pela oportunidade de trabalharmos juntas e pela professora exemplar que é.

Á minha estagiária Bia, pelo carinho, amizade e acima de tudo pelo grande esforço e comprometimento para a realização deste trabalho.

A todos os professores do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia pelos ensinamentos valiosos durante todo o curso.

Aos funcionários do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia (CCE/UEL): Nelson Janeiro Rodriguez, Sérgio Nascimento Evangelista, Sandra Aparecida Defende e Elda pela amizade, colaboração e auxílio.

Aos amigos de sala do mestrado de Biotecnologia de 2011, em especial as minhas fies companheiras: Karita e Dani Ferreira. Foram dois anos inesquecíveis e no final tudo valeu à pena, sentirei falta dos nossos almoços, risadas, conversas e estudos. Levarei vocês sempre comigo!

Aos amigos do laboratório de microbiologia da UEL, especialmente ao professor Gerson e Luciano pela ajuda em algumas análises de microbiologia.

A minha linda família, em especial minha mãe (Tereza), minha irmã (Renata), meus avós (Amélia e José) e meu namorado (Eduardo). Obrigado por estarem sempre do meu lado comemorando minhas vitórias e/ou enxugando minhas lágrimas, sem vocês não chegaria até aqui. A família Fassina (família postiça), obrigado por me acolherem (quase) todos os fins de semana, cuidarem de mim e por me fazer acreditar que no final iria dar certo. Leozinho e Carol (meus polacos) obrigado por cada abraço, cada sorriso e cada brincadeira.

Enfim a todos os professores, amigos e familiares que colaboraram direta ou indiretamente pela realização desse trabalho, MUITO OBRIGADA QUE DEUS CONTINUE ILUMINANDO A VIDA DE VOCÊS!!

*Para realizar grandes conquistas, devemos
não apenas agir, mas também sonhar; não
apenas planejar, mas também acreditar.
Anatole France*

DEBIAGI, Flávia. **Desenvolvimento de bandejas biodegradáveis de amido, bagaço de mandioca e álcool polivinílico com a incorporação de agentes antimicrobianos.** 166f. 2013. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Londrina, 2013.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi produzir e caracterizar embalagens biodegradáveis ativas a partir de misturas de amido, bagaço de mandioca e PVA, com a incorporação de óleos essenciais, através do processo de termoformagem. As bandejas foram produzidas em termoprensa hidráulica, em etapa única, em molde de teflon, com temperatura de 150 °C e 100 bar de pressão. Nesse contexto o trabalho foi dividido em quatro etapas. Primeiramente, foram analisadas as propriedades físico-químicas, mecânicas e microestrutura de formulações contendo amido (0 – 100 %) e bagaço de mandioca (0 – 100 %). A formulação contendo exclusivamente bagaço de mandioca (F100) apresentou as melhores propriedades mecânicas. Na segunda etapa, avaliou-se a incorporação do PVA (0 a 10 %) na bandeja F100. A adição de 2,5 % de PVA diminuiu a densidade e a capacidade de absorção de água das amostras, além disso, aumentou a resistência máxima a tração (RMT) e a porcentagem de alongamento das bandejas. A análise de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) revelou que os componentes presentes nas bandejas produzidas apresentaram interação, em especial ligações de hidrogênio, característica bastante interessante para esses produtos. Além disso, através da difração de raios-X observou-se que após o processo de termoformagem as bandejas apresentaram estrutura amorfa. Posteriormente, estudou-se a ação antimicrobiana do óleo essencial de cravo (OEC) e de orégano (OEO) frente a diferentes microrganismos. OEO apresentou maior efeito inibitório frente a todos os microrganismos testados. Avaliou-se também dois diferentes processos para a incorporação dos óleos essenciais às bandejas: pincelamento (2,5 a 7,5 %) e incorporação direta (6,5 a 10,0 %). A formulação contendo bagaço de mandioca com a incorporação de PVA (2,5 %) e de OEO (5,0 %) aplicado pelo processo de pincelamento (OEO5PIN) apresentou a melhor atividade antimicrobiana, apresentando os maiores halos de inibição para fungos e bactérias Gram positivas, seguidas das Gram negativas. A atividade antimicrobiana permaneceu estável quando as bandejas foram armazenadas por até 15 dias. A adição do OEO diminuiu afinidade pela água, levou ao decréscimo da RMT e ao aumento da flexibilidade da bandeja de bagaço e PVA. As bandejas produzidas neste trabalho seriam uma alternativa interessante para o acondicionamento de alimentos perecíveis com baixa exsudação de água.

Palavras-chave: Bandeja biodegradável. Embalagem ativa. Óleos essenciais.

DEBIAGI, Flávia. **Development of biodegradable trays of starch, cassava bagasse and polyvinyl alcohol with the incorporation of antimicrobial agents**. 166p. 2013. Dissertation (Master's Degree Biotechnology) - State University of Londrina, 2013.

ABSTRACT

The objectives of this work were to develop and to study biodegradable trays from cassava starch, cassava bagasse and polyvinyl alcohol (PVA), with the addition of essential oils using a baking process. The trays were obtained by the thermoforming process in a hydraulic press coupled to a closed mold and heated to 150 ° C under a pressure of 100 bars. In this context, this work divided in four stages. At First, were to evaluate the effects of cassava starch (0 – 100 %) and cassava bagasse (0 – 100 %) on water adsorption capacity (WAC), mechanical and physio-chemical properties of the trays. The tray containing only cassava bagasse (F100) had the best mechanical properties. The second stage, was performed incorporating the PVA (0 – 100 %) in F100. The addition of PVA (2,5 %) led to reduction in density (0,57 g/cm³) and WAC (36,92 - 199,41%). Furthermore, these trays had the highest tensile strength (31,13 - 268,51 MPa) and elongation (3,02 - 16,50 %). FTIR analysis showed H-bonding interactions in the the components of the foams during the manufacturing process. Furthermore, by X-ray diffraction noted the trays had amorphous matrix, which in turn are less rigid and brittle, this is a interesting characteristic for packages produced in this work. The third stage, essential oils of clove (OEC) and oregano (OEO) were tested for antimicrobial activity on microorganisms. OEO showed the highest inhibitory effect against both microorganisms. The fourth stage, the tray (PVA 2,5) was incorporated with oils by two process: painting (2,5 - 7,5 %) and direct incorporation (6,5 a 10 %). The tray formulated with 100 % bagasse cassava, 2,5 % PVA and 5 % OEO by painting process (OEO5PIN) effectively inhibited the microorganisms tested and was stable during 15 days. The affinity for water and tensile strength (12 - 10,19 MPa) decreased significantly ($p \leq 0,05$) and increasing elongation at break (11,27 - 44,55 %) with the addition of OEO. The results showed that the addition of PVA improve tensile strength and WAC of the trays. The active biodegradable tray (OEO5PIN) had high antimicrobiial active and lower affinity for water. However, the amount of OEO should be controlled, so as not to affect its tensile strength. Therefore, to make possible the introduction of active biodegradable trays wothin market, it is essential to increase knowledge about this subject to be successful in use.

Keywords: Biodegradable tray. Active packaging. Essential oils.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - (A) Nível macroscópico e (B) nível microscópico da estrutura do poliestireno expandido	25
Figura 2 - Classificação dos polímeros biodegradáveis	26
Figura 3 - Ciclo de vida dos polímeros biodegradáveis	27
Figura 4 - Representação dos diferentes níveis estruturais do grânulo do amido e do enovelamento da amilopectina e amilose.....	29
Figura 5 - Diagramas de difração de raios-X dos tipos A, B e C de amido.....	30
Figura 6 - Esquema representativo das fazes de transição do amido durante o processamento térmico e o envelhecimento	32
Figura 7 - Esquema de organização estrutural de uma fibra vegetal	37
Figura 8 - Fluxograma do processo de obtenção do amido e a geração do bagaço de mandioca.....	39
Figura 9 - Estrutura molecular do PVA.....	41
Figura 10 - Propriedades físicas do PVA em função do seu grau de hidrólise e peso molecular.....	42
Figura 11 - Esquema da formação de ligações de hidrogênio entre o amido e PVA.....	43
Figura 12 - Funções básicas das embalagens convencionais e interfaces de atuação das embalagens ativas e inteligente.....	45
Figura 13 - Locais e mecanismos dos OEs na célula microbiana	48
Figura 14 - Fórmula estrutural do eugenol	50
Figura 15 - Fórmula estrutural do carvacrol (A) e timol (B).....	50
Figura 16 - Processo para obtenção de bandejas biodegradáveis.....	52
Figura 17 - Etapas do processo de termoformagem	52
Figura 18 - Fluxograma do processo de obtenção das embalagens biodegradáveis de amido e bagaço de mandioca por termoformagem.....	56
Figura 19 - Fluxograma do processo de obtenção das embalagens biodegradáveis de bagaço de mandioca/PVA por termoformagem.....	59
Figura 20 - Aparência do bagaço de mandioca obtido após a extração laboratorial	70

Figura 21 - Microscopia eletrônica de varredura do bagaço de mandioca com aumento de 800 vezes	72
Figura 22 - Influência da quantidade de massa da suspensão de amido/bagaço de mandioca para a formação das bandejas	74
Figura 23 - Aparência das bandejas de amido e bagaço de mandioca	76
Figura 24 - Micrografias das fraturas das bandejas de amido e bagaço de mandioca com aumento de 50 vezes	83
Figura 25 - Micrografias das superfícies das bandejas de amido e bagaço de mandioca com aumento de 50 vezes	83
Figura 26 - Espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) do amido de mandioca, bagaço de mandioca e das bandejas produzidas	86
Figura 27 - Difrátogramas do amido de mandioca, bagaço de mandioca e das bandejas produzidas com amido e bagaço de mandioca	88
Figura 28 - Capacidade absorção de água das bandejas de amido e bagaço de mandioca em função do tempo	90
Figura 29 - Isotermas de sorção das bandejas de amido e bagaço de mandioca	91
Figura 30 - Aparência das bandejas de bagaço de mandioca e PVA	95
Figura 31 - Micrografias das fraturas das bandejas de bagaço de mandioca e álcool polivinílico com aumento de 50 vezes	101
Figura 32 - Principais bandas observadas nos espectros de infravermelho do bagaço de mandioca, do PVA e das bandejas produzidas	103
Figura 33 - Difrátogramas do bagaço de mandioca, PVA e das bandejas produzidas	105
Figura 34 - Capacidade de absorção de água das bandejas de bagaço de mandioca e PVA em função do tempo	107
Figura 35 - Isotermas de sorção de água	109
Figura 36 - Teste de disco difusão utilizando 5 µL de OEC	111
Figura 37 - Teste de disco difusão utilizando 5 µL de OEO	112
Figura 38 - Embalagens biodegradáveis ativas com OEC	115
Figura 39 - Embalagens biodegradáveis ativas com OEO	116
Figura 40 - Antibiógramas das bandejas de bagaço de mandioca com PVA (2,5%) e OEC (5%) aplicado pelo processo de pincelamento	119

Figura 41 - Antibiogramas das bandejas de bagaço de mandioca com PVA (2,5%) e OEO (5%) aplicado pelo processo de pincelamento	121
Figura 42 - Capacidade de absorção de água da amostra OEO5PIN e PVA 2,5	126
Figura 43 - Isotermas de sorção de água da amostra OEO5PIN e PVA 2,5	127

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais embalagens convencionais utilizadas e suas características	23
Tabela 2 - Características do amido proveniente de diferentes fontes.....	33
Tabela 3 - Principais diferenças entre as fibras naturais e as fibras de vidro	36
Tabela 4 - Composição centesimal do bagaço de mandioca (g/g peso seco)	40
Tabela 5 - Exemplos de embalagens ativas e suas aplicações	46
Tabela 6 - Composição das formulações utilizadas na segunda etapa e quantidade de massa utilizada na produção das bandejas.....	57
Tabela 7 - Aditivos utilizados nas formulações das bandejas biodegradáveis em ambas as etapas.....	57
Tabela 8 - Composição das formulações utilizadas na terceira etapa e quantidade de massa utilizada na produção das bandejas.....	58
Tabela 9 - Quantidades de óleo essencial (cravo e orégano) que foram incorporadas nas embalagens biodegradáveis	63
Tabela 10 - Umidade Relativa fornecida pelas soluções saturadas de sais empregadas para determinação de isotermas de absorção	69
Tabela 11 - Composição centesimal do bagaço de mandioca (g/100g de bagaço seco) empregado neste trabalho e relatada por outros autores	71
Tabela 12 - Resultado do rendimento de produção para bandejas de amido e bagaço de mandioca	73
Tabela 13 - Análise subjetiva das bandejas de amido e bagaço de mandioca.....	75
Tabela 14 - Parâmetros de cor L*, a* e b* das bandejas de amido e bagaço de mandioca.....	77
Tabela 15 - Espessura e densidade das bandejas de amido e bagaço de mandioca.....	78
Tabela 16 - Resistência máxima a tração (RMT) das bandejas de amido e bagaço de mandioca em função da umidade relativa (UR) de armazenamento	80

Tabela 17 - Alongamento das bandejas de amido e bagaço de mandioca em função da umidade relativa (UR) de armazenamento	80
Tabela 18 - Principais bandas observadas nos espectros de infravermelho do amido de mandioca, bagaço de mandioca e das bandejas produzidas.....	85
Tabela 19 - Índice de cristalinidade do amido, bagaço de mandioca e das bandejas produzidas	89
Tabela 20 - Resultado do rendimento de produção das bandejas de bagaço de mandioca e PVA.....	93
Tabela 21 - Análise subjetiva das bandejas de bagaço de mandioca e PVA.....	94
Tabela 22 - Parâmetros de cor (L^* , a^* , b^*) das bandejas de bagaço de mandioca e PVA	96
Tabela 23 - Resultados de espessura e densidade das bandejas de bagaço de mandicoa e PVA.....	97
Tabela 24 - Resistência máxima a tração (RMT) das bandejas de bagaço de mandioca e PVA.....	98
Tabela 25 - Porcentagem de alongamento das bandejas de bagaço de mandioca e PVA	99
Tabela 26 - Principais bandas observadas nos espectros de infravermelho do bagaço de mandioca, PVA, da bandeja F100 e das bandejas de bagaço de mandioca e PVA	102
Tabela 27 - Índice de cristalinidade das bandejas de bagaço de mandioca e PVA.....	106
Tabela 28 - Análise da capacidade antimicrobiana do óleo essencial cravo.....	110
Tabela 29 - Análise da capacidade antimicrobiana do óleo essencial orégano	111
Tabela 30 - Concentração inibitória mínima (MIC) para o óleo essencial de cravo e orégano	112
Tabela 31 - Atividade antimicrobiana do óleo essencial de cravo pelo método do disco-difusão	118
Tabela 32 - Atividade antimicrobiana do óleo essencial de orégano pelo método do disco-difusão	120
Tabela 33 - Resistência máxima a tração (RMT) e porcentagem de alongamento da embalagem OEO5PIN	124

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	21
2.1	OBJETIVO GERAL	21
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
3	REVISÃO DA LITERATURA	22
3.1	EMBALAGENS PLÁSTICAS.....	22
3.2	EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS	25
3.2.1	Embalagens de Amido.....	28
3.3	MATERIAIS DE REFORÇO PARA EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO.....	34
3.3.1	Fibras Lignocelulósicas	35
3.3.1.1	Bagaço de mandioca	39
3.3.2	ÁLCOOL POLIVINÍLICO.....	41
3.4	EMBALAGENS ATIVAS	43
3.4.1	Óleos Essenciais	47
3.5	PROCESSO DE PRODUÇÃO DAS EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS.....	51
4	MATERIAL E MÉTODOS	54
4.1	MATERIAL.....	54
4.2	MÉTODOS.....	54
4.2.1	Cronograma do Trabalho.....	54
4.2.2	PRIMEIRA ETAPA: Extração e Caracterização do Bagaço de Mandioca	55
4.2.2.1	Extração do bagaço de mandioca	55
4.2.2.2	Caracterização do bagaço de mandioca	55
4.2.3	SEGUNDA ETAPA: Desenvolvimento e Produção das Bandejas Biodegradáveis de Amido e Bagaço de Mandioca	55
4.2.4	TERCEIRA ETAPA: Desenvolvimento e Produção das Bandejas Biodegradáveis de Bagaço de Mandioca e Álcool Polivinílico.....	58
4.2.5	QUARTA ETAPA: Incorporação dos Óleos Essenciais nas Bandejas	59
4.2.5.1	Avaliação da capacidade antimicrobiana dos OEs.....	59

4.2.5.1.1	<i>Seleção e cultivo dos microrganismos</i>	59
4.2.5.1.2	<i>Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo e orégano</i>	60
4.2.5.1.3	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (MIC).....	61
4.2.5.2	Incorporação dos OEs nas bandejas.....	62
4.2.5.3	Avaliação da atividade antimicrobiana das bandejas biodegradáveis após a incorporação dos OEs	63
4.2.5.4	Teste de estabilidade da atividade antimicrobiana	64
4.2.6	Condicionamento.....	65
4.2.7	Caracterização Física Química das Bandejas produzidas na segunda, terceira e quarta etapas	65
4.2.7.1	Rendimento de produção	65
4.2.7.2	Análise subjetiva.....	65
4.2.7.3	Avaliação da cor das bandejas.....	66
4.2.7.4	Espessura e densidade	66
4.2.7.5	Propriedades mecânicas	66
4.2.7.6	Microscopia eletrônica de varredura.....	67
4.2.7.7	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR).....	67
4.2.7.8	Difração de raios-X.....	67
4.2.7.9	Capacidade de absorção de água.....	68
4.2.7.10	Isotermas de sorção de água	68
4.2.8	Análise Estatística	69
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
5.1	PRIMEIRA ETAPA: CARACTERIZAÇÃO DO BAGAÇO DE MANDIOCA	70
5.2	SEGUNDA ETAPA: CARACTERIZAÇÃO DAS BANDEJAS BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO E BAGAÇO DE MANDIOCA	72
5.2.1	Rendimento de Produção	72
5.2.2	Análise Subjetiva	75
5.2.3	Avaliação da Cor	74
5.2.4	Espessura e Densidade	78
5.2.5	Propriedades Mecânicas	79
5.2.6	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	81

5.2.7	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR).....	81
5.2.8	Difração de Raios-X	85
5.2.9	Capacidade de Absorção de Água	87
5.2.10	Isotermas de Sorção de Água	91
5.3	TERCEIRA ETAPA: PRODUÇÃO DAS BANDEJAS BIODEGRADÁVEIS DE BAGAÇO DE MANDIOCA E ÁLCOOL POLIVINÍLICO	93
5.3.1	Rendimento de Produção	93
5.3.2	Análise Subjetiva	94
5.3.3	Avaliação da Cor	95
5.3.4	Espessura e Densidade	97
5.3.5	Propriedades Mecânicas	98
5.3.6	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	100
5.3.7	Espectroscopia no Infravermelho Com Transformada de Fourier (FT-IR).....	101
5.3.8	Difração de Raios-X	104
5.3.9	Capacidade de Absorção de Água	106
5.3.10	Isotermas de Sorção de Água	108
5.4	QUARTA ETAPA: INCORPORAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NAS BANDEJAS	110
5.4.1	Avaliação da Capacidade Antimicrobiana dos Óleos Essenciais de Cravo e Orégano	110
5.4.2	Avaliação da Atividade Antimicrobiana das Bandejas Biodegradáveis Após a Incorporação dos OEs de Cravo e Orégano	114
5.4.3	Teste de Estabilidade da Atividade Antimicrobiana.....	123
5.4.4	Propriedades Mecânicas Da Bandeira De Bagaço De Mandioca E Pva Adicionada De OEO	124
5.4.5	Capacidade De Absorção De Água E Isotermas De Sorção De Água Da Bandeira De Bagaço De Mandioca E Pva Adicionada De OEO	125
6	CONCLUSÕES E SUGESTÕES.....	128
6.1	CONCLUSÕES	128

6.2	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	129
-----	--	-----

REFERÊNCIAS	130
--------------------------	-----

ANEXOS	146
---------------------	-----

ANEXO A - Biodegradable active packaging based on cassava bagasse and polyvinyl alcohol incorporated with essential oils	147
---	-----

ANEXO B - Figures	161
-------------------------	-----

ANEXO C - Tables	163
------------------------	-----

1 INTRODUÇÃO

A utilização de embalagens para o armazenamento, transporte e conservação dos alimentos é realizada pelo homem desde a antiguidade. Com desenvolvimento industrial, a sua disseminação aumentou de forma vertiginosa, sendo os principais produtos da atualidade provenientes de fontes petroquímicas.

A elevada resistência proporcionada principalmente pela composição dos polímeros sintéticos convencionais impede a sua degradação pelos microrganismos. Essa propriedade faz com que esses materiais permaneçam em média 100 anos em aterros sanitários antes de se decomporem totalmente. Em virtude disso, a quantidade de lixo plástico descartado no meio ambiente cresce diariamente, gerando um sério problema ambiental e social (ROSA; FRANCO; CALIL, 2001).

De acordo com Subramanian (2000), o desenvolvimento sustentável no setor de embalagens envolve um conjunto de atitudes que apresentem como objetivo a eliminação do impacto ambiental causados por esses produtos. A gestão de resíduos sólidos pode diminuir esse impacto através de programas como: reciclagem, incineração e reutilização.

A reciclagem é uma alternativa em favor do meio ambiente quando se diz respeito aos resíduos sólidos industriais, sendo muito utilizada nos países norte-americanos e no Brasil. No entanto, demonstra-se um processo de alto custo, uma vez que é prejudicada pela heterogeneidade das embalagens plásticas, as quais são compostas por diferentes polímeros, aditivos, cargas, corantes e plastificantes (DAVIS; SONGS, 2006).

O poliestireno expandido (EPS), mais conhecido como Isopor[®], além de não ser biodegradável, ocupa um elevado volume nos aterros sanitários devido a sua baixa densidade. Em virtude desse crescente problema ambiental, vários estudos vêm sendo realizados para o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis, denominadas de espumas, que possam substituir ao menos em parte este polímero sintético.

Os polímeros biodegradáveis podem ser degradados por microrganismos, como as bactérias, fungos ou algas. Entre esses materiais, o amido tem recebido uma atenção especial por ser oriundo de fonte renovável, altamente disponível, biodegradável e baixo custo. No entanto, as embalagens a base de

amido demonstram-se quebradiças em baixas umidades relativas e absorvem/adsorvem muita água em elevadas umidades relativas, em virtude do seu caráter hidrofílico, fato que limita sua aplicação no setor de embalagens (MALI et al., 2010a).

Com o intuito de melhorar as características das espumas a base de amido vários pesquisadores têm utilizado alguns aditivos para o tratamento das mesmas, como cargas nanométricas, álcool polivinílico (PVA), plastificantes, fibras celulósicas, entre outros. De acordo com Salgado et al. (2008), esses materiais são alternativas interessantes, pois além de manter a biodegradabilidade, atuam como reforço mecânico e podem diminuir a hidroflicidade destes materiais.

O bagaço de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*), principal resíduo das fecularias, pode ser utilizado como material de reforço e até mesmo para a produção de embalagens biodegradáveis, já que o mesmo é composto basicamente por 75 % de amido e 15 % de fibra. Esse material geralmente é descartado, fato que resulta em um desperdício de matéria-prima. No entanto, assim como o amido, espumas produzidas exclusivamente com bagaço de mandioca apresentam baixa resistência mecânica em elevadas umidades relativas, devido a seu caráter hidrofílico (CARR et al., 2006).

O álcool polivinílico (PVA) é um polímero sintético biodegradável que pode melhorar as propriedades das embalagens biodegradáveis. Os compósitos formados por amido e PVA são materiais bastante estudados, sendo amplamente utilizados em embalagens e no setor agrícola. O PVA quando inserido na matriz polimérica tende a melhorar a flexibilidade e a diminuir a atração do polímero pela água (MALI et al., 2010a).

Visando ampliar as aplicações das embalagens, estas podem ser tratadas com antimicrobianos, sendo denominadas de embalagens ativas, que têm como objetivo prolongar o tempo de vida útil dos alimentos, diminuir a transmissão de microrganismos patogênicos e, conseqüentemente, proporcionar uma maior segurança para o consumidor.

Dentre os antimicrobianos, os óleos essenciais (OE) derivados de extratos de plantas têm se destacado por serem compostos naturais. Segundo Zhang et al. (2009), a ação antimicrobiana dos óleo essenciais geralmente pode ser atribuída a sua capacidade de ruptura membrana, provocando o extravasamento do conteúdo intracelular e conseqüentemente a lise da célula. Esses materiais

geralmente apresentam compostos fenólicos, tais como: carvacrol, eugenol e timol em sua estrutura, os quais lhe conferem o efeito antimicrobiano.

Vários autores relataram a eficiência de filmes biodegradáveis tratados com óleos essenciais de orégano e cravo frente a fungos (*Penicillium islandicum*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium nalgiovense*, *Penicillium roqueforti*, *Eurotium repens*), leveduras (*Candida albicans*, *Debaryomyces hansenii*, *Zygasaccharomyces rouxi*), bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*) e gram-negativas (*Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella choleraesuis* e *Pseudomonas aeruginosa*) (LÓPEZ et al., 2007; RODRÍGUEZ, BATLLE, NERÍN, 2007; PELISSARI et al., 2009). Até o presente momento não há relatos na literatura sobre a utilização de antimicrobianos naturais em embalagens de amido tipo espuma, como as bandejas produzidas neste trabalho.

Diante dos relatos acima, o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis a base de amido, bagaço da mandioca e álcool polivinílico, pode ser uma alternativa promissora para reduzir os resíduos sólidos e a dependência dos produtos derivados do petróleo. Além disso, a introdução de antimicrobianos naturais em suas formulações pode prolongar o tempo de vida útil dos produtos embalados e diminuir a transmissão de microrganismos patogênicos pelos alimentos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Produzir e caracterizar embalagens biodegradáveis ativas no formato de bandejas, a partir de misturas de amido, bagaço de mandioca e álcool polivinílico, com a incorporação de óleos essenciais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar a influência de diferentes formulações contendo amido, bagaço de mandioca e álcool polivinílico sobre o processo de produção e propriedades de bandejas biodegradáveis obtidas por termoformagem;
- Caracterizar as bandejas produzidas quanto à aparência, densidade, cor, capacidade de absorção de água, isotermas de sorção de água, propriedades mecânicas e microestrutura (microscopia eletrônica, FTIR e difração de raios-X);
- Avaliar a ação antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo e de orégano frente a bactérias, fungos e leveduras, assim como a sua capacidade de inibitória mínima (MIC) antes de serem incorporados nas bandejas;
- Definir o melhor processo para a incorporação dos óleos essenciais de cravo e orégano visando manter o seu efeito antimicrobiano;
- Analisar as propriedades antimicrobianas das embalagens biodegradáveis após a incorporação dos óleos essenciais;
- Estudar a influência dos óleos essenciais nas propriedades mecânicas, capacidade de absorção e isotermas de adsorção de água das formulações que resultarem em bandejas com a melhor ação antimicrobiana.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 EMBALAGENS PLÁSTICAS

As primeiras embalagens surgiram devido à necessidade do homem primitivo em proteger e transportar os alimentos, sendo confeccionadas a partir de conchas, cascas de castanhas ou de cocos, chifres de animais, couros e folhas de plantas. As embalagens destinadas para os alimentos começaram a ganhar destaque a partir da revolução industrial, tornando-se indispensáveis para qualquer produto (CAVALCANTI; CHAGAS, 2006).

As embalagens podem ser formadas por várias matérias-primas, isoladas ou em conjunto, dentre as quais podemos citar: vidro, madeira, papel, materiais a base de celulose e o plástico. De acordo com a sua aplicação são classificadas em:

- **Embalagem primária:** encontra-se em contato direto com os alimentos, responsável pela conservação e contenção dos produtos, exemplos: lata, bandeja, garrafa ou saco;
- **Embalagem secundária:** formada por várias embalagens primárias e tem a função de proteger o produto durante a sua distribuição e também fornecer suporte de informação, exemplos: caixas de cartão ou cartolina;
- **Embalagem terciária:** são constituídas por várias embalagens secundárias ou primárias, auxiliam o transporte de elevadas quantidades de produtos, exemplos: paletes de madeira e embalagens plásticas (DAVIS; SONG, 2006).

A grande disseminação desses produtos se deve principalmente em função das suas características, tais como: baixo custo, versatilidade, alta resistência mecânica e flexibilidade (GROSS; KALRA, 2002). As macromoléculas que constituem as embalagens convencionais são os polímeros sintéticos provenientes do petróleo, entre os quais podemos citar: polietileno (PE), polipropileno (PP), polietileno tereftalato (PET), poliestireno (PS) e policarbonato (PC) (YOON; PARK; BYUN, 2012). Tharanathan (2003) descreveu as principais resinas plásticas utilizadas, bem como suas características (Tabela 1).

Tabela 1 - Principais embalagens convencionais utilizadas e suas características

Embalagem	Unidade constituinte	Características
Polietileno	Etileno	Apresenta propriedades mecânicas desejáveis e age como isolante térmico
Polipropileno	Vinilideno	Apresenta barreira para H ₂ O/O ₂ desejável, baixa flexibilidade e isolante térmico.
Poliéster	Etilenoglicol e ácido tereftálico	Apresenta propriedades mecânicas desejáveis e pobre barreira para H ₂ O/O ₂ e não age como isolante térmico.
Poliamida (Nylon)	Diamina e vários ácidos	Resistência desejável age como isolante térmico e propriedade de barreira para H ₂ O/O ₂ elevada.
Celofane	Polímero de glicose (celulose)	Biodegradável, resistência mecânica desejável, boa propriedade de barreira para H ₂ O/O ₂ e não age como isolante térmico.

Fonte: Tharanathan (2003)

De acordo com Arvanitoyannis (2008), Galic, Scetar e Murek (2011), as principais funções das embalagens são: prevenir os alimentos da deterioração oxidativa, microbiológica e danos mecânicos, prolongar o tempo de vida útil dos alimentos, assegurar a identidade do produto, fornecer informações do produto ao consumidor, melhorar a distribuição diminuindo custos de armazenamento e transporte e proporcionar segurança ao consumidor.

A utilização de materiais plásticos vem crescendo de forma vertiginosa, segundo Associação Brasileira da Indústria Química (ABIQUIM), em 2010 o consumo aparente de resinas termoplásticas foi de 5,9 mil toneladas, sendo o consumo *per capita* de 30,5 Kg por habitante/ano no Brasil (ABIQUIM, 2011). A grande utilização resulta em uma elevada quantidade de resíduo gerado, pois devido a sua resistência, não são degradados naturalmente por fungos, bactérias e algas (GROSS; KALRA, 2002).

Segundo a Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais (ABRELPE), em 2010 foram produzidos no Brasil aproximadamente 60 milhões de toneladas de resíduos sólidos, observando-se um aumento de 6,8% em relação a 2009. Cada brasileiro produz cerca de 340 Kg/ano

de resíduos sólidos. O município de Londrina, no Paraná, gera em média 409,5 toneladas de lixo por dia (ABRELPE, 2010).

Os polímeros sintéticos podem demorar entre 100 e 450 anos para se degradar e interferem de forma significativa nos processos de compostagem e de estabilização biológica dos resíduos gerados (SPINACÉ; de PAOLI, 2005). De acordo com Lazarevic et al. (2010), a gestão de resíduos sólidos pode diminuir esse impacto através de programas como: reciclagem, incineração com reaproveitamento da energia gerada, reutilização e descartes em aterros sanitários.

A reciclagem de forma sistemática consta como uma das alternativas para minimizar o impacto causado por esses materiais (SPINACÉ; de PAOLI, 2005). Segundo Ren (2003) o reaproveitamento dos resíduos plásticos é uma alternativa em favor do meio ambiente, no entanto, a diversidade das resinas empregadas gera dificuldades para a separação, encarecimento do processo, elevado consumo de energia e emissão de poluentes. Além disso, os produtos reciclados geralmente são de qualidade inferior, fato que diminui a sua aceitação pelos consumidores.

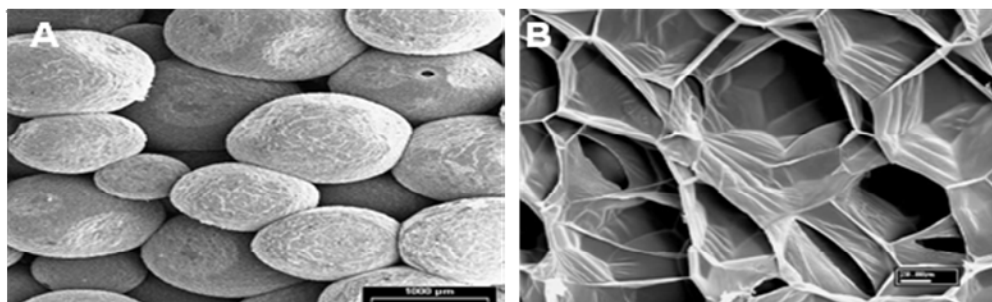
Outro grande problema da reciclagem de materiais plásticos é devido à grande quantidade de água utilizada para a remoção das impurezas. Os efluentes gerados, juntamente com os poluentes, tornam-se outro problema ambiental, uma vez que são desprezados em rios, lagos ou mares sem nenhum tratamento prévio (SANTOS et al., 2005).

O poliestireno expandido é designado pela sigla internacional de EPS, sendo popularmente conhecido como isopor[®], marca registrada da Knauf Isopor Ltda. Foi desenvolvido em 1949 pelos químicos Fritz Stastny e Karl Buchholz, sendo composto por 98 % de ar e apenas 2 % de poliestireno (ABRAPEX, 2011). Em virtude de suas vantagens tais como: versatilidade, estabilidade, baixa condutividade térmica, leveza, baixa absorção de água, fácil manuseio, elevada resistência mecânica e baixo custo, o EPS é comumente empregado no setor embalagens de alimentos (POLLETO et al., 2011).

O isopor[®] é classificado como material sólido e transparente obtido através da polimerização de várias moléculas de estireno em água. A estrutura do EPS pode ser vista tanto em nível macroscópico (Figura 1A) onde se observa bolhas fechadas com diâmetro entre 2 a 4 mm quanto em nível microscópico (Figura 1B) na

qual nota-se a expansão do grânulo em virtude da presença de bolhas de ar (ROSSACCI; SHIVKUMAR, 2003).

Figura 1 - (A) Nível macroscópico e (B) nível microscópico da estrutura do poliestireno expandido



Fonte: Rossacci e Shivkumar (2003)

Estima-se que por ano sejam produzidos aproximadamente 3 milhões de toneladas do poliestireno expandido, das quais 54% são destinadas ao setor de embalagens e para indústrias de bens de consumo. O restante (46%) é utilizado pela construção civil. Apesar de suas características favoráveis, o EPS é um material quimicamente inerte, não se degrada nem se desintegra naturalmente no ambiente pela ação de fungos e bactérias (SCHMIDT et al., 2011).

Assim como a maior parte do lixo brasileiro, após sua utilização o resíduo proveniente do EPS geralmente destina-se a aterros, ou é incinerado, originando sérios problemas ambientais. A reciclagem do poliestireno expandido por ser feita empregando-se técnicas químicas ou físicas, no entanto utiliza solventes de alto risco (POLETTO et al., 2011). O EPS devido a sua baixa densidade e seu elevado volume acaba ocupando maior espaço em aterros sanitários do que as outras embalagens (DEBIAGI et al., 2010).

3.2 EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS

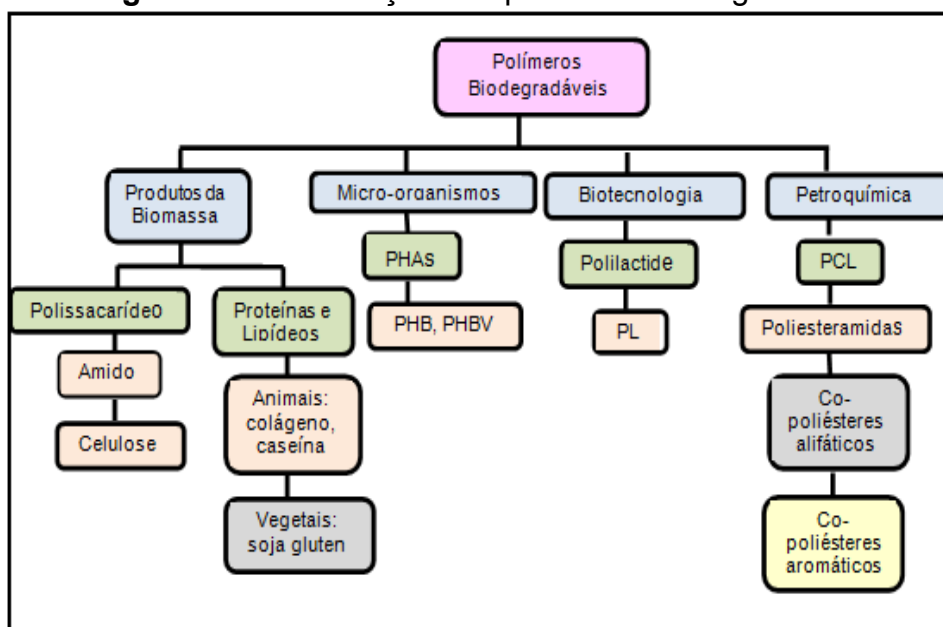
O alto custo e a dificuldade no processo de reciclagem da maioria das embalagens sintéticas vêm impulsionando vários pesquisadores, os quais têm como objetivo incrementar e/ou desenvolver materiais biodegradáveis que possam substituir, em algumas aplicações, os polímeros sintéticos (MALI et al., 2004; SILVA

et al., 2009; GALICIA-GARCÍA et al., 2011; LI et al., 2011; MELO et al., 2011; VERCELHEZE et al., 2012a).

Segundo Amass, Amass e Tighe (1998), a produção de plásticos biodegradáveis ou fotodegradáveis teve início em 1970 e, dentre os principais requisitos para esses materiais estão a não toxicidade dos mesmos, bem como de seus produtos de degradação, assim como boas propriedades mecânicas, processabilidade e baixo custo.

Os polímeros biodegradáveis são materiais alternativos que podem substituir em parte os polímeros sintéticos. São classificados em 4 classes de acordo com a sua origem (Figura 2). Podem ser oriundos de fontes agrícolas (amido e celulose), sintetizados por bactérias (PHB-polihidroxibutirato e PHB-HV-polihidroxibutirato-co-valerato), ou derivados de fonte animal (quitina, quitosana e proteínas). Outros polímeros biodegradáveis podem ser obtidos do petróleo ou da mistura entre biomassa e petróleo (PCL policaprolactonas, poliésteramidas, copoliésteres alifáticos e copoliésteres aromáticos) (AVEROUS; BOQUILLON, 2004).

Figura 2 - Classificação dos polímeros biodegradáveis



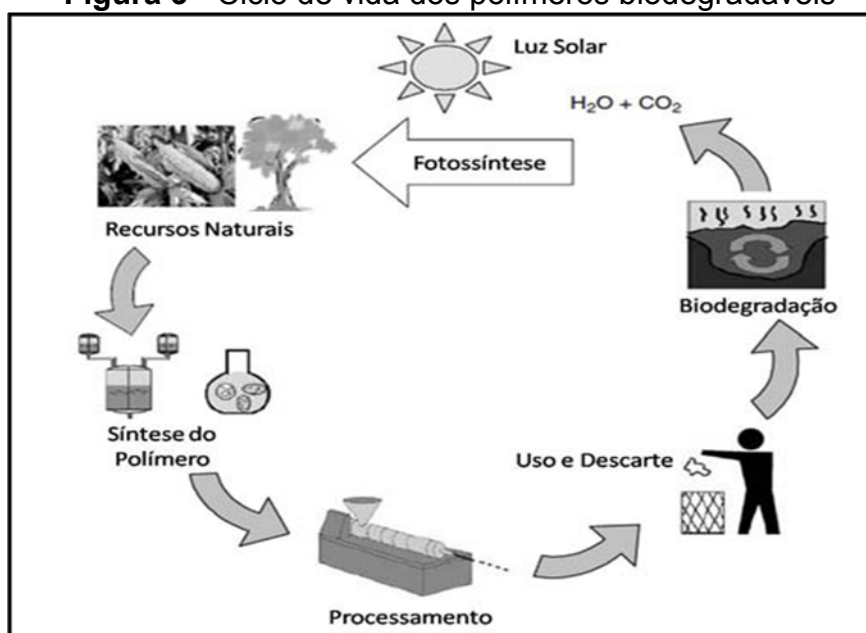
Fonte: Averous e Boquillon (2004)

A utilização dos polímeros biodegradáveis vem crescendo nas últimas décadas, de acordo com Silvestre, Duraccio e Cimmino (2011), o mercado mundial destes materiais em 1950 era de 5 milhões de toneladas e em 2010 já

estava em torno de 100 milhões de toneladas, sendo que o setor de embalagens consome aproximadamente 42% deste total.

A biodegradação é um processo natural e complexo, onde as enzimas microbianas consomem o material a ser degradado, utilizando-o como fonte de nutrientes para o seu crescimento e desenvolvimento. As macromoléculas são convertidas em compostos mineralizados simples, que são redistribuídos através de ciclos elementares como o do carbono, nitrogênio e enxofre. Os polímeros naturais sofrem mais facilmente a ação de microrganismos por conterem funções orgânicas em suas cadeias alifáticas (carbonilas, hidroxilas, ésteres e hidroxiácidos) mais susceptíveis à ação enzimática. No entanto, esta ação depende de alguns fatores, tais como: tipos de microrganismos presentes, condições do meio (temperatura, umidade, pH, luz, O₂) e propriedades do polímero (massa molar, cristalinidade, etc) (FRANCHETTI; MARCONATO, 2006). A Figura 3 apresenta o ciclo de vida dos polímeros biodegradáveis.

Figura 3 - Ciclo de vida dos polímeros biodegradáveis



Fonte: Brito et al. (2011)

De acordo com a Normativa ASTM D6954-04 (2004), um material pode ser considerado biodegradável quando 60% do seu carbono for mineralizado em CO₂ em 45 dias. Ratto et al. (1999) ao realizarem a biodegradação de filmes de polibutileno succinato adipato (PBSA) incorporados com 5 a 30% de amido observaram que o PBSA puro obteve taxa de mineralização de 12,3% em 231 dias.

Quando incorporado 20% de amido na formulação a taxa de mineralização foi de 75,9 % em 24 dias, indicando que o amido contribuiu para acelerar a biodegradação dos filmes.

Vercelheze et al. (2012b) analisaram a biodegradação de bandejas de amido (75 – 100 g), fibra de cana de açúcar (0 – 20 g) e nanoargila (0 – 5 g). Observaram que as bandejas apresentaram mais de 80% de perda de massa quando enterradas durante 90 dias, fato atribuído a atividade microbiana sobre a celulose e o amido, utilizados como fonte de carbono. Entretanto, a presença de nanoargila nas formulações diminuiu a taxa de biodegradação.

Pushpadass et al. (2010) analisaram duas formulações de embalagens tipo espumas produzidas com 70:30 e 80:20 de amido e poliestireno, respectivamente. Nos testes de biodegradação as amostras com maior proporção de amido apresentaram maior produção de CO₂ do que os ensaios com menores quantidades. Os autores também observaram que após a degradação do amido, o polímero permaneceu intacto, não havendo a consumo do poliestireno. O amido é degradado mais facilmente, pois é um polímero hidrofílico e a sua estrutura esta facilmente acessível aos microrganismos.

3.2.1 Embalagens de Amido

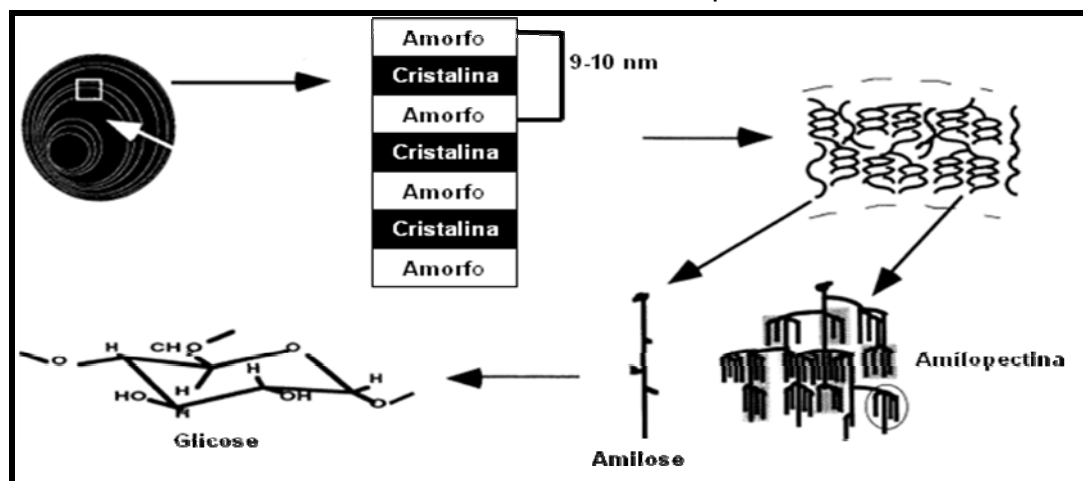
Dentre os biopolímeros disponíveis, o amido tem recebido uma atenção especial no setor de embalagens, pois além de ser biodegradável, apresenta alta disponibilidade e baixo custo (US\$ 0.25 – 0.6/kg), podendo ser utilizado em processos industriais (CHIELLINI et al., 2009). Apresenta-se como polissacarídeo de reserva de cereais (milho, trigo e arroz), tubérculos (batata) e raízes (mandioca), onde se encontra armazenado sob a forma grânulos. Possui caráter semicristalino, com grau de cristalinidade que pode variar de 20 a 45% (CEREDA, 2002).

O amido é classificado como polissacarídeo formado pela mistura de dois polímeros de glicose, a amilose e a amilopectina, cujos níveis podem variar de acordo com a sua origem (WOLF, 2010). Segundo Tester, Karkalas e Qi (2004), a porção linear do amido é composta pela amilose (18 a 33 %), que é formada por resíduos de D-glicose unidos por ligações α -(1 → 4), com grau de polimerização entre 200 e 3.000 e massa molecular de 10⁶ Da. Além disso, a molécula de amilose

possui conformação helicoidal, cujas hélices apresentam caráter hidrofóbico no seu interior. Em contrapartida, a amilopectina (72 a 82 %) corresponde a parte ramificada do grânulo, sendo constituída por unidades de D-glicose ligadas através de ligações α -(1 \rightarrow 4) e ramificações com ligações em α -(1 \rightarrow 6), apresenta comprimento em torno de 20 a 25 unidades de glicose e massa molecular de 10^8 Da.

Em virtude do seu caráter semicristalino, os grânulos de amido apresentam birrefringência quando observados em microscópio óptico sob luz polarizada, a qual esta relacionada basicamente com o arranjo cristalino nativo das frações lineares da amilopectina (CORRADINI et al., 2005). Segundo Cereda et al. (2002), os grânulos de amido são formados por regiões cristalinas (mais densas) e por regiões amorfas (menos densas), as quais encontram-se distribuídas de forma alternada (Figura 4). A porção linear das moléculas de amilopectina forma a dupla hélice, sendo estabilizada por pontes de hidrogênio entre seus grupamentos hidroxila, originando regiões cristalinas dos grânulos. A região amorfa é composta pelas cadeias de amilose e pelas ramificações da amilopectina (BULÉON et al., 1998; SOUZA; ANDRADE, 2000).

Figura 4 - Representação dos diferentes níveis estruturais do grânulo do amido e do enovelamento da amilopectina e amilose

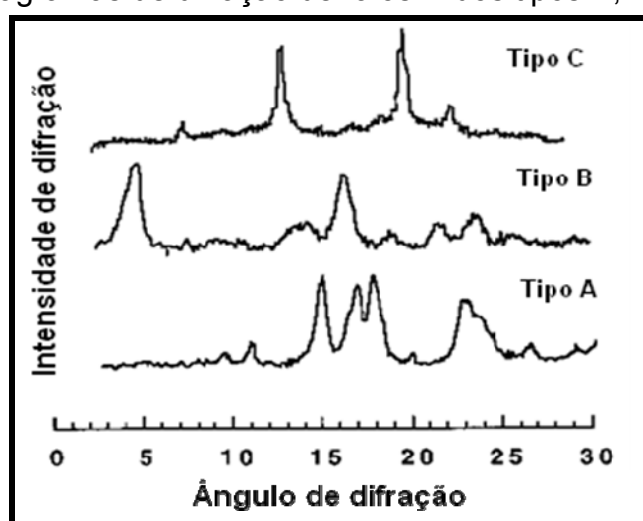


Fonte: Buléon et al. (1998)

Segundo Buléon et al. (1998) e Corradini et al. (2005), o amido nativo pode ser classificado em três padrões de cristalinidade através da análise de difração de raios-X (Figura 5):

- **Tipo A:** característico dos amidos de cereais, sendo os maiores picos de refração para os ângulos 2θ iguais a 17, 18 e 23 °;
- **Tipo B:** característico de tubérculos e amido rico em amilose, sendo os maiores picos de refração para os ângulos 2θ iguais a 5, 6; 15, 17; 22 e 23 °;
- **Tipo C:** compreende uma mistura do tipo A e B, encontrado em amidos provenientes de leguminosas e também em cereais cultivados em condições específicas de hidratação e temperatura.

Figura 5 - Diagramas de difração de raios-X dos tipos A, B e C de amido



Fonte: Buléon et al. (1998)

A produção de embalagens biodegradáveis a partir do amido está relacionada com as propriedades químicas, físicas e funcionais da amilose. Em solução esse polímero linear tende a se orientar paralelamente, aproximando-se o suficiente para que se formem ligações de hidrogênio entre hidroxilas de polímeros adjacentes, reduzindo a afinidade do polímero por água e favorecendo a formação de uma matriz polimérica (WURZBURG, 1986; MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010b).

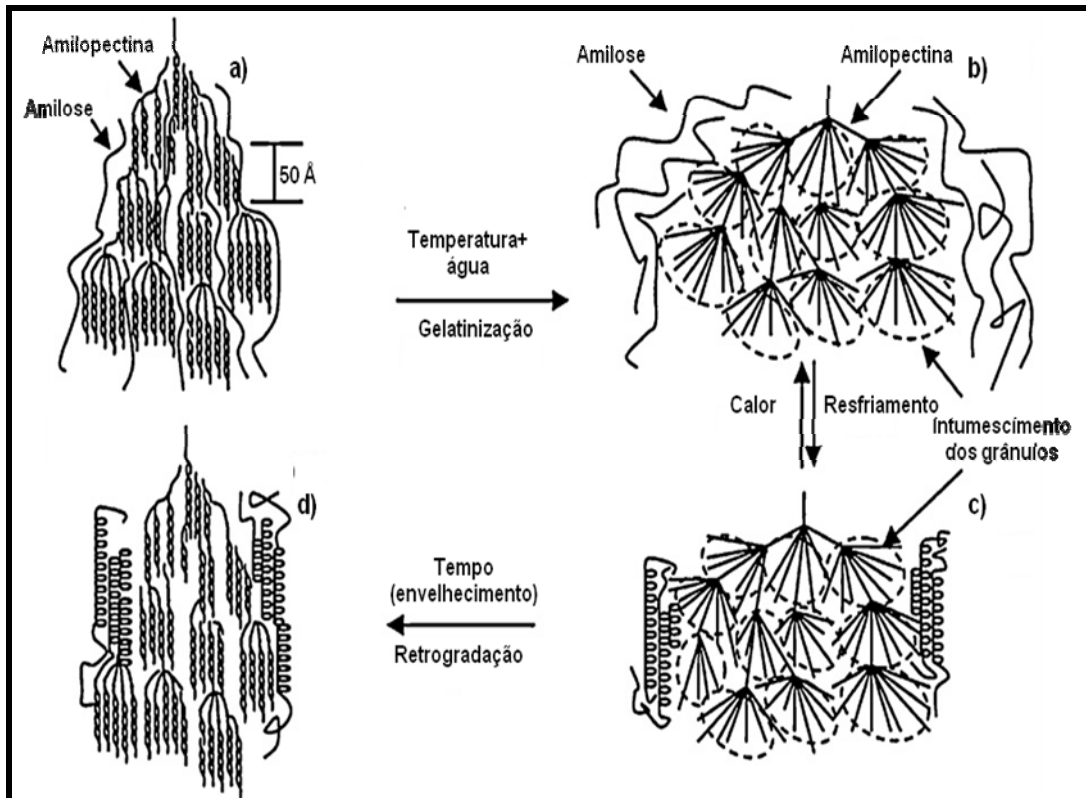
De acordo com Souza e Andrade (2000), para a formação de uma embalagem biodegradável a partir do amido, é necessário que sua estrutura granular seja destruída, para originar uma matriz polimérica, homogênea e essencialmente amorfa, que pode ser obtida através dos fenômenos de gelatinização e/ou fusão. Os processos de gelatinização e fusão são à base de conversão do amido em um material termoplástico. O processo de gelatinização pode ser definido como fenômeno irreversível que inclui a perda da estrutura

cristalina do amido promovendo a sua solubilização. Quando uma suspensão aquosa de amido é aquecida, as pontes de hidrogênio são rompidas, as moléculas de água se ligam aos grupos hidroxilas na molécula de amido. Durante esse tempo, todas as duplas hélices da amilopectina desassociam-se, resultando em maior intumescimento dos grânulos e dissolução dos cristais. No entanto, quando a destruição da estrutura cristalina ocorre em meios com baixa quantidade de água esse fenômeno é conhecido como fusão e requer temperatura bem mais elevada do que a gelatinização (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010b).

Outra importante propriedade dos materiais semi-cristalinos é a sua temperatura de transição vítrea (T_g), que corresponde a uma mudança de fase que ocorre em materiais amorfos ou nas frações amorfas de materiais semi-cristalinos ao serem submetidos a uma determinada temperatura (PEREZ, 1994). Quando submetidos a temperaturas abaixo da T_g , os materiais se encontram no estado vítreo e são caracterizados por uma baixa mobilidade molecular, que lhes confere certa rigidez. Acima da T_g , os mesmos se encontram no estado borrachoso ou gomoso, de maior mobilidade molecular e, conseqüentemente, maior flexibilidade. A temperatura de transição vítrea é o parâmetro mais importante na definição das propriedades mecânicas de polímeros amorfos, em função da sua importância nos processos de recristalização e armazenamento destes materiais (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010b).

Durante o armazenamento, as embalagens a base de amido podem sofrer recristalização, fenômeno também conhecido como retrogradação. Nesse processo, a estrutura amorfa oriunda da gelatinização começa a se reordenar através de pontes de hidrogênio, sendo a porção linear do amido mais susceptível a retrogradação. Este fenômeno pode alterar as propriedades mecânicas destes materiais, pois origina embalagens mais rígidas e quebradiças (ZIEBA; SZUMNY; KAPELKO, 2011). Na figura 6 encontra-se a sequência de fenômenos que podem ocorrer com o grânulo de amido.

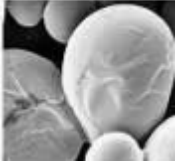
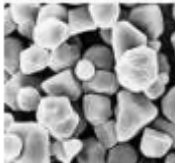
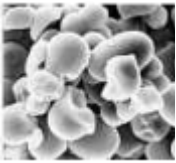
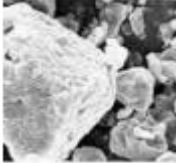
Figura 6 - Esquema representativo das fases de transição do amido durante o processamento térmico e o envelhecimento



Fonte: Buléon et al. (1998)

As diversas fontes de amido podem influenciar em algumas de suas propriedades. Guinesi et al. (2006) analisaram as características de amido proveniente do arroz, milho, mandioca e batata. Observaram valores diferentes para as variáveis tamanho do grânulo, índice de cristalinidade, porcentagem de amilose e amilopectina. Os resultados encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2 - Características do amido proveniente de diferentes fontes

Fonte	Formato do Granulo	Diâmetro (µm)	Índice de cristalinidade	Amilose (%)	Amilopectina (%)
Batata		20 - 33	0.55	15	85
Milho		8,0–15	0.44	28	72
Mandioca		11–18	0.50	14	86
Arroz		1,5–4,0	0.53	15	85

Fonte: Guinesi et al. (2006)

O amido de mandioca, também conhecido como fécula de mandioca ou polvilho doce, tem sido largamente estudado na produção de materiais biodegradáveis. Caracteriza-se por ser um pó fino, branco, inodoro e insípido. Pode ser obtido das raízes da mandioca, após descascamento, trituração, desintegração, purificação, peneiramento, centrifugação, concentração e secagem (VIEIRA et al., 2010).

A produção do amido mandioca em no Brasil foi de aproximadamente 519,16 mil toneladas. O Estado do Paraná é o maior produtor brasileiro contribuindo com cerca de 70 % da produção total. Para a safra de 2012/2013 estima-se que serão produzidas 535,64 mil toneladas da fécula (CEPEA, 2012).

Apesar de o amido ser biodegradável, sua aplicação no setor de embalagens ainda é limitada, principalmente devido a sua alta afinidade pela água.

Espumas a base de amido demonstram baixa resistência mecânica em elevadas umidades relativas e também alto custo quando comparadas com as embalagens tradicionais (CERQUEIRA et al., 2012). Nesse contexto, vários autores vêm testando alguns aditivos para melhorar o desempenho destes materiais, tais como: fibras, plastificantes, álcool polivinílico, nanoargilas, dentre outros (CHIELLINI et al., 2009; MALI et al., 2010a; KAISANGSRI; KERDCHOECHUEN; LAOHAKUNJIT, 2011; YOON; PARK; BYUN, 2012).

VERCELHEZE et al. (2012a) estudaram a produção de bandejas de amido de mandioca incorporadas com fibras da cana-de-açúcar e montmorilonita sódica, via termoprensagem. Obtiveram bandejas com aparência similar às de isopor® e propriedades mecânicas melhores que em bandejas produzidas exclusivamente com amido, no entanto, com necessidade de melhoria em relação à capacidade de absorção de água.

3.3 MATERIAIS DE REFORÇO PARA EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO

Atualmente, vários pesquisadores vêm estudando alternativas para melhorar as propriedades das embalagens biodegradáveis de amido. Dentre os principais materiais de reforço utilizados destacam-se as diversas fibras lignocelulósicas (POLLETO et al., 2011; ARRAKHIZ et al., 2012), proteínas (SALGADO et al., 2008), quitosana (DEBIAGI et al., 2011; KAISANGSRI; KERDCHOECHUEN; LAOHAKUNJIT, 2011) e amido modificado (KAUR et al., 2012). As partículas nanométricas como nanofibras (LIU; BERGLUND, 2012), nanotubos de carbono (SANCHEZ-GARCIA; LAGARON; HOA, 2010), nanoargilas (AOUADA; MATTOSO; LONGO, 2011; VERCELHEZE et al., 2012a), nanopartículas de sílica, quitina e quitosana (AZEREDO, 2009) também vêm sendo pesquisadas. Além disso, percebe-se uma vasta aplicação dos polímeros sintéticos biodegradáveis como o álcool polivinílico (PVA) (MALI et al., 2010a; AVELLA et al., 2011; DEBIAGI et al., 2011; JIPA et al., 2012) e o poli (ácido lático - PLA) (RHIM; HONG; HÁ, 2009), dentre outros.

3.3.1 Fibras Lignocelulósicas

A utilização de fibras lignocelulósicas como materiais de reforço em matrizes poliméricas data de mais de 3000 anos. O primeiro plástico reforçado com fibra foi produzido em 1908, o qual continha fibra de celulose em resina fenólica, no entanto, adquiriu *status de commodity* com a utilização das fibras de vidro. (PETERS, 1998; JAWAID; KHALIL, 2011).

A partir de 1960, o uso de fibras sintéticas aumentou drasticamente em vários setores, como o automotivo, aeroespacial, construção civil e de embalagens. Os principais tipos de fibras sintéticas estudados são de carbono, aramida e de vidro, sendo esta última amplamente utilizada como material de reforço para plásticos em virtude de seu menor custo e melhores propriedades mecânicas (WAMBUA; IVENS; VERPOEST, 2003).

Nos últimos anos têm sido desenvolvidos muitos produtos reforçados com fibras naturais em substituição às fibras de vidro. Atualmente, a aplicação de fibras naturais como materiais de reforço para compósitos biodegradáveis está motivando vários pesquisadores e cientistas em nível mundial (SALGADO et al., 2008; CHIELLINI et al., 2009; MALI et al., 2010a; VERCELHEZE et al., 2012a; GALICIA-GARCÍA et al., 2011; POLLETO et al., 2011). A utilização de fibras lignocelulósicas proporciona melhorias na resistência mecânica, estabilidade térmica, biodegradação e no baixo custo das embalagens biodegradáveis, uma vez que muitas são provenientes de resíduos industriais (SATYANARAYANA; ARIZAGA; WYPYCH, 2009). Na Tabela 3 estão apresentadas as principais diferenças entre as fibras de vidro e as fibras naturais, que apresentam outras vantagens, como menor densidade e menor consumo de energia no seu processamento.

Tabela 3 - Principais diferenças entre as fibras naturais e as fibras de vidro

Característica	Fibras Naturais	Fibras de vidro
Densidade	1200–1500 kg/m ³	2500 kg/m ³
Custo	200 – 1000 U\$\$/t	1200-1800 U\$\$/t
Matéria-prima renovável	Sim	Não
Biodegradável	Sim	Não
Consumo de energia	Baixo	Alto
Distribuição	Amplo	Amplo
Resíduo industrial	Sim	Não
Danos a saúde quando inalado	Não	Sim

Fonte: Wambua, Ivens e Verpoest (2003); Jawaid e Khalil (2011)

O elevado desenvolvimento no setor de embalagens biodegradáveis reforçadas com fibras naturais pode ser fundamentado por três principais razões: (1) interesse em reduzir o impacto ambiental causados pelos polímeros sintéticos; (2) utilização de matéria-prima de fonte renovável e (3) a disponibilidade de equipamentos modernos para melhor entendimento das propriedades estruturais desses materiais (SATYANARAYANA; ARIZAGA; WYPYCH, 2009).

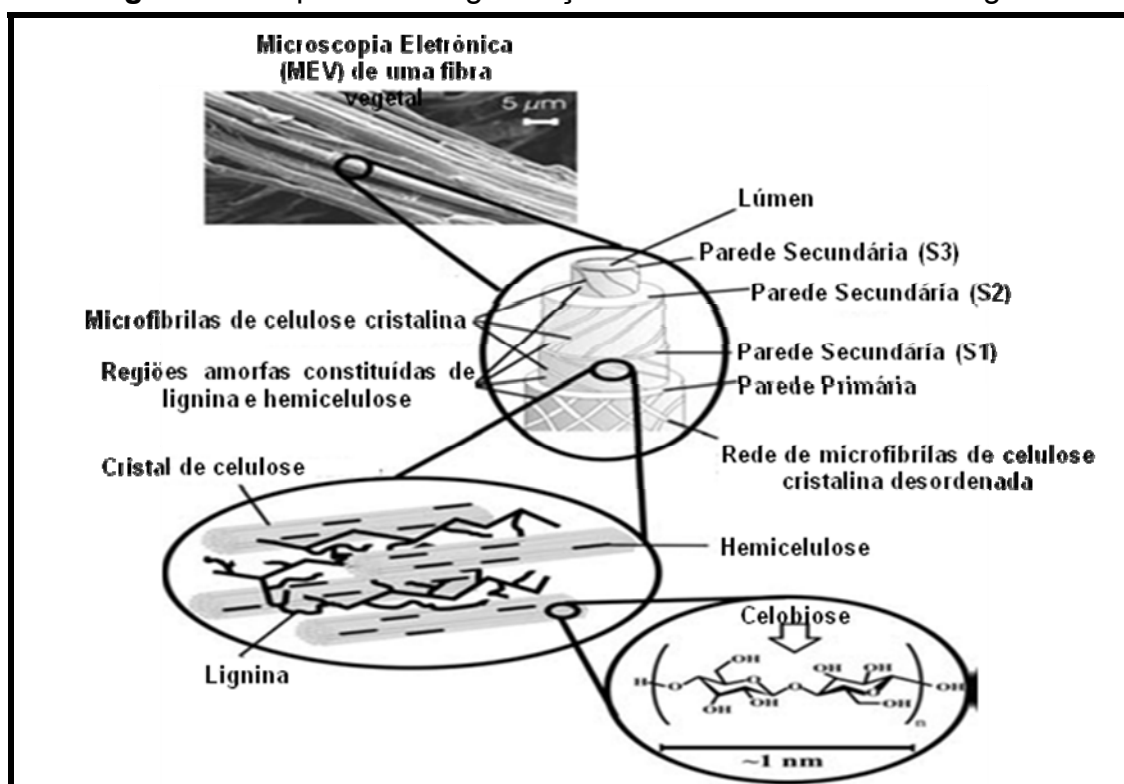
Embalagens de amido reforçadas com fibras são denominadas de compósitos, isto é, são materiais formados por dois ou mais componentes em diferentes fases, sendo uma denominada de fase contínua ou matriz e a outra chamada de fase dispersa. Para compósitos poliméricos a matriz pode ser termoplástica ou termofixa, enquanto a fase dispersa pode ser fibrosa, orgânica, inorgânica, natural ou sintética (PETERS, 1998).

Bénézet et al. (2012) analisaram o efeito das fibras de algodão, cânhamo, trigo e celulose em espumas de amido de batata. As fibras de cânhamo e celulose quando inseridas na matriz de amido diminuíram a capacidade de adsorção de água da mesma em todos os níveis de umidade relativa (UR) testados (33, 56 e 75 %). Contribuíram também para a melhoria das propriedades mecânicas dos compósitos e aumentaram a sua taxa de biodegradação. Para os valores de densidade observaram que a maioria das fibras diminuiu a densidade dos compósitos, exceto a fibra de cânhamo.

Basicamente, as fibras lignocelulósicas são compostas por dois polissacarídeos, a celulose e a hemicelulose, e por um polímero aromático que

corresponde à lignina (XIE et al., 2010). Possuem camadas complexas, que compreende a parede primária, a qual é depositada durante a fase de crescimento da planta e a parede secundária, constituída por três camadas (S1, S2 e S3). A camada S2 é determinante para as propriedades mecânicas das fibras, sendo formada por várias microfibrilas constituídas de celulose (Figura 7) (SILVA et al., 2009).

Figura 7 - Esquema de organização estrutural de uma fibra vegetal



Fonte: Silva et al. (2009)

A celulose ($C_6H_{11}O_5$) é o polímero natural mais abundante no planeta, com produção anual de aproximadamente 50 bilhões de toneladas por ano. A unidade repetitiva da celulose é conhecida como celobiose, que é formada por duas unidades de D-anidroglicose esterificadas por ligações β -1,4-D-glicosídicas, sendo que cada unidade possui 6 grupos hidroxilas. O seu grau de polimerização é de aproximadamente 10.000 e a sua cristalinidade varia de acordo com a origem e o processamento (JOHN; THOMAS, 2008).

A hemicelulose encontra-se associada com a celulose e caracteriza-se por ser um polissacarídeo heterogêneo. É formada por vários monossacarídeos polymerizados, dos quais se destacam: as pentoses (D-xilose, L-arabinose e L-

ramnose), as hexoses (D-glicose, D-manose e D-galactose) e os ácidos urônicos (ácidos 4-O-metil-D-glucurônico e D-galacturônico). Outros açúcares (L-ramnose e L-fucose) podem estar presentes em pequenas quantidades. As hemiceluloses mais importantes são as glucomananas e as xilanas, sendo esta a mais abundante e encontrada facilmente em subprodutos florestais e agroindustriais (GÍRIO et al., 2010). As diferentes hemiceluloses encontradas podem variar de acordo com a origem biológica. Possuem grau de polimerização que pode variar entre menos de 50 a 300 e são altamente hidrofílicas (SILVA et al., 2009).

Os grupos hidroxilas presentes nas fibras podem formar pontes de hidrogênio com a matriz polimérica, favorecendo as interações entre os componentes da formulação (VERCELHEZE et al., 2012a). A interação entre a matriz polimérica e o material de reforço durante o processamento é imprescindível para que o produto final apresente boas propriedades físicas e mecânicas (NABAR et al., 2005).

A lignina encontra-se associada com a hemicelulose e a celulose na estrutura das fibras naturais, sendo responsável por sua rigidez. Apresenta-se como material amorfo e hidrofóbico, com estrutura ramificada, podendo ser classificada com um polifenol. A falta de um método bem estabelecido para o isolamento da lignina em sua forma nativa gera dificuldades na elucidação química de sua estrutura. Basicamente, seu arranjo molecular é constituído por várias unidades de fenilpropano, que pode conter grupos hidroxila e metoxila como substituintes no grupo fenil, sendo que as unidades de ligninas são unidas por ligações éteres (JOHN; THOMAS, 2008; SILVA et al., 2009).

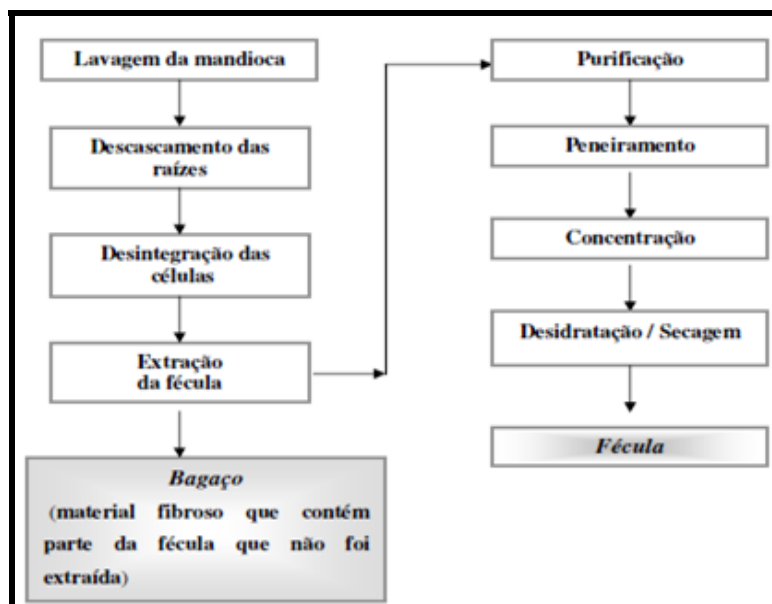
Segundo Satyanarayana (2010), o Brasil é um país que apresenta uma grande diversidade de recursos renováveis, já que 58 % do seu território é ocupado por florestas e bosques. Entre as fibras naturais disponíveis que podem ser utilizadas como reforço para materiais poliméricos encontram-se a fibra de juta, banana, malta, mandioca, rami, sisal, algodão, coco, abacaxi, cana-de-açúcar, entre outros. Além disso, a agroindústria é responsável por gerar inúmeras fontes de biomassa que não são adequadamente aproveitadas, transformando-as em resíduos, dentre os quais, alguns resíduos lignocelulósicos, como as cascas de alguns cereais (arroz, aveia) e o bagaço de mandioca, resíduo de fecularias, dentre outros (SILVA et al., 2009).

3.3.1.1 Bagaço de Mandioca

Manihot esculenta Crantz possui grande importância nos países tropicais como o Brasil. Em 2012 a brasileira de mandioca foi de aproximadamente de 24 milhões de toneladas (CEPEA, 2012). A mandioca pode ser utilizada na alimentação humana ou animal e em processos industriais para a obtenção do amido (NASSAR; ORTIZ, 2007). Segundo a Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca (ABAM, 2011), cerca da metade da produção de mandioca destina-se a industrialização pelas fecularias.

No processo industrial da mandioca ocorre a extração de açúcares solúveis e a separação das fibras, resultando em amido purificado e bagaço de mandioca, respectivamente (PASQUINI et al., 2010). Na Figura 8 encontra-se o fluxograma empregado no processo de obtenção do amido e a etapa de processamento onde o bagaço é gerado. Estima-se que o processamento de 200 toneladas de mandioca gere, por dia, aproximadamente, 183 toneladas de bagaço (ABAM, 2011).

Figura 8 - Fluxograma do processo de obtenção do amido e a geração do bagaço de mandioca



Fonte: Matsui (2002)

A composição química do bagaço (Tabela 4) pode variar de acordo com a origem da mandioca, bem como o método de processamento, sendo este

composto basicamente por amido e fibras. Em virtude do seu baixo teor de proteínas sua aplicação para ração animal ainda é limitada (PANDEY et al., 2000).

Tabela 4 - Composição centesimal do bagaço de mandioca (g/g peso seco)

Composição	Resultado (%)
Umidade	9,52
Proteína	0,32
Lipídios	0,83
Fibras	14,88
Minerais	0,66
Carboidratos	63,85

Fonte: Pandey et al. (2000)

A elevada umidade faz com que este material se apresente como um problema para as fecularias, devido às dificuldades de transporte e armazenamento. Geralmente, os produtores doam o bagaço para ser utilizado na alimentação animal. Apesar do bagaço de mandioca não apresentar conteúdos tóxicos (como o cianeto), devido ao seu baixo teor de proteínas acaba sendo um material pouco atrativo para essa finalidade (PANDEY et al., 2000; MATSUI, 2002).

Há um grande interesse e necessidade para a utilização desse resíduo, visando diminuir os prejuízos causados ao ambiente com a sua deposição. Vários pesquisadores vêm explorando o bagaço de mandioca para ser aplicado como matéria-prima em processos biotecnológicos para a produção de etanol (LEONEL; CEREDA, 1999), compostos aromáticos, ácidos orgânicos, cogumelos comestíveis (PANDEY et al., 2000), ou até mesmo para a produção de biscoitos (VANZIN; FERREIRA; BACK, 2002). Outra alternativa para o aproveitamento do bagaço é utilizá-lo na produção de bandejas biodegradáveis.

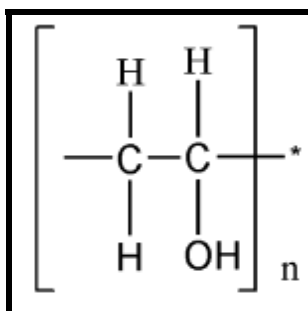
Carr et al. (2006), produziram bandejas biodegradáveis de amido com fibras de mandioca e trigo, separadamente, nas proporções de 1, 2 e 3 %, pelo processo de termoformagem. O aumento da concentração de fibras resultou em compósitos com maior densidade e menos flexíveis, fato que pode estar relacionado com a falta de homogeneidade entre as fibras e a matriz polimérica. As amostras que continham 1 % de fibra de mandioca apresentaram maior resistência à compressão.

Em virtude da sua alta concentração de amido, o resíduo da mandioca também pode ser utilizado desempenhando o papel de matriz polimérica, recebendo o tratamento de outros aditivos. Matsui et al. (2003) produziram bandejas de papel biodegradáveis para o armazenamento de ovos a partir do bagaço de mandioca tratado com 10 % de papel Kraft. A amostra com 10 % de papel Kraft apresentou menor higroscopicidade em umidade relativa elevada que os demais ensaios.

3.3.2 Álcool Polivinílico

O álcool polivinílico (PVA) (Figura 9) é um polímero linear semicristalino com estrutura relativamente simples, sendo representado pela fórmula estrutural $[-CH_2CH(OH)-]_n$, em que n é o número de unidades de repetição de $-CH_2CH(OH)-$. Foi obtido pela primeira vez em 1924, por Herrman e Haehnel, sendo produzido a partir polimerização do poli (acetato de vinila) (PVAc) e subsequente hidrólise ácida ou básica para sua obtenção (ZIA et al., 2011).

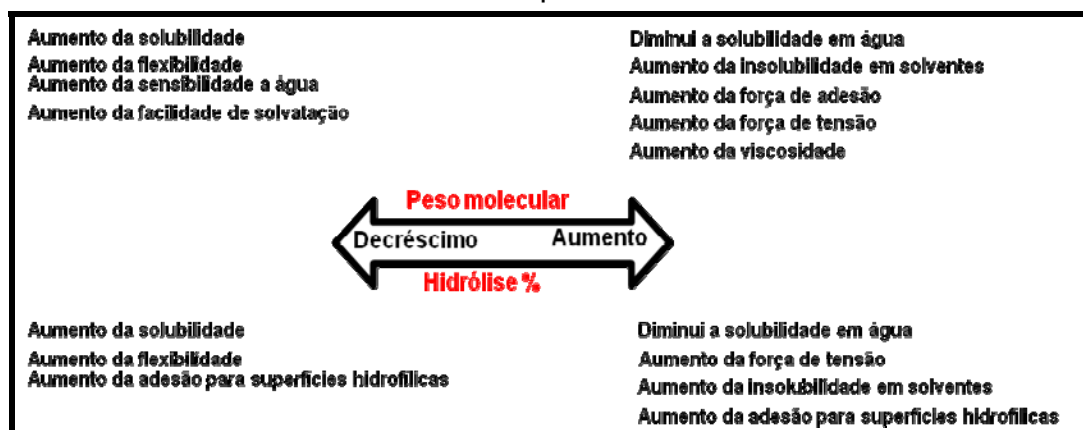
Figura 9 - Estrutura molecular do PVA



Fonte: Zia et al. (2011)

Constitui-se de um material incolor, inflamável, inodoro, insípido em partículas finas e granulares. Além disso, é solúvel em água, pouco solúvel em etanol e insolúvel em outros solventes orgânicos. Seu peso molecular pode variar de 26300 a 30000 unidades (ZIA et al., 2011). Segundo Tang e Alavi (2011), as propriedades finais do PVA dependerão do grau de polimerização e de hidrólise do PVAc, sendo este último responsável por propriedades como cristalinidade, estabilidade térmica, solubilidade e inchamento em água. A Figura 10 demonstra como as propriedades dos materiais a base de PVA podem variar de acordo com seu grau de hidrólise e peso molecular.

Figura 10 - Propriedades físicas do PVA em função do seu grau de hidrólise e peso molecular



Fonte: Tang e Alavi (2011)

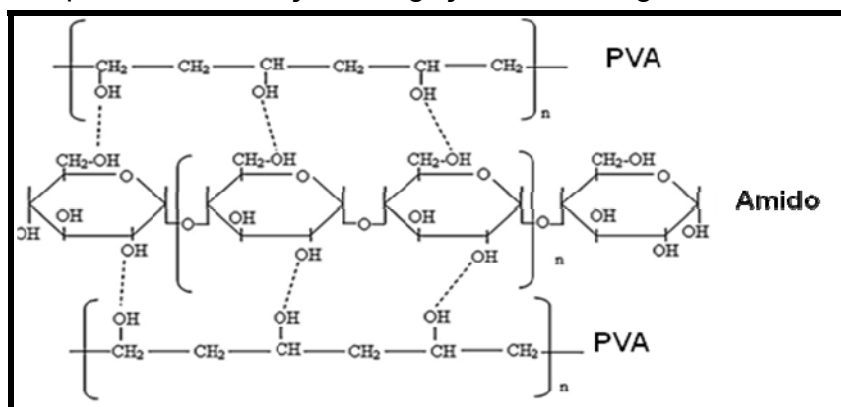
Um dos poucos polímeros semicristalinos que apresenta solubilidade em água, com alta resistência a tração, elevada resistência química, boas propriedades de adesão e de barreira. Além disso, o álcool polivinílico não é oriundo do petróleo, apresentando-se biodegradável e biocompatível (ZHANG et al., 2011).

A utilização de blendas de amido/PVA tem atraído grande interesse desde 1980, em virtude de sua excelente compatibilidade e processabilidade. Embalagens de enchimento de amido/PVA foram comercializadas pela marca Mater-Bi® desde 1990. Anualmente, estima-se um consumo de cerca de 25 mil toneladas de embalagens de enchimentos feitas de amido/PVA (GUO et al., 2011).

Alguns autores têm relatado o incremento das propriedades de compósitos de amido quando adicionados de PVA. Debiagi et al. (2011) analisaram espumas obtidas pela mistura de amido de mandioca/PVA, quitosana (0 – 2 %) e fibras do bagaço de cana de açúcar. A adição de elevadas proporções de PVA (40 %) e fibras (28 %) melhorou o índice de expansão e a resistência mecânica das amostras. Chiellini et al. (2009) também observaram que o PVA quando introduzido na matriz polimérica proporciona melhoria na estrutura física e na resistência mecânica das espumas de amido.

Em geral, compósitos de amido e PVA apresentam melhores propriedades mecânicas que materiais de amido puro, em virtude de ambos serem substâncias polares, pois apresentam grupos hidroxilas (OH) em suas estruturas químicas. Esses grupamentos hidroxilas podem formar ligações de hidrogênio inter e intramoleculares (Figura 11) proporcionando o incremento das propriedades dos compósitos (SIN et al., 2010; TANG; ALAVI, 2011).

Figura 11 - Esquema da formação de ligações de hidrogênio entre o amido e PVA



Fonte: Tang e Alavi (2011)

O PVA também pode levar ao decréscimo da absorção de água em embalagens de amido. Follain et al. (2005) ao analisarem filmes formados de amido e PVA (no máximo 5 %) observaram que os compósitos com amido e 2 % de PVA apresentaram menor capacidade de absorção do que as amostras com amido puro. Preechawong et al. (2004) produziram espumas de amido e PVA (0, 10 e 30 %) e relataram que em maiores níveis de umidade, a capacidade de absorção diminuiu com o aumento da concentração do PVA. O decréscimo da capacidade de absorção pode ser devido à menor higroscopicidade do PVA quando comparado com o amido (PREECHAWONG et al., 2004; FOLLAIN et al., 2005).

3.4 EMBALAGENS ATIVAS

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs), cujo surto é definido como um incidente, no qual duas ou mais pessoas apresentam uma doença similar resultante da ingestão de um alimento e/ou água contaminada, é um dos problemas de saúde mais frequentes do mundo contemporâneo (WELKER et al., 2010).

Segundo dados da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS, 2011), o controle epidemiológico das DTAs teve início no final de 1999, sendo que desse período até 2010 foram notificados 6971 surtos, com 1,8 milhões de pessoas expostas e 88 óbitos registrados. A maioria dos casos registrados encontra-se na região sul (48,7%) e sudeste (32,3%) do Brasil. As bactérias são os agentes etiológicos mais frequentes, dentre as quais podemos citar: *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella sp.*, *Bacillus cereus*, *Clostridium*

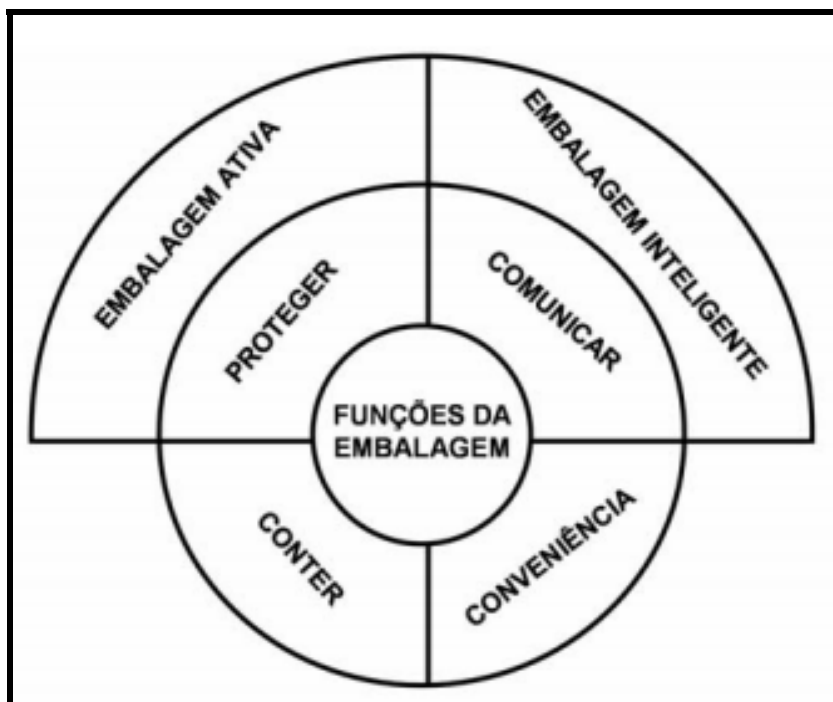
perfringens. De acordo com Cagri, Ustunol e Ryser (2004), a contaminação do produto geralmente ocorre durante a manipulação e no processo de embalagem.

Os dados acima evidenciam a importância da proteção dos produtos alimentícios bem como dos consumidores perante os microrganismos patogênicos. As embalagens de alimentos são estratégias importantes que podem minimizar o grande problema causado pelas DTAs. (ROJAS-GRAÜ et al., 2006; SOARES et al., 2009).

Além das embalagens convencionais, existem algumas denominações na literatura para os novos sistemas, sendo os mais relevantes as embalagens ativas e inteligentes. De acordo com Ahvenainen (2003); Yam, Takhistov e Miltz (2005) os principais tipos de embalagens são:

- **Embalagens convencionais:** tem a função de conter, proteger os alimentos, comunicar e conferir conveniência ao consumidor, com mínima interação entre a embalagem e o conteúdo durante as etapas de armazenamento e transporte;
- **Embalagens ativas:** caracterizam-se por apresentar mudanças nas condições do ambiente ao redor do alimento para prolongar a seu tempo de vida útil, manter as propriedades sensoriais e de segurança, enquanto conserva a qualidade do alimento.
- **Embalagens inteligentes:** possuem sistema de monitoramento que oferece informações sobre a sua qualidade durante o transporte e armazenamento. Na figura 12 encontra-se ilustrado as principais funções dos tipos de embalagens.

Figura 12 - Funções básicas das embalagens convencionais e interfaces de atuação das embalagens ativas e inteligente



Fonte: Yam, Takhistov e Miltz (2005)

Existem 2 tipos de sistemas de embalagens ativas: (1) sistema absorvedor, que remove compostos indesejáveis que aceleram a degradação do produto alimentício como: oxigênio, excesso de água, etileno, dióxido de carbono e outros compostos específicos. (2) sistema emissor, no qual se adicionam compostos ativos ao produto embalado ou ao espaço livre da embalagem como: dióxido de carbono, etanol, antioxidantes ou conservantes, antimicrobianos entre outros (KUORWEL et al., 2011). Na Tabela 5 encontram-se descritos alguns exemplos de embalagens ativas e suas aplicações.

Tabela 5 - Exemplos de embalagens ativas e suas aplicações

Embalagens Ativas	Principais Componentes	Aplicações
Absorvedor de oxigênio	Pós de ferro, ácido ascórbico, compostos organometálicos, glicose-oxidase, etanoloxidase.	Produtos de panificação, café, chá, leite em pó, queijos, produtos cárneos.
Absorvedor de etileno	Permanganato de potássio, carvão ativado, sílica gel, zeólito, argila.	Frutas e hortaliças.
Absorvedor de umidade	Propilenoglicol, poli (álcool vinílico), sílica gel, terra diatomácea, argila.	Frutas, vegetais, produtos congelados e de panificação.
Absorvedor de dióxido de carbono	Ca(OH) ₂ + NaOH ou KOH, óxido de cálcio e sílica gel.	Café torrado, produtos desidratados.
Emissores de etanol	Etanol.	Produtos de panificação, peixe.
Liberadores e conservantes antimicrobianos	Sorbatos, benzoatos, propionatos, etanol, ozônio, peróxido, dióxido de enxofre, antibióticos, zeólito de prata, enzimas.	Carne, peixe, queijo, frutas secas e produtos de panificação.
Emissores de dióxido de carbono	Ácido ascórbico, carbonato de ferro + haleto metálico.	Frutas e hortaliças, peixes, carnes e aves.

Fonte: Robertson (2006)

O uso das embalagens ativas em países como Estados Unidos, Japão e Austrália vêm sendo aplicado com sucesso. No Brasil esse tipo de embalagem ainda encontra-se em desenvolvimento, com poucos produtos encontrados no mercado (SOARES et al., 2009).

A embalagem antimicrobiana é um dos tipos mais promissores dentre as embalagens ativas. Apresenta uma substância antimicrobiana incorporada ou imobilizada, podendo eliminar ou inibir os microrganismos deterioradores ou

patogênicos. Resumidamente, o princípio das embalagens antimicrobianas corresponde à adição de uma barreira extra (microbiológica) às barreiras físicas (oxigênio e umidade). Os agentes antimicrobianos podem ser incorporados nas embalagens de três formas: diretamente na matriz polimérica, na superfície dos alimentos ou estar contidos em etiquetas (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002; COMA, 2008).

Segundo Rojas-Graü, Soliva-Fortuny e Martín-Belloso (2009) existem vários agentes antimicrobianos que podem ser utilizados nas embalagens, tais como: ácidos orgânicos, (acético, benzóico, láctico, propiônico e sórbico), ésteres de ácidos graxos (monolaurato de glicerol), polipeptídeos (lisozima, peroxidase, lactoferrina e nisina) e os óleos essenciais (EOS) oriundos de plantas (canela, orégano, erva-cidreira, alecrim, manjerição, eucalipto, laranja, hortelã, limão, cravo, coentro, alho, dentre outros).

Para a escolha de um antimicrobiano deve-se levar em conta a sua ação contra o microrganismo de interesse, assim como sua interação com a matriz polimérica e os constituintes dos alimentos, pois esses fatores podem alterar as características físico-químicas das embalagens e a ação dos antimicrobianos (CAMPOS; GERSCHENSON; FLORES, 2011).

3.4.1 Óleos Essenciais

Atualmente, há uma preferência mundial para alimentos mais saudáveis e livres de aditivos químicos pelos consumidores, aumentando o uso de antimicrobianos oriundos de fontes naturais, como os óleos essenciais (OEs). A incorporação dos óleos essenciais em embalagens biodegradáveis é de grande interesse, uma vez que o produto irá prolongar a vida útil dos alimentos, diminuir as doenças transmitidas por alimentos (DTAs), responder a demanda dos consumidores por produtos mais naturais, além de contribuir para diminuir a contaminação ambiental (CAMPOS; GERSCHENSON; FLORES, 2011).

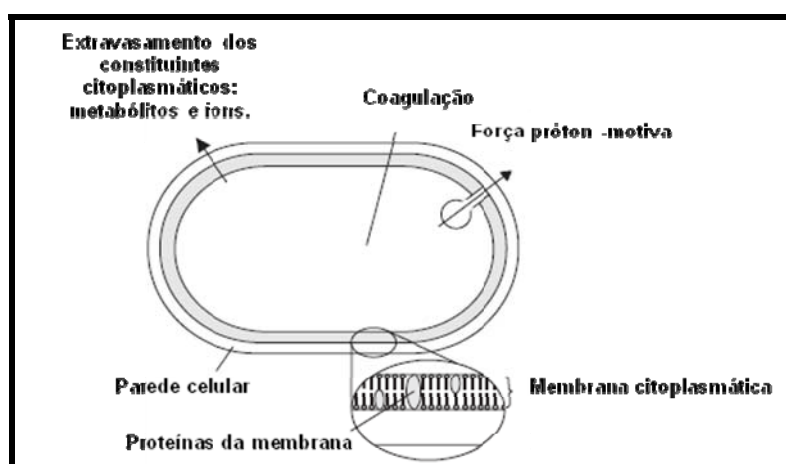
Os óleos essenciais são também conhecidos por óleos voláteis ou óleos etéreos. São líquidos de aparência oleosa a temperatura ambiente, sendo obtidos a partir de material vegetal como: flores, sementes, folhas, galhos, cascas, ervas, madeiras, frutos e raízes. O procedimento mais utilizado para a obtenção dos OEs para fins comerciais é o método de destilação a vapor. Possuem efeito anti-

séptico, e podem ser utilizados como antimicrobianos, analgésicos, sedativos, anti-inflamatórios e antiespasmódicos (BAKKALI et al., 2008).

Aproximadamente são conhecidas 3000 espécies de óleos essenciais, sendo que apenas 300 possuem importância comercial (BIZZO; HOVEL; REZENDE, 2009). A composição dos óleos essenciais pode apresentar mais de 60 componentes individuais, sendo que a atividade antimicrobiana é atribuída aos terpenóides e compostos fenólicos como timol, carvacrol e eugenol (BURT, 2004).

Devido à grande variedade de grupos e compostos químicos presentes nos óleos essenciais, a sua atividade antimicrobiana não é atribuída a um mecanismo específico, podendo ser exercida em vários locais da célula microbiana (Figura 13). Os principais mecanismos exercidos são: degradação da parede celular, danos à membrana citoplasmática, perda de constituintes celulares, coagulação do citoplasma e rompimento da força próton-motriz. Na maioria das vezes os mecanismos não funcionam como alvos separados e podem ocorrer em consequência de outros. O caráter hidrofóbico dos óleos essenciais é uma característica importante no seu mecanismo de ação, permitindo a sua ligação com os lipídios presentes na membrana celular, modificando sua estrutura e deixando-a mais permeável, promovendo o extravasamento de íons e de outros constituintes, resultando na lise celular (BURT, 2004).

Figura 13 - Locais e mecanismos dos OEs na célula microbiana



Fonte: Burt (2004)

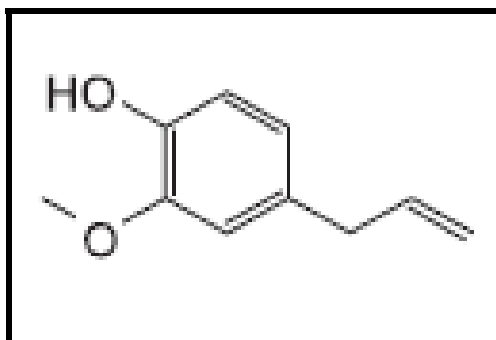
Os óleos essenciais são reconhecidos como GRAS (*Generally Recognized as Safe – Geralmente Reconhecido como Seguro*), por isso são utilizados como aromatizantes em alimentos e bebidas (ROJAS-GRAÜ et al., 2006).

Moreira et al. (2005) avaliaram a atividade antimicrobiana de dez tipos de OEs: eucalipto (*Eucalyptus globules*), chá verde (*Melaleuca alternifolia*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), hortelã (*Mentha piperita*), noz moscada (*Rosa moschata*), cravo (*Syzygium aromaticum*), limão (*Citrus limonum*), orégano (*Origanum vulgare*), pinheiro-silvestre (*Pinus silvestrys*) e manjeriço (*Ocimum basilicum*), perante a bactéria *Escherichia coli* O157:H7, a qual é considerada uma das principais bactérias causadoras das DTAs. Observaram que as cepas de *E. coli* O157:H7 exibiram susceptibilidade semelhante à ação dos óleos essenciais testados. O óleo essencial com o menor MIC (concentração inibitória mínima) e MBC (concentração bactericida mínima) foi o de cravo (0,25 mL/100 mL e 0,3 mL/100 mL, respectivamente), demonstrando que OE de cravo exerceu uma ação bactericida e bacteriostática.

Na última década, houve um aumento significativo nas pesquisas utilizando filmes biodegradáveis como matrizes dos mais diversos antimicrobianos naturais. Esses materiais apresentam-se como ferramentas úteis para proteger os alimentos da deterioração e do crescimento de patógenos (CAMPOS; GERSCHENSON; FLORES, 2011).

Gómez-Estaca et al. (2010) analisaram o efeito antimicrobiano dos óleos essenciais de cravo (*Syzygium aromaticum*), erva-doce (*Foeniculum vulgare Miller*), cipreste (*Cupressus sempervirens L.*), alfazema (*Lavandula angustifolia*), tomilho (*Thymus vulgaris L.*), verbena (*Verbena officinalis L.*), pinheiro silvestre (*Pinus sylvestris*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*) em 18 gêneros de bactérias, que incluíam algumas bactérias patogênicas em alimentos. O óleo essencial de cravo (OEC) apresentou maior efeito inibitório para todos os microrganismos. Quando incorporado em filmes de quitosana e proteínas, a atividade antimicrobiana do OE não foi alterada independente da matriz. Segundo Wenqiang et al. (2007), a elevada atividade antimicrobiana do óleo essencial de cravo pode ser atribuída ao seu alto nível de eugenol (Figura 14), o qual possui temperatura de ebulição em torno de 253,5 °C. Este composto fenólico pode desnaturar a proteína e reagir com fosfolípidos da membrana celular alterando sua permeabilidade.

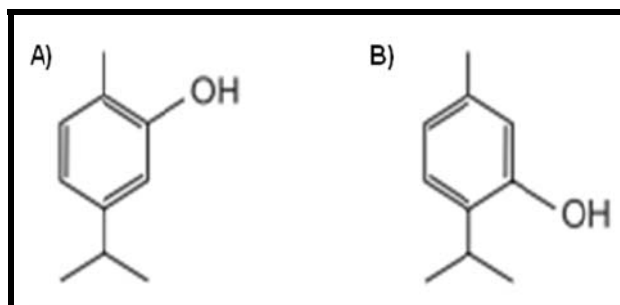
Figura 14 - Fórmula estrutural do eugenol



Fonte: Burt (2004)

Pelissari et al. (2009) analisaram as propriedades físico químicas e antimicrobianas de filmes de amido/quitosana incorporados com óleo essencial de orégano (OEO) nas concentrações de 0,1, 0,5 e 1 %. Os microrganismos testados foram: *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* e *Staphylococcus aureus*. Filmes adicionados com OEO inibiram efetivamente os quatro microrganismos, demonstrando melhores propriedades de barreira e não afetando a estabilidade térmica dos filmes. As diferentes concentrações testadas evidenciaram que filmes com maiores proporções de OEO apresentaram maiores zonas de inibição. Segundo Seydim e Sarikus (2006), o efeito inibitório do OEO pode ser atribuído a concentração relativamente alta do composto fenólico carvacrol e timol (Figura 15), que possuem ponto de ebulição de 234 a 236°C e 233 °C, respectivamente (NEVES, 2009). Esses componentes promovem a desintegração da parede celular das bactérias, aumentando a permeabilidade da membrana citoplasmática (BURT, 2004).

Figura 15 - Fórmula estrutural do carvacrol (A) e timol (B)



Fonte: Burt (2004)

3.5 PROCESSO DE PRODUÇÃO DAS EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS

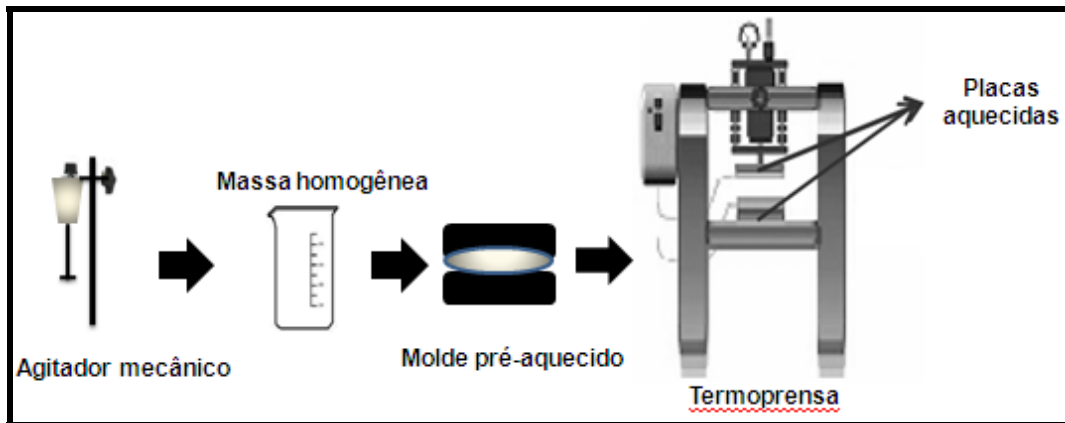
Para a produção de espumas biodegradáveis de amido é necessário que ocorra primeiramente a destruição da sua estrutura cristalina, para originar uma matriz polimérica amorfa (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010b). O processo deve ser fechado, oferecer elevada temperatura e pressão, para que ocorra a gelatinização do amido, evaporação da água, ocasionando a expansão da massa e a secagem do material (SHOGREN et al., 1998a).

O processo de fabricação deve transformar o material sem causar danos ao produto. Para a escolha do processo adequado deve-se considerar as propriedades desejadas, como tamanho e forma dos compósitos, as características da matéria-prima processada, a velocidade e o custo de fabricação (HO et al., 2011).

Os métodos empregados para a obtenção das bandejas também influenciam nas propriedades físicas e no custo do produto. A produção das bandejas biodegradáveis pode ser feita por extrusão (LEE et al., 2009; MALI et al., 2010a; DEBIAGI et al., 2011) e pelo processo de termoformagem (HOFMANN et al., 1998; LAWTON; SHOGREN; TIEFENBACHE, 2004; VERCELHEZE et al., 2012a, 2012b). O método de termoprensagem é bastante simples, rápido e de baixo custo, sendo favorável para amostras planas. Nesse processo, a produção de compósitos de qualidade relaciona-se com o controle das três principais variáveis: pressão, tempo e temperatura (HO et al., 2011).

No processo de termoformagem, as principais etapas são a homogeneização e a termoformagem do material, (Figura 16), que consiste basicamente em preparar uma massa homogênea, a qual será colocada em um molde pré-aquecido com tempo, temperatura, e pressão pré-padronizados (SCHMIDT; LAURINDO, 2010).

Figura 16 - Processo para obtenção de bandejas biodegradáveis

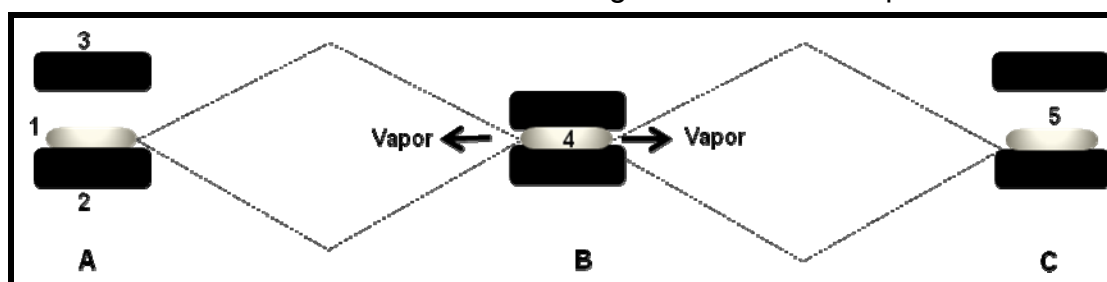


Fonte: adaptado de Schmidt e Laurindo (2010)

De acordo com Hofmann et al. (1998) o processo de termoformagem pode ser descrito em três etapas (Figura 17):

- **Primeira etapa:** a massa de amido e aditivos é colocada em um molde fechado e pré-aquecido para que ocorra a gelatinização do amido;
- **Segunda etapa:** com o aumento da temperatura ocorre a ebulição da água levando a formação de vapor, o qual pode escapar através das aberturas do molde levando a expansão da massa;
- **Terceira etapa:** após a saída do vapor através da exaustão ocorre o ressecamento e o endurecimento da massa. Forma-se um material rígido de estrutura porosa, o qual após certo tempo pode ser retirado do molde.

Figura 17 - Etapas do processo de termoformagem: (A) abertura do molde; (B) fechamento do molde; (C) retirada da bandeja do molde; (1) massa de amido; (2) parte inferior do molde aquecida; (3) parte superior do molde aquecida; (4) liberação do vapor e a expansão da massa; (5) formação do material rígido e de estrutura porosa.



Fonte: Adaptado de Hofmann et al. (1998)

Os componentes presentes na formulação exercem funções distintas e podem influenciar na estabilidade das espumas. Após a remoção da fase líquida o amido forma a estrutura sólida porosa da espuma. A água promove a dispersão dos componentes, além de controlar a viscosidade, proporcionar a gelatinização e a expansão da massa através da saída do vapor. A adição de fibras lignocelulósicas e PVA pode aumentar a resistência, melhorar a estabilidade e a flexibilidade das espumas. Os plastificantes atuam diminuindo as forças intermoleculares formando um material com estrutura mais flexível. Também são utilizados agentes desmoldantes, como estearato de magnésio, para auxiliar o desprendimento da bandeja do molde (ANDERSEN; HODSON, 1999; LIU et al., 2009).

Vários autores vêm desenvolvendo bandejas biodegradáveis com os mais variados constituintes, com o objetivo de melhorar a estabilidade e a resistência das mesmas. Schmidt e Laurindo (2010) produziram espumas de amido de mandioca e fibras de eucalipto (5 a 40 %) pelo processo de termoformagem. Os resultados indicaram que um aumento da concentração de fibra de celulose diminuiu a resistência à tração e a densidade das amostras. A resistência máxima à tração para espumas com 5 % de celulose foi de 3,03 MPa enquanto que o EPS comercial apresentou uma resistência máxima à tração (RMT) de 1,49 MPa. A elongação na ruptura das bandejas obtidas variou ligeiramente com o aumento da concentração de fibra celulósica e foi menor que a do EPS comercial.

Kaisangsri, Kerdchoechuen e Laohakunjit (2012) desenvolveram bandejas biodegradáveis de amido, quitosana (0 – 6 %) e fibras de papel Kraft (0 – 40 %) pelo processo de termoformagem. Os resultados mostraram que a espuma produzida a partir de amido de mandioca com 30 % de fibras de papel kraft e 4 % de quitosana tem propriedades semelhantes a espuma de poliestireno.

Em virtude, da sua simplicidade e sua eficiência o processo de termoformagem foi escolhido neste trabalho para a produção das bandejas biodegradáveis de amido, bagaço de mandioca e álcool polivinílico.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

O amido de mandioca utilizado foi da marca Yoki Alimentos S.A. (Paranavaí-PR). Empregou-se álcool polivinílico (PVA) (Quimibrás Indústria Química, Brasil) como material de reforço, com grau de hidrólise de 86,5 a 89,5 % e massa molar de 72.000 g/mol. Para a produção das embalagens ativas utilizou-se óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*), (Fornecido pela Ferquima, Origem: Moldávia) e óleo essencial de cravo (*Eugenia caryophyllata*) (Fornecido pela Ferquima, Origem: Indonésia).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Cronograma do Trabalho

Esse trabalho foi dividido em 4 etapas, como demonstrado no cronograma a seguir:

- **Primeira etapa:** extração e caracterização do bagaço de mandioca;
- **Segunda etapa:** produção e caracterização de bandejas contendo amido e diferentes teores de bagaço de mandioca. Seleção da melhor formulação para a próxima etapa com base nas propriedades físico-química das amostras;
- **Terceira etapa:** produção e caracterização de bandejas com a incorporação de diferentes concentrações de álcool polivinílico à formulação selecionada na etapa anterior. Seleção da melhor formulação para a próxima etapa com base nas suas nas propriedades físico-química das amostras;
- **Quarta etapa:** estudo do efeito antimicrobiano dos OEs de cravo e orégano, incorporação destes OEs à formulação selecionada na etapa anterior e avaliação do seu efeito antimicrobiano quando inseridos nas bandejas. Seleção da formulação com melhor ação antimicrobiana e caracterização quanto às suas propriedades mecânicas, capacidade de absorção e isoterma de sorção de água.

4.2.2 PRIMEIRA ETAPA: Extração e Caracterização do Bagaço de Mandioca

4.2.2.1 Extração do Bagaço de Mandioca

Para a extração do bagaço de mandioca utilizou-se 200 g de mandiocas descascadas (obtidas de produtores da região de Londrina-PR), as quais foram trituradas em liquidificador industrial (Vithory, Brasil), na presença de 1 litro de água, durante 3 minutos. Em seguida, lavou-se a massa de mandioca com 2 litros de água, com o auxílio de um tamis de malha 100 mesh (0,149 mm) foi realizada a separação do amido e do bagaço, ficando este retido no tamis e o amido lixiviado junto ao sobrenadante líquido. Posteriormente, o bagaço foi seco em estufa de circulação de ar (Marconi, Brasil) a 50 °C por 24 h e moído em moinho de bancada (IKA-A 11 Basic Mill, Brasil). Para uniformidade do material, o resíduo seco e moído foi submetido a tamis de malha 45 mesh (0,35 mm). Este procedimento foi repetido até que se obtivesse um lote de bagaço em quantidade suficiente para a realização deste trabalho.

4.2.2.2 Caracterização do Bagaço de Mandioca

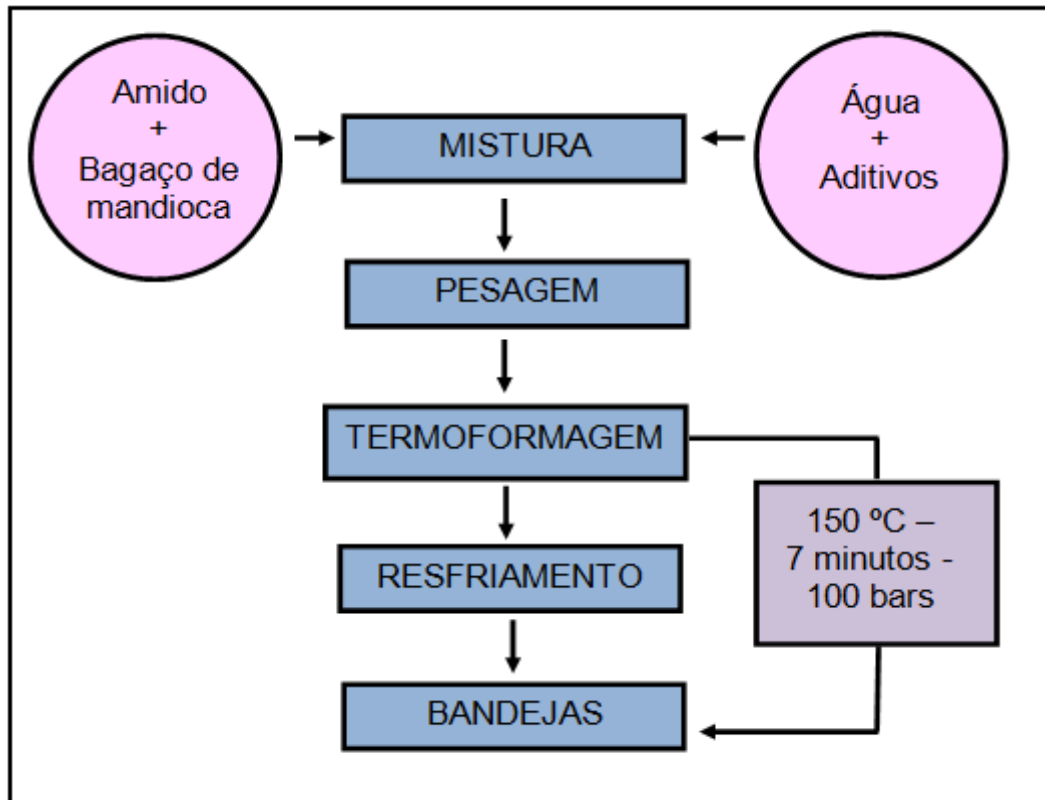
O bagaço de mandioca foi caracterizado quanto aos teores de umidade, proteínas, lipídios, cinzas, fibra alimentar total, carboidratos (por diferença), fibra alimentar solúvel e fibra alimentar insolúvel. Todas as análises foram realizadas em triplicatas, segundo métodos da AOAC (2003), pelo Laboratório de Análise de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina. Também foi realizada microscopia eletrônica de varredura de acordo com metodologia descrita no item 4.2.7.8.

4.2.3 SEGUNDA ETAPA: Desenvolvimento e Produção das Bandejas Biodegradáveis de Amido e Bagaço de Mandioca

Para a obtenção das bandejas, empregou-se o processo de termoformagem. Condições de processo tais como: componentes das formulações, tempo, temperatura, pressão e quantidade de massa colocada no molde foram determinados com base em dados da literatura (VERCHELHEZE et al., 2012a). Na

Figura 18 encontra-se ilustrado o fluxograma para a obtenção das embalagens biodegradáveis de amido e bagaço de mandioca pelo processo de termoformagem.

Figura 18 - Fluxograma do processo de obtenção das embalagens biodegradáveis de amido e bagaço de mandioca por termoformagem



As formulações encontram-se descritas na Tabela 6. Uma variável de grande importância para a formação das bandejas diz respeito à quantidade de massa no molde, que foi influenciada pelos componentes das formulações. Para determiná-la foram realizados em ensaios preliminares, sendo que cada quantidade encontra-se descrita na Tabela 6 e corresponde à quantidade de massa necessária para que fossem formadas bandejas completas. Além dos componentes principais foram empregados alguns aditivos (Tabela 7), que desempenharam funções importantes no processo.

Tabela 6 - Composição das formulações utilizadas na segunda etapa e quantidade de massa utilizada na produção das bandejas

Amostras	Amido (g/100g sólidos)	Bagaço de mandioca (g/100g sólidos)	Água (mL/100g sólidos)	Massa de suspensão (g)
Controle	100	-	95	35
F5	95	5	100	35
F10	90	10	110	35
F20	80	20	120	35
F30	70	30	130	37
F100	0	100	210	43

Tabela 7 - Aditivos utilizados nas formulações das bandejas biodegradáveis em ambas as etapas

Aditivos	Quantidade (g/100g sólidos)	Função	Marca
Glicerol	10,0	Plastificante	Quimidrol, Brasil
Goma guar	1,0	Agente estabilizante	Biotec, Brasil
Estearato de magnésio	0,5	Agente desmoldante	La Fórmula, Brasil

Para o preparo das massas primeiramente todos os componentes sólidos foram pesados nas quantidades estabelecidas na Tabela 6 e 7. Em seguida, adicionou-se água e o material foi misturado por 5 minutos com o auxílio de um agitador mecânico (Fisatom, Brasil) a 1500 rpm. Posteriormente, adicionou-se o glicerol e a massa foi homogeneizada por mais 5 minutos em agitador mecânico (Fisatom, Brasil) a 1500 rpm.

Após a homogeneização completa da massa, a mesma foi submetida ao processo de termoformagem, o qual foi realizado em prensa hidráulica (Jomaq, Brasil) com sistema de aquecimento micro-processado. A massa foi inserida na parte inferior do molde de Teflon[®] pré-aquecido (10 x 10 cm), o qual continha guias metálicas de 2 mm de diâmetro para o escape do vapor e expansão da massa. O molde foi fechado e inserido na prensa por 7 minutos, sob temperatura de 150 °C e pressão de 100 bar. No final do processo ocorreu o desprendimento de todo vapor,

solidificação do material e o molde foi retirado da prensa. As bandejas permaneceram em temperatura ambiente até seu resfriamento e foram retiradas do molde manualmente. Em seguida foram condicionadas em estufa incubadora para B.O.D. (Marconi, Brasil) sob umidade relativa (UR) de 58 % e temperatura de 25 °C por 7 dias antes da realização das análises.

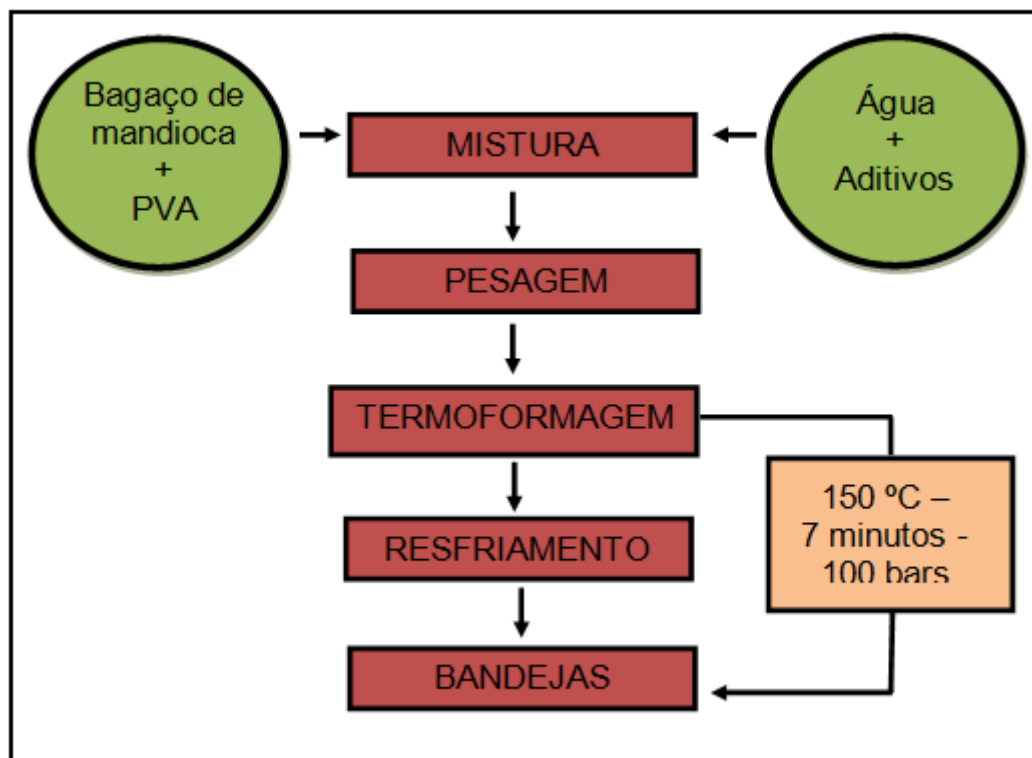
4.2.4 TERCEIRA ETAPA: Desenvolvimento e Produção das Bandejas Biodegradáveis de Bagaço de Mandioca e Álcool Polivinílico

A formulação contendo apenas bagaço de mandioca (F100 – Tabela 6) foi selecionada para ser empregada nesta terceira etapa, com base nas suas propriedades mecânicas. Na Tabela 8 estão apresentadas as formulações utilizadas na produção das bandejas de bagaço de mandioca incorporadas de álcool polivinílico e na Figura 19, encontra-se ilustrado o fluxograma do processo de termoformagem empregado nesta etapa. Todo o procedimento realizado e os aditivos empregados (Tabela 7) foram iguais aos descritos na etapa anterior.

Tabela 8 - Composição das formulações utilizadas na terceira etapa e quantidade de massa utilizada na produção das bandejas

Amostras	Bagaço de mandioca (g/100g sólidos)	PVA (g/100g sólidos)	Água (mL/100g sólidos)	Massa de suspensão (g)
PVA 2,5%	97,5	2,5	210	40
PVA 5,0%	95,0	5,0	210	40
PVA 7,5%	92,5	7,5	210	40
PVA 10,0%	90,0	10,0	210	40

Figura 19 - Fluxograma do processo de obtenção das embalagens biodegradáveis de bagaço de mandioca/PVA por termoformagem



4.2.5 QUARTA ETAPA: Incorporação dos Óleos Essenciais nas Bandejas

4.2.5.1 Avaliação da capacidade antimicrobiana dos OEs

4.2.5.1.1 Seleção e cultivo dos microrganismos

Os microrganismos testados foram selecionados por serem importantes causadores de deterioração de produtos alimentícios, por causarem DTAs ou por estarem presentes em ambientes hospitalares, sendo eles: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Salmonella entérica* subsp. *entérica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) ATCC 14028, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Enterococcus faecalis* ATCC 6569, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 90028, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp.* e *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) N315, todos pertencentes à coleção de culturas do Laboratório de Bacteriologia Básica e Aplicada da Universidade Estadual de Londrina.

Primeiramente, as bactérias foram cultivadas em caldo TSB (Tryptic Soy Broth) (Himedia, Índia). Utilizou-se 3 mL do caldo e 50 µL de cada microrganismo. Os tubos foram incubados a $36,5 \pm 0,5$ °C com agitação a 160 rpm, por 18 – 24 h. Posteriormente, foram semeados em placas contendo ágar nutriente (Himedia, Índia) e incubados em B.O.D. (Fanem, Brasil) a $36,5 \pm 0,5$ °C, por 18 - 24 h. Os inóculos foram então padronizados com aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹, utilizando a escala McFarland (MCFARLAND, 1907).

Os fungos (*Aspergillus niger* e *Penicillium sp.*) foram cultivados em tubos inclinados com ágar Sabouraud (Neogen, Estados Unidos) por 5 dias em incubadora tipo B.O.D. (Fanem, Brasil), a $27 \pm 0,5$ °C. Os inóculos foram então quantificados em câmara de Neubauer e padronizados com aproximadamente 10^6 esporos mL⁻¹. A levedura (*Candida albicans* ATCC 90028) foi cultivada em tubos inclinados com ágar Sabouraud (Neogen, Estados Unidos) por 18 – 24 h em incubadora tipo B.O.D. (Fanem, Brasil), a $27 \pm 0,5$ °C. Em seguida, o inóculo foi padronizado com aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹, utilizando a escala McFarland (MCFARLAND, 1907).

4.2.5.1.2 Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo e orégano

Para a análise da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo e de orégano utilizou-se a metodologia de disco-difusão descrita por Washington (1981) com algumas modificações. Em virtude dos óleos essenciais serem compostos por uma série de substâncias voláteis e, como no processo termoformagem emprega-se alta temperatura (150 °C) e pressão (100 bar), foi avaliada a atividade antimicrobiana dos dois OEs *in natura* e após processamento térmico (aquecimento a 150 °C em forno Pasteur por 20 minutos). Os volumes testados de cada OE (*in natura* e com aquecimento) foram pipetados em discos estéreis nos volumes de 1, 2, 5 e 10 µL. Em seguida, esse material foi seco por 1 h em uma câmara de fluxo laminar.

As bactérias foram cultivadas e padronizadas conforme descrito no item 4.2.5.1.1 e semeadas por espalhamento em placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton (Himedia, Índia). Os discos foram aplicados com auxílio de uma pinça e colocados a uma distância de 2 cm da borda da placa e a 3 cm um do outro. Após

aplicação, foram pressionados levemente contra a superfície do meio, para melhor aderência. Posteriormente, incubaram-se as placas em B.O.D. (Fanem, Brasil) a $36,5 \pm 0,5$ °C, por 18 - 24 h.

Os fungos foram cultivados e padronizados conforme descrito no item 4.2.5.1.1 e semeados por espalhamento em superfície em placas contendo ágar Sabouraud (Neogen, Estados Unidos). Os discos foram aplicados com auxílio de uma pinça e colocados a uma distância de 2 cm da borda da placa e a 3 cm um do outro, sendo pressionados levemente contra a superfície do meio, para melhor aderência. Posteriormente, incubaram-se as placas em B.O.D. (Fanem, Brasil) a $27 \pm 0,5$ °C, por 5 dias. Para a levedura *Candida albicans* as placas com os discos foram incubadas por 18 - 24 h em B.O.D. (Fanem, Brasil) a $27 \pm 0,5$ °C.

Os halos de inibição formados foram determinados em milímetros com o auxílio de uma régua, para avaliar a capacidade de inibição dos óleos essenciais de cravo e orégano, *in natura* e com aquecimento.

4.2.5.1.3 Determinação da concentração inibitória mínima

De acordo com Dong et al. (2012), a MIC (concentração inibitória mínima) é definida como a menor concentração de um agente microbiano que inibe completamente o crescimento bacteriano, possuindo um aumento de densidade óptica ≤ 0.05 sob condição padrão. A concentração inibitória mínima foi determinada para os OEs de cravo e o de orégano *in natura* e com aquecimento frente aos microrganismos listados no item 4.2.5.1.1, com exceção da *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 em virtude do seu baixo halo de inibição para ambos os OEs e processos.

Primeiramente, os microrganismos (*S. aureus* ATCC 6538, MRSA N315, *S. Typhimurium* ATCC 14028, *B. cereus*, *E. coli* ATCC 8739, *S. mutans*, *E. faecalis*, *C. albicans* ATCC 90028, *A. niger* e *Penicillium sp.*) foram cultivados e padronizados de acordo com o item 4.2.5.1.1. Após a padronização de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹) as bactérias foram diluídas ($1,5 \times 10^6$ UFC/mL) em caldo Muller-Hinton (Difco, Estados Unidos). Em virtude da alta volatilidade apresentada pelo óleo essencial de orégano a MIC foi determinada por duas metodologias distintas:

- Para o óleo essencial de cravo *in natura* e com aquecimento utilizou-se a técnica da microdiluição descrita por Eloff (1998). Foram utilizadas placas de 96 poços (TPP, Europa), nas quais se inseriu o caldo Mueller-Hinton (Difco, Estados Unidos) para as bactérias, ou RPMI (Sigma, Estados Unidos) para os fungos e a levedura, juntamente com os microrganismos citados acima, e o óleo essencial de cravo *in natura* ou com aquecimento. Em seguida, as placas foram incubadas em B.O.D. (Fanem, Brasil) a $36,5 \pm 0,5$ °C, por 18 - 24h (para as bactérias e a levedura) e a $27 \pm 0,5$ °C, por 5 dias (para os fungos).
- Para o óleo essencial de orégano *in natura* e com aquecimento empregou-se a técnica apresentada por Michelin et al. (2005) com algumas modificações. Utilizou-se microtubos, nos quais se inseriu o caldo Mueller-Hinton (Difco, Estados Unidos) para as bactérias, ou RPMI (Sigma, Estados Unidos) para os fungos e a levedura, juntamente com os microrganismos citados acima, e o óleo essencial de orégano *in natura* ou com aquecimento. Em seguida, os microtubos foram incubados em B.O.D. (Fanem, Brasil) a $36,5 \pm 0,5$ °C, por 18 - 24h (para as bactérias e a levedura) e a $27 \pm 0,5$ °C, por 5 dias (para os fungos).

Em ambas as metodologias, os resultados foram mensurados visualmente, de acordo com a turbidez apresentada com o crescimento do microrganismo.

4.2.5.2 Incorporação dos OEs nas bandejas

A bandeja com melhor propriedade mecânica e menor capacidade de absorção produzida a partir do bagaço de mandioca e PVA (PVA 2,5%) foi escolhida para a incorporação dos óleos essenciais. Foram adicionadas diferentes quantidades de cada óleo essencial (orégano e cravo) separadamente (Tabela 9), empregando dois processos distintos de incorporação às bandejas, os quais tinham como objetivo preservar a atividade antimicrobiana dos OEs, sendo eles:

- **Incorporação direta:** nesse método o óleo essencial (cravo ou orégano) foi adicionado diretamente na massa da bandeja, no mesmo momento que o

glicerol. Em seguida, a massa foi homogeneizada por 10 minutos com o auxílio do agitador mecânico (Fisatom, modelo 715) e submetida ao processo de termoformagem com as mesmas condições descritas no item 4.2.3.

- **Incorporação por pincelamento:** nesse método o óleo essencial (cravo ou orégano) foi incorporado às bandejas prontas com um auxílio de um pincel. Em seguida, as bandejas foram por secas à temperatura ambiente por 20 minutos.

Tabela 9 - Quantidades de óleo essencial (cravo e orégano) que foram incorporadas nas embalagens biodegradáveis

Óleo essencial	Processos	
	Incorporação direta (g/100g sólidos)	Pincelamento (%)
Cravo	6,5	2,5
	8,5	5,0
	10	7,5
Orégano	6,5	2,5
	8,5	5,0
	10	7,5

4.2.5.3 Avaliação da Atividade Antimicrobiana das Bandejas Biodegradáveis após a Incorporação dos OEs

Após a incorporação dos OEs, conforme descrito no item 4.2.5.2, foram avaliadas as propriedades antimicrobianas das bandejas conforme a metodologia proposta por Pelissari et al. (2009) com algumas modificações. As bandejas foram cortadas em forma de discos com o auxílio de um cortador e esterilizadas em luz ultravioleta por 20 minutos. Os microrganismos testados foram: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Salmonella entérica* subsp. *entérica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) ATCC 14028, MRSA N315, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Enterococcus faecalis* ATCC 6569, *Candida albicans* ATCC 90028, *Aspergillus niger* e *Penicillium sp.*

As bactérias foram cultivadas e padronizadas conforme descrito no item 4.2.5.1.1 e posteriormente semeadas por espalhamento em placas contendo ágar Mueller-Hinton (Himedia, Índia). Os discos foram aplicados com auxílio de uma

pinça e colocados a uma distância de 2 cm da borda da placa e a 3 cm um do outro. Após aplicação, foram pressionados levemente contra a superfície do meio, para melhor aderência. Posteriormente, incubaram-se as placas em B.O.D. (Fanem, Brasil) a $36,5 \pm 0,5$ °C, por 18 - 24 h.

Os fungos (*Aspergillus niger* e *Penicillium sp.*) foram cultivados e padronizados conforme descrito no item 4.2.5.1.1 e semeados por espalhamento em placas contendo ágar Sabouraud (Neogen, Estados Unidos). Os discos das bandejas foram aplicados com auxílio de uma pinça e colocados a uma distância de 2 cm da borda da placa e a 3 cm um do outro. Posteriormente, incubaram-se as placas em B.O.D. (Fanem, Brasil) a $27 \pm 0,5$ °C, por 5 dias. Para a levedura *Candida albicans* ATCC 90028, as placas foram incubadas por 18 - 24 h em B.O.D. (Fanem, Brasil) a $27 \pm 0,5$ °C.

Os halos de inibição formados foram mensurados em milímetros com o auxílio de uma régua, para avaliar a capacidade de inibição das embalagens biodegradáveis ativas.

4.2.5.4 Teste de estabilidade da atividade antimicrobiana

Para a análise de estabilidade das embalagens biodegradáveis ativas utilizou-se a metodologia de disco-difusão relatada anteriormente com algumas alterações. A bandeja foi cortada em forma de discos com o auxílio de um cortador e esterilizada em luz ultravioleta por 20 minutos.

Os microrganismos utilizados foram *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Escherichia coli* ATCC 8739, os quais foram cultivados e padronizados conforme descrito no item 4.2.5.1.1 e posteriormente semeados por espalhamento em placas contendo ágar Mueller-Hinton (Himedia, Índia). Os discos foram aplicados com auxílio de uma pinça e colocados a uma distância de 2 cm da borda da placa e a 3 cm um do outro. Após aplicação, foram pressionados levemente contra a superfície do meio, para melhor aderência.

Posteriormente, incubaram-se as placas em B.O.D. (Fanem, Brasil) a $36,5 \pm 0,5$ °C, por 18 - 24 h. Os halos de inibição formados foram mensurados em milímetros com o auxílio de uma régua, para avaliar a capacidade de inibição das embalagens biodegradáveis ativas. A análise de estabilidade do produto foi feita por 15 dias em um intervalo de 3 dias.

4.2.6 Condicionamento

As bandejas biodegradáveis foram condicionadas sob umidade relativa (UR) de 58% por 7 dias em estufa incubadora tipo B.O.D. (Marconi, Brasil) contendo solução saturada de brometo de sódio à 25 °C antes de serem caracterizadas.

4.2.7 Caracterização Física Química das Bandejas Produzidas na Segunda, Terceira e Quarta Etapas

Para as bandejas obtidas na segunda e terceira etapas a partir das formulações contendo amido/bagaço de mandioca e bagaço de mandioca/PVA, respectivamente, foram realizadas todas as análises descritas abaixo. As bandejas incorporadas com os OEs de cravo e orégano que tiveram a formulação com a melhor atividade antimicrobiana foram caracterizadas quanto às propriedades mecânicas, capacidade de absorção e isothermas de sorção de água.

4.2.7.1 Rendimento de Produção

Para determinar o rendimento da produção utilizou-se a metodologia proposta por Carr (2007) com algumas modificações. Foram produzidas bandejas a cada 7 minutos por um período de 2 h e 20 min. O rendimento de produção de cada formulação foi calculado pela equação (2):

$$\text{Rendimento de produção (\%)} = \frac{\text{bandejas completas}}{\text{bandejas totais}} \times 100 \quad (2)$$

4.2.7.2 Análise Subjetiva

No teste de avaliação subjetiva utilizou-se a metodologia proposta por Rigo (2006) com algumas modificações. Foram utilizadas 20 bandejas, que foram classificadas com um padrão definido como: ● ● ● ● excelente ● ● ● bom e ● ● deficiente, sendo observadas as seguintes características:

- **Continuidade:** ausência de rupturas, fraturas, rachaduras e furos;
- **Homogeneidade:** ausência de zonas com cores diferentes;
- **Manuseabilidade:** ausência de risco de quebra no manuseio.

4.2.7.3 Avaliação da cor das bandejas

As medidas de cor foram realizadas diretamente nas bandejas em cinco diferentes pontos, utilizando-se um colorímetro (Minolta® CR 400, Japão) com iluminante D65 e ângulo de visão de 10°, de acordo com a metodologia proposta por Mali et al. (2010a). Os valores de L* (luminosidade), a* (componente vermelho-verde) e b* (componente amarelo-azul) foram expressos no sistema de cor CIELab. As análises foram realizadas em quintuplicatas para cada amostra, e o valor final para cada item (L*, a*, b*) foi estipulado através de médias aritméticas das replicatas de cada ensaio.

4.2.7.4 Espessura e densidade

A espessura das bandejas foi determinada utilizando-se um micrômetro manual de resolução 1 µm (Mitutoyo, Japão). Foram analisadas 8 amostras (25 x 50 mm) de cada formulação e a espessura final calculada como média aritmética entre essas medidas.

A densidade foi determinada através da relação entre peso (g) por volume (cm³) dos materiais, obtendo-se o resultado em g/cm³ (SHOGREN et al., 1998a). Foram analisadas 8 amostras (25 x 50 mm) de cada formulação.

4.2.7.5 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas de tração foram determinadas utilizando-se um texturômetro Brookfield modelo CT3 (Estados Unidos), através de metodologia proposta por Vercelheze et al. (2012a) com algumas modificações. Antes da realização dos ensaios mecânicos, as amostras foram cortadas (80 x 25 mm) e os corpos de prova foram condicionados em uma estufa incubadora tipo B.O.D. (Marconi MA 415), por 7 dias, sob temperatura de 25 °C e diferentes umidades relativas (33 %, 58 % e 90 %).

Foram utilizados 6 corpos de prova de cada formulação, os quais foram fixados nas garras de tração do equipamento a uma distância de 80 mm e velocidade de 2 mm/s. Os valores de resistência máxima a tração (RMT) e alongação (%) foram calculados a partir das curvas de força *versus* deformação obtidas.

4.2.7.6 Microscopia Eletrônica de Varredura

As imagens da superfície e da fratura das bandejas foram avaliadas utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV) FEI QUANTA 200 (EUA), e foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica da Universidade Estadual de Londrina. Primeiramente as amostras foram secas em estufa de circulação de ar (Marconi, Brasil) a 105 °C e mantidas em dessecador com CaCl₂ por 7 dias. Após esse período, as amostras foram fraturadas no sentido longitudinal e perpendicular com nitrogênio líquido e revestidas com uma fina camada de ouro. As imagens foram realizadas empregando-se uma voltagem de aceleração de 20 kV.

4.2.7.7 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

Para a análise por FT-IR as amostras foram secas em estufa com circulação de ar (Marconi, Brasil) a 105 °C por 4 horas. Em seguida foram pulverizadas, passadas em um tamis de 100 mesh e mantidas em dessecador contendo CaCl₂ por 7 dias. Após esse período, as amostras foram adicionadas de KBr (brometo de potássio) e submetidas a alta pressão para a produção de pastilhas. Realizaram-se os espectros de FT-IR em espectrofotômetro FT-IR Bomem FT-100. As análises foram realizadas na região do infravermelho médio com transformada de Fourier abrangendo número de onda de 4000 a 400 cm⁻¹, com resolução espectral de 4 cm⁻¹ e 16 varreduras.

4.2.7.8 Difração de raios-X

Para a obtenção dos difratogramas utilizou-se um difratômetro de Raios-X (X'Pert-Philips) da Universidade Estadual de Londrina. As condições de análise foram: (I) voltagem e corrente: 40 kV e 40 mA, respectivamente; (II) faixa de

varredura: 2θ de 2 a 60° (III) passo: $0,1^\circ$ e (IV) velocidade $1^\circ/\text{min}$, dotado de monocromador de feixe secundário de grafite.

4.2.7.9 Capacidade de absorção de água

Para determinar a capacidade de absorção de água (CAA) empregou-se o método de Cobb, norma ABNT NBR NM ISO 535 (1999). As amostras (25 x 50 mm) foram pesadas e submersas em 100 mL de água destilada, sob temperatura ambiente, durante diferentes tempos (1, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos). Logo após, retirou-se o excesso de água com papel toalha e as amostras foram pesadas em balança analítica novamente para avaliar o incremento da massa. Realizaram-se cinco ensaios para o intervalo de 1 minuto, e para os demais tempos a análise foi realizada em triplicata. A capacidade de absorção de água foi calculada como a porcentagem de água absorvida pela amostra.

4.2.7.10 Isotermas de sorção de água

As isotermas de sorção foram determinadas, em triplicata, de acordo com procedimentos descritos por Spiess e Wolf (1983), com algumas modificações. Os corpos de prova (2,0 x 2,0 cm) foram secos em estufa com circulação de ar (Marconi MA 035), por 5 h e em seguida colocadas em dessecadores por 7 dias contendo o dessecante CaCl_2 (cloreto de cálcio anidro).

Posteriormente, as amostras foram pesadas em balança analítica e colocadas em dessecadores contendo diferentes soluções saturadas de sais (Tabela 10), que varreram a faixa de umidade relativa (UR) de armazenamento entre 11 e 90 %, sob temperatura de 25°C , por 7 dias. Determinou-se a umidade de equilíbrio das amostras através de secagem em estufa a 105°C (AOAC, 2005). As isotermas foram obtidas pela plotagem dos dados de UR de armazenamento *versus* a umidade de equilíbrio das amostras.

Tabela 10 - Umidade Relativa fornecida pelas soluções saturadas de sais empregadas para determinação de isotermas de absorção

Sal	Umidade Relativa (% - 25°C)
Cloreto de lítio	11
Carbonato de potássio	33
Brometo de sódio	58
Cloreto de sódio	75
Cloreto de bário	90

4.2.8 Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância (ANOVA) e teste de Tukey de comparação de médias ($p \leq 0,05$) empregando-se o software Statistica 7.0 (Statsoft, Oklahoma, USA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PRIMEIRA ETAPA: CARACTERIZAÇÃO DO BAGAÇO DE MANDIOCA

Após o a sua extração e moagem, o bagaço apresentou-se como um pó fino, inodoro e de coloração levemente amarelada como demonstrado na Figura 20. A umidade do bagaço extraído neste trabalho foi de $2,89 \pm 1,45$ %. De acordo a Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca (ABAM, 2011), o processamento de 200 toneladas de mandioca gera, aproximadamente, 183 toneladas de bagaço úmido, do qual 15% correspondem ao resíduo seco e 85 % à água (LEONEL; CEREDA, 2000). A composição centesimal do bagaço de mandioca extraído, seco e empregado neste trabalho encontra-se descrita na Tabela 11, que traz também para fins de comparação a composição do bagaço de mandioca descrita na literatura por outros autores.

Figura 20 - Aparência do bagaço de mandioca obtido após a extração laboratorial



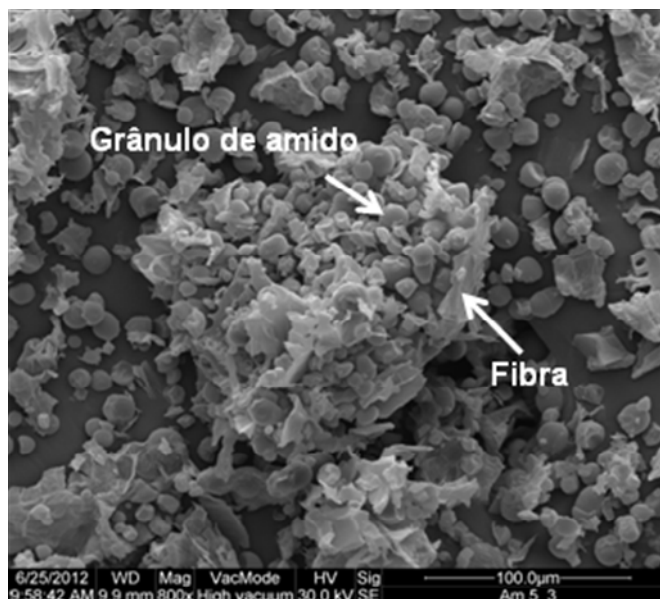
Tabela 11 - Composição centesimal do bagaço de mandioca (g/100g de bagaço seco) empregado neste trabalho e relatada por outros autores

Composição	Amostra	Cereda (1994)	Socol (1994)	Sterz (1997)	Vandenberghe (1998)
Carboidratos totais	88,39	63,85	40,50	63,40	63,00
Fibra alimentar total	10,79	14,88	50,55	22,20	21,10
Lipídios	0,30	0,83	1,06	0,53	0,54
Proteína total	0,12	0,32	0,32	1,60	1,61
Cinzas	0,38	0,66	1,10	1,50	1,44

Os resultados da composição centesimal mostraram que o bagaço de mandioca obtido apresentou teor de fibra alimentar total de 10,79 g/100 g de bagaço (Tabela 11). O valor obtido está abaixo dos relatados por outros autores como pode ser verificado na Tabela 11, mas próximo do relatado por Cereda (1994). Neste trabalho, optou-se pela extração do bagaço no laboratório, obtendo-se um lote uniforme para ser empregado do início ao fim dos experimentos, já que havia muita variação no resíduo obtido das fecularias, o que impossibilitaria as comparações ao longo do trabalho. Segundo Leonel, Cereda (2000) e Pandey et al. (2000), a variação na composição do bagaço de mandioca pode estar vinculada aos diferentes processos tecnológicos empregados para obtenção do amido, assim como, com a variedade da mandioca.

A análise de microscopia eletrônica de varredura (Figura 21) do bagaço de mandioca confirmou o resultado da sua composição centesimal, mostrando a fração fibrosa rodeada de grânulos de amido

Figura 21 - Microscopia eletrônica de varredura do bagaço de mandioca com aumento de 800 vezes



As fibras presentes no bagaço de mandioca podem oferecer melhorias nas propriedades mecânicas, vantagens para o processamento, baixa densidade e maior valor agregado as embalagens biodegradáveis (CARR et al., 2006). Por ser oriundo de fonte natural renovável, o bagaço de mandioca só agrega benefícios à produção dos compósitos, permitindo a redução do impacto ambiental causado pelo descarte de materiais derivados do petróleo (MATSUI, 2002), assim como, a redução do impacto ambiental causado pelo seu próprio descarte.

5.2 SEGUNDA ETAPA: Caracterização das Bandejas Biodegradáveis de Amido e Bagaço de Mandioca

5.2.1 Rendimento de Produção

Para o cálculo do rendimento de produção foram consideradas como bandejas completas aquelas aptas para o uso, ou seja, com ausência de furos, ranhuras e fraturas. Na Tabela 12 encontram-se os resultados do teste rendimento de produção para as bandejas produzidas com a mistura de amido e bagaço de mandioca.

Tabela 12 - Resultado do rendimento de produção para bandejas de amido e bagaço de mandioca

Amostras	Bandejas totais	Bandejas completas	Bandejas incompletas	Rendimento de produção (%)
Controle	18	16	2	90,0
F5	18	16	2	90,0
F10	17	16	1	95,0
F20	17	16	1	95,0
F30	18	18	0	100,0
F100	18	16	2	90,0

O rendimento de produção das bandejas de amido e bagaço de mandioca (Tabela 12) variou de 90 a 100 %. As formulações Controle, F5 e F100 apresentaram o menor rendimento de produção. Entretanto, as formulações F10, F20 e F30 se mostraram como as mais estáveis, com rendimento de produção de 95, 95 e 100%, respectivamente. Notou-se que as menores porcentagens de produção aconteceram quando foram empregados os teores mínimos e máximos do bagaço.

Alguns autores relataram que o rendimento da produção de embalagens biodegradáveis obtidas por termoformagem pode estar relacionada com alguns fatores:

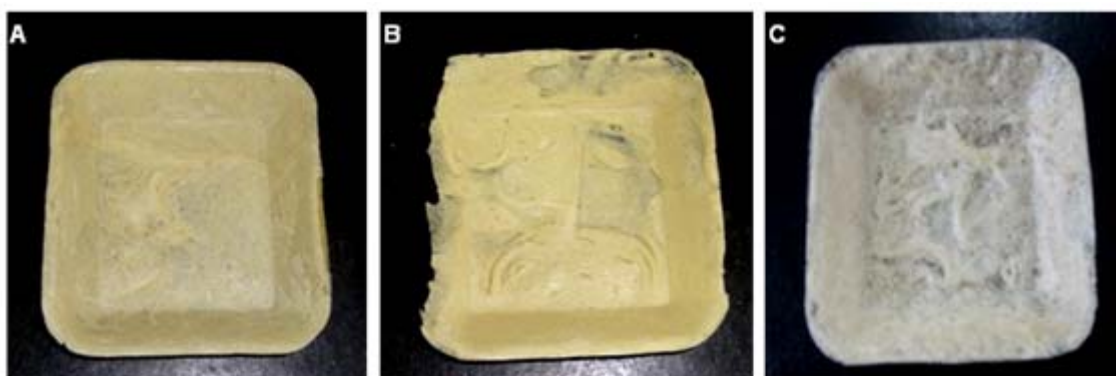
- Hofmann et al. (1998) relataram que a formação de espumas completas depende das condições de processo aplicadas como: temperatura, tempo e pressão;
- Lawton, Shogren e Tiefenbacher (1999) relataram que o rendimento de produção pode estar relacionado com a quantidade de massa necessária para se formar uma bandeja completa. Nesse caso, se a massa for suficiente uma bandeja completa é formada, ao contrário, não se forma a bandeja completa. Por outro lado, quando utilizado grande volume de massa, acaba ocorrendo o extravasamento da mesma pelas saídas de vapor ocasionando o desperdício dos componentes. Além de resultar em bandejas com rachaduras, porosas e quebradiças;

- Cinelli et al. (2006) observaram que o rendimento de produção é influenciado principalmente pela viscosidade da massa, a qual é determinada pelos componentes da formulação;
- Salgado et al. (2008) relataram que a formação de espumas completas se dá principalmente em virtude da homogeneidade da massa.

A partir dos relatos e considerações acima pode-se dizer que, a consistência da massa influenciou diretamente no rendimento de produção das formulações, uma vez que todas as bandejas foram produzidas com as mesmas condições de processo (tempo, temperatura e pressão) e tempo de mistura.

A quantidade de massa da suspensão de amido/bagaço colocada no molde para a obtenção das bandejas variou de 35 a 43 g (Tabela 6). Nas bandejas com as maiores proporções de fibra utilizou-se maior quantidade de água e de massa. Isso porque a fibra tende a aumentar a viscosidade e diminuir a expansão da massa, requerendo, portanto uma maior quantidade de massa para produzir uma bandeja inteira (CINELLI et al., 2006). A quantidade da suspensão de amido para cada formulação foi determinada em ensaios preliminares para assim dar origem a bandejas completas (Figura 22 A) e evitar bandejas incompletas (Figura 22 B) e/ou porosas e quebradiças (Figura 22 C).

Figura 22 - Influência da quantidade de massa da suspensão de amido/bagaço de mandioca para a formação das bandejas. (A) bandeja completa; (B) bandeja incompleta (menor quantidade de massa) e (C) bandeja porosa (maior quantidade de massa)



O teor de água dessas amostras variou de 95 a 210 mL (Tabela 6). Observou-se que as bandejas com maiores proporções de fibra também requereram mais água em virtude da sua alta viscosidade. A quantidade de água influencia diretamente no processo, já que é a saída do vapor que proporciona a expansão da espuma. Ou seja, baixa quantidade de água pode prejudicar a expansão do material. No entanto, quando são empregadas elevadas proporções de água pode não haver componentes sólidos suficientes para formar a estrutura interna da bandeja (LAWTON; SHOGREN; TIEFENBACHER, 1999).

Assim, sendo para a formação de bandejas o ideal é que a massa seja fluída o suficiente para expandir e apresente viscosidade necessária para prender em sua estrutura o vapor de água gerado (ZITNY et al., 2002).

5.2.2 Análise Subjetiva

Para a análise subjetiva, as bandejas foram classificadas quanto à continuidade (ausência de rupturas, fraturas, rachaduras e furos), homogeneidade (ausência de zonas com cores diferentes) e manuseabilidade (ausência de risco de quebra no manuseio). Na Tabela 13 encontram-se os resultados da análise subjetiva das bandejas produzidas com amido e bagaço de mandioca.

Tabela 13 - Análise subjetiva das bandejas de amido e bagaço de mandioca

Amostras	Continuidade	Homogeneidade	Manuseabilidade
Controle	●●	●●●	●
F5	●●	●●●	●
F10	●●●	●●●	●●
F20	●●●	●●●	●●
F30	●●●	●●●	●●
F100	●●	●●●	●

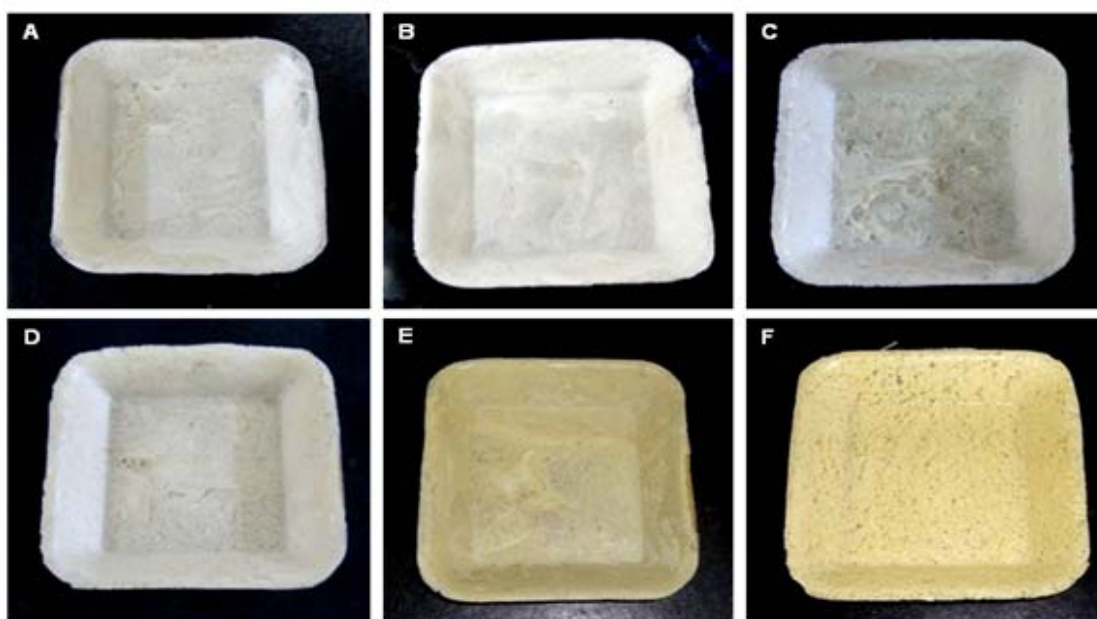
Legenda: ●●● Excelente ●● Bom ● Deficiente.

Em geral, todas as bandejas apresentaram boa aparência e aptas para serem manuseadas, como pode ser também confirmado na Figura 23. As amostras Controle, F5 e F100 demonstraram-se deficientes quanto à manuseabilidade, foi observado também à presença de alguns furos e rachaduras

em suas superfícies. Os resultados da análise subjetiva encontram-se coerentes com o rendimento da produção (Tabela 12), no qual as amostras (Controle, F5 e F100) apresentaram os menores valores. De fato, as bandejas de amido apresentam-se quebradiças e com baixa capacidade de deformação, por isso necessitam de alguns aditivos, como as fibras e os polímeros sintéticos como o PVA (SALGADO et al., 2008; YOON; PARK; BYUN, 2012).

Todas as amostras apresentaram também excelente homogeneidade (Figura 23), ou seja, não havia cores diferentes na mesma bandeja, evidenciando que o processo de mistura foi eficiente e gerou uma pasta homogênea. De acordo Peters (1998), para que haja a formação dos compósitos poliméricos é necessário que a fase dispersa esteja distribuída uniformemente na matriz. O nível de adesão entre a fase dispersa e a matriz polimérica pode afetar a aparência e as propriedades mecânicas das embalagens biodegradáveis.

Figura 23 - Aparência das bandejas de amido e bagaço de mandioca: (A) Controle; (B) F5; (C) F10; (D) F20; (E) F30 e (F) F100



5.2.3 Avaliação da Cor

A cor é um dos principais aspectos das embalagens biodegradáveis destinadas para os alimentos que pode influenciar na sua aceitação pelo consumidor. Os diferentes componentes presentes na sua formulação podem alterar

a sua coloração (BEGONYA et al., 2010). A cor dos compósitos foi determinada pelos parâmetros L^* , a^* e b^* e encontra-se na Tabela 14.

Tabela 14 - Parâmetros de cor L^* , a^* e b^* das bandejas de amido e bagaço de mandioca

Amostras	Parâmetros		
	L^*	a^*	b^*
Controle	72,22 ± 1,22 a	1,88 ± 0,60 a	6,62 ± 0,99 b
F5	70,43 ± 1,77 a	1,15 ± 0,17 a	8,14 ± 0,94 b
F10	67,95 ± 1,19 a,b	0,99 ± 0,52 a	7,73 ± b 2,00 b
F20	67,10 ± 3,57 b	1,53 ± 0,26 a	12,77 ± 0,44 a
F30	65,82 ± 2,61 b	1,69 ± 0,42 a	12,57 ± 1,88 a
F100	65,23 ± 3,03 b	1,64 ± 0,62 a	14,62 ± a 1,99 a

*Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significa diferença estatística (Teste Tukey $p \leq 0,05$).

De acordo com os resultados (Tabela 14), a luminosidade dos compósitos (L^*), parâmetro relacionado à sua brancura, foi maior nas formulações com as maiores proporções de amido e menores concentrações de bagaço de mandioca, como no Controle ($L = 72,22$) e F5 ($L = 70,43$). O aumento no teor de fibras diminuiu a luminosidade das bandejas, como foi observado nas amostras F20 ($L = 67,10$), F30 ($L = 65,82$) e F100 ($L = 65,23$). Outros autores, também relataram uma diminuição da luminosidade em espumas com maiores proporções de fibras (DEBIAGI et al., 2011; KAISANGSRI; KERDCHOECHUEN; LAOHAKUNJIT, 2012). Segundo Famá, Gerschenson e Goyanes (2009), as fibras tendem a diminuir a luminosidade dos compósitos biodegradáveis.

Para o parâmetro a^* , que quando apresenta valores positivos (+) e aumenta indica uma tendência de cor vermelha para o produto, não houve diferença estatística ($p \geq 0,05$) entre as amostras. Mali et al. (2010a) ao analisar compósitos de amido, fibra de cana-de-açúcar e PVA observou que as amostras com maiores proporções de fibras apresentavam maiores valores para o parâmetro a^* , fato não observado nesse trabalho. Segundo Stevens, Klamczynski e Glenn (2010) a lignina presente nas fibras tendem a proporcionar a coloração avermelhada para os compósitos. No entanto, o bagaço de mandioca é constituído basicamente por

celulose e amido (PASQUINI et al., 2010), fato que contribuiu para a cor das bandejas.

Outro parâmetro de cor é o b^* , que quando aumenta indica uma tendência de coloração amarela para o produto. As amostras com maior tendência para o amarelamento foi F20 ($b = 12,77$), F30 ($b = 12,57$) e F100 ($b = 14,62$). Salgado et al. (2008) analisaram compósitos de amido, celulose de eucalipto e proteínas de girassol também observaram um leve amarelamento nas amostras de amido e celulose, fato que pode estar relacionado com a alta temperatura empregada no processo de termoformagem.

5.2.4 Espessura e Densidade

Os resultados da análise de espessura e densidade das bandejas de amido e bagaço de mandioca encontram-se na Tabela 15.

Tabela 15 - Espessura e densidade das bandejas de amido e bagaço de mandioca.

Amostras	Espessura (mm)	Densidade (g/cm ³)
Controle	2,96 ± 0,09 a	0,46 ± 0,03 c
F5	3,01 ± 0,07 a	0,44 ± 0,04 c
F10	2,76 ± 0,11 b	0,47 ± 0,04 c
F20	2,37 ± 0,08 b	0,56 ± 0,07 b
F30	1,62 ± 0,03 c	0,63 ± 0,04 b
F100	1,62 ± 0,19 c	0,82 ± 0,06 a

*Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significa diferença estatística (Teste Tukey $p \leq 0,05$).

A espessura das bandejas de amido e bagaço de mandioca variou de 1,62 a 3,01 mm, sendo que as amostras com maior espessura foram a F5 (3,01 mm) e o Controle (2,96 mm). Observou-se também que o bagaço de mandioca em grande proporção diminuiu a espessura das bandejas, como demonstrado nas amostras F30 e F100 (1,62 mm). Os valores de espessuras obtidos são maiores que os relatados por Salgado et al. (2008) que obteve bandejas de fibra de celulose e proteínas com espessura entre 1,55 a 1,76 mm. A espessura de embalagens

biodegradáveis é uma característica bastante importante, a qual pode refletir na qualidade das embalagens (LONGARES et al., 2004).

Segundo Xu e Hanna (2005), a densidade é uma importante propriedade das espumas. A baixa densidade é ideal para esses materiais e pode interferir nos custos dos mesmos. Neste trabalho, a densidade das amostras variou de 0,47 a 0,82 g/cm³ (Tabela 15). Observou-se que quando foram empregadas as menores proporções do bagaço de mandioca houve uma diminuição da densidade das bandejas produzidas (Tabela 15). Os valores de densidade obtidos (0,47 a 0,82 g/cm³) são mais elevados do que os valores do poliestireno expandido 0,06 g/cm³ (SHEY et al., 2006). Eles também são superiores ao relatados por VERCELHEZE et al. (2012a), que ao analisar bandejas de amido com fibra da cana-de-açúcar e nanoargila observaram valores de densidade entre 0,19 a 0,30 g/cm³. Porém são semelhantes aos relatados por Carr et al. (2006) e Salgado et al. (2008).

A origem do amido também pode influenciar na densidade das espumas. Glenn, Orts e Nobes (2001) ao analisar bandejas de amido de mandioca, batata, trigo e milho verificaram que as bandejas de amido proveniente de cereais (trigo e milho) são mais densas que as amostras de amido oriundo de tubérculos (batata e mandioca).

Apesar de alguns autores (GLENN; ORTS; NOBES, 2001; VERCELHEZE et al., 2012a) relatarem a redução da densidade e o aumento da espessuras de espumas de amido com adição de fibras. Carr et al. (2006) também observaram um aumento da densidade e diminuição da espessura em espumas de amido com fibra de mandioca e trigo, como observado neste trabalho. Foi demonstrado que fibras com pequenas dimensões, como a do bagaço de mandioca, podem diminuir a densidade e aumentar a espessura dos materiais somente quando empregadas baixas proporções.

5.2.5 Propriedades Mecânicas

As propriedades mecânicas das bandejas de amido e bagaço de mandioca encontram-se descritas na Tabela 16 e 17, respectivamente.

Tabela 16 - Resistência máxima a tração (RMT) das bandejas de amido e bagaço de mandioca em função da umidade relativa (UR) de armazenamento

Amostras	RMT (MPa)		
	33% UR	58% UR	90% UR
Controle	12,10 ± 1,97 a, C	6,82 ± 3,53 b, B	1,99 ± 0,68 c, B
F5	7,47 ± 1,30 a, D	8,88 ± 0,56 a, B	2,86 ± 0,55 b, A, B
F10	8,39 ± 1,75 a, C, D	7,58 ± 1,28 a, B	1,30 ± 0,30 b, C
F20	15,05 ± 2,26 a, B	9,02 ± 1,93 a, B	1,29 ± 0,71 b, C
F30	16,25 ± 2,57 a, B	10,93 ± 1,31 a, B	1,12 ± 0,13 b, C
F100	23,52 ± 2,23 a, A	19,49 ± 3,54 a, A	3,40 ± 0,64 b, A

*Letras minúsculas diferentes na mesma linha significam diferença estatística (Teste Tukey $p \leq 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna significam diferença estatística (Teste Tukey $p \leq 0,05$).

Tabela 17 - Alongamento das bandejas de amido e bagaço de mandioca em função da umidade relativa (UR) de armazenamento

Amostras	Alongamento (%)		
	33% UR	58% UR	90% UR
Controle	1,53 ± 1,36 a, A	1,82 ± 1,36 a, A	2,13 ± 1,48 a, B
F5	1,76 ± 1,03 b, A	1,88 ± 0,64 b, A	10,98 ± 1,57 a, A
F10	2,66 ± 1,39 b, A	2,29 ± 1,45 b, A	12,80 ± 2,27 a, A
F20	1,81 ± 0,52 b, A	1,58 ± 0,70 b, A	14,35 ± 5,63 a, B
F30	3,14 ± 1,52 b, A	1,43 ± 0,54 b, A	13,06 ± 0,43 a, A
F100	1,86 ± 0,74 b, A	2,6 ± 1,87 b, A	15,15 ± 3,74 a, A

*Letras minúsculas diferentes na mesma linha significam diferença estatística (Teste Tukey $p \leq 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna significam diferença estatística (Teste Tukey $p \leq 0,05$).

A resistência máxima a tração (RMT) (Tabela 16) das amostras variou de 12,10 a 23,52; 6,82 a 19,49 e 1,12 a 3,40 MPa nas UR de 30, 58 e 90 %, respectivamente. A amostra F100 (composta exclusivamente de bagaço de mandioca) apresentou a maior resistência máxima à tração em todos os níveis de UR (umidade relativa) testados (33, 58 e 90 %).

Os valores de RMT das amostras F5, F10 e F100 permaneceram estáveis entre as UR de 33 e 58 % (Tabela 16), e todas as amostras sofreram um decréscimo na RMT quando armazenadas sob UR de 90 % (Tabela 16). Os resultados encontram-se de acordo com Vercelheze et al. (2012a), que relataram que ambientes com elevadas umidades relativas podem diminuir a resistência das

embalagens biodegradáveis de amido devido ao efeito plastificante causado pela água.

Observou-se uma relação entre a RMT das bandejas e a sua densidade. A amostra F100, que apresentou o maior valor para densidade ($0,82 \text{ g/cm}^3$) (Tabela 15), também obteve os maiores valores de RMT. A mesma tendência foi observada por Shogren et al. (1998a) e Salgado et al. (2008).

Alguns autores relataram que a incorporação de outros componentes na matriz polimérica de amido, como as fibras, pode diminuir a alta coesão entre as moléculas de amido e, conseqüentemente, deixar as amostras menos quebradiças e mais resistentes, o que se refletiria no aumento da RMT das amostras (SHOGREN; LAWTON; TIEFENBACHER, 2002; CINELLI et al., 2006). Segundo Shogren, Lawton e Tiefenbacher (2002), quando as fibras encontram-se bem aderidas na matriz polimérica elas podem atuar como material de reforço em diferentes condições de umidade relativa (UR). Em baixas UR os materiais à base de amido são muito quebradiços, as fibras podem reforçar a estrutura, diminuindo a tendência para rachaduras e poros. Já em elevadas UR, estes materiais são plastificados pela água e apresentam um decréscimo da coesão entre as moléculas, então a introdução das fibras pode fornecer resistência adicional.

A porcentagem de alongamento (Tabela 17) das bandejas de amido e bagaço de mandioca variou de 1,53 a 3,4; 1,43 a 2,60 e 2,13 a 15,15 % nas umidades de 33, 58 e 90 %, respectivamente. Não houve diferença estatística ($p \geq 0,05$) para as amostras armazenadas sob UR de 33 e 58%, no entanto, sob 90 % de UR houve um grande aumento da porcentagem de alongamento em todas as amostras adicionadas de bagaço, fato que está relacionado ao efeito plastificante proporcionado pela água (VERCELHEZE et al., 2012a). Os valores obtidos para porcentagem de alongamento nesse trabalho são menores dos que os encontrados para o EPS (5,4 %) e semelhantes a embalagens de amido e fibras (1,95 a 3,38%) ao nível de 58 % de UR (GLENN; ORTS; NOBES, 2001).

5.2.6 Microscopia Eletrônica de Varredura

As Figuras 24 e 25 apresentam as micrografias da fratura e da superfície, respectivamente, das bandejas produzidas. Pode-se observar nas micrografias das fraturas (Figura 24) que em todas as amostras há vazios formados

pela evaporação da água durante o processo de termoformagem, o que comprova que ocorreu uma expansão do material. Além disso, foi possível observar também que as bandejas têm uma estrutura tipo sanduíche, com camadas mais densas contendo pequenas células de ar que compõem a superfície das bandejas, e a parte interna formada por paredes finas compostas por grandes células de ar. Este tipo de estrutura foi relatada por Cinelli et al. (2006) estudando espumas de amido de batata e fibras de milho e por Vercelheze et al. (2012a).

Segundo Shogren et al. (1998b), a camada externa é mais espessa e pouco expandida, em virtude da rápida secagem do amido em contato com o molde pré-aquecido. Já a elevada expansão no interior da estrutura relaciona-se com a grande quantidade de vapor presente que escapa pelas frestas do molde. As células de ar em encontram-se indicadas por setas em todas as amostras na Figura 24.

Nas micrografias da fratura (Figura 24), notou-se também que as bandejas Controle, F5 e F10 apresentaram células de ar maiores, já na amostra F100 (composta exclusivamente por bagaço de mandioca) os alvéolos formados foram menores. As micrografias das amostras encontram-se de acordo com os resultados de densidade, no qual a amostra F100 também apresentou a maior densidade ($0,82 \text{ g/cm}^3$) (Tabela 15). Salgado et al. (2008) e Mali et al. (2010a) relataram que a presença de elevada quantidade de fibras nas formulações da espuma são responsáveis pelo aumento da viscosidade da massa, originando materiais com menor expansão, alvéolos pequenos e espessos, resultando em amostras de alta densidade. Entretanto, a amostra F100 apresentou estrutura mais compacta com alvéolos menores, com tamanho regular e maior homogeneidade entre os componentes, fato que pode ter influenciado na sua maior resistência máxima a tração (Tabela 16). Carr et al. (2006) relatou que menores células de ar no interior e a homogeneidade pode aprimorar as propriedades mecânicas das embalagens biodegradáveis de amido.

Figura 24 - Micrografias das fraturas das bandejas de amido e bagaço de mandioca com aumento de 50 vezes. (A) Controle; (B) F5; (C) F10; (D) F20; (E) F30 e (F) F100

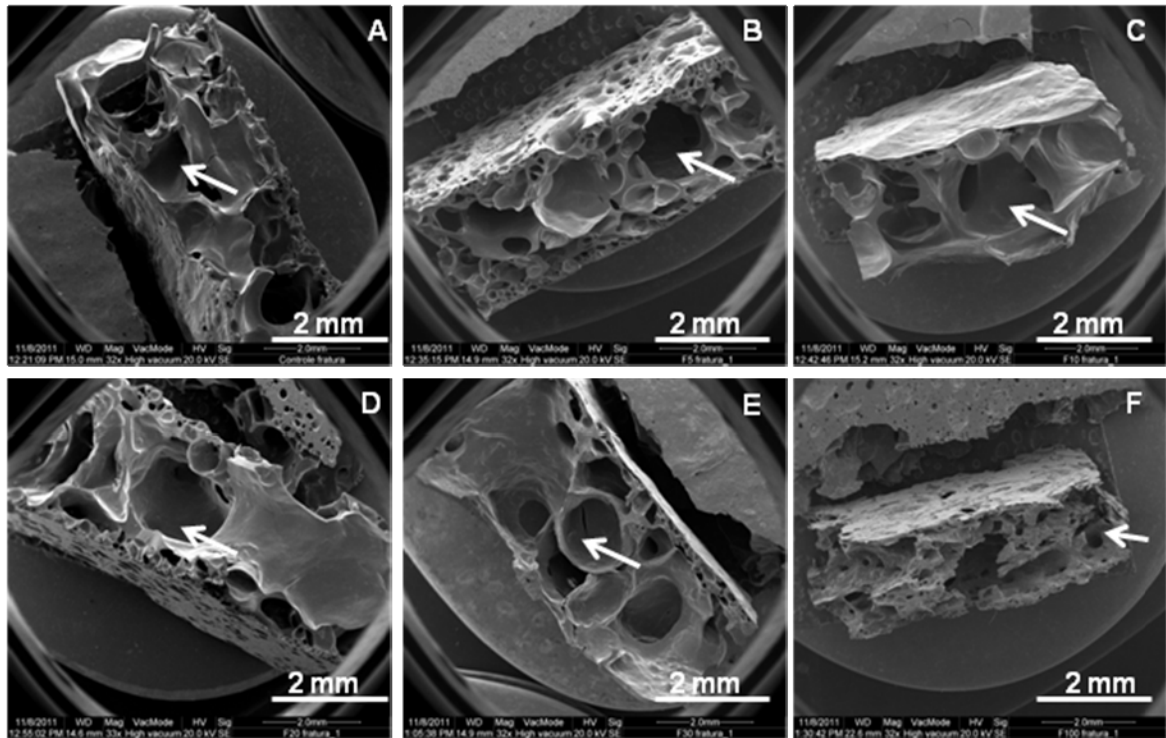
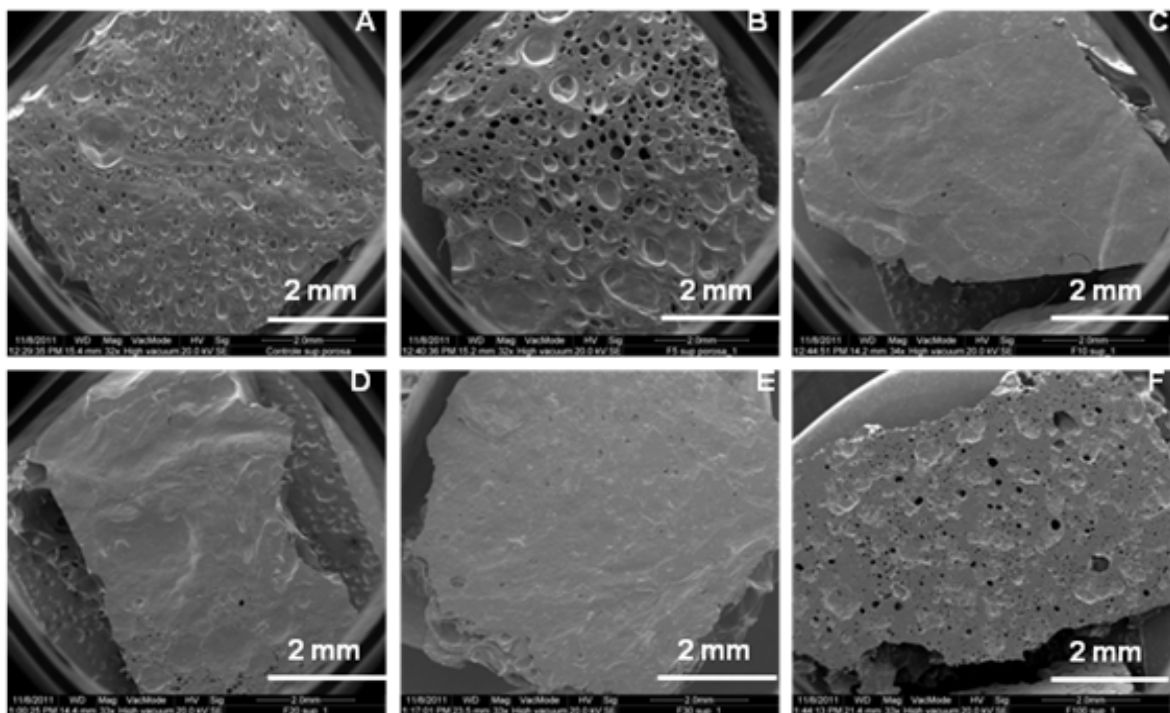


Figura 25 - Micrografias das superfícies das bandejas de amido e bagaço de mandioca com aumento de 50 vezes. (A) Controle; (B) F5; (C) F10; (D) F20; (E) F30 e (F) F100



Observou-se também que o processo de gelatinização do amido em todas as amostras foi eficiente, uma vez que não se identificou grânulos na estrutura da bandeja. Segundo Shogren et al. (1998a) embalagens produzidas com amido de alta porcentagem de amilose geralmente apresentam gelatinização incompleta, podendo observar os grânulos de amido na estrutura da amostra. No entanto, a alta concentração de amilopectina presente no amido de mandioca pode ter favorecido a sua gelatinização durante o processo de termoformagem.

Como relatado anteriormente, a expansão do material é favorecida pela saída de vapor da massa pelas frestas do molde durante o processo de termoformagem (SHOGREN et al., 1998b). Vercelheze et al. (2012a) relataram que amostras contendo maiores proporções de água em sua formulação apresentam maior expansão. Segundo Andersen e Hodson (1999), uma maior quantidade de água nas formulações resulta em aumento do número e tamanho dos alvéolos internos na estrutura da espuma, o que diminui a sua densidade. No entanto, isso não foi verificado nesse trabalho, ficando evidente que os componentes das formulações (amido e bagaço de mandioca) foram cruciais para a determinação da expansão das espumas.

Nas micrografias de superfície (Figura 25) das bandejas de amido e bagaço de mandioca observou que as amostras F10, F20 e F30 apresentaram superfície mais homogênea, já nas bandejas Controle, F5 e F10 continham alguns buracos e rachaduras. As micrografias de superfície encontram-se de acordo com o teste de rendimento de produção (Tabela 12) e análise subjetiva (Tabela 13) discutidos anteriormente. Shogren et al. (1998b) também observou alguns orifícios na superfície das espumas de amido, fato que pode estar relacionado com a ruptura das células de ar formadas durante a secagem do material.

Segundo Bénézet et al. (2012) é difícil estabelecer uma relação entre as propriedades mecânicas e a morfologia das bandejas. O tamanho dos alvéolos no seu interior e a espessura das paredes das células são os parâmetros mais significativos em relação à morfologia dos compósitos, sendo que ambos também influenciam nas propriedades mecânicas das embalagens biodegradáveis. A amostra elaborada exclusivamente com bagaço de mandioca (F100) apresentou estruturas internas mais homogêneas e com bons resultados das propriedades mecânicas, o que pode ser um indicativo do emprego do bagaço de mandioca como matéria-prima para a produção de embalagens biodegradáveis.

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

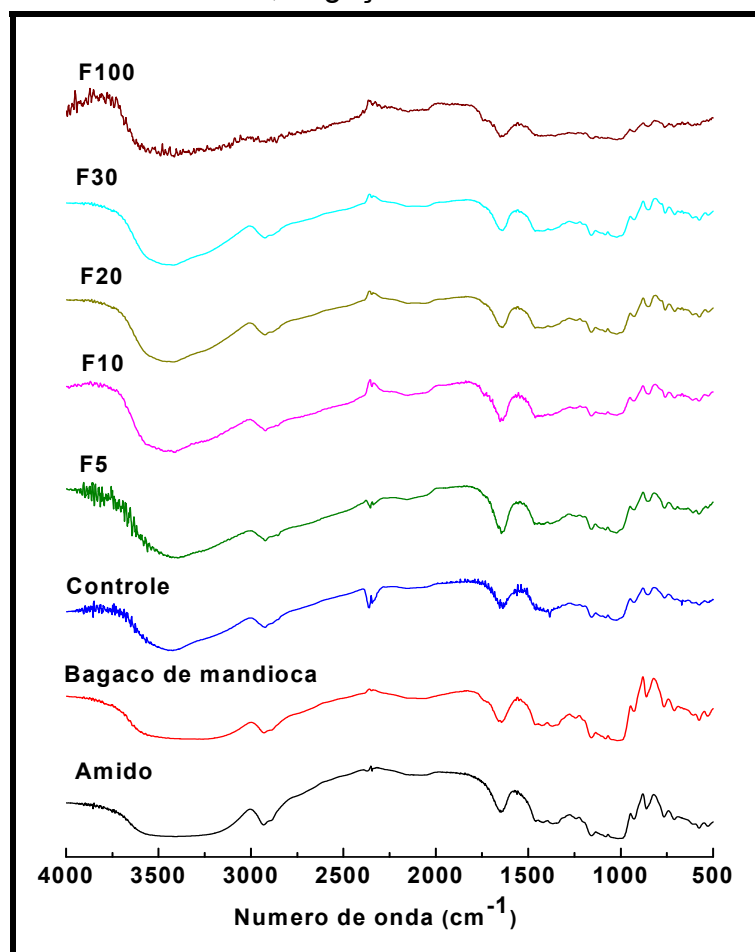
A espectroscopia na região do infravermelho (IV) é uma técnica de grande importância na análise orgânica qualitativa, sendo amplamente utilizada na área de química de produtos naturais, síntese e transformações orgânicas (LOPES; FACIO, 2004). A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) foi utilizada nesse trabalho para determinar as interações entre o amido e o bagaço de mandioca. Na Tabela 18 e Figura 26 encontram-se as principais bandas observadas no espectro de infravermelho das amostras.

Tabela 18 - Principais bandas observadas nos espectros de infravermelho do amido de mandioca, bagaço de mandioca e das bandejas produzidas

Referente à	Amido	Bagaço de mandioca	Bandeja Controle	Bandejas com amido e bagaço	Bandeja F100
Estiramento O-H ^a	3200 a 3600	3200 a 3600	3322 a 3470	3322 a 3470	3322 a 3470
Estiramento C-H ^b	2881 a 2930	2889 a 2934	2881 a 2930	2881 a 2930	-
OH – água ^c	1650	1647	1650	1647	1647
Estiramento C=O ^d	-	1740	-	-	1740
Estiramento C-O-C ^e	980 a 1170	980 a 1170	980 a 1170	980 a 1170	980 a 1170
Deformação angular da ligação C-H ^e	1372 a 1460	1372 a 1460	1372 a 1460	1372 a 1460	1372 a 1460

Fonte: ^(a) Williams e Onwudili (2006); ^(b) Tongdeesoontorn et al. (2011); ^(c) Mulinari et al. (2009); ^(d) Kaewtatip e Thongmee (2012); ^(e) Kaewtatip e Tanrattanakul (2008).

Figura 26 - Espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) do amido de mandioca, bagaço de mandioca e das bandejas produzidas



Em virtude do amido e o bagaço de mandioca apresentarem composição química bastante semelhante os espectros de FT-IR não apresentaram grande diferença (Tabela 18, Figura 26). O amido e o bagaço de mandioca apresentaram bandas de absorção dos grupos hidroxilas livres inter e intramolecular na região de 3200 a 3600 cm^{-1} (WILLIAMS; ONWUDILI, 2006). Nas bandejas (F5, F10, F20, F30 e F100) também observou a banda característica de OH, a qual variou de 3322 a 3470 cm^{-1} . Os resultado obtidos estão de acordo com Dai et al. (2009) que relataram que o estreitamento da banda e o deslocamento para um número menor de onda pode estar relacionado com o enfraquecimento das uniões intra e intermoleculares do amido e pela formação de novas interações de ligações de hidrogênio entre o amido, o plastificante e o bagaço de mandioca.

A banda de 2881 a 2930 cm^{-1} , referente ao estiramento CH do grupo metila, também foi observada no amido nativo, bagaço de mandioca e nas amostras, com exceção da bandeja F100. O mesmo acontece com a banda em 1650 cm^{-1} , que

apareceu menos intensa e mais estreita com o aumento da quantidade de fibra na matriz. Os resultados estão de acordo com Tongdeesoontorn et al. (2011), que reportaram o desaparecimento desta banda em filmes amido de mandioca tratados com altas concentrações carboximetilcelulose. Observou-se também uma pequena banda em 1740 cm^{-1} no bagaço de mandioca e na amostra F100, o qual é característico do estiramento C=O dos grupos acetatos presente na hemicelulose e celulose (KAEWTATIP; THONGMEE, 2012).

As bandas entre 1372 a 1460 cm^{-1} pertencem à deformação angular da ligação C-H, e entre 980 a 1170 cm^{-1} , presentes em todas as amostras, correspondem aos estiramentos de alcoóis secundários e primários e de éteres C-O-C presentes nas cadeias poliméricas dos carboidratos (KAEWTATIP; TANRATTANAKUL, 2008).

Pode-se notar, através dos resultados relatados, que os componentes presentes nas bandejas produzidas apresentaram interação, em especial do tipo ligação de hidrogênio, bastante característica de materiais hidrofílicos, assim como, interações amido-amido enfraquecidas, o que é um bom indicativo de que os aditivos empregados interagiram durante o processamento das bandejas.

5.2.8 Difração de Raios-X

Os difratogramas das bandejas de amido e bagaço de mandioca encontram-se apresentados na Figura 27 e os índices de cristalinidade na Tabela 19. Como pode ser observado na Figura 27, o amido e o bagaço de mandioca apresentam uma estrutura semicristalina semelhante, já que o bagaço é composto majoritariamente por amido. No difratograma do amido de mandioca foram observados os picos em $2\theta = 15,3^\circ$; $17,3^\circ$; $18,3^\circ$, 22 e $23,5^\circ$ (Figura 27). Esses resultados são semelhantes aos reportados por Huang et al. (2007) e Vercelheze et al. (2012a), que relatam que o amido de mandioca nativo apresenta cristalinidade tipo C, com picos característicos semelhantes aos encontrados neste trabalho. O bagaço de mandioca apresentou picos em $2\theta = 15^\circ$, $17,5^\circ$ e 23° , possivelmente resultantes da cristalinidade do amido. A celulose, presente na fração fibrosa do bagaço, apresenta pico característico em $2\theta = 22,3^\circ$, como relatado por Klemm et al.

(2005) e Pasquini et al. (2010), e neste trabalho este pico se sobrepôs ao pico do amido que ocorreu em ângulo próximo (Figura 27).

A análise dos gráficos de difração de raios X das bandejas (F5, F10, F20, F30 e F100) (Figura 27) revelou que todas apresentaram estrutura amorfa, ou seja, ocorreu à perda das regiões cristalinas após a gelatinização do amido, independente da formulação empregada.

Figura 27 - Difratogramas do amido de mandioca, bagaço de mandioca e das bandejas produzidas com amido e bagaço de mandioca

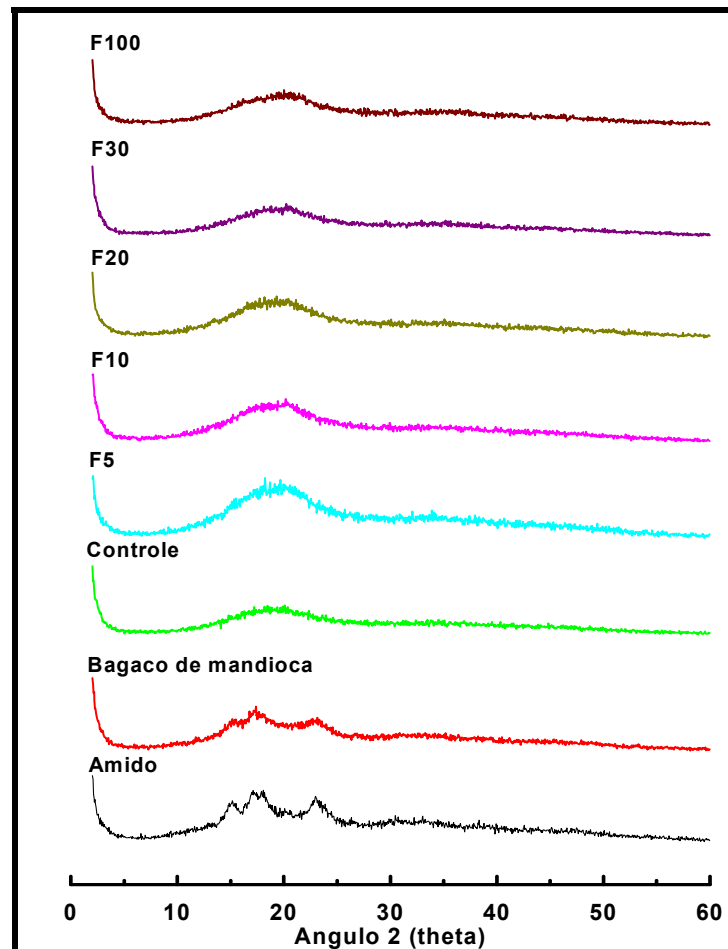


Tabela 19 - Índice de cristalinidade do amido, bagaço de mandioca e das bandejas produzidas

Amostras	Índice de Cristalinidade (%)
Amido	18,71
Bagaço de mandioca	21,08
Controle	7,17
F5	6,92
F10	4,12
F20	7,95
F30	2,51
F100	4,52

O índice de cristalinidade do amido e do bagaço de mandioca (Tabela 19) foi de 18,71 e 21,08 %, respectivamente. Segundo van Soest e Vliegenthart (1997) o índice de cristalinidade do amido nativo pode variar de 20 a 45 %. Pasquini et al. (2010) observou um índice de cristalinidade de 43,7 % para o bagaço de mandioca. A amilopectina é responsável pela estrutura cristalina do grânulo, a qual pode ser influenciada pela fonte do amido, quantidade de amilose e amilopectina, massa molecular, grau de ramificação e comprimento das cadeias de amilopectina (van SOEST; VLIEGENTHART, 1997).

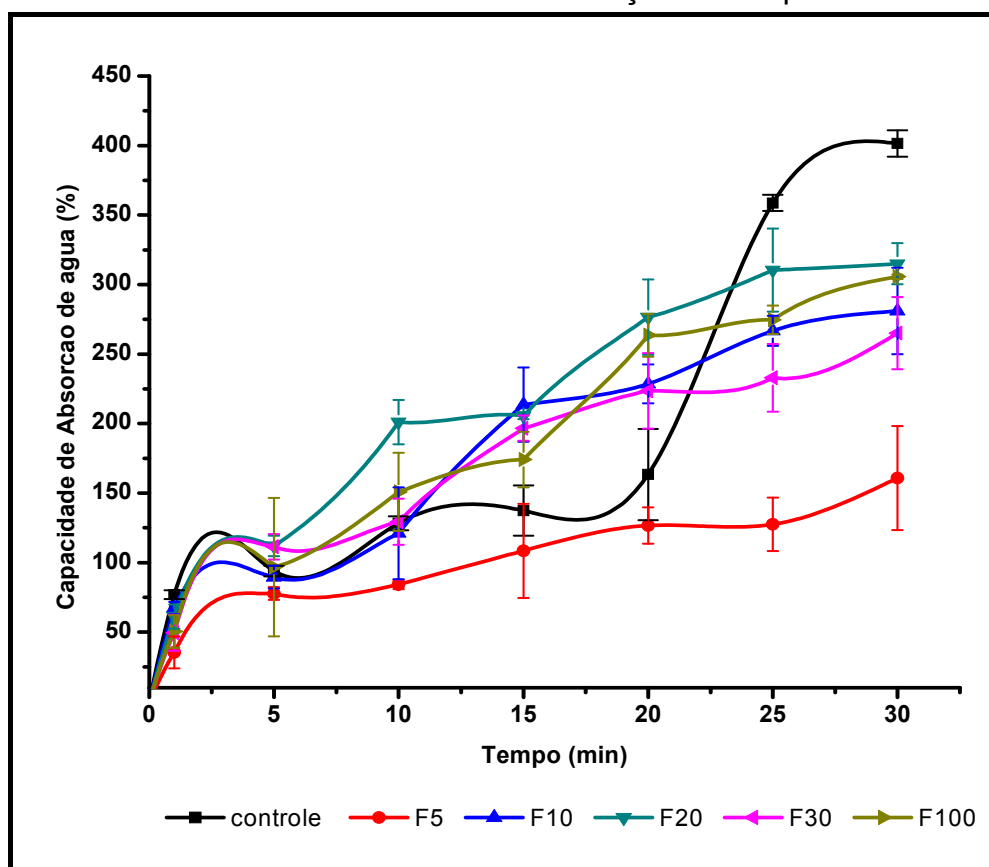
Para as bandejas de amido e bagaço de mandioca o índice de cristalinidade variou de 2,51 a 7,17 %. Em geral, a análise de difração de raios X revelou que as bandejas de amido e bagaço de mandioca foram formadas por matrizes poliméricas amorfas após o processo de termoformagem, que por sua vez são menos rígidas e quebradiças, característica interessante para as embalagens produzidas neste trabalho.

5.2.9 Capacidade de Absorção de Água

Na Figura 28 encontram-se os resultados da análise da capacidade de absorção de água (CAA) para as amostras de amido e bagaço de mandioca em diferentes tempos (1, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos). Em geral, a CAA de todas as amostras apresentou um comportamento bastante semelhante, com aumento em função do tempo de análise.

A bandeja F5 apresentou os menores valores para CAA (35,38 a 160,86 %) e a bandeja controle apresentou os maiores valores nos tempos de 25 e 30 min. Segundo Pothan e Thomas (2004), em polímeros reforçados com fibras vegetais, a natureza hidrofílica destas fibras (decorrência das hidroxilas presentes na celulose e hemicelulose) aumenta a capacidade de absorção de água do material, podendo prejudicar em longo prazo as propriedades mecânicas dos compósitos.

Figura 28 - Capacidade absorção de água das bandejas de amido e bagaço de mandioca em função do tempo



Segundo Sjoqvist, Boldizar e Rigdahl (2010), a capacidade de absorção de água desses materiais também pode estar relacionada à sua estrutura porosa, tipo de interação entre a água e os diferentes tipos de matriz polimérica e a distribuição do glicerol nas amostras. A cinética de absorção caracteriza-se por apresentar duas fases: (1ª) aumento de massa em relação à massa inicial, o que provavelmente está relacionado a uma difusão superficial (difusão de moléculas na fase da superfície) e a uma difusão das moléculas nos interstícios entre os poros do

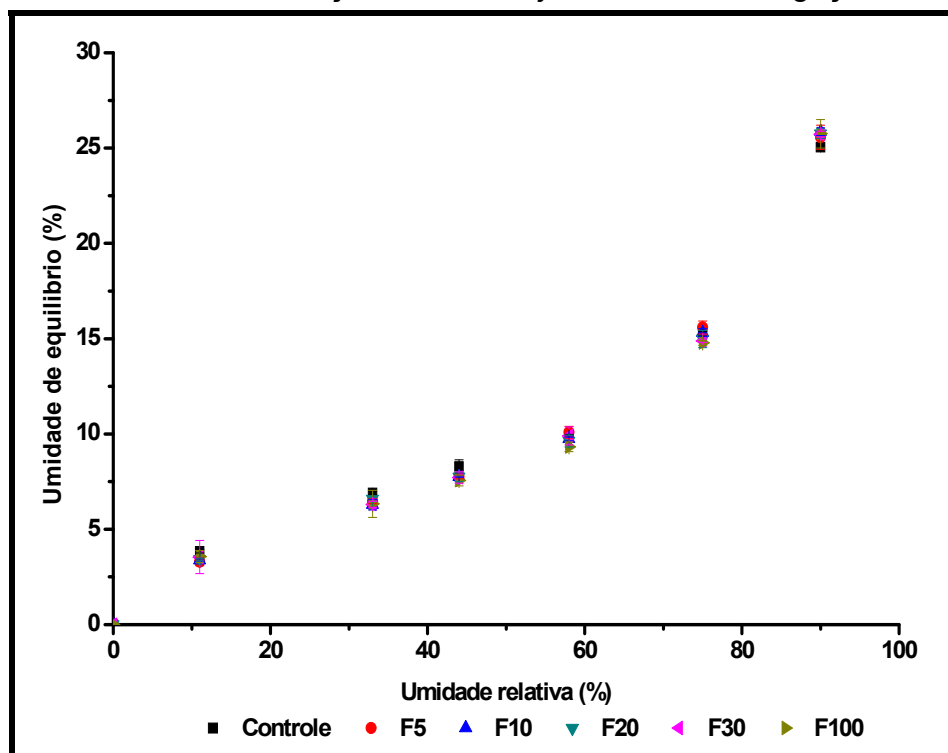
material; (2ª) a massa de água absorvida continua a aumentar quase linearmente até o fim dos ensaios em virtude da difusão interna, ou seja, dentro dos poros (BOUCHONNEAU et al., 2010).

É importante ressaltar que os testes de absorção de água utilizados neste trabalho não permitem distinguir entre absorção por capilaridade e da hidratação do material à base de amido. Provavelmente ambos os processos ocorrem de forma simultânea resultando em uma taxa elevada de absorção de água, com foi observado, o que faz com que as bandejas produzidas nesta etapa sejam uma alternativa para o acondicionamento de alimentos secos como pães, *fast-food* e frutas e vegetais que não exsudem água, dentre outros.

5.2.10 Isotermas de Sorção de Água

Os dados experimentais das isotermas de sorção de umidade das bandejas de amido e bagaço de mandioca encontram-se ilustrados na Figura 29.

Figura 29 - Isotermas de sorção das bandejas de amido e bagaço de mandioca



De acordo com a Figura 29, observou-se que as amostras (Controle, F5, F10, F20, F30 e F100) apresentaram perfis similares para as suas isotermas de sorção, com curvas de forma sigmóide, sendo classificadas como isotermas do tipo II, a qual é característica de produtos hidrofílicos (BRUNAUER; EMMETT; TELLER, 1938).

Observou-se também que a umidade de equilíbrio das amostras aumentou proporcionalmente com o aumento da umidade relativa (UR), sendo que o mesmo foi mais acentuado em UR acima de 75 %. No intervalo de maior estabilidade para as amostras (UR entre 33 a 75 %) o conteúdo da umidade equilíbrio variou entre aproximadamente 6,30 a 15,32 %. De acordo com Faria, Vercelheze e Mali (2012) esse comportamento é interessante, pois se relaciona com a estabilidade desses materiais nas condições estudadas, uma vez que o principal problema com as embalagens biodegradáveis é a sua sensibilidade a umidade.

As bandejas produzidas nesse trabalho não apresentaram alteração de formato em nenhuma das UR testadas. Segundo Nabar et al. (2005) embalagens a base de amido tendem a absorver água em umidades relativas elevadas, ocasionando alteração dimensional das amostras, em virtude da natureza higroscópica das matérias-primas utilizadas (amido e/ou bagaço de mandioca), fato não evidenciado neste trabalho.

Considerando-se todas as propriedades estudadas e em virtude de que os resultados das isotermas de sorção e da capacidade de absorção de água não apontaram para uma formulação que apresentasse resultados significativamente melhores, optou-se por selecionar para a próxima etapa a formulação contendo apenas bagaço de mandioca (F100), já que apresentou os melhores resultados para as propriedades mecânicas, e seria em potencial a formulação de menor custo, já que foi obtida a partir de um resíduo da extração do amido. Na próxima etapa estudou-se a incorporação do álcool polivinílico às bandejas de bagaço de mandioca com o objetivo de melhorar as suas propriedades, em especial a capacidade de absorção de água e a estabilidade ao armazenamento em diferentes UR.

5.3 TERCEIRA ETAPA: PRODUÇÃO DAS BANDEJAS BIODEGRADÁVEIS DE BAGAÇO DE MANDIOCA E ÁLCOOL POLIVINÍLICO

5.3.1 Rendimento de Produção

Na Tabela 20 encontram-se os resultados do rendimento de produção para as bandejas produzidas com bagaço de mandioca e álcool polivinílico (PVA). Foram consideradas também bandejas completas aquelas aptas para o uso, ou seja, com ausência de furos, ranhuras e fraturas.

Tabela 20 - Resultado do rendimento de produção das bandejas de bagaço de mandioca e PVA.

Amostras	Bandejas totais	Bandejas completas	Bandejas incompletas	Rendimento de produção (%)
F100	18	16	2	90,0
PVA 2,5	18	18	0	100
PVA 5,0	18	18	0	100
PVA 7,5	18	18	0	100
PVA 10,0	18	18	0	100

De acordo com a Tabela 20, as bandejas de bagaço de mandioca e álcool polivinílico (PVA) apresentaram o máximo de rendimento de produção (100 %), independente da concentração de álcool polivinílico utilizada. A amostra F100 (composta exclusivamente de bagaço) apresentou um rendimento menor (90 %). Possivelmente, a viscosidade das pastas empregadas tenha afetado o rendimento de produção das bandejas, uma vez que ambas foram produzidas com as mesmas condições de processo (tempo, temperatura e pressão) e igual tempo de mistura. Certamente, a interação entre o PVA e o bagaço de mandioca forneceu uma viscosidade favorável para a formação das bandejas, resultando em rendimento máximo de produção (100 %).

Nas bandejas de bagaço de mandioca e PVA a quantidade de massa em suspensão foi de 40 g, ou seja, menor que a formulação F100, que foi de 43 g. De acordo com Cinelli et al. (2006), o elevado peso molecular do PVA pode proporcionar melhor formação da espuma durante o processo e exigir menor quantidade de massa. Ao contrário das bandejas de amido e bagaço de mandioca,

não foi observada a produção de bandejas incompletas (Figura 29 – A) e/ou porosas (Figura 29 – B) em todas as formulações contendo PVA (Figura 37), indicativo de que o PVA interagiu com o amido e as fibras contidas no bagaço, favorecendo o processo de termoformagem das massas preparadas.

A quantidade de água utilizada nas bandejas de bagaço de mandioca e álcool polivinílico foi igual a F100 (210 mL), independente da quantidade de PVA utilizado nas formulações. De acordo com Aranha e Lucas (2001), o álcool polivinílico parcialmente hidrolisado (grau de hidrólise aproximadamente de 88%) apresenta elevada solubilidade em água, em virtude dos seus grupos acetato, os quais podem enfraquecer as ligações intra e intermoleculares de grupos hidroxila vizinhos.

5.3.2 Análise Subjetiva

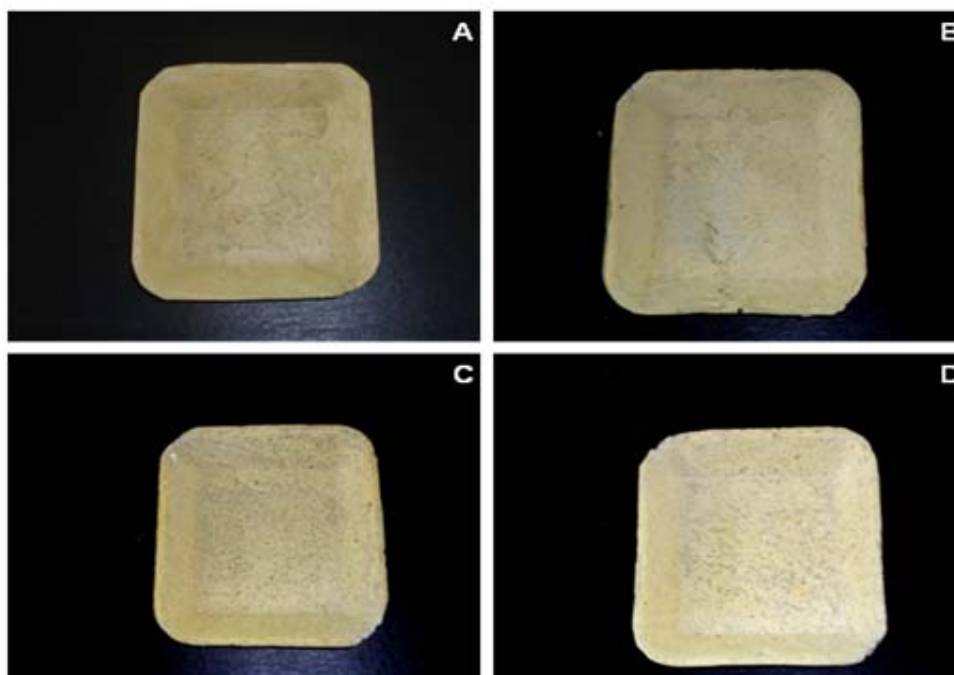
Os resultados da análise subjetiva encontram-se na Tabela 21. Nas bandejas produzidas com bagaço de mandioca e PVA (Tabela 21) não foi observada a presença de rupturas, fraturas, rachaduras e furos. Além disso, todas as amostras (PVA 2,5, PVA 5,0, PVA 7,5 e PVA 10,0) apresentaram coloração homogênea. Na Figura 30 encontram-se as fotos das bandejas de bagaço de mandioca e PVA produzidas nesse trabalho.

Tabela 21 - Análise subjetiva das bandejas de bagaço de mandioca e PVA

Amostras	Continuidade	Homogeneidade	Manuseabilidade
F100	●●	●●●	●
PVA 2,5	●●●	●●●	●●
PVA 5,0	●●●	●●●	●●
PVA 7,5	●●●	●●●	●●
PVA 10,0	●●●	●●●	●●

Legenda: ●●● Excelente ●● Bom ● Deficiente.

Figura 30 - Aparência das bandejas de bagaço de mandioca e PVA: (A) PVA 2,5, (B) PVA 5,0, (C) PVA 7,5 e (D) PVA 10,0



Para todos os parâmetros analisados (continuidade, homogeneidade e manuseabilidade) foram observadas melhorias em relação à amostra F100 (composta exclusivamente de bagaço de mandioca) (Tabela 21). De acordo com Russo et al. (2009), o PVA apresenta alta compatibilidade com amido e materiais ricos em amido (como é o caso do bagaço de mandioca), podendo proporcionar benefícios para os compósitos produzidos, tais como: melhorias nas propriedades mecânicas, alongamento e processabilidade, deixando-os propícios para o manuseio.

5.3.3 Avaliação da Cor

A coloração das bandejas de bagaço de mandioca e PVA foram determinadas pelos parâmetros $*L$, a^* e b^* e encontram-se na Tabela 22.

Tabela 22 - Parâmetros de cor (L*, a*, b*) das bandejas de bagaço de mandioca e PVA

Amostras	Parâmetros		
	L*	a*	b*
F100	65,23 ± 2,99 c	1,72 ± 0,62 a	14,62 ± 1,99 a
PVA 2,5	76,61 ± 4,86 b	1,88 ± 1,44 a	15,90 ± 2,14 a
PVA 5,0	79,02 ± 1,13 a	1,67 ± 0,87a	15,02 ± 2,61 a
PVA 7,5	79,03 ± 1,98 a	1,14 ± 0,25a	14,19 ± 1,05 a
PVA 10,0	75,76 ± 2,41 b	0,98 ± 0,37a	13,32 ± 1,56 a

*Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significa diferença estatística (Teste Tukey $p \leq 0,05$).

O componente L*, que caracteriza a luminosidade das amostras, variou entre 65,23 a 79,03 (Tabela 22). Foi observado que o PVA aumentou significativamente a luminosidade das amostras quando utilizado em até 7,5 %. Mali et al. (2010a) também observaram uma maior luminosidade das amostras tratadas com álcool polivinílico.

A cor adquirida pelas bandejas biodegradáveis pode estar relacionada com o componentes da formulação (BEGONYA et al., 2010), com a caramelização e a reação de *Maillard*, principalmente para produtos com teor elevado de açúcares totais (MENEGASSI et al., 2007). Borba; Sarmiento e Leonel (2005) observaram que a farinha de mandioca antes do processamento térmico apresenta uma luminosidade de 94,6. No entanto quando submetidas a elevadas temperaturas ocorre uma diminuição da mesma. Portanto, fica evidente que houve um leve escurecimento das amostras nesse trabalho, que pode estar relacionado com as matérias-primas empregadas (bagaço de mandioca) e/ou as altas temperaturas utilizadas no processo de termoformagem.

A coordenada de cromaticidade a* dos ensaios variou entre 0,98 a 1,88 (Tabela 22), não havendo diferença estatística entre as amostras ($p \geq 0,05$). Como já discutido anteriormente, a coloração avermelhada dos compósitos biodegradáveis pode estar relacionada com a lignina presente nas fibras inseridas matriz polimérica (FAMÁ et al., 2005). No entanto as fibras presente no bagaço de mandioca são constituídas por celulose e hemicelulose (PASQUINI et al., 2010), fato que também contribuiu para a cor das bandejas de bagaço de mandioca e PVA.

O parâmetro b^* , o qual indica o amarelamento das bandejas, variou de 13,32 a 15,90, não havendo também diferença estatística entre as amostras ($p \geq 0,05$). A incorporação de PVA independente da concentração não diminui o amarelamento das bandejas proporcionado pelo bagaço de mandioca. Como relatado anteriormente nesse trabalho, bandejas formadas somente com amido (bandeja Controle), apresentaram uma menor tendência para o amarelamento (6,62) (Tabela 14). Por se tratar de um polímero incolor (ZIA et al., 2011) a presença do álcool polivinílico não amenizou o pigmento amarelo do bagaço de mandioca.

5.3.4 Espessura e Densidade

Na Tabela 23 encontram-se expressos os valores para as análises de espessura e densidade das bandejas de bagaço de mandioca e álcool polivinílico.

Tabela 23 - Resultados de espessura e densidade das bandejas de bagaço de mandioca e PVA

Amostras	Espessura (mm)	Densidade (g/cm³)
F100	1,62 ± 0,19 b	0,82 ± 0,06 a
PVA 2,5	1,99 ± 0,10 a	0,57 ± 0,19 c
PVA 5,0	1,98 ± 0,18 a	0,52 ± 0,14 c
PVA 7,5	1,84 ± 0,06 a	0,60 ± 0,04 c
PVA 10,0	2,04 ± 0,15 a	0,55 ± 0,07 c

*Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significa diferença estatística (Teste Tukey $p \leq 0,05$).

A espessura das bandejas de bagaço de mandioca e álcool polivinílico (Tabela 23) variou de 1,62 a 2,04 (mm). A amostra F100 (composta exclusivamente de bagaço) apresentou a menor espessura. Observou-se que o PVA proporcionou um aumento da espessura das amostras (PVA 2,5, PVA 5,0, PVA 7,5 e PVA 10) independente da sua concentração utilizada. Lui, Peng (2005) e Chiellini et al. (2009) também observaram melhorias nas bandejas de amido de batata com a adição de PVA, as quais podem estar relacionada com a quebra das ligações de hidrogênio do amido, que podem então interagir com o PVA, originando materiais flexíveis, com maior capacidade de expansão e conseqüentemente, mais espessos.

A densidade das amostras (Tabela 23) variou de 0,52 a 0,82 (g/cm³), ao contrário da espessura, o maior valor foi obtido pela amostra F100 e os menores pelos ensaios tratados com PVA, independente da concentração utilizada ($p \geq 0,05$). Os valores de densidade obtidos são mais elevados que o poliestireno expandido (0,06 g/cm³) (SHEY et al., 2006). Segundo Mali et al. (2010a), a densidade das espumas biodegradáveis pode ser afeta por diversos fatores tais como: quantidade amido, fibras, polímeros sintéticos e a interação entre os mesmos. A redução da densidade obtida com o PVA pode estar vinculada com o aumento da viscosidade da massa fornecida com a adição do mesmo (IRIANI et al., 2012).

5.3.5 Propriedades Mecânicas

As propriedades mecânicas das bandejas de bagaço de mandioca e álcool polivinílico foram estabelecidas pela resistência máxima a tração (RMT) e porcentagem de alongamento, as quais encontram-se descritas na Tabela 24 e 25 respectivamente.

Tabela 24 - Resistência máxima a tração (RMT) das bandejas de bagaço de mandioca e PVA

Amostras	RMT (MPa)		
	33% UR	58% UR	90% UR
F100	23,52 ± 2,23 a, B	19,49 ± 3,54 b, C	3,40 ± 0,64 c, C
PVA 2,5	268,51 ± 23,02 a, A	167,82 ± 64,00 b, A	31,13 ± 5,89 c, A
PVA 5,0	313,21 ± 37,40 a, A	164,72 ± 27,45 b, A	36,67 ± 4,79 c, A
PVA 7,5	239,78 ± 70,55 a, A	206,89 ± 23,28 a, A	44,99 ± 6,10 b, A
PVA 10,0	226,04 ± 59,73 a, A	141,17 ± 28,42 b, B	40,93 ± 7,32 c, A

*Letras minúsculas diferentes na mesma linha significam diferença estatística (Teste Tukey $p \leq 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna significam diferença estatística (Teste Tukey $p \leq 0,05$).

Tabela 25 - Porcentagem de alongamento das bandejas de bagaço de mandioca e PVA

Amostras	Alongamento (%)		
	33% UR	58% UR	90% UR
F100	1,86 ± 0,74 b, C	2,60 ± 1,87 b, B	15,15 ± 3,64 a, A, B
PVA 2,5	3,02 ± 0,49 b, A	5,81 ± 2,90 b, A	16,50 ± 3,68 a, A
PVA 5,0	1,61 ± 0,52 b, B	1,88 ± 0,60 b, B	18,35 ± 3,29 a, A
PVA 7,5	2,57 ± 0,79 b, A	5,97 ± 2,81 b, A	11,37 ± 2,20 a, B
PVA 10,0	1,69 ± 0,47 b, B	2,50 ± 2,03 b, B	11,20 ± 2,19 a, B

*Letras minúsculas diferentes na mesma linha significam diferença estatística (Teste Tukey $p \leq 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna significam diferença estatística (Teste Tukey $p \leq 0,05$).

Observou-se que em todos os níveis de umidade relativa (UR) o PVA aumentou a resistência das amostras quando comparado com a amostra F100 (Tabela 24). Pode-se perceber, ainda, que quando as amostras foram armazenadas tanto sob 33 %, quanto sob 90 % de UR, o teor de PVA adicionado (2,5 a 10,0 %) não influenciou estatisticamente os resultados de RMT (teste de Tukey, $p \leq 0,05$). Sob UR de 58 %, as bandejas com 2,5, 5,0 e 7,5 % de PVA foram as mais resistentes. Os resultados encontram-se de acordo com Preechwong et al. (2004), que ao analisarem espumas de amido e PVA também observaram um aumento da RMT com a adição de PVA. Segundo Tang e Alavi (2011), compósitos formados de amido e PVA apresentaram melhores propriedades mecânicas, em virtude da alta compatibilidade entre o amido e o PVA. Tanto os materiais a base de amido (como o bagaço de mandioca) e o álcool polivinílico, possuem vários grupamentos OH em sua estrutura, os quais podem formar ligações de hidrogênio inter e intramolecular, que melhoram a integridade das embalagens biodegradáveis.

O aumento da UR afetou a RMT das amostras, sendo que as amostras armazenadas sob UR de 90 % apresentaram os menores valores de RMT (Tabela 24). Segundo Mali et al. (2006) a água atua como plastificante, aumentando a mobilidade entre as cadeias dos polímeros, originando materiais menos resistentes e mais flexíveis em ambientes com elevada umidade relativa.

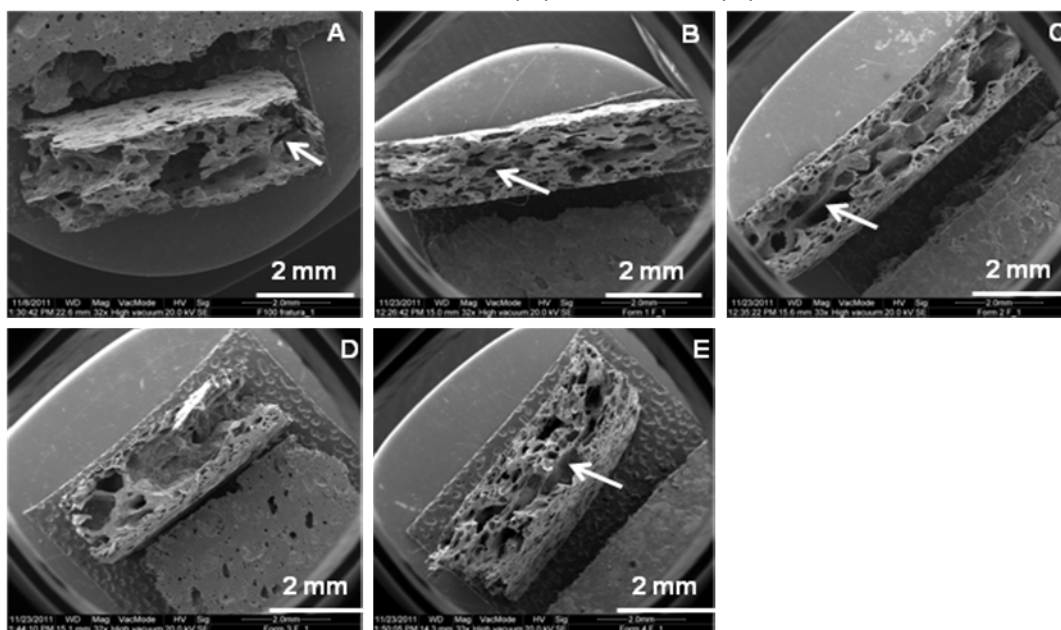
O PVA também proporcionou um aumento da flexibilidade (Tabela 25) em todas as amostras quando comparado com F100, sendo que os maiores valores foram obtidos para as amostras PVA 2,5 e PVA 7,5. Outros autores também observaram aumento da flexibilidade com a adição de álcool polivinílico. Shogren,

Lawton e Tiefenbacher (2002) observaram que a flexibilidade das espumas de amido de milho aumentou significativamente com a adição de PVA e levemente com a adição de fibras, evidenciando que o álcool polivinílico é uma boa escolha para o melhoramento da flexibilidade desses produtos. Cinelli et al. (2006) verificaram que a adição de álcool polivinílico (10 – 30 %) na massa de amido de batata proporcionou maior flexibilidade e resistência às espumas, fato também observado nesse trabalho. O aumento da flexibilidade proporcionado pelo álcool polivinílico pode estar vinculado com a sua alta compatibilidade com o amido e com a morfologia adquirida pelas bandejas.

5.3.6 Microscopia Eletrônica de Varredura

A análise de micrografia de fratura (Figura 31) das bandejas de bagaço de mandioca e álcool polivinílico (PVA) demonstrou que as espumas apresentaram também uma estrutura tipo sanduíche, descrita anteriormente neste trabalho para as bandejas produzidas na etapa anterior. Observou-se também a presença de alvéolos no interior da estrutura. Em comparação com a bandeja F100, as amostras com PVA (PVA 2,5, PVA 5,0, PVA 7,5 e PVA 10,0) apresentaram alvéolos maiores e em maior quantidade. A análise de micrografia de fratura encontra-se de acordo com o teste de densidade e espessura (item 5.3.4), pois as amostras tratadas com PVA apresentaram menor densidade e maior espessura, oriundo da maior quantidade de alvéolos.

Figura 31 - Micrografias das fraturas das bandejas de bagaço de mandioca e álcool polivinílico com aumento de 50 vezes. (A) F100, (B) PVA 2,5, (C) PVA 5,0, (D) PVA 7,5 e (E) PVA 10,0



Os resultados obtidos encontram-se de acordo com Mali et al. (2010a) e Iriani et al. (2012), os quais também verificaram a obtenção de estruturas mais expandidas com a introdução do álcool polivinílico em compósitos de amido e fibras vegetais. Iriani et al. (2012) observou que em proporções moderadas o PVA e a fibra podem atuar como reforços, mas quando empregados em elevadas quantidades é difícil se obter uma distribuição homogênea dos mesmos, fato que pode diminuir a capacidade de expansão das espumas.

Em geral, as bandejas de bagaço de mandioca tratadas com pequenas proporções de PVA apresentaram estruturas internas mais homogêneas, com maiores alvéolos e com bons resultados das propriedades mecânicas, o que pode ser um indicativo do emprego desse aditivo para o aprimoramento das embalagens biodegradáveis.

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

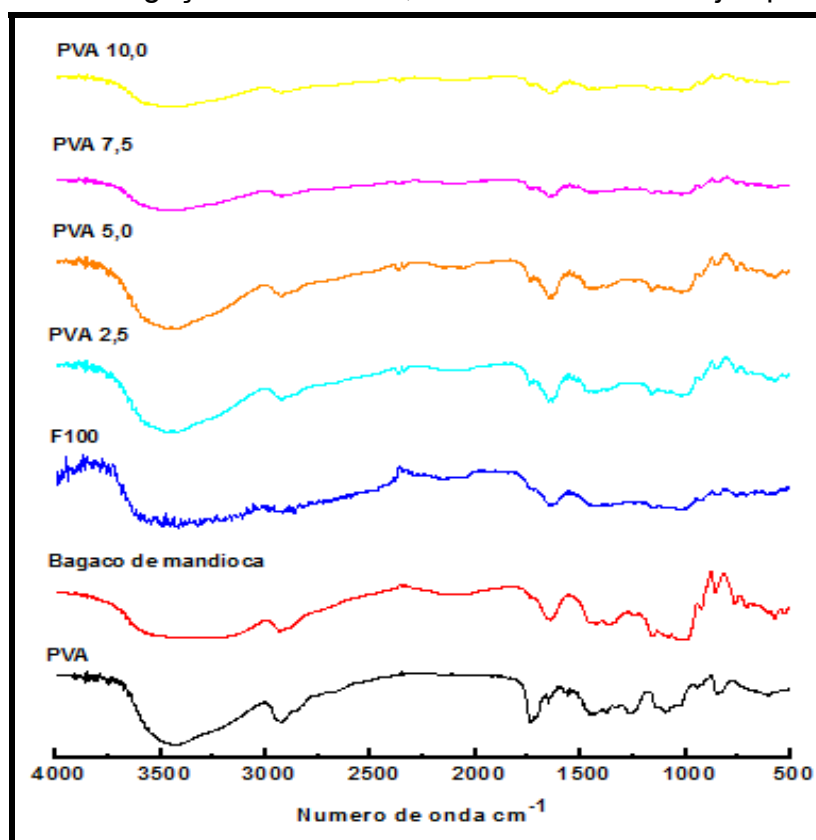
Na Tabela 26 e Figura 32 encontram-se as principais bandas observadas no espectro de infravermelho das bandejas de bagaço de mandioca e álcool polivinílico.

Tabela 26 - Principais bandas observadas nos espectros de infravermelho do bagaço de mandioca, PVA, da bandeja F100 e das bandejas de bagaço de mandioca e PVA

Referente à	Bagaço de mandioca	PVA	Bandeja F100	Bandejas com bagaço e PVA
Estiramento O-H ^a	3200 a 3600	3200 a 3550 ^A	3322 a 3470	3200 a 3550 ^A
Estiramento C-H ^b	2889 a 2934	2934 ^B	2934 ^B	2934 ^B
OH – água ^c	1647	-	1647	1650
Estiramento C=O ^d	1740	1735 ^C , 1424 ^D	1740	1740
Estiramento C-O-C ^e	980 a 1170	1090 ^D	980 a 1170	980 a 1170
Deformação angular da ligação C-H ^e	1372 a 1460	-	1372 a 1460	1372 a 1460

Fonte: ^(a) Williams e Onwudili (2006); ^(b) Tongdeesoontorn et al. (2011); ^(c) Mulinari et al. (2009); ^(d) Kaewtatip e Thongmee (2012); ^(e) Kaewtatip e Tanrattanakul (2008); ^(A) Silvestein 1991; ^(B) Udrea et al. (2011); ^(C) Zia et al. (2011); ^(D) Mallakpour; Barati, (2011).

Figura 32 - Principais bandas observadas nos espectros de infravermelho do bagaço de mandioca, do PVA e das bandejas produzidas



Através da análise de FTIR observou-se que ambos os componentes utilizados (bagaço de mandioca e PVA) apresentam espectros de FT-IR bastante semelhantes. O álcool polivinílico apresentou uma banda larga de 3550 a 3200 cm⁻¹, a qual está relacionada com o estiramento O-H das ligações de hidrogênio intermoleculares e intramoleculares (SILVERSTEIN, 1991). A banda correspondente ao estiramento OH para as bandejas apresentou-se mais estreita variando de 3455 a 3300 cm⁻¹. Como relatado anteriormente, o estreitamento da banda e o deslocamento para um número menor de onda pode estar relacionado com a formação de novas interações de hidrogênio entre os constituintes empregados na formulação (DAÍ et al., 2009).

O pico de 2934 cm⁻¹, que é característico do estiramento C-H foi observado tanto no PVA puro como nas bandejas produzidas (UREDA et al., 2011). No PVA puro foi observado também um pico de 1735 cm⁻¹ que corresponde ao grupamento éster não hidrolisado do grupo funcional poliacetato de polivinila (PVAc) (ZIA et al., 2011). Os picos entre 1424 a 1090 cm⁻¹ demonstram os estiramentos

C=O e C-O-C do grupamento éster, respectivamente presente nos acetatos remanescentes do PVA (MALLAKPOUR; BARATI, 2011).

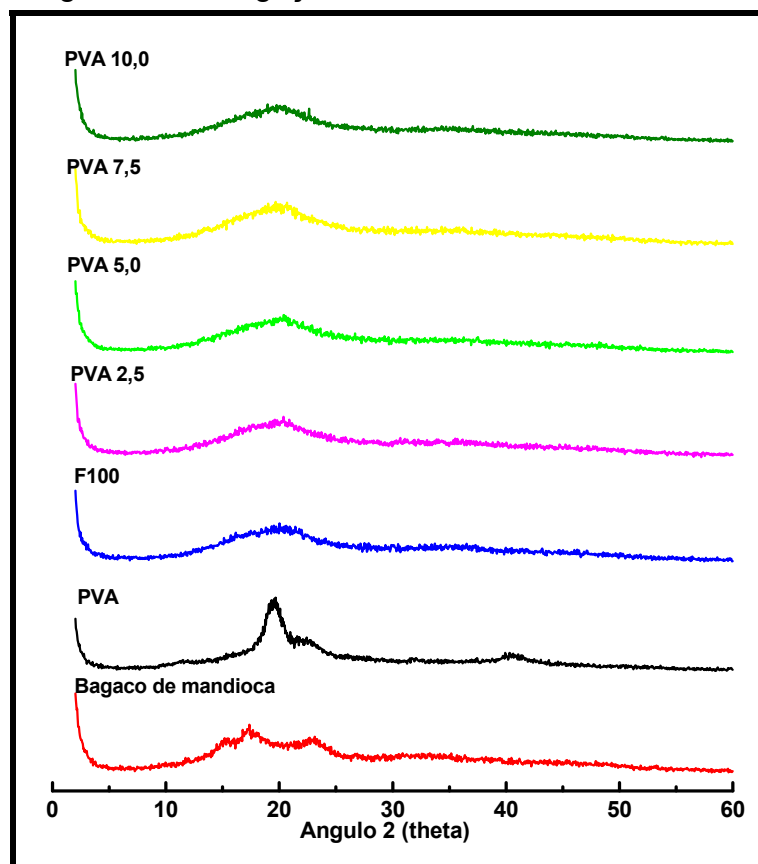
Nos espectros das bandejas de bagaço e PVA foi observado o pico de 1650 cm^{-1} , o qual está presente no bagaço de mandioca e F100 que corresponde a grupamento OH oriundo de moléculas de água (MULINARI et al., 2009). Observou-se também uma pequena banda em 1740 cm^{-1} , o qual é característico do estiramento C=O dos grupos acetatos presente na hemicelulose, celulose e dos grupos acetato do PVA (KAEWTATIP; THONGMEE, 2012).

As bandas entre 1372 a 1460 cm^{-1} e 980 a 1170 cm^{-1} , já foram descritas anteriormente e pertencem à deformação angular da ligação C-H, e aos estiramentos de alcoóis secundários e primários e de éteres C-O-C presentes nas cadeias poliméricas dos carboidratos (KAEWTATIP; TANRATTANAKUL, 2008).

Novamente, a análise de FTIR revelou que os componentes presentes nas bandejas produzidas apresentaram interação, em especial ligações de hidrogênio, característica bastante interessante para esses produtos.

5.3.8 Difração de Raios-X

A análise de difração de raios X e o índice de cristalinidade das bandejas de bagaço de mandioca e álcool polivinílico encontram-se na Figura 33 e na Tabela 27 respectivamente. Observou-se que tanto o PVA como o bagaço de mandioca apresentam uma estrutura semicristalina, com picos característicos presentes. Dois picos foram observados para o álcool polivinílico, um de maior intensidade aparece aproximadamente em $2\theta = 19,5^\circ$ e outro menos definido ($2\theta = 23^\circ$). Os resultados obtidos encontram de acordo com Costa, Mansur (2008), Mallakpour, Barati (2011) e Tripathi et al. (2012). O bagaço de mandioca apresentou picos em $2\theta = 15^\circ$, $17,5^\circ$ e 23° , os quais já foram discutidos anteriormente.

Figura 33 - Difratomogramas do bagaço de mandioca, PVA e das bandejas produzidas

Em todas as bandejas produzidas (PVA 2,5, PVA 5,0, PVA 7,5 e PVA 10,0) observou-se que as frações cristalinas, tanto do bagaço de mandioca, como do álcool polivinílico, foram destruídas em decorrência da gelatinização do amido presente no bagaço e da fusão do PVA, ocorridas durante o processo de termoformagem. Os resultados encontram-se de acordo com Faria, Vercelheze, Mali (2012) e Vercelheze et al. (2012a), que também observaram a perda da estrutura cristalina das amostras após o processamento térmico.

Tabela 27 - Índice de cristalinidade das bandejas de bagaço de mandioca e PVA

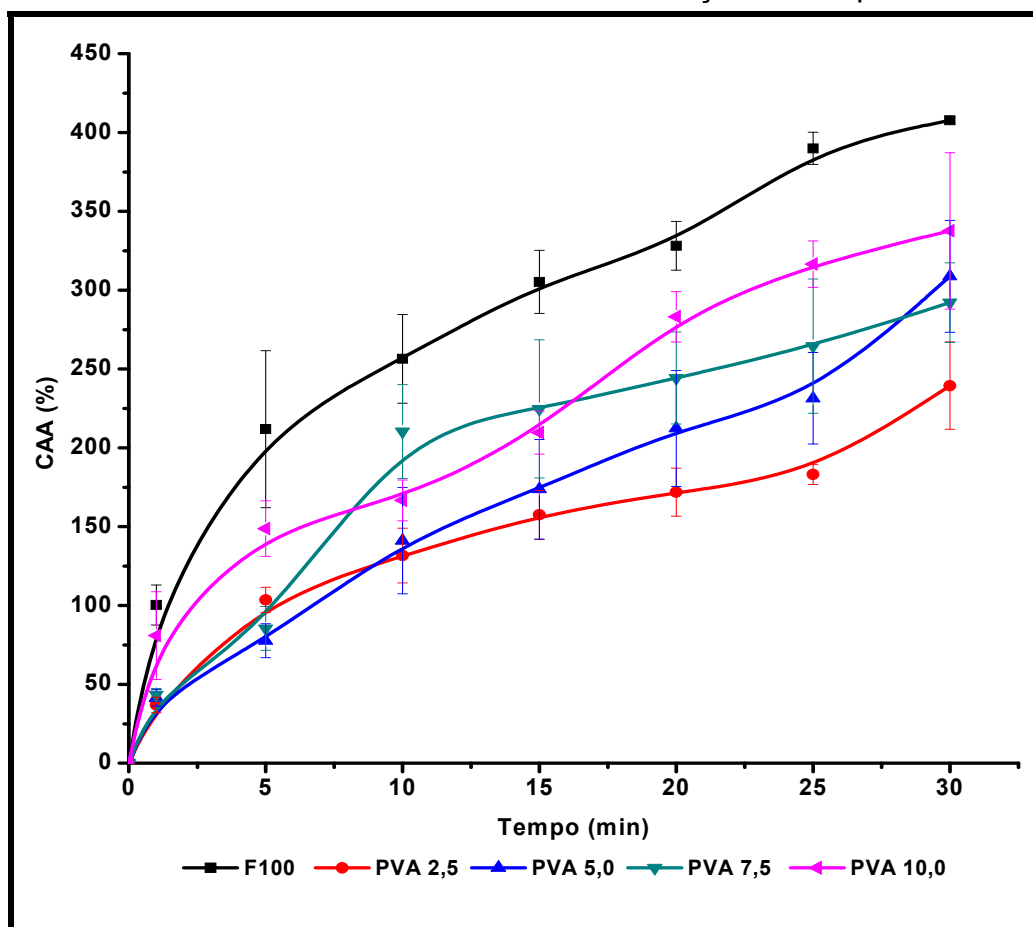
Amostra	Índice de Cristalinidade (%)
Bagaço de mandioca	21,08
PVA	25,44
F100	4,52
PVA 2,5	5,10
PVA 5,0	5,30
PVA 7,5	6,12
PVA 10,0	6,15

O índice de cristalinidade (Tabela 27) foi de 21,08 e 25,44 % para o bagaço de mandioca e PVA, respectivamente. Os resultados encontram-se de acordo com Costa, Mansur (2008) e Pasquini et al. (2010). Para as bandejas de bagaço de mandioca e PVA o índice de cristalinidade variou de 5,10 a 6,15 %, sendo menor do que os constituintes antes do processo de termoformagem. Os resultados obtidos encontram-se de acordo com Vercelheze et al. (2012a). Novamente, a análise de difração de raios X revelou que as bandejas de amido e bagaço de mandioca foram formadas por matrizes poliméricas amorfas após o processo de termoformagem.

5.3.9 Capacidade de Absorção de Água

Na Figura 34 encontram-se os resultados da análise da capacidade de absorção de água (CAA) para as amostras de bagaço de mandioca e álcool polivinílico em diferentes tempos (1, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos). Em geral, a CAA de todas as amostras apresentou um comportamento bastante semelhante, com aumento em função do tempo de imersão.

Figura 34 - Capacidade de absorção de água das bandejas de bagaço de mandioca e PVA em função do tempo



De acordo com o gráfico acima (Figura 34), a CAA da bandeja F100 foi maior em todos os tempos de imersão quando comparada às amostras adicionadas de PVA, variando de 50,38 a 305,06 %, mostrando que a adição de PVA pode ser efetiva para melhorar esta propriedade nas amostras estudadas. Cinelli et al. (2006) também observaram uma diminuição da CAA de bandejas amido com fibra de milho adicionadas de álcool polivinílico.

Dentre as amostras adicionadas de PVA, a amostra PVA 2,5 apresentou os menores valores para a CAA, que variaram de 36,92 a 199,44 %, enquanto que a amostra PVA 10 apresentou os maiores valores, que variaram entre 80,86 a 337,55 %, em especial nos tempos entre 20 e 30 min de imersão (Figura 34).

Segundo Mali et al. (2010a) espumas de amido, PVA e fibra resultam em materiais com menor capacidade de interação com a água. O decréscimo da capacidade de absorção pode ser devido à menor higroscopicidade

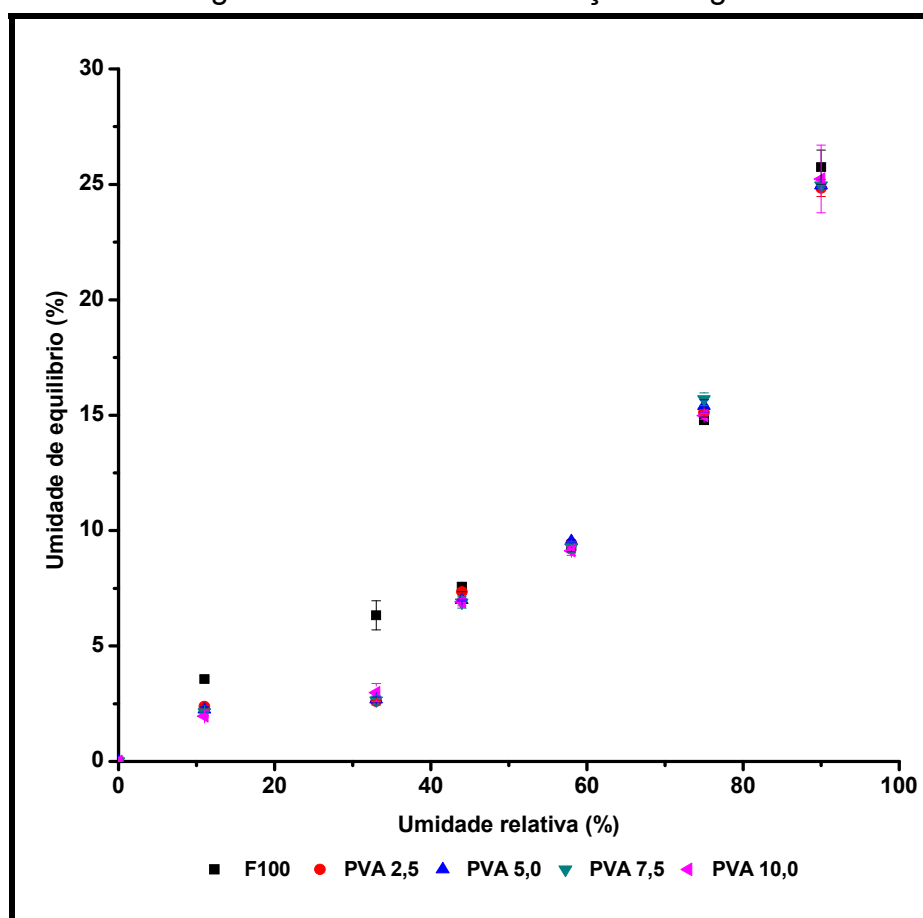
do PVA quando comparado com o amido (PREECHAWONG et al., 2004; FOLLAIN et al., 2005). No entanto, observou-se neste trabalho, que quando o PVA foi utilizado nas maiores proporções (7,5 e 10 %), houve um aumento da CAA das amostras. Possivelmente, como o PVA também apresenta uma natureza hidrofílica, que depende diretamente do seu grau de hidrólise e peso molecular, quando adicionado em proporções superiores à sua capacidade de interação com a matriz polimérica, isto resulte em aumento da CAA, mostrando que a quantidade adicionada deve ser determinada dependendo do tipo de amostra e do tipo de PVA adicionado, afim de não acentuar ainda mais a CAA das espumas.

5.3.10 Isotermas de Sorção de Água

Na Figura 35 encontram-se plotados os resultados experimentais das isotermas de sorção das bandejas de bagaço de mandioca e álcool polivinílico. Observou-se que as bandejas (F100, PVA 2,5, PVA 5,0, PVA 7,5 e PVA 10,0) apresentaram curvas similares para as suas isotermas de sorção, com forma sigmóide, sendo classificadas como isotermas do tipo II, característica de produtos hidrofílicos (BRUNAUER; EMMETT; TELLER, 1938).

A bandeja F100 mostrou um aumento da umidade de equilíbrio (%) entre as UR de 11 e 33 % em relação às amostras tratadas com PVA (Figura 35). As interações entre os componentes do bagaço de mandioca e o PVA são do tipo ligações de hidrogênio, que ocorrem entre os grupamentos hidroxila presentes nestes compostos, sendo que estas interações podem substituir em certo grau as interações que a matriz polimérica faria com a água, diminuindo a difusão da água no sistema e favorecendo uma maior estabilidade para esses materiais (FARIA; VERCELHEZE; MALI, 2012).

Figura 35 - Isotermas de sorção de água



Observou-se também nesta etapa do trabalho que o formato das bandejas de bagaço de mandioca e PVA durante o período de condicionamento permaneceu estável (sem alterações dimensionais), independente da UR de armazenamento.

Considerando-se todas as propriedades estudadas, em especial a CAA, no qual a bandeja PVA 2,5 apresentou resultados significativamente melhores, optou-se por selecionar para a próxima etapa a formulação contendo bagaço de mandioca e 2,5 % de álcool polivinílico. Além disso, a bandeja PVA 2,5 apresentou o menor custo de produção, já que foi a amostra em que foi adicionada a menor quantidade de PVA dentre as estudadas neste trabalho. Na etapa seguinte avaliou-se o efeito antimicrobiano do óleo essencial de cravo e de orégano, em diferentes concentrações e frente a vários microrganismos, assim como a aplicação destes dois antimicrobianos na bandeja de bagaço de mandioca com adição de 2,5% de PVA (PVA 2,5), formando então as embalagens biodegradáveis ativas.

5.4 QUARTA ETAPA: INCORPORAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NAS BANDEJAS

5.4.1 Avaliação da Capacidade Antimicrobiana dos Óleos Essenciais de Cravo e Orégano

Para a avaliação da capacidade antimicrobiana dos óleos empregou-se a técnica de disco-difusão, sendo que os dados obtidos encontram-se na Tabela 28 e na Figura 36 para o óleo essencial de cravo (OEC) (*Eugenia caryophyllata*) e, Tabela 29 e na Figura 37 para o óleo essencial de orégano (OEO) (*Origanum vulgare*). A concentração inibitória mínima (MIC) também foi determinada para OEC e OEO (Tabela 30).

Tabela 28 - Análise da capacidade antimicrobiana do óleo essencial cravo

Microrganismos	<i>In natura</i>				Com aquecimento			
	Volume (µL)							
	1	2	5	10	1	2	5	10
	Halo de inibição (mm)							
<i>S. aureus</i>	20	25	28	30	20	25	28	30
<i>B. cereus</i>	10	12	17	17	10	12	17	17
<i>S. mutans</i>	8	10	12	13	8	10	12	13
<i>E. faecalis</i>	9	10	12	13	9	10	12	13
<i>E. coli</i>	10	12	14	15	10	12	14	15
<i>S. Typhimurium</i>	10	12	13	13	10	12	13	13
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	8	10	0	0	8	10
<i>C. albicans</i>	30	35	IT	IT	30	35	IT	IT
<i>A. niger</i>	30	40	41	50	30	40	41	50
<i>Penicillium sp</i>	30	42	50	55	30	42	50	55
MRSA	15	16	16	19	15	16	16	19

*IT (inibição total)

Figura 36 - Teste de disco difusão utilizando 5 μ L de OEC: (A) *S. aureus*; (B) *B. cereus*; (C) *S. mutans*; (D) *E. faecalis*; (E) *E. coli*; (F) *S. Typhimurium*; (G) *P. aeruginosa*; (H) *C. albicans*; (I) *A. niger*; (J) *Penicillium sp*; (L) MRSA

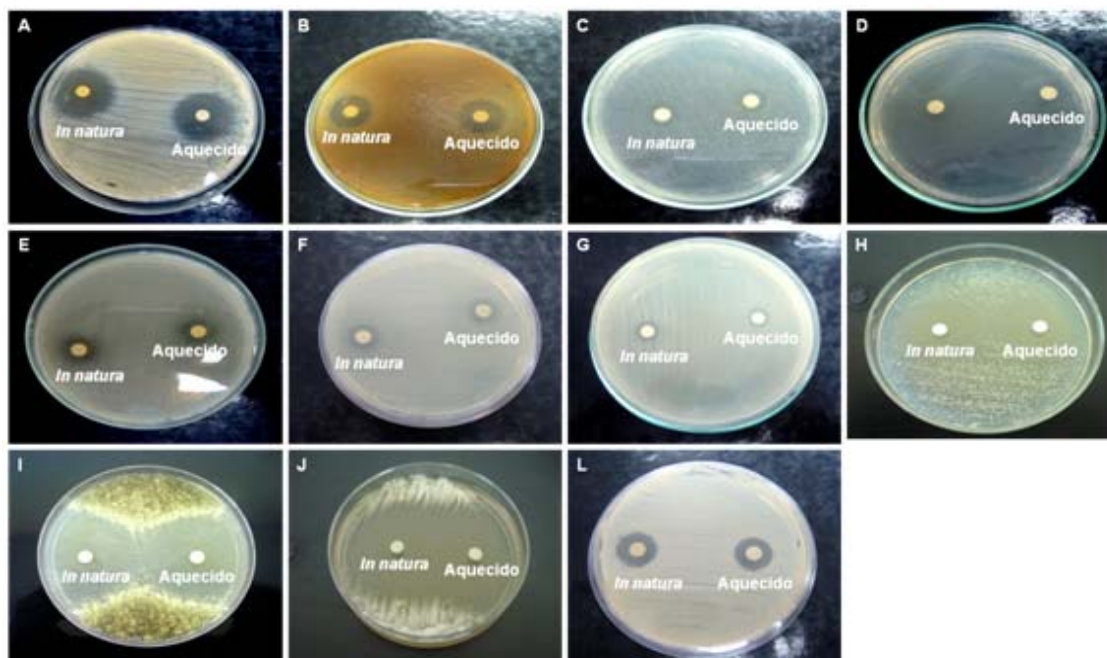


Tabela 29 - Análise da capacidade antimicrobiana do óleo essencial orégano

Microrganismos	<i>In natura</i>				Com aquecimento			
	Volume (μ L)							
	1	2	5	10	1	2	5	10
	Halo de inibição (mm)							
<i>S. aureus</i>	20	30	50	60	20	30	50	60
<i>B. cereus</i>	35	38	39	39	35	38	39	39
<i>S. mutans</i>	10	18	25	27	10	18	25	27
<i>E. faecalis</i>	8	10	12	13	8	10	12	13
<i>E. coli</i>	10	19	23	30	10	19	23	30
<i>S. Typhimurium</i>	17	20	22	30	17	20	22	30
<i>P. aeruginosa</i>	7	7,5	8	12	7	7,5	8	12
<i>C. albicans</i>	47	65	IT	IT	47	65	IT	IT
<i>A. niger</i>	45	70	IT	IT	45	70	IT	IT
<i>Penicillium sp</i>	IT	IT	IT	IT	IT	IT	IT	IT
MRSA	30	32	34	35	30	32	34	35

*IT (inibição total)

Figura 37 - Teste de disco difusão utilizando 5 µL de OEO: (A) *S. aureus*; (B) *B. cereus*; (C) *S. mutans*; (D) *E. faecalis*; (E) *E. coli*; (F) *S. Typhimurium*; (G) *P. aeruginosa*; (H) *C. albicans*; (I) *A. niger*; (J) *Penicillium sp*; (L) MRSA

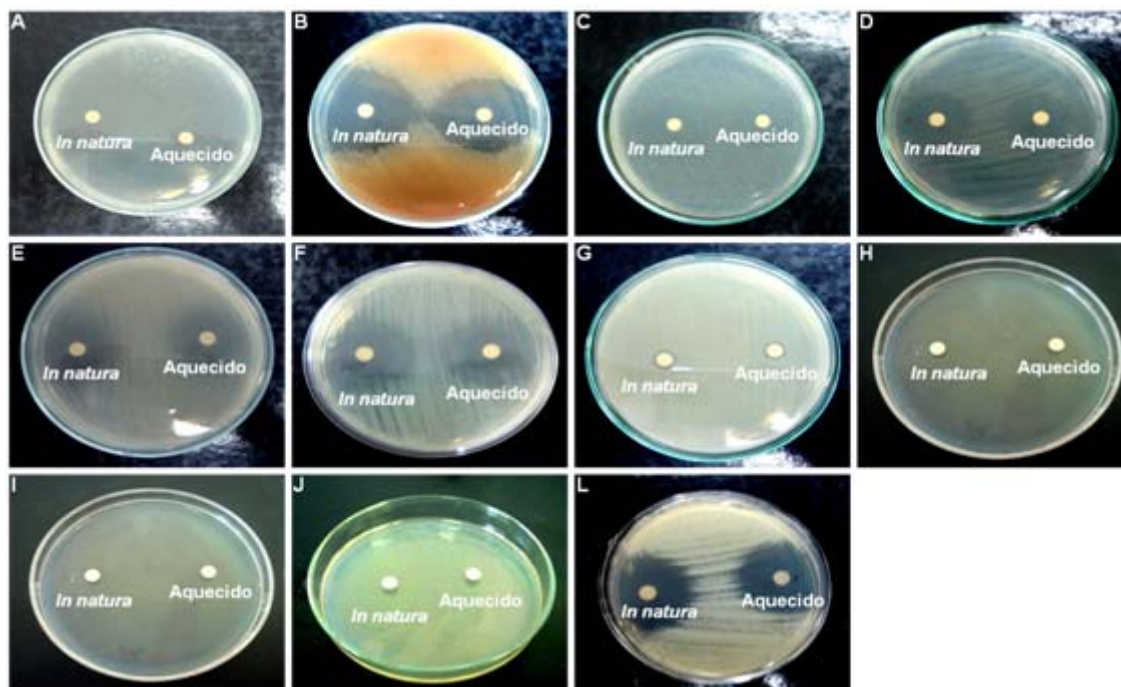


Tabela 30 - Concentração inibitória mínima (MIC) para o óleo essencial de cravo e orégano

Microrganismo	MIC			
	OEC µg/mL*	OEC µg/mL**	OEO µg/mL*	OEO µg/mL**
<i>S. aureus</i>	5,00	5,00	0,63	0,63
<i>B. cereus</i>	5,00	5,00	0,63	0,63
<i>E. coli</i>	10,00	10,00	1,25	1,25
<i>S. Typhimurium</i>	10,00	10,00	1,25	1,25
<i>S. mutans</i>	5,00	5,00	0,63	0,63
<i>E. faecalis</i>	10,00	10,00	10,00	10,00
<i>C. albicans</i>	1,25	1,25	0,63	0,63
<i>A. niger</i>	1,25	1,25	0,63	0,63
<i>Penicillium sp</i>	1,25	1,25	0,63	0,63
MRSA	10,00	10,00	0,63	0,63

* (*in natura*); ** (com aquecimento)

Ambos os óleos apresentaram efeito antimicrobiano, não havendo diferença entre o óleo *in natura* e o aquecido (Tabela 28, Figura 36, Tabela 29, Figura 37). Os maiores halos de inibição foram obtido pelos os fungos (*A. niger* e

Penicillium sp), seguidos de bactérias Gram positivas (*S. aureus*, *B. cereus* e MRSA), Gram negativas (*E. coli*, *S. Typhimurium* e *P. aeruginosa*), juntamente com *E. faecalis* e *S. mutans*. Foi observado, também, que o aumento do halo de inibição foi proporcional ao volume do OE empregado. Segundo Oliveira et al. (2006), cerca de 60 % dos óleos essenciais possuem propriedades antifúngicas e 35 % exibem propriedades antibacterianas.

A baixa sensibilidade tanto do OEC como OEO para *S. mutans*, *E. faecalis* e *P. aeruginosa* pode estar vinculada a resistência intrínseca a vários antimicrobianos, a qual é aprimorada com capacidade de aquisição de resistência e com a capacidade de formação de biofilme por essas bactérias, o qual as protege contra a ação de agentes antimicrobianos e de fagócitos (TAVARES, 2000; WHITELEY et al., 2001; YOSHIDA; KURAMITSU, 2002; GIRAFFA et al., 2002; PARADELLA; KOGA-ITO; JORGE, 2007).

Os resultados da concentração inibitória mínima (MIC) (Tabela 30) mostraram a mesma tendência observada para o teste de disco-difusão, a menor MIC foi obtida para o OEO contra fungos e bactérias Gram positivas ($0,625 \mu\text{g mL}^{-1}$) (exceção da *E. faecalis*). O OEC apresentou MIC variando de 1,25 a $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ e o OEO de $0,625$ a $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. De acordo com Burt (2004), os componentes dos OEs que apresentam efeito antimicrobiano (timol, eugenol, cinemaldeído, ácido cinâmico etc) possuem concentração inibitória mínima entre $0,05$ a $5,00 \mu\text{L mL}^{-1}$. As pequenas variações apresentadas podem ser provenientes das particularidades de cada microrganismo juntamente com o óleo a ser analisado (NASCIMENTO et al., 2007).

Omidbeygi et al. (2007) avaliaram a atividade antifúngica do OE de *Satureja hortensis*, tomilho e cravo. Os resultados demonstraram que todos os óleos essenciais inibiram o crescimento de *A. flavus*. Kocic-Tanackov et al. (2012) demonstraram que o aumento da concentração do extrato de orégano (1,5 e 2,5 mL/100 mL) causou ausência ou atraso na germinação de esporos de fungos, apresentando diferentes efeitos inibitórios, tais como: deformação das hifas (espessamento ou fragmentação) e alteração dos órgãos reprodutivos (presença de vesículas irregulares muitas vezes sem métula ou fiálides). Teixeira et al. (2013) analisaram o efeito antimicrobiano de 17 óleos essenciais (entre eles o de cravo e orégano) frente a diferentes bactérias (*Brochothrix thermosphacta*, *Escherichia coli*, *Listeria innocua*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas putida*, *Salmonella typhimurium* e *Shewanella putrefaciens*) e observaram que todos os óleos testados

apresentaram efeito antibacteriano, sendo os mais potentes os de orégano, citronela e alho.

As bactérias Gram positivas demonstraram-se mais susceptíveis que as Gram negativas para ambos os óleos testados neste trabalho, os resultados encontram-se de acordo com os relatados por outros autores (HAMMER, CARSON; RILEY, 1999; MARINO; BERSANI; COMI, 2001; CIMANGA et al., 2002; DELAQUIS et al., 2002; PINTORE et al., 2002; HARPAZ et al., 2003; SILVA et al., 2009; ÖZKALP et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2013). Segundo Burt (2004), bactérias Gram negativas são menos susceptíveis a ação dos óleos essenciais, uma vez que possuem uma membrana externa composta por lipopolissacarídeos, a qual circunda a camada de peptidoglicana e que limita a difusão de compostos hidrofóbicos, como é o caso dos óleos empregados.

De acordo com os resultados, o OEO apresentou maior efeito inibitório para todos os microrganismos testados, em comparação com OEC. Outros autores também observaram a elevada capacidade antimicrobiana do óleo essencial de orégano (VÁGI et al., 2005; ÖZKALP et al. 2010; KOCIC-TANACKOV et al., 2012). Segundo esses autores, o efeito antimicrobiano do OEO relaciona-se com a elevada quantidade compostos voláteis e fenólicos (principalmente timol e carvacrol), bem como a interação entre eles. Entre os mecanismos exercidos para seu efeito antimicrobiano podemos citar: degradação da parede celular, danos à membrana citoplasmática, perda de constituintes celulares, coagulação do citoplasma e rompimento da força próton-motriz. Na maioria das vezes os mecanismos não funcionam como alvos separados e podem ocorrer em consequência de outros (BURT, 2004).

Em virtude da elevada capacidade antimicrobiana dos óleos contra fungos e bactérias Gram positivas e negativas, os mesmos foram incorporados na bandeja de formulação PVA 2,5 para a produção de embalagem biodegradável ativa.

5.4.2 Avaliação da Atividade Antimicrobiana das Bandejas Biodegradáveis Após a Incorporação Dos OEs de Cravo e Orégano

Devido às condições (alta temperatura e pressão) empregadas durante a termoformagem, foram avaliados dois processos (pincelamento e

incorporação direta) para a incorporação OEC e OEO, no qual a quantidade dos antimicrobianos utilizados foi determinada em ensaios preliminares. Em ambos os processos, as bandejas apresentaram boa aparência, sem furos ou rachaduras. Além disso, as bandejas formadas pela incorporação direta e por pincelamento (até 5 %) não apresentaram odor e aspecto oleoso. Entretanto, quando foi incorporado principalmente o OEO, as bandejas, avaliadas visualmente, desenvolveram uma coloração amarela. Resultados similares foram obtidos por outros autores em filmes biodegradáveis com OEs (PRANOTO; RAKSHIT; SALOKHE, 2005; BENAVIDES; VILLALOBOS-CARVAJAL; REYES, 2012). Nas Figuras 38 e 39 encontram-se as bandejas de bagaço de mandioca e 2,5 % de álcool polivinílico com óleo essencial de cravo e orégano, respectivamente.

Figura 38 - Embalagens biodegradáveis ativas com OEC. (A) 2,5 % pincelamento; (B) 5 % pincelamento; (C) 7,5 % pincelamento; (D) 6,5 % incorporação direta; (E) 8,5 % incorporação direta; (F) 10 % incorporação direta

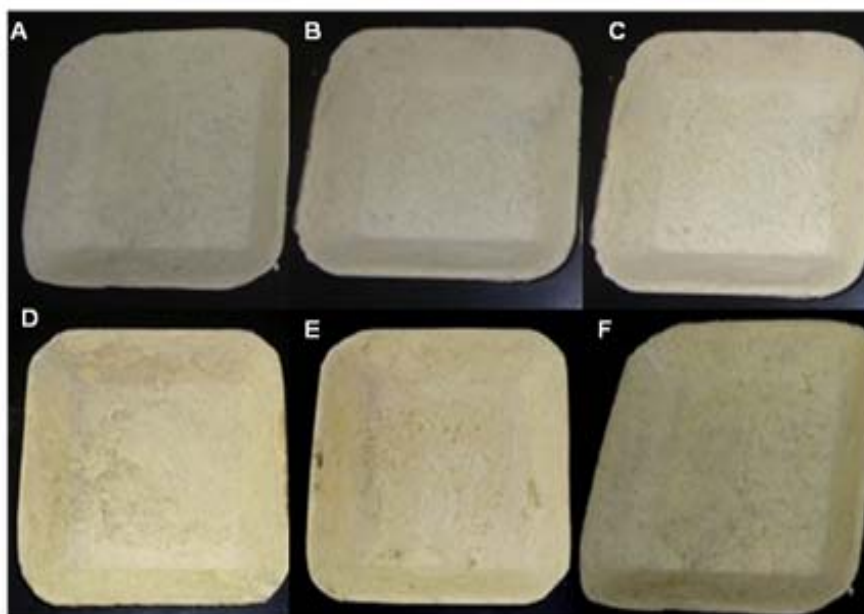
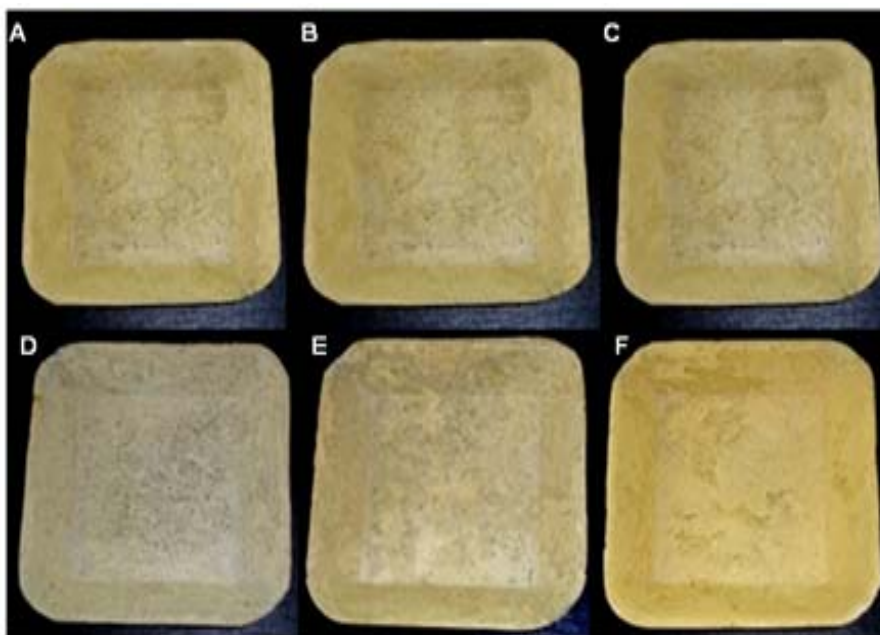


Figura 39 - Embalagens biodegradáveis ativas com OEO. (A) 2,5 % pincelamento; (B) 5 % pincelamento; (C) 7,5 % pincelamento; (D) 6,5 % incorporação direta; (E) 8,5 % incorporação direta; (F) 10 % incorporação direta



Os efeitos antimicrobianos das bandejas contendo o OEO encontram-se na Tabela 31 e Figura 40 e, das bandejas contendo o OEO na Tabela 32 e Figura 41. Tanto as bandejas com OEC, quanto as com OEO, apresentaram halos de inibição frente aos diferentes microrganismos testados (Tabelas 31 e 32), no entanto, o óleo essencial de orégano apresentou maior efeito antimicrobiano em ambos os processos para todos os microrganismos testados. Este maior efeito do OEO está de acordo com os resultados obtidos para os óleos puros, quando o OEO já havia apresentado os melhores resultados, e essa tendência se manteve após o processamento das bandejas. A atividade antimicrobiana do óleo essencial de orégano pode estar relacionada com a elevada concentração de timol e carvacrol juntamente com outros componentes de menor quantidade, bem como a interação entre eles (LAMBERT et al., 2001; TYAGI; MALIK, 2011).

O processo de pincelamento foi o método que mais preservou a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais (Tabelas 31 e 32). A alta temperatura e pressão, juntamente com processo de mistura e a interação entre o óleo e matriz polimérica, podem ter diminuído o efeito antimicrobiano dos óleos pelo processo de incorporação direta, em que os OEs foram adicionados antes do processamento térmico das bandejas por termoformagem. Além disso, observou-se que a atividade antimicrobiana do óleo essencial *in natura* (item 5.4.1) foi maior que após sua

incorporação na bandeja PVA 2,5. Esse fato também foi observado por Benavides, Villalobos-Carvaja e Reyes (2012) em filmes de alginato com OEO.

Tabela 31 - Atividade antimicrobiana do óleo essencial de cravo pelo método do disco-difusão

Microrganismos	Processo (%)						
	Pincelamento ^a				Incorporação Direta ^a		
	Halo de inibição (mm)						
	Controle	2,5 %	5,0 %	7,5 %	6,5 %	8,5 %	10,0 %
<i>S. aureus</i>	0 ± 0 c, A	3,33 ± 5,77 b, B	25 ± 0 a, B	25,67 ± 1,15 a, B	0 ± 0 c, B	0 ± 0 c, B	0 ± 0 c, B
<i>B. cereus</i>	0 ± 0 c, A	0 ± 0 c, C	11,67 ± 1,15 b, D	15 ± 0 a, C	0 ± 0 c, B	0 ± 0 c, B	0 ± 0 c, B
<i>E. coli</i>	0 ± 0 c, A	0 ± 0 c, B	15 ± 1 b, C	16,33 ± 0,58 a, C	0 ± 0 c, B	0 ± 0 c, B	0 ± 0 c, B
<i>S. Typhimurium</i>	0 ± 0 c, A	0 ± 0 c, B	13,33 ± 0,58 b, C	15 ± 0 a, C	0 ± 0 c, B	0 ± 0 b, B	0 ± 0 c, B
<i>S. mutans</i>	0 ± 0 b, A	0 ± 0 b, B	10,33 ± 0,58 a, D	11,33 ± 1,15 a, C	0 ± 0 b, B	0 ± 0 b, B	0 ± 0 b, B
<i>E. faecalis</i>	0 ± 0 b, A	0 ± 0 b, B	11 ± 1 a, D	11 ± 1 a, C	0 ± 0 b, B	0 ± 0 b, B	0 ± 0 b, B
<i>C. albicans</i>	0 ± 0 E, A	14,67 ± 2,52 d, A	40 ± 0 a, A	40 ± 0 a, A	14 ± 1,73 d, A	20,67 ± 1,15 c, A	27,67 ± 1,15 b, A
<i>A. niger</i>	0 ± 0 b, A	0 ± 0 b, B	39,33 ± 1,15 a, A	40 ± 0 a, A	0 ± 0 b, B	0 ± 0 b, B	0 ± 0 b, B
<i>Penicillium sp</i>	0 ± 0 c, A	0 ± 0 c, B	22,67 ± 1,15 b, B	25,67 ± 1,15 a, B	0 ± 0 c, B	0 ± 0 c, B	0 ± 0 c, B
MRSA	0 ± 0 c, A	17,33 ± 0,58 a, C	17,33 ± 0,58 a, C	0 ± 0 c, C	0 ± 0 c, B	0 ± 0 c, B	0 ± 0 c, B

^a – a porcentagem foi calculada em relação ao peso da bandeja.

*Letras minúsculas diferentes na mesma linha significam diferença estatística (Teste Tukey $p \leq 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna significam diferença estatística (Teste Tukey $p \leq 0,05$).

Figura 40 - Antibiogramas das bandejas de bagaço de mandioca com PVA (2,5%) e OEC (5%) aplicado pelo processo de pincelamento. (A) *S. aureus*; (B) *B. cereus*; (C) *S. mutans*; (D) *E. faecalis*; (E) *E. coli*; (F) *S. Typhimurium*; (G) *C. albicans*; (H) *A. niger*, (I) *Penicillium sp*; (J) MRSA

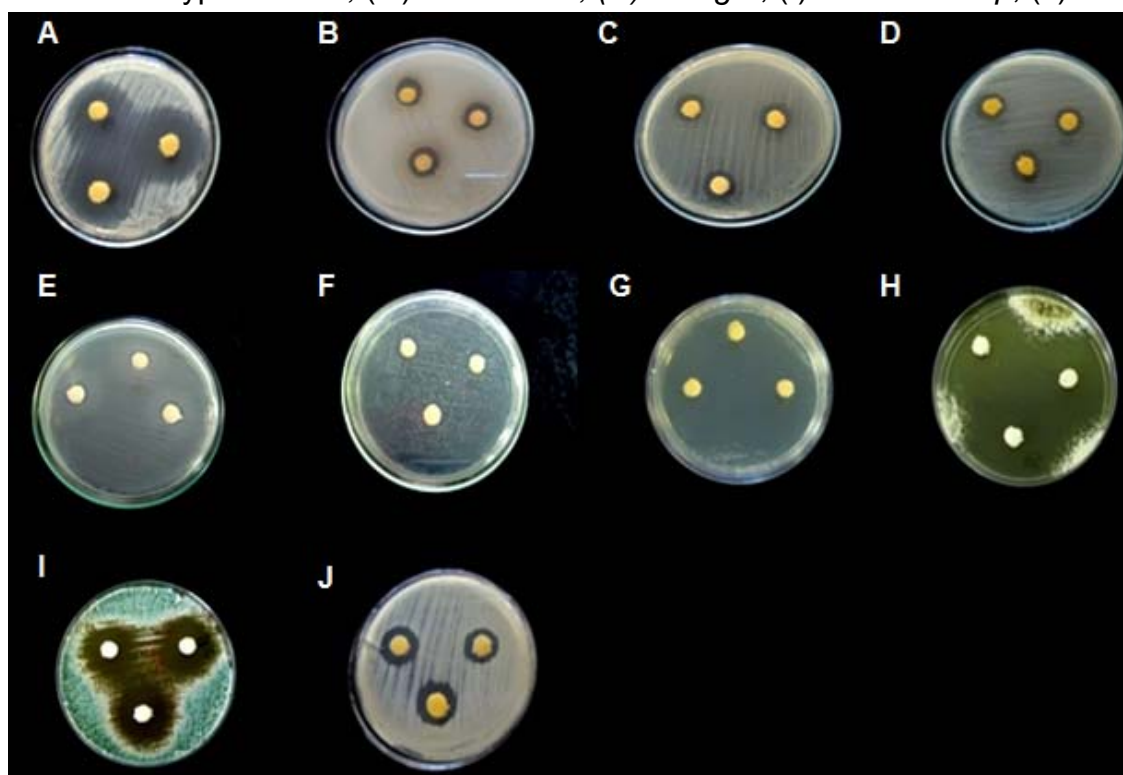


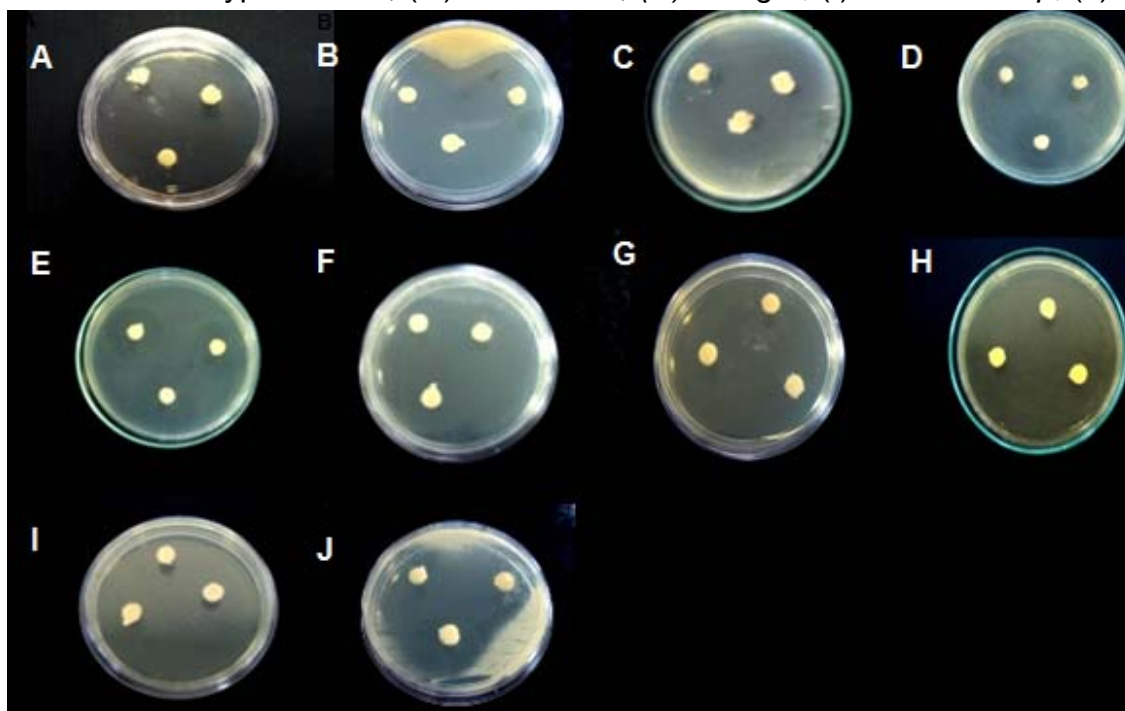
Tabela 32 - Atividade antimicrobiana do óleo essencial de orégano pelo método do disco-difusão

Microrganismos	Processo (%)						
	Pincelamento ^a				Incorporação Direta ^a		
	Controle	2,5	5,0	7,5	6,5	8,5	10
Halo de inibição (mm)							
<i>S. aureus</i>	0 ± 0 c, A	IT	IT	IT	31,33 ± 1,15 b, A	34 ± 1,73b, A	43,33 ± 2,89 a, A
<i>B. cereus</i>	0 ± 0 d, A	35,33 ± 1,52 b, B	45 ± 0 a, A	IT	8,33 ± 7,64 c, d, B	11,33 ± 2,31 c, B	27,33 ± 0,58 b, B
<i>E. coli</i>	0 ± 0 c, A	25,33 ± 0,58 a, D	33,33 ± 1,53 a, D	IT	0 ± 0 c, C	10 ± 8,67 b, C	14,33 ± 1,15 b, D
<i>S. Typhimurium</i>	0 ± 0 c, A	16 ± 2 a, E	25 ± 1 a, C	26,67 ± 2,88 b, B	0 ± 0 c, C	9 ± 7,93 b, c, B	15,67 ± 1,15 b, D
<i>S. mutans</i>	0 ± 0 c, A	8 ± 6,93 b, G	29,00 ± 1,73 a, C	32,00 ± 0 a, A	0 ± 0 c, C	0 ± 0 c, C	12,33 ± 0,58 b, D
<i>E. faecalis</i>	0 ± 0 c, A	0 ± 0 c, G	31 ± 1,73 a, C	33,33 ± 2,89 a, A	0 ± 0 c, C	6 ± 5,29 c, C	15 ± 0 b, D
<i>C. albicans</i>	0 ± 0 c, A	29,33 ± 1,15 b, C	IT	IT	0 ± 0 c, C	31,33 ± 2,31 b, A	38,33 ± 2,89 a, A
<i>A. niger</i>	0 ± 0 d, A	20,33 ± 0,58 c, F	IT	IT	0 ± 0 d, C	27,67 ± 0,58 b, A	41 ± 1,73 a, A
<i>Penicillium sp</i>	0 ± 0 c, A	48,67 ± 1,15 a, A	IT	IT	0 ± 0 c, C	20 ± 17,32 b, A	40 ± 0 a, A
MRSA	0 ± 0 c, A	30,67 ± 1,15 a, C	38,33 ± 2,89 a, B	IT	0 ± 0 c, C	16,67 ± 4,16 b, B	22,33 ± 2,52 b, C

^a – a porcentagem foi calculada em relação ao peso da bandeja. *Letras minúsculas diferentes na mesma linha significam diferença estatística (Teste Tukey $p \leq 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna significam diferença estatística (Teste Tukey $p \leq 0,05$).

*IT – Inibição total

Figura 41 - Antibiogramas das bandejas de bagaço de mandioca com PVA (2,5%) e OEO (5%) aplicado pelo processo de pincelamento. (A) *S. aureus*; (B) *B. cereus*; (C) *S. mutans*; (D) *E. faecalis*; (E) *E. coli*; (F) *S. Typhimurium*; (G) *C. albicans*; (H) *A. niger*, (I) *Penicillium sp*; (J) MRSA



Segundo Sánchez-González et al. (2010), a diminuição da atividade antimicrobiana nas embalagens pode estar relacionada com a perda parcial de compostos voláteis durante sua preparação, em virtude da alta temperatura e pressão empregadas, ou até mesmo com o processo de mistura ineficiente. Pode também estar vinculada com uma taxa de difusão mais lenta dos compostos fenólicos no ágar, devido a sua possível interação entre os grupamentos hidroxilas presentes nas estruturas dos componentes do bagaço de mandioca, do álcool polivinílico e dos óleos essenciais. Os resultados obtidos mostraram que o OEC e o OEO, principalmente pelo processo de pincelamento, podem ser imobilizados em bandejas biodegradáveis e subsequentemente liberados causando a inibição do microrganismo de interesse.

Os maiores halos de inibição foram obtidos para as bandejas com 5 % e 7,5 % ($p \geq 0,05$) de OEO pelo processo de pincelamento. Os fungos (*A. niger* e *Penicillium sp.*), levedura (*C. albicans*) e as bactérias Gram positivas (*S. aureus* e *B. cereus*) mostraram-se mais sensíveis que as bactérias Gram negativas (*E. coli* e *S. Typhimurium*). Avila-Sosa et al (2012) também observaram o efeito antifúngico de

filmes biodegradáveis incorporados com óleo essencial de orégano e canela, os quais inibiram o crescimento de *Aspergillus niger* e *Penicillium digitatum*.

Os resultados encontram-se de acordo com outros autores. Pelissari et al. (2009) produziram filmes de amido e quitosana com OEO e observaram maiores halos de inibição para as bactérias Gram positivas (*B. cereus* e *S. aureus*) e menores para Gram negativas (*S. enteritidis* e *E. coli*). Benavides, Villalobos-Carvajal e Reyes (2012) produziram filmes biodegradáveis de alginato com óleo essencial de orégano e também observaram que este foi mais efetivo contra bactérias Gram positivas (*S. aureus* e *Listeria monocytogenes*) do que para as bactérias Gram negativas (*E. coli* e *S. enteritidis*). De acordo com esses autores, este fato pode estar relacionado com a presença de uma membrana externa adicional nas bactérias Gram negativas, a qual é responsável por diminuir a o efeito antimicrobiano do OEO. Além disso, a ação parcial do óleo de orégano pode estar relacionada com grau de virulência apresentado pelas bactérias (Gram positivas e negativas). Segundo Jay (2005), as bactérias Gram negativas são patogênicas em virtude da sua membrana externa adicional composta por lipopolissacarídeos.

Os menores halos obtidos para *E. faecalis* e *S. mutans* (Tabelas 31 e 32), como ocorreu para os OEs puros, pode estar vinculada com a capacidade de formação de biofilme por essas bactérias, que protegeriam contra a ação de agentes antimicrobianos e de fagócitos (YOSHIDA; KURAMITSU, 2002; PARADELLA; KOGA-ITO; JORGE, 2007).

Com base nas análises dos halos de inibição formados (Tabelas 31 e 32), concluiu-se que as bandejas com adição de 5 % (OEO5PIN) e 7,5 % (OEO7,5PIN) de óleo essencial de orégano aplicado por pincelamento apresentou maior capacidade inibitória para fungos e bactérias Gram positivas (exceção de *S. mutans* e *E. faecalis*) seguidas das Gram negativas, sendo que não houve diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre as mesmas. A amostra OEO5PIN não apresentou odor e coloração característicos do óleo. Outro fato importante é que com uma quantidade relativamente baixa do OEO foi possível conferir à bandeja biodegradável propriedade antimicrobiana, o que se reflete em um menor custo ao produto final. A bandeja PVA 2,5 com 5 % OEO (OEO5PIN) foi então caracterizada posteriormente quanto à estabilidade da sua capacidade antimicrobiana, propriedades mecânicas, capacidade de absorção e isothermas de sorção em água.

5.4.3 Teste de Estabilidade da Atividade Antimicrobiana

Após detectar a efetividade da atividade antimicrobiana das bandejas produzidas frente aos microrganismos testados, foi realizado um teste de estabilidade da atividade antimicrobiana da bandeja que obteve os melhores resultados, contendo 5 % de OEO aplicado por pincelamento (OEO5PIN).

Observou-se que a atividade do óleo não foi alterada com o decorrer dos dias, tanto para *S. aureus*, que obteve halo de inibição total, como para *E. coli*, com halo de 30 mm. Ou seja, em ambos os casos os halos permaneceram estáveis ao longo de todo o período de armazenamento, indicativo de que a bandeja pode ser armazenada por 15 dias sem perder a sua efetividade.

Soultos et al. (2009) avaliaram o efeito da suplementação com óleo essencial de orégano sobre o crescimento microbiano de carcaças de coelho durante o armazenamento e verificaram que o OEO prolongou a preservação das carcaças de 8 a 10 dias, enquanto a amostra controle foi completamente deteriorada em 6 dias de armazenamento. Emiroglu et al. (2010) observaram uma leve diminuição no número de células viáveis em carne moída embalada com filmes de OEO ou tomilho por um período de 3 a 6 dias. Muriel-Galet et al. (2013) estudaram embalagem de atmosfera modificada composta por polipropileno e poli (etileno-co-vinil-álcool) adicionada de OE de orégano ou OE citral, com o propósito de estender vida útil e reduzir possíveis riscos microbiológicos, e os resultados mostraram que as contagens de microrganismos foram reduzidas, especialmente no início do período de armazenamento.

Como já mencionado anteriormente, esse efeito antimicrobiano do OEO pode estar relacionada com a elevada concentração de timol e carvacrol, juntamente com outros componentes de menor quantidade, bem como a interação entre eles (LAMBERT et al., 2001; TYAGI; MALIK, 2011).

5.4.4 Propriedades Mecânicas da Bandeja de Bagaço de Mandioca e PVA Adicionada de OEO

Os valores das propriedades mecânicas para a bandeja OEO5PIN em comparação à bandeja PVA 2,5% encontram-se apresentados na Tabela 33.

Tabela 33 - Resistência máxima a tração (RMT) e porcentagem de alongamento da embalagem OEO5PIN

Umidade	RMT (MPa)		Alongamento (%)	
	PVA 2,5	OEO5PIN	PVA 2,5	OEO5PIN
33 %	268,51 ± 23,02 a, A	10,19 ± 5,30 b, B	3,02 ± 0,49 b, B	11,27 ± 0,29 a, C
58 %	167,82 ± 64,00 a, B	6,01 ± 1,49 b, B	5,81 ± 2,90 b, B	31,54 ± 0,30 a, B
90 %	31,13 ± 5,89 a, C	1,12 ± 0,24 b, C	16,50 ± 3,68 b, A	44,55 ± 2,10 a, A

*Letras minúsculas diferentes na mesma linha significam diferença estatística (Teste Tukey $p \leq 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna significam diferença estatística (Teste Tukey $p \leq 0,05$).

Uma embalagem biodegradável deve resistir a uma tensão normal encontrada durante sua aplicação, transporte e manuseio garantindo a integridade e as propriedades do alimento. De acordo com a Tabela 33, a resistência máxima a tração da amostra diminuiu significativamente com adição do óleo de orégano. As bandejas apresentaram também uma maior fragilidade quando armazenadas sob 90% UR, possivelmente o efeito plastificante da água, somado à adição do OEO levou ao enfraquecimento da matriz polimérica nesta condição.

Pelissari et al. (2009) também observaram um decréscimo na RMT filmes biodegradáveis de amido e quitosana. De acordo com esses autores, a presença de OEO pode ocasionar a redução da resistência à tração em embalagens de amido em virtude da ação plastificante que o OE pode exercer sobre a matriz de amido.

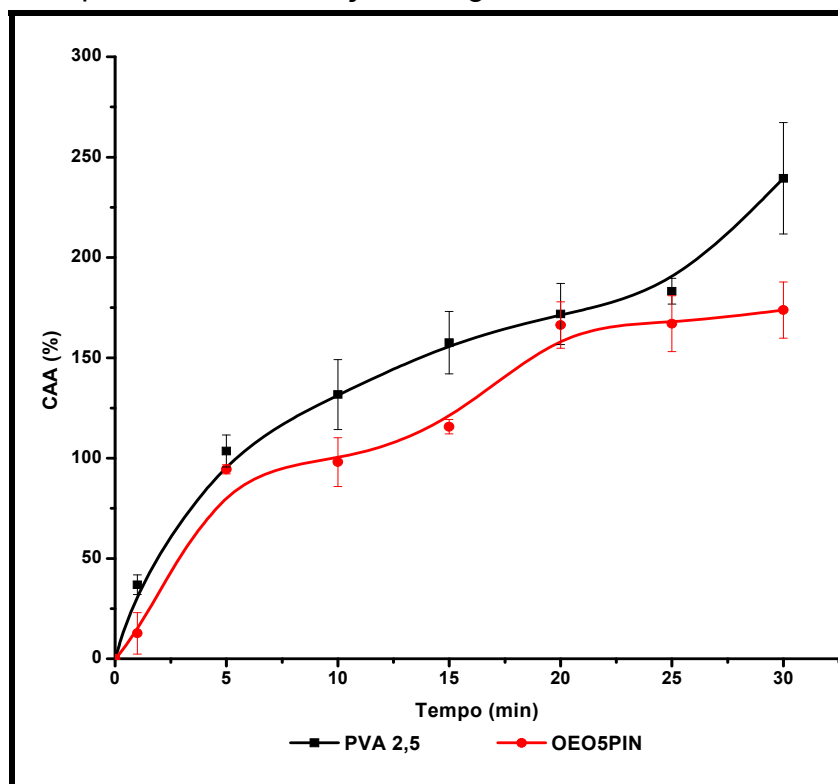
A porcentagem de alongamento indica a flexibilidade e a capacidade de estiramento das bandejas. Novamente, a adição do óleo afetou significativamente ($p \leq 0,05$) esta propriedade. Essa mesma tendência foi observada por Pelissari et al. (2009) e por Benavides, Villalobos-Carvajal e Reyes (2012) em filmes contendo OEO como antimicrobiano, que atribuíram este efeito à ação plastificante do OEO.

Mesmo com as alterações provocadas pela adição do OEO sobre as propriedades mecânicas da bandeja de bagaço de mandioca e PVA (2,5 %), os valores de RMT e alongação das bandejas produzidas com esta formulação foram superiores aos relatados por Schmidt e Laurindo (2010) para bandejas comerciais de isopor® encontradas nos supermercados, que apresentaram RMT de cerca de 2,0 MPa e porcentagem de alongação de 2 % quando armazenadas sob 75 % de UR. A única exceção foi a RMT da bandeja armazenada sob 90 % de UR, que foi inferior à de isopor® (Tabela 33).

5.4.5 Capacidade de Absorção de Água e Isotermas de Sorção de Água da Bandeja de Bagaço de Mandioca e PVA Adicionada de OEO

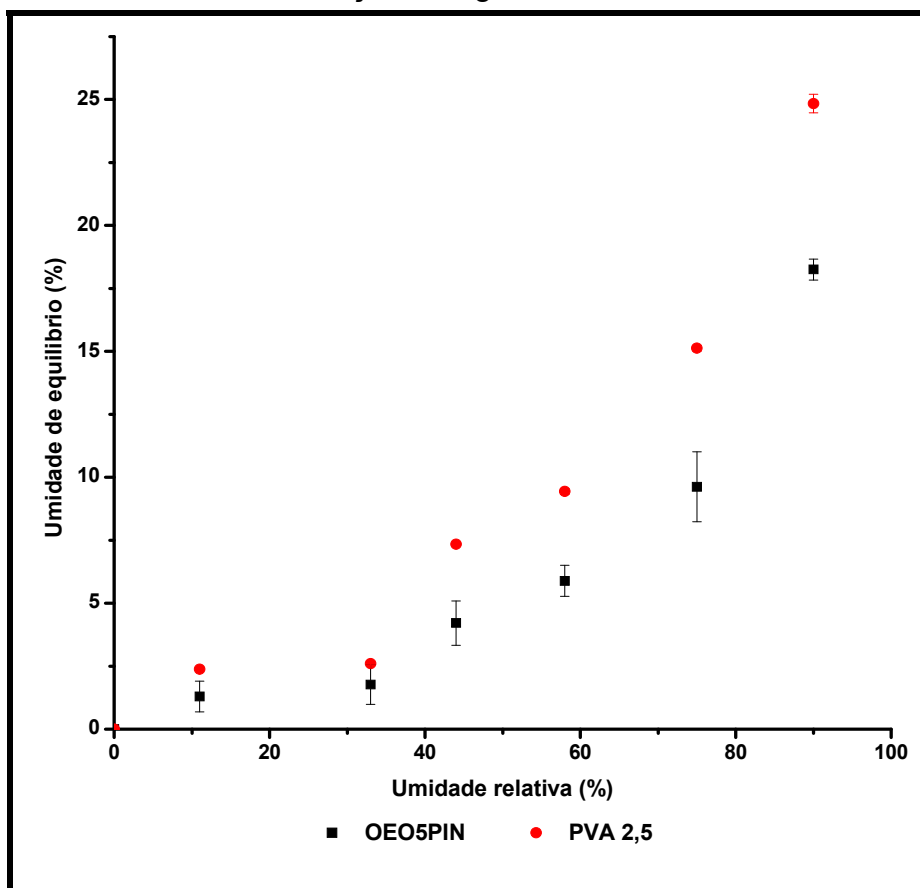
Os resultado da análise de capacidade de absorção de água (CAA) para a amostra contendo 5 % de OEO (OEO5PIN) nos diferentes tempos encontram-se ilustrados na Figura 42. A CAA de PVA 2,5 e OEO5PIN apresentaram um comportamento bastante semelhante, com aumento da CAA em função do tempo.

De acordo com a Figura 46 pode-se observar que o OEO diminui significativamente ($p \leq 0,05$) a CAA em todos os tempos testados. A bandeja PVA 2,5 apresentou uma capacidade de absorção de 36,92 a 199,44 % e a OEO5PIN de 12,71 a 173,81 %. Pode-se perceber também que a amostra OEO5PIN atingiu a saturação ao final do tempo de ensaio, enquanto a PVA 2,5 ainda mostrava uma tendência de aumento para a CAA no tempo de 30 minutos.

Figura 42 - Capacidade de absorção de água da amostra OEO5PIN e PVA 2,5

Na Figura 43 encontra-se o gráfico para análise de isothermas de sorção das bandejas PVA 2,5 e OEO5PIN. Observou-se que as bandejas apresentaram curvas similares para as suas isothermas de sorção, com forma sigmóide (isothermas do tipo II) (BRUNAUER; EMMETT; TELLER, 1938).

A bandeja com 5 % de OEO (OEO5PIN) apresentou os menores níveis de umidade de equilíbrio (1,30 a 18,25 %) em todos os níveis de umidade relativa quando comparada com a PVA 2,5 (2,37 a 24,84 %). Além disso, ambas as bandejas de apresentaram formato estável, sem alterações dimensionais, durante o período de condicionamento independente da UR.

Figura 43 - Isotermas de sorção de água da amostra OEO5PIN e PVA 2,5

Os resultados apresentados acima se encontram de acordo com outros autores. Ojagh et al. (2010) também observaram uma redução da afinidade pela água em filmes de quitosana e óleo essencial de cravo. De acordo com ROJAS-GRAÜ et al. (2006), a transferência de água ocorre através da porção hidrofílica da polímero, portanto relaciona-se com a razão hidrofílica-hidrofóbica dos constituintes da amostras. Em virtude dos óleos essenciais serem compostos altamente hidrofóbicos, o aumento da hidrofobicidade da matriz polimérica pode ocasionar a redução da afinidade pela água do PVA e do bagaço de mandioca (PELISSARI et al., 2009). Portanto, além da incorporação do óleo essencial de orégano diminuir os microrganismos contaminantes de alimentos e causadores das DTAs, também pode reduzir a afinidade pela água destes materiais.

6 CONCLUSÕES E SUGESTÕES

6.1 CONCLUSÕES

Foi possível produzir bandejas de amido e bagaço de mandioca pelo processo de termoformagem. As bandejas apresentam expansão adequada e rendimentos de produção superiores a 90%. Quando se analisou formulações contendo amido e bagaço de mandioca, observou-se que a incorporação do bagaço às matrizes de amido não resultou em melhorias significativas, no entanto a bandeja produzida exclusivamente de bagaço de mandioca (F100) apresentou as melhores propriedades mecânicas e o menor custo de produção, sendo selecionada para a incorporação de PVA na próxima etapa.

A incorporação do álcool polivinílico em diferentes concentrações (2,5 a 10,0 %) às matrizes de bagaço de mandioca resultou em bandejas com ótima aparência, incremento da manuseabilidade e rendimentos de produção de 100% para todas as formulações. Foram observadas melhorias significativas para todas as formulações e em todas as propriedades estudadas, com aumento da resistência mecânica e da flexibilidade das bandejas, independente da proporção de PVA utilizada. A bandeja contendo 2,5 % de PVA (PVA 2,5) apresentou resultados significativamente melhores para CAA quando comparada às outras formulações, e como apresentou o menor custo de produção, já que foi a amostra em que foi adicionada a menor quantidade de PVA dentre as estudadas neste trabalho, foi selecionada para a incorporação dos óleos essenciais de cravo e orégano.

Os óleos essenciais puros (OEO e OEC) apresentaram atividade antimicrobiana *in natura* e após o processamento térmico. Os maiores halos de inibição obtidos foram para fungos e bactérias Gram positivas. Os valores das concentrações inibitórias mínimas do OEC variaram de 1,25 a 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e do OEO variaram de 0,625 a 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O OEO apresentou o maior efeito inibitório (tanto *in natura* como após o processamento térmico) e menor MIC para todos os microrganismos testados.

Quando as bandejas foram incorporadas dos OEs o processo de pincelamento foi o método que mais preservou a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais. A bandeja contendo bagaço de mandioca, PVA (2,5 %) e OEO (5 %) aplicado por pincelamento apresentou os maiores halos de inibição para fungos e

bactérias Gram positivas, seguidas das Gram negativas. Além disso, não apresentou odor e coloração característicos do óleo, preservando a sua atividade antimicrobiana por 15 dias.

A adição de OEO (5 %) por pincelamento à bandeja contendo bagaço de mandioca e PVA (2,5 %) diminuiu a afinidade pela água e aumentou a flexibilidade da bandeja, mas levou ao decréscimo da resistência mecânica da mesma, no entanto, a bandeja manteve propriedades mecânicas similares às bandejas de isopor comercial.

As bandejas produzidas neste trabalho seriam destinadas principalmente para produtos com baixa exsudação de água e perecíveis: como pães, frutas e hortaliças, e que devam ser consumidos antes de 15 dias de armazenamento.

6.2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Testar a aplicação das bandejas em hortaliças, frutas e produtos de panificação, avaliando a estabilidade física química e antimicrobiana desses materiais.

Estudar de forma mais detalhada a aplicação do OEO às bandejas a fim de diminuir os seus efeitos deletérios sobre as propriedades mecânicas das bandejas.

REFERÊNCIAS

ABAM – Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca. Disponível em: <<http://www.abam.com.br/>>. Acesso em: out. 2011.

ABIPLAST - Associação Brasileira da Indústria do Plástico. Disponível em: <<http://www.abiplast.org.br/>>. Acesso em: out. 2011.

ABIQUIM - Associação Brasileira das Indústrias Químicas. Disponível em: <<http://www.abiquim.org.br/>>. Acesso em: out. 2011.

ABRAPEX - Associação Brasileira do Poliestireno Expandido. Disponível em: <<http://www.abrapex.com.br/>>. Acesso em: out. 2011.

ABRELPE - Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais <<http://www.abrelpe.org.br/>>. Acesso em: out. 2011.

ABNT – Associação Brasileira de normas Técnicas. NBR NM ISO 535. **Papel e Cartão**. Determinação da capacidade de absorção de água. Método de Cobb, 1999.

AHVENAINEN, R. **Novel food packaging techniques**. Estados Unidos: Woodhead Publishing, p. 590, 2003.

AMASS, W. AMASS, A. TIGHE, B. A Review of Biodegradable Polymers: Uses, Current Developments in the Synthesis and Characterization of Biodegradable Polyesters, Blends of Biodegradable Polymers and Recent Advances in Biodegradation Studies. **Polymer International**, v. 47, p.89 - 144, 1998.

ANDERSEN, P. J. HODSON, S. **Foamed starch compositions, articles and method**. EP 0 960 711 A2. 1999.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. Arlington, AOAC, 1984. AOAC. Official Methods of Analysis. 14th ed. Washington, USA: Ass. Off. Analytical. Chem. 2003.

AOUADA, F. A. MATTOSO, L. H. C. LONGO, E. New strategies in the preparation of exfoliated thermoplastic starch–montmorillonite nanocomposites. **Industrial Crops and Products**, v.34, p. 1502 – 1508, 2011.

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

ARANHA, B. I. LUCAS, E. F. Poli(Álcool Vinílico) Modificado com Cadeias

Hidrocarbônicas: Avaliação do Balanço Hidrófilo/Lipófilo. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 11, n. 4, p. 174-181, 2001.

ARVANITOYANNIS, I. S. **Waste Management in Food Packaging Industries**, p. 945-1045, 2008.

ARRAKHIZ, F. Z. ELACHABY, M. BOUHFID, R. et al. Mechanical and thermal properties of polypropylene reinforced with Alfa fiber under different chemical treatment. **Materials and Design**, v.35, p. 318–322, 2012.

ASTM D 6954-04 “Standard Guide for exposing and testing plastics that degrade by a combination of oxidation and biodegradation”, May 2004.

AVELLA, M.; COCCA, M.; ERRICO, M. E.; GENTILE, G. Biodegradable PVOH-based foams for packaging applications. **Journal of Cellular Plastics**, v.47, n.3, p. 271–281, 2011.

AVEROUS, L. BOQUILLON, N. Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behaviours. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, p. 111–122, 2004.

AVILA-SOSA, R. PALOU, E. MUNGUÍA, M. T. J. et al Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch ediblefilms. **International Journal of Food Microbiology**, v. 153, p. 66–72, 2012.

AZEREDO, H. M. C. Nanocomposites for food packaging applications. **Food Research International**, v. 42, p. 1240–125, 2009.

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

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

BÉNÉZET, J. C. STANOJLOVIC-DAVIDOVIC, A. BERGERET. Et al. Mechanical and physical properties of expanded starch, reinforced by natural fibres. **Industrial Crops and Products**, v. 37, p. 435 – 440, 2012.

BEGONYA, M. AYMERICH, T. MONFORT, J. M. GARRIGA, M. Physical Performance of Biodegradable Films Intended for Antimicrobial Food Packaging. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 80, 2010.

BIZZO, H. R. HOVEL, A. M. C. REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectiva. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BORBA, A. M. SARMENTO, S. B. S. LEONEL, M. Efeito dos parâmetros de extrusão sobre as propriedades funcionais de extrusados da farinha de batata-doce. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n4, p. 835-843, 2005.

BOUCHONNEAU, N.; CARVALHO, A. R.; MACÊDO, A. R. L. et al. Análise da Absorção de Água em Dois Polímeros Expandidos: Desenvolvimento do Módulo de Flutuabilidade de um Mini-robô Submarino. **Polímeros**, v. 20, nº 3, p. 181-187, 2010.

BRITO, G. F. AGRAWAL, P. E. M. ARAÚJO, E. M. T. MÉLO, J. A. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.6.2, p.127-139, 2011.

BRUNAUER, S., EMMETT, P. H.; TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layers. **Journal of the American Chemists' Society**, v.60, p. 309–319, 1938.

BULÉON, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V.; BALL, S. Starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 23, p. 85–112, 1998.

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

CAGRI A. USTUNOL, Z. RYSER E. T. Antimicrobial edible films and coatings. **Journal of Food Protection**, v. 67, n.4, p. 833-48, 2004.

CAMPOS, C. A. GERSCHENSON, L. N. FLORES, S. K. Development of Edible Films and Coatings with Antimicrobial Activity. **Food Bioprocess Technol**, v. 4, p. 849–875, 2011.

CARR, L. G.; PARRA, D. F.; PONCE. P. et al. Influence of Fibers on the Mechanical Properties of Cassava Starch Foams **Journal of Polymers and the Environment**, v. 14, p. 179–183, 2006.

CARR, L. G. **Desenvolvimento de embalagem biodegradável a partir de fécula de mandioca**. 93 p. Tese (Doutorado) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Química. 2007.

CAVALCANTI, P.; CHAGAS, C. **História da embalagem no Brasil**. São Paulo: Editora Griffó, p. 255, 2006.

CEPEA- Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada Esalq/USP. Disponível em: <<http://www.cepea.esalq.usp.br>>. Acesso em: nov. 2012.

CEREDA, M.P. Caratecrização de resíduos da industrialização da mandioca. In: CEREDA, M.P. **Industrialização da Mandioca no Brasil**, p. 11 – 50, 1994.

CEREDA, M. P. FRANCO, C .M. L. DAIUTO, É. R. et al. Propriedades gerais do amido. Série Cultura de Tubérculos Amiláceas Latino Americanas, v. 1. São Paulo: **Fundação Cargill**, p. 204, 2002.

CERQUEIRA, M. A. SOUZA, B. W. S. TEIXEIRA, J. A. VICENTE, A. A. Effect of glycerol and corn oil on physicochemical properties of polysaccharide films e A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 27, p. 175-184, 2012.

CHIELLINI, E. CINELLI, P. ILIEVA, V. I. et al. Environmentally Compatible Foamed Articles Based on Potato Starch, Corn Fiber, and Poly(Vinyl Alcohol). **Journal of Cellular Plastics**, v. 45, p. 17-32, 2009.

CIMANGA, K. KAMBU, K., TONA, L. et al. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, p. 213–220, 2002.

CINELLI, P. CHIPELLINI, E. LAWTON, J. W; IMAM, S. H. Foamed articles based on potato starch, corn fibers and poly (vinyl alcohol). **Polymer Degradation and Stability**, v. 91, p. 1147-1155, 2006.

COMA, V. Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. **Meat Science**, v. 78, p. 90–103, 2008.

CORRADINI, E.; LOTTI C.; MEDEIROS, E. S. et al. Estudo comparativo de amidos termoplásticos derivados do milho com diferentes teores amilose. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n.4, p. 268-273, 2005.

COSTA, JR. E. S.; MANSUR, H. S. Preparação e caracterização de blendas de quitosana/poli(álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecido. **Química Nova**, v. 31, n. 6, 1460-1466, 2008.

DAI, H. CHANG, P. R. GENG, F. et al. Preparation and Properties of Thermoplastic Starch/Montmorillonite Nanocomposite Using

N-(2-Hydroxyethyl)formamide as a New Additive. **Journal of Polymers and The Environment**, v. 17, p. 225–232, 2009.

DAVIS, G. SONG, J. H. Biodegradable packaging based on raw materials from crops and their impact on waste management. **Industrial Crops and Products**, v. 23, p. 147–161, 2006.

DEBIAGI, F. MALI, S. GROSSMANN, M. V. E. YAMASHITA, F. Efeito de fibras vegetais nas propriedades de compósitos biodegradáveis de amido de mandioca produzidos via extrusão. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 6, p. 1522-1529, 2010.

_____. Biodegradable foams based on starch, polyvinyl alcohol, chitosan and sugarcane fibers obtained by extrusion. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.54, n. 5, p.1043-1052, 2011.

DELAQUIS, P.J. STANICH, K. GIRARD, B. MAZZA, G. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. **International Journal of Food Microbiology**, v. 74, p.101–109, 2002.

DONG, L. TONG, Z. LINGHU, D. et al. Effects of sub-minimum inhibitory concentrations of antimicrobial agents on *Streptococcus mutans* biofilm formation. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 39, p. 390 – 395, 2012.

ELOFF, J.N.. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. **Planta Medica**, v. 64, p. 711–713, 1998.

EMIROGLU, Z. K. YEMIS, G. P. COSKUN, B. K. CANDOGAN, K. Antimicrobial activity of soy ediblefilms incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. **Meat Science**, v. 86, p. 283 – 288, 2010.

FAMÁ, L. GERSCHENSON, L. GOYANES, S. Starch-vegetable fibre composites to protect food products. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, p. 230–235, 2009.

FAMÁ, L. ROJAS, A. M. GOYANES, S. GERSCHENSON, L. Mechanical properties of tapioca-starch edible films containing sorbates. **Food Science and Technology**, v. 38, p. 631–639, 2005.

FARIA, F. O. VERCELHEZE, A. E. S. MALI, S. Propriedades físicas de filmes biodegradáveis à base de amido de mandioca, álcool Polivinílico e montmorilonita. **Química Nova**, v. 35, n. 3, p. 487-492, 2012.

FOLLAIN, N.; JOLY, C.; DOLE, P.; BLIARD, C. Properties of starch based blends. Part 2. Influence of poly vinyl alcohol addition and photocrosslinking on starch based materials mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 185–192, 2005.

FRANCHETTI, S. M. M. MARCONATO, J. C. Polímeros biodegradáveis – uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811-816, 2006.

GALIC, K.; SCETAR, M.; KUREK, M. The benefits of processing and packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, p. 127-137, 2011.

GALICIA-GARCÍA, T.; MARTÍNEZ-BUSTOSA, F.; JIMÉNEZ-AREVALO, O. Thermal and microstructural characterization of biodegradable films prepared by extrusion–calendering process. **Carbohydrate Polymers**, v.83, p. 354–361, 2011.

GIRAFFA, G. Enterococci from foods. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 26 163-171, 2002.

GÓMEZ-ESTACA, J. LACEY, A. L. LÓPEZ-CABALLERO, M. E. et al. Biodegradable gelatinechitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. **Food Microbiology**, v. 27, p. 889-896, 2010.

GLENN, G. M. ORTS, W. J. NOBES, G. A. R. Starch, fiber and CaCO₃ effects on the physical properties of foams made by a baking process. **Industrial Crops and Products**, v. 14, p. 201 – 212, 2001.

GROSS, R. A.; KALRA, B. Biodegradable Polymers for the Environment. **Green Chemistry**, v. 297, p. 803-807, 2002.

GUINESI, L. S. DA RÓZ, A. L. CORRADINI, E. Kinetics of thermal degradation applied to starches from different botanical origins by non-isothermal procedures. **Thermochimica Acta**, v. 447, p. 190–196, 2006.

GUO, M. TRZCINSKI, A. P. STUCKEY, D. C. MURPHY, R. J. Anaerobic digestion of starch–polyvinyl alcohol biopolymer packaging: Biodegradability and environmental impact assessment. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 11137–11146, 2011.

HAMMER, K.A. CARSON, C.F. RILEY, T.V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. **Journal of Applied Microbiology** v. 86, p. 985–990, 1999.

HARPAZ, S. GLATMAN, L. DRABKIN, V. GELMAN, A. Effects of herbal essential oils used to extend the shelf life of freshwater-reared Asian sea bass fish (*Lateolabrax niloticus*). **Journal of Food Protection**, v. 66, n. 3, p. 410–417, 2003.

HO, M.; WANG, H.; LEE, J-H. et al. Critical factors on manufacturing processes of natural fibre composites. **Composites: Part B**, doi:10.1016/j.compositesb.2011.10.001, 2011.

HOFMANN, T. LINKE, L. TSIAPOURIS, A. ZIEMS, A. Porous Materials Made from Starch. **Chemical Engineering Technology**, v.21, n. 7, p. 580-584, 1998.

HUANG, J.; SCHOLS, H. A.; VAN SOEST, J. J. G. et al. Physicochemical properties and amylopectin chain profiles of cowpea, chickpea and yellow pea starches. **Food Chemistry**. v. 101, p. 1338-1345, 2007.

IRIANI, E.S.; TEDJA T.I.; SUNARTI, T. C. et al. Effect of Polyvinyl Alcohol and Corn Hominy on Improvement of Physical and Mechanical Properties of Cassava Starch-Based Foam. **European Journal of Scientific Research**, v..81, n.1, p.47-58, 2012.

JAY, J. **Microbiologia de Alimentos**. 6 ed. – Porto Alegre: Artmed, 2005.

JAWAID, M. KHALIL, H. P. S. A. Cellulosic/synthetic fibre reinforced polymer hybrid composites: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, p. 1– 18, 2011.

JIPA, I. M. DOBRE, L. STROESCU, M. Preparation and characterization of bacterial cellulose-poly(vinyl alcohol) films with antimicrobial properties. **Materials Letters**, v. 66, p. 125–127, 2012.

JOHN, M. J. THOMAS, S. Biofibres and biocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, p. 343–364, 2008.

KAEWATIP, K. TANRATTANAKUL, V. Preparation of cassava starch grafted with polystyrene by suspension polymerization. **Carbohydrate Polymers**, v. 73, p. 647–655, 2008.

KAEWATIP, K. THONGMEE, J. Preparation of cassava starch grafted with polystyrene by suspension polymerization. Studies on the structure and properties of thermoplastic starch/luffa fiber composites. **Materials and Design**, v. 40, p. 314–318, 2012.

KAISANGSRI, N. KERDCHOECHUEN, O. LAOHAKUNJIT, N. Biodegradable foam tray from cassava starch blended with natural fiber and chitosan. **Industrial Crops and Products**, v. 37, p. 542 – 546, 2012.

KAUR, B. ARIFFIN, F. BHAT, R. KARIM, A. A. PROGRESS IN STARCH MODIFICATION IN THE LAST DECADE. **Food Hydrocolloids**, v. 26, p. 398-404, 2012.

KLEMM, D.; HEUBLEIN, B.; FINK, H.P.; BOHN, A. Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. **Polymer Science**, v. 44, p. 3358– 3393, 2005.

KOCIC-TANACKOV, S.; DIMIC, G.; TANACKOV, I. The inhibitory effect of oregano extract on the growth of *Aspergillus spp.* and on sterigmatocystin biosynthesis. **LWT - Food Science and Technology**, v. 49, p. 14 – 20, 2012.

KUORWEL, K. K. CRAN, M. J. SONNEVELD, K. et al. Antimicrobial Activity of Biodegradable Polysaccharide and Protein-Based Films Containing Active Agents. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 3, 2011.

LAMBERT, R.W., SKANDAMIS, P.N., COOTE, P.J., NYCHAS, G.J. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, 453–462, 2001.

LAZAREVIC, D. Aoustin, E. BUCLET, N. BRANDT, N. Plastic waste management in the context of a European recycling society: Comparing results and uncertainties in a life cycle perspective. **Resources, Conservation and Recycling**, v.55, p. 246–259, 2010.

LAWTON, J. W. SHOGREN, R. L. TIEFENBACHER, K. F. Effect of batter solids and starch type on the structure of baked starch foams. **Cereal Chemistry**. v. 75, N° 5, p. 682-687, 1999.

LAWTON, J. W. SHOGREN, R. L. TIEFENBACHE, K. F. Aspen fiber addition improves the mechanical properties of baked cornstarch foams. **Industrial Crops and Products**, v. 19, p. 41–48, 2004.

LEE, S. Y. ESKRIDGE, K. M. KOH, W. Y., HANNA, M. A. Evaluation of ingredient effects on extruded starch-based foams using a supersaturated split-plot design. **Industrial Crops and Products**, v. 29, p. 427–436, 2009.

LEONEL, M. CEREDA, M. P. Avaliação da celulase e pectinase como enzimas complementares, no processo de hidrólise-sacarificação do farelo de mandioca para produção de etanol. **Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.1, 1999.

LEONEL, M. CEREDA, M. P. Extração da fécula retida no resíduo fibroso do processo de produção de fécula de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n.1, 2000.

LI, Y. JIANG, Y.LIU, F. et al. Fabrication and characterization of TiO₂/whey protein isolate nanocomposite film. **Food Hydrocolloids**, v.25, p.1098 – 1104, 2011.

LIU, A. BERGLUND, L. A. Clay nanopaper composites of nacre-like structure based on montmorillonite and cellulose nanofibers—Improvements due to chitosan addition. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 53 – 60, 2012.

LIU, H.; YU, L.; DEAN, K. et al. Starch gelatinization under pressure studied by high pressure DSC. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, p. 395–400, 2009.

LONGARES, A. MONAHAN, F. J. O'RIORDAN, E. D. O'SULLIVAN, M. Physical properties and sensor y evaluation of WPI films. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v.37, p. 545–550, 2004.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 670-673, 2004.

LÓPEZ, P. SÁNCHEZ, C. BATLLE, R. NERÍN C. Development of Flexible Antimicrobial Films Using Essential Oils as Active Agents. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 55, p. 8814 – 8824, 2007.

LUI, W.B. PENG, J. Effects of die shapes and additives on the physical and mechanical properties, and cellular structure of biodegradable cushioning extruded foams. **Journal of Cellular Plastics**, v. 41, p. 437–455, 2005.

MALI, S. KARAM, L.B. RAMOS, L.P. GROSSMANN, M.V.E. Relationships among the Composition and Physicochemical Properties of Starches with the Characteristics of Their Films. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, 7720-7725, 2004.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCÍA, M. A. et al. Effects of controlled storage on thermal, mechanical and barrier properties of plasticized films from different starch sources. **Journal of Food Engineering**, v. 55, p. 453-460, 2006.

MALI, S. DEBIAGI, F. GROSSMANN, M. V. E. YAMASHITA, F. Starch, sugarcane bagasse fibre, and polyvinyl alcohol effects on extruded foam properties: A mixture design approach. **Industrial Crops and Products**, v. 32, p. 353–359, 2010a.

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

MALLAKPOUR, S. BARAT, A. Preparation and characterization of novel optically active poly(vinyl alcohol-co-vinyl ester) in nonaqueous medium using L-phenylalanine as a chiral material. **Amino Acids**, DOI 10.1007/s00726-010-0823-9, 2011.

MARINO, M. BERSANI, C. COMI, G. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. **International Journal of Food Microbiology**, v. 67, p. 187–195, 2001.

MATSUI, K.N. **Desenvolvimento de materiais biodegradáveis a partir do bagaço de mandioca**. Tese de Mestrado em Engenharia de alimentos, 87 p. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

MATSUI, K. N. LAROTONDA, F. D. S. LUIZ, D. B. PIRES, A. T. N. LAURINDO, J. B. Utilização do resíduo de mandioca na produção de bandejas descartáveis. **Revista Ceres**, v. 50, n. 292, p. 727-736, 2003.

MELO, C. P. B.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. et al. Effect of Manufacturing Process and Xanthan Gum Addition on the Properties of Cassava Starch Films. **Journal of the Polymers and Environment**, v. 19, p.739–749, 2011.

MENEGASSI, B. LEONEL, M. MISCHAN, M. M. PINHO, S. Z. de. Efeito de parâmetros de extrusão na cor e propriedades de pasta da farinha de mandioca salsa (*Arracacia xanthorrhiza*). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1780-1792, 2007.

MCFARLAND, J. The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions for calculating the opsonic index and vaccines. **Journal of the American Medical Association**, v. 49, p.1176, 1907.

MICHELIN, D. C.; MORESCHI, P. E.; LIMA, A. C. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 316-320, 2005.

MOHANTY, A. K. MISRA, M. HINRICHSEN, G. Biofibres, biodegradable polymers and biocomposites: An overview. **Macromolecular Materials Engineering**, v. 276/277, p. 1–24, 2000.

MOREIRA, M. R. PONCE, A. G. DEL VALLE, C. E. ROURA, S. I. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. **LWT**, v. 38, p.565–570, 2005.

MULINARI, D. R.; VOORWALD, H. J. C.; CIOFFI, M. O. H. et al. Preparation and properties of HDPE/sugarcane bagasse cellulose composites obtained for thermokinetic mixer. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, p. 317–321, 2009.

MURIEL-GALET, V.; CERISUELO, J. P. LÓPEZ-CARBALLO, G. et al. Evaluation of evoh-coated pp films with oregano essential oil and citral to improve the shelf-life of packaged salad. **Food Control**, v. 30, p. 137-143, 2013.

NABAR, Y. RAQUEZ, J. M. DUBOIS, P. NARAYAN, R. Production of Starch Foams by Twin-Screw Extrusion: Effect of Maleated Poly(butylene adipate-co-terephthalate) as a Compatibilizer. **Biomacromolecules**, v. 6, p. 807-817, 2005.

NASCIMENTO, P. F. C. NASCIMENTO, A. L. RODRIGUES, C. S. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n.1, p. 108-113, 2007.

NASSAR, N. M. ORTIZ, R. Cassava improvement: challenges and impacts. **Journal of Agricultural Science**, v.145, p. 163–171, 2007.

NEVES, D. P. **Estudo farmacológico Estudo farmacológico do timol e carvacrol sobre a contratilidade da aorta isolada de rato**. 94 p. Dissertação (Mestrado) - Mestrado acadêmico em ciências fisiológicas da universidade estadual do ceará. instituto superior de ciências biomédicas, 2009.

OJAGH, S. M. REZAEI, M.; RAZAVI, S. H. HOSSEINI, S. M. H. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. **Food Chemistry**, v. 122, p. 161–166, 2010.

OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; VIEIRA, W. L. et al. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 1, p. 77 - 82, 2006.

OMIDBEYGI, M. BARZEGAR, M. HAMIDI, Z. NAGHDIBADI, H. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. **Food Control**, v. 18, p. 1518–1523, 2007.

ÖZKALP, B. SEVGI, F. ÖZCAN, M. ÖZCAN, M. M. The antibacterial activity of essential oil of oregano (*Origanum vulgare*L.). **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v.8, n. 2, p. 272-274, 2010.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, P. et al. Biotechnological potential of agro-industrial residues. II: cassava bagasse. **Bioresource Technology**, v.74, p. 81-87, 2000.

PARADELLA, T. C. KOGA-ITO, C. Y. JORGE, A. O. C. Enterococcus faecalis: considerações clínicas e microbiológicas. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 36, n.2, p. 163-68, 2007.

PASQUINI, D. TEIXEIRA, E. M. CURVELO, A. A. S. et al. Extraction of cellulose whiskers from cassava bagasse and their applications as reinforcing agent in natural rubber. **Industrial Crops and Products**, v.32, p. 486–490, 2010.

PELLISSARI, F. M. GROSSMANN, M. V. E. YAMASHITA, F. PINEDA, E. A. G. Antimicrobial, Mechanical, and Barrier Properties of Cassava Starch-Chitosan Films Incorporated with Oregano Essential Oil. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 57, p. 7499–7504, 2009.

PEREZ, J. Theories of liquid-glass transition. **Journal of Food Engineering**, v. 22, n. 1, p. 89-114, 1994.

PETERS, S. T. **Handbook of Composites**. 2. ed. London: Chapman & Hall, 1998.

PINTORE, G., USAI, M., BRADESI, P. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 17, p.15–19, 2002.

PLASTICSEUROPE. Disponível em: <<http://www.plasticseurope.org/>>. Acesso em: out. de 2011.

PLASTIVIDA – Instituto Sócio Ambiental dos Plásticos. Disponível em: <<http://www.plastivida.org.br>>. Acesso em: out. de 2011.

POLETTI, M. DETTENBORN, J. ZENI, M. ZATTERA, A. J. Characterization of composites based on expanded polystyrene wastes and wood flour. **Waste Management**, v. 31, p.779–784, 2011.

POTHAN, L. A. THOMAS, S. Effect of hybridization and chemical modification on the water-absorption behavior of banana fiber reinforced polyester composites. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 91, p. 3856-3865, 2004.

PRANOTO, Y. SALOKHE, V.M. RAKSHIT, S.K. Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. **Food Research International**, v. 38, p. 267-272, 2005.

PREECHAWONG, D. PESSAN, M. RUJIRAVANIT, R. SUPAPHOL, P. Preparation and Properties of Starch/Poly(vinyl alcohol) Composite Foams. **Macromolecular Symposia**, 216, p. 217-227, 2004.

PUSHPADASS, H. A.; ROBERT W. WEBER, R. W. et al. Biodegradation characteristics of starch-polystyrene loose-fill foams in a composting médium. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 7258-7264, 2010.

RATTO, J. A.; PETER J.; STENHOUSE, P. J. et al. Processing, performance and biodegradability of a thermoplastic aliphatic polyester/starch system. **Polymer**, v.40, p. 6777-6788, 1999.

REN, X. Biodegradable plastics: a solution or a challenge? **Journal of Cleaner Production**, v. 11, p. 27-40, 2003.

RHIM, J., W. HONG, S. I. HÁ, C. S. Tensile, water vapor barrier and antimicrobial properties of PLA/nanoclay composite films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 612-617, 2009.

RIGO, L. N. **Desenvolvimento e caracterização de filmes comestíveis. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos**, p. 130, Universidade Regional Integrada do Alto do Uruguai e das Missões, Erechim, 2006.

ROBERTSON, G.L. **Food packaging principles and practice**. 2 ed. Boca Raton, FL: CRC PRESS, p. 286-300, 2006.

RODRÍGUEZ, A. BATLLE, R. C. NERÍN, C. The use of natural essential oils as antimicrobial solutions in paper packaging. Part II. **Progress in Organic Coatings**, v. 60, n. 1, p. 33 - 38, 2007.

ROJAS-GRAÜ, M. A. AVENA-BUSTILLOS, R. J. FRIEDMAN, M. et al. Mechanical, Barrier, and Antimicrobial Properties of Apple Puree Edible Films Containing Plant Essential Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 9262-9267, 2006.

ROJAS-GRAÜ, M. A. SOLIVA-FORTUNY, R. MARTÍN-BELLOSO, O. Edible coatings to incorporate active ingredients to freshcut fruits: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, p. 438-447, 2009.

ROSA, D.S. FRANCO, B.L.M. CALIL, M.R. Biodegradabilidade e Propriedades Mecânicas de Novas Misturas Poliméricas. **Polímeros**, v.11, n.2, p. 82-88, 2001.

ROSSACCI, J.; SHIVKUMAR, S. Bead fusion in polystyrene foams. **Journal of Materials Science**, v.38, p. 201-206, 2003.

- RUSSO, M. A. L. O'SULLIVAN, C. ROUNSEFELL, B. et al. The anaerobic degradability of thermoplastic starch: Polyvinyl alcohol blends: Potential biodegradable food packaging materials. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 1705–1710, 2009.
- SALGADO, P.R. SCHIMIDT, V.C.R; ORTIZ, S.E.M. et al. Biodegradable foams based on cassava starch, sun flower proteins and cellulose fibers obtained by a baking process. **Journal of Food Engineering**, v. 85, p. 435-443, 2008.
- SANCHEZ-GARCIA, M D. LAGARON, J. M. HOA, S. V. Effect of addition of carbon nanofibers and carbon nanotubes on properties of thermoplastic biopolymers. **Composites Science and Technology**, v.70, p. 1095–1105, 2010.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C., CHIRALT, A., CHÁFER, M. Physical and antimicrobial properties of chitosan–tea tree essential oil composite films. **Journal of Food Engineering**, v. 98, p. 443–452, 2010.
- SANTOS, A. S. F. TEIXEIRA, B.A.N. AGNELLI, J.A.M. MANRICH, S. Characterization of effluents through a typical plastic recycling process: An evaluation of cleaning performance and environmental pollution. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 45, p. 159–171, 2005.
- SATYANARAYANA, K.G. ARIZAGA, G. G. C. WYPYCH, F. Biodegradable composites based on lignocellulosic fibers - An overview. **Progress in Polymer Science**. v. 34, p. 982–1021, 2009.
- SATYANARAYANA, K. G. Biodegradable polymer composites based on brazilian lignocellulosic. **Revista Matéria**, v. 15, n. 2, p. 088–095, 2010.
- SCHMIDT, V. C. R.; LAURINDO, J. B. Characterization of Foams Obtained from Cassava Starch, Cellulose Fibres and Dolomitic Limestone by a Thermopressing Process. **Brazilian archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 1, p. 185-192, 2010.
- SCHMIDT, P. N. S. CIOFFI, M. O. H. VOORWALD, H. J. C.; SILVEIRA, J. L. Flexural Test On Recycled Polystyrene. **Procedia Engineering**, v. 10, p. 930–935, 2011.
- SEYDIM, A. C. SARIKUS, G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. **Food Research International**, v. 39, p. 639–644, 2006.
- SHEY, J. IMAM, S. H. GLENN, G. M. ORTS, W. J. Properties of baked starch foam with natural rubber látex. **Industrial Crops and Products**, v. 24, p. 34 –40, 2006.
- SHOGREN, R. L.; LAWTON, J. W.; DOANE, W. M.; TIEFENBACHER, K. F. Structure and morphology of baked starch Foams. **Polymer**, v. 39, n. 25, p 6649–6655, 1998a.

SHOGREN, R. L. LAWTON, J. W. TIEFENBACHER, K. F. CHEN, L. Starch–Poly(vinyl alcohol). **Foamed Articles Prepared by a Baking Process**, v. 68, p.2129–2140, 1998b.

SHOGREN, R. L. LAWTON, J. W. TIEFENBACHER, K. F. Baked starch foams: starch modifications and additives improve process parameters, structure and properties. **Industrial Crops and Products**, v. 16, p. 69–79, 2002.

SILVA, R. HARAGUCHI, S. K. MUNIZ, E. C. E RUBIRA, A. F. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 661-671, 2009.

SILVA, M.T.N. USHIMARU, P.I. BARBOSA, L.N.et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas frente a linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.3, p.257-262, 2009.

SILVESTRE, C. DURACCIO, D. CIMMINO, S. Food packaging based on polymer nanomaterials, **Progress in Polymer Science**, v. 36, p. 1766–1782, 2011.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.

SIN, L. T. RAHMAN, W. A. W. A. RAHMAT, A. R. SAMA, A. A. Computational modeling and experimental infrared spectroscopy of hydrogen bonding interactions in polyvinyl alcohol–starch blends. **Polymer**, v. 51, p. 1206 – 1211, 2010.

SJÖQVIST, M.; BOLDIZAR, A.; RIGDAHL, M. Processing and Water Absorption Behaviour of Foamed Potato Starch. **Journal of Cellular Plastics**, p.1-22, 2010.

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

SOULTOS, N.; TZIKAS, Z.; CHRISTAKI, E. B. et al. The effect of dietary oregano essential oil on microbial growth of rabbit carcasses during refrigerated storage. **Meat Science**, v. 81, p. 474–478, 2009.

SOUZA, R. C. R.; ANDRADE, C. T. Investigação dos processos de gelatinização e extrusão de amido de milho. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 10, n 1, p. 24-30, 2000.

SPIESS, W. E. L. WOLF, W. R. The results of the COST 90 project on water activity. In: JOWITT, R. ESCHER, F. HALLSTROM, F.B. MEFFERT, M. F. SPIESS, W. E. L. VOS, G. (Eds.). **Physical Properties of Foods**. London: Applied Science Publishers, p. 65-91, 1983.

SPINACÉ, M. A. S. DE PAOLI, M. A. A tecnologia da reciclagem de polímeros. **Química. Nova**, v. 28, n.1, p. 65-72, 2005.

STEVENS, E. S. KLAMCZYNSKI, A. GLENN, G. M. **Express Polymer Letters**, v.4, n.5, p. 311–320, 2010.

SUBRAMANIAN, P. M. Plastics recycling and waste management in the US. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 28, p. 253 – 263, 2000.

SVS- Secretaria de Vigilância em Saúde. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/>, acesso em novembro de 2011.

TANG, X.; ALAVI, S. Recent advances in starch, polyvinyl alcohol based polymer blends, nanocomposites and their biodegradability. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, p. 7–16, 2011.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. Problem gram-positive bacteria: resistance in staphylococci, enterococci, and pneumococci to antimicrobial drugs. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.33, n. 3, p. 281-301, mai-jun, 2000.

TESTER, R. F. KARKALAS, J. QI, X. Starch—composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v. 39 , p. 151–165, 2004.

TEIXEIRA, B. MARQUESA, A. RAMOS, C. et al. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 587 – 595, 2013.

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

TONGDEESOONTORN, W. MAUER, L. J. WONGRUONG, S. SRIBURI, P.; RACHTANAPUN, P. Effect of carboxymethyl cellulose concentration on physical properties of biodegradable cassava starch-based films. **Chemistry Central Journal**, P. 1-8, 2011.

TRIPATHI, J. KELLER, J. M. DAS, K. TRIPATHI, S. FATIMA, A. SHRIPATHI, T. Structural, optical and chemical characterization of Rhodamine (B) doped Poly (vinyl) alcohol films. **Applied Surface Science**, p. 1-26, 2012.

TYAGI, A.K., MALIK, A. Antimicrobial potential and chemical composition of Eucalyptus globulus oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms. **Food Chemistry**, v. 126, p.228–235, 2011.

UDREA, L. E. HRITCU, D. POPA, M. L. ROTARIU, O. Preparation and characterization of polyvinyl alcohol—chitosan biocompatible magnetic microparticles. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 323, p. 7–13, 2011.

VÁGI, E. SIMÁNDI, B. SUHAJDA, Á; HÉTHELYI, É. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Origanum majorana* L. extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide. **Food Research International**, v. 38, n.1, p. 51-57, 2005.

VANZIN, V. FERREIRA, D. T. L. BACK, C. Aproveitamento da massa residual obtida na extração de fécula de mandioca para elaboração de biscoitos com alto teor de fibras. **Anais do I Encontro Nacional de Difusão Tecnológica**, p.162-163, 2002.

van SOEST, J. J. G. VLIEGENTHART, J. F. G. Crystallinity in starch plastics: consequences for material properties. **Tibetch**, v. 15, p. 208-213, 1997.

VERCELHEZE, A. E. S.; FAKHOURI, F. M.; DALL'ANTÔNIA, L. H. et al. Properties of baked foams based on cassava starch, sugarcane bagasse fibers and montmorillonite. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 1302–1310, 2012a.

VERCELHEZE, A. E. S. OLIVEIRA, A. L. M. REZENDE, M. I. et al. Physical Properties, Photo- and Bio-degradation of Baked Foams Based on Cassava Starch, Sugarcane Bagasse Fibers and Montmorillonite. *Journal of Polymers and the Environment*, DOI 10.1007/s10924-012-0455-0, 2012b.

VIEIRA, J. C. MONTENEGRO, F. M. LOPES, A. S. PENA, R. S. Qualidade física e sensorial de biscoitos doces com fécula de mandioca. **Ciência Rural**, v.40, n.12, 2010.

XIE, Y.; A. S. HILL, C. A. S.; XIAO, Z.; MILITZ, H.; MAI, C. Silane coupling agents used for natural fiber/polymer composites: A review. **Composites: Part A**, v. 41, p. 806–819, 2010.

XU, Y.; HANNA, M.A. Preparation and properties of biodegradable foams from starch acetate and poly(tetramethylene adipate-co-terephthalate). **Carbohydrate Polymer**, v. 59, n.4, p. 521–529, 2005.

ZHANG, H. KONG, B. XIONG, Y. L. SUN, X. Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4 °C. **Meat Science**, v. 81, p. 686–692, 2009.

ZHANG, W. YANG, X. LI, C. et al. Mechanochemical activation of cellulose and its thermoplastic polyvinyl alcohol eco-composites with enhanced physicochemical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 257–263, 2011.

ZIA, K. M. ZUBER, M. RIZWAN, A. et al. Modification of cellulosic fabric using polyvinyl alcohol—Part-I: Physicochemical properties. **Carbohydrate Polymers**, doi:10.1016/j.carbpol.2011.10.021, 2011.

ZIEBA, T.; SZUMNY, A.; KAPELKO, M. Properties of retrograded and acetylated starch preparations: Part 1. Structure, susceptibility to amylase, and pasting characteristics. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 1314-1320, 2011.

ZITNY, R. SESTAK, J. TSIAPOURIS, A. LINKE, L. Modelling of thermal pressure forming of starch based material. **Journal of food engineering**, v. 52, p. 375 – 385, 2002.

YAM, K. L. TAKHISTOV, P. T. MILTZ, J. Intelligent Packaging: Concepts and Applications. **Journal of Food Science**, v. 70, n.1, 2005.

- YOSHIDA, A. KURAMITSU, H. K. Multiple *Streptococcus mutans* Genes Are Involved in Biofilm Formation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 12, p. 6284-6291, 2002.
- YOON, S. D. PARK, M. H. BYU, H. S. Mechanical and water barrier properties of starch/PVA composite films by adding nano-sized poly(methyl methacrylate-co-acrylamide) particle. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 676–686, 2012.
- WAMBUA, P. IVENS, J. VERPOEST, I. Natural fibres: can they replace glass in fibre reinforced plastics? **Composites Science and Technology**, v. 63, p.1259–1264, 2003.
- WASHINGTON, J.A. Laboratory Procedures in Clinical Microbiology. Springer-Verlag, New York, NY, 1981.
- WELKER, C. A. D. BOTH, J. M. C. LONGARAY, S. M. et al. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 1, p. 44-48, 2010.
- WENQIANG, G. SHUFEN, L. RUIXIANG, Y. et al. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. **Food Chemistry**, v. 101, p.1558–1564, 2007.
- WILLIAMS, P. T. ONWUDILI, J. Subcritical and Supercritical Water Gasification of Cellulose, Starch, Glucose, and Biomass Waste. **Energy & Fuels**, v.20, p.1259-1265, 2006.
- WHITELEY, M. BANGERA, M. G. BUMGARNER, R. E. et al. Gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **Nature**, v. 413, p. 860 – 864, 2001.
- WOLF, B. Polysaccharide functionality through extrusion processing. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v.15, p. 50–54, 2010.
- WURZBURG, O. B. Cross – linking starches. In: WURZBURG, O. B. **Modified starches: properties and uses**. Boca Raton: CRC Press, p. 41-53, 1986.

ANEXOS

ANEXO A

Biodegradable active packaging based on cassava bagasse and polyvinyl alcohol incorporated with essential oils

Flávia Debiagi¹, Renata Katsuko Takayama Kobayash²i, Gerson Nakazato², Luciano A. Panagio², Suzana Mali^{1*}

Abstract]

The objectives of this work were to develop biodegradable trays from cassava bagasse and polyvinyl alcohol (PVA) incorporated with clove (CEO) or oregano (OEO) essential oils, to study their antimicrobial activity and to investigate the effects of the essential oil incorporation on mechanical properties, water absorption capacity (WAC) and sorption isotherms of the tray with the best antimicrobial activity. The trays were produced by baking with a proportion of 97.5% (w/w) cassava bagasse and 2.5% (w/w) PVA. CEO or OEO were added to the trays by two methods: direct incorporation (6.5 to 10.0 %) and surface coating (2.5 to 7.5 %). Foams with OEO prepared by surface coating showed the highest antimicrobial activity, being effective against molds, yeasts, Gram-positive and Gram-negative bacteria. The addition of OEO to cassava bagasse-PVA matrix resulted in less resistant and more flexible trays, with decrease in water absorption and adsorption capacities.

Keywords: Oregano essential oil. Clove essential oil. Trays. Baking.

1 Introduction

Petroleum-based conventional packagings are wide variety of applications because of their high specific strength and durability, ease of processing and low cost. However, they take hundreds of years to decompose, causing serious environmental problems. Technological applications of starch foams have promising characteristics, but they have some problems, including poor mechanical properties when stored in high relative humidity (Mali et al., 2010; Schmidt, & Laurindo, 2010).

The development of biodegradable packaging based on starch and polyvinyl alcohol (PVA) have an increasing amount of attention. The addition of PVA in the production of starch-based materials to improve moisture sensitivity and

¹ Department of Biochemistry and Biotechnology, CCE, State University of Londrina, PO BOX 6001, 86051-990, Londrina - PR, Brazil.

² Department of Microbiology, CCB, State University of Londrina

* To whom correspondence should be addressed: Tel: +55 43 3371-4270, Fax: +55 43 3371-4054, E-mail: smali@uel.br

mechanical properties has been reported (Chiellini et al. 2009; Mali et al., 2010; Debiagi et al., 2011) as having good results.

Aiming to expand the applications of biodegradable packaging, these can be incorporated with antimicrobial agents. Nowadays, there is high demand for natural compounds, because consumers are more concerned about their health and with risks associated with the consumption of synthetic components, therefore active packaging are emerging factors of all this background (Kechichian et al., 2010; Campos, Gerschenson, & Flores, 2011).

Essential oils (EOs) from plant extracts are natural antimicrobial agents. They are classed as generally recognized as safe (GRAS), so they are extensively used as flavoring agents in baked goods, sweets, ice cream, beverages and chewing gum. The antimicrobial effect of essential oils is associated with the terpenoid and phenolic components present in its structure (Rojas-Graü et al., 2006).

Edible films combined with oregano (OEO) or clove (CEO) essential oils have been a wide spectrum of antimicrobial activity against molds, yeasts and bacteria in numerous studies (Moreira et al., 2005; Pelissari et al., 2009; Gómez-Estaca et al., 2010; Sánchez-González et al., 2010; Benavides, Villalobos-Carvajal, & Reyes, 2012). According to Pelissari et al. (2009), moreover antimicrobial activity the presence of OEO in films led to a more flexible films and not affect their thermal stability. At this moment there are not works about biodegradable foams trays used as food packaging.

In summary, biodegradable trays incorporated with OEs are very attractive, so the product could extend the life of foods and prevent the occurrence of food-related diseases caused by pathogenic microorganisms. Thus, the objectives of this work were to develop biodegradable active trays from cassava bagasse and polyvinyl alcohol (PVA) incorporated with clove (CEO) or oregano (OEO) essential oils, to study the antimicrobial capacity of these trays, and also to investigate the effects of the EO incorporation on mechanical properties, water absorption capacity and sorption isotherms of the trays.

2 Material and Methods

2.1 MATERIALS

Cassava bagasse (CB) containing about 11 wt% fibers and 89 wt% starch was obtained from cassava roots as the liquid residue after laboratorial starch extraction (Alves, Grossmann, & Silva, 1999). The liquid residue was dried (50 °C / 24 h) and milled to yield particles < 0.35 mm.

Glycerol, magnesium stearate and guar gum were purchased from Synth (Labsynth, Brazil). PVA (ACS degree, molecular weight 72.000 and degree of hydrolysis of 86.5 – 89.5 %) was purchased from Reagen (Quimibrás, Rio de Janeiro, Brazil). Oregano (*Origanum vulgare*) and clove (*Eugenia caryophyllata*) essential oils were purchased from Ferquima (Moldavia and Indonesia respectively).

2.2 MICROBIAL CULTURES

The following food-borne microbial strains were selected for use in the assays because of their relevance in the food industry: the Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, Methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) N315, *Bacillus cereus*, *Streptococcus mutans* ATCC 25175 and *Enterococcus faecalis* ATCC 6569, the Gram-negative bacteria *Escherichia coli* ATCC 8739 and *Salmonella entérica* subsp. *entérica* serovar Typhimurium (*S.* Typhimurium) ATCC 14028, the yeast *Candida albicans* ATCC 90028 and the molds *Aspergillus niger* and *Penicillium sp.* were obtained from the culture collection of the Laboratory of Basic and Applied Bacteriology, Department of Microbiology of the State University of Londrina.

2.3 METHODS

2.3.1 Trays Production

To prepare the trays, cassava bagasse (97.5 g) and PVA (2.5 g) were mixed with water (210 mL) and additives (1 g magnesium stearate and 1 g guar gum) for 10 min with a mechanic stirrer at 18,000 rpm (Vithory-Brazil). Glycerol (10 g) was then added, and after further stirring for 10 min, 40 g of this formulation was homogeneously layered on a 100-mm long, 100-mm wide and 20-mm deep Teflon mold with a 1.0-mm thick metallic guide. A Teflon lid was placed over the mixture,

and thermopressing was applied with a hydraulic press (JOMAQ – São Paulo – Brazil) equipped with an electric heating system, Pt100 temperature sensor and PID (proportional-integral-derivative) controller. One pressing step at 150°C for 7 min and 100 bar was performed. This tray formulation was chosen for the incorporation of EOs because it had the best combination of mechanical and water barrier properties in a previous study aiming to develop biodegradable trays based on cassava bagasse and PVA (data not shown).

2.3.2 Incorporation Of Essential Oils On The Trays

The antimicrobial essential oils (OEO and OEC) were added by two different methods: (1) Direct incorporation (DI) method, in which the EOs were previously mixed with cassava bagasse, PVA and additives during trays production at concentrations of 0, 6.5, 7.5 and 10.0 % (w/w); (2) Surface coating (SC) method, in which the EOs were applied in all trays surfaces using a brush at concentrations of 0, 2.5, 5.0 and 7.5 % (w/w). All the formulations were described in Table 1. The produced trays were stored for 7 days at 25 ± 0.5 °C and 58 % relative humidity before characterization.

2.3.3 Trays Characterization

2.3.3.1 Antimicrobial activity

The disk inhibition zone assay was used to evaluate the antimicrobial activity of the trays according to Pelissari et al. (2009), with modifications. The trays produced with and without (control) OEO and CEO were aseptically cut into 10 mm discs and placed on plates containing Mueller-Hinton (MHA) agar (Himedia, India), which had been previously spread with 0.1 mL of inoculums, each containing 10⁸ CFU mL⁻¹ of bacterial cultures, previously standardized using the McFarland scale. The plates were incubated at 37 ± 0.5 °C for 18 - 24 h. Sabouroaud Agar (Neogen, USA) was employed to investigate the antimicrobial activity of the trays against *C.albicans* culture, and the plates were incubated at 27 ± 0.5 °C for 18 - 24 h. For the molds (*Aspergillus niger* and *Penicillium sp.*), a spore suspension stock of each one was diluted in sterile to obtain 10⁶ spores ml⁻¹. The spores were enumerated by

direct counting using a Neubauer chamber and placed on plates with Sabouraud Agar (Neogen, USA) that were incubated at 27 ± 0.5 °C for 5 days. The diameter of the growth inhibition zones around the discs was measured using a metric ruler. The tests were carried out in triplicate for each formulation.

2.3.3.2 Stability of the antimicrobial activity of the trays

The stability of the antimicrobial activity of trays prepared by SC method with addition of 5.0% (w/w) of oregano EO (OEO-SC5.0 formulation) was tested against a Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and a Gram-negative bacteria *Escherichia coli* ATCC 8739 was determined every 3 days, during 15 days, following the procedure described above (*item 2.3.3.1*). The tests were carried out in triplicate.

2.3.3.3 Mechanical properties

A texture analyzer model Brookfield CT3 (USA) with a 25-N load cell was used to determine the mechanical properties of the trays samples by means of tension tests, according to Vercelheze et al. (2012) with modifications. Tensile tests were performed using strips measuring 80 mm by 25 mm, an initial grip separation of 80 mm and a crosshead speed of 2 mm/s. Stress–strain curves were recorded during extension, and stress and strain at break were determined. Each formulation was assayed 6 times, and the reported values are the averages of 6 assays.

2.3.3.4 Water absorption capacity

The water absorption was performed according to Cobb method, ABNT NBR NM ISO 535 (1999). First of all, samples measuring 2.5 cm by 5 cm were weighted and soaked in 100 mL of distilled water for 1, 5, 10, 15, 20, 25 and 30 min. After removing the water excess using tissue paper, the samples were weighed again. The quantity of adsorbed water was calculated as the weight difference and expressed as mass of absorbed water per mass of the original sample (ABNT, 1999). The reported values are the means of five determinations for each formulation.

2.3.3.5 Water sorption isotherms

Starch foam specimens measuring 2.5 x 2.5 cm were pre-dried for 14 days over anhydrous calcium chloride and then were placed at 25 °C over saturated salt solutions in separate desiccators with the desired levels of relative humidity (0, 11, 33, 45, 58, 75 and 90 %) (Mali et al., 2010) for 7 days. The equilibrium moisture was determined by drying at 105 °C and calculated from the increase in the mass of the dried sample after equilibration at a given RH. All tests were conducted in triplicate. The sample dimensions (width, length and thickness) were recorded at the initial and final incubation times (7 days) at each RH condition. The GAB (Guggenheim–Anderson–de Boer) model was used to fit starch foam sorption isotherm data, and monolayer values were calculated from the (GAB) equations (Bizot, 1984). The GAB isotherm model can be expressed as follows: $M = m_0 \cdot C K a_w / (1 - K a_w)(1 - K a_w + C K a_w)$, where M is the equilibrium moisture content at given water activity (a_w), m_0 is the monolayer value (g water/100 g solids), and C and K are GAB constants.

2.3.3.6 Statistical analysis

Analyses of variance (ANOVA) and Tukey mean comparison test ($p \leq 0.05$) were performed using Statistica software version 7.0 (STATSOFT, OK, USA).

3 RESULTS AND DISCUSSION

The cassava bagasse-PVA foams produced in this work were homogeneous and easy manipulated. In figure 1 can be observed the biodegradable trays incorporated with CEO and OEO. Both the methods used for EOs incorporation (DI or SC – Table 1) resulted in trays with good appearance (Figure 1). Moreover, the foams did not contain any bubbles, surface cracks and smell or oily aspect. However, when the OEO was incorporated, the trays showed the development of a yellowish color; a similar trend was observed for other authors in films incorporated with EOs (Pranoto, Rakshit, & Salokhe, 2005; Benavides, Villalobos-Carvajal, & Reyes, 2012).

3.1 ANTIMICROBIAL ACTIVITY

The antimicrobial activity of cassava bagasse-PVA trays incorporated with CEO and OEO against several bacteria and fungi are shown in Table 2 and Table 3, respectively. Figure 2 shows the most important inhibition halos obtained in this work. First of all, the control trays (produced without the EOs) did not inhibit antimicrobial activity against any of the tested microorganisms, resulting in no inhibition zones (Tables 2 and 3), while the trays produced with OEO showed the largest inhibition zones when compared to those produced with OEC, independently of the EO incorporation method (Tables 2 and 3). Our results agree with Hosseini, Razavi and Mousavi (2008) who also found a higher antimicrobial effect for biodegradable films incorporated with thyme essential oil (compound of OEO) than those containing clove or cinnamon oils. According to these authors, the antimicrobial activity of OEO has been attributed to the high concentration of two components, carvacrol (2-methyl-5-[1-methylethyl] phenol) and thymol (5-methyl-2-[1-methylethyl] phenol)). These phenolic components are able to disintegrate the external cell membrane and mitochondria, becoming them permeable and leading to leakage of cell contents (Burt, 2004).

When the two methods of EOs incorporation were compared, the largest inhibition zones were observed for the trays produced by SC method (Tables 2 and 3), and among SC samples, those prepared with 5.0 % (OEO-SC5.0 formulation) and 7.5 % (OEO-SC7.5 formulation) showed the best results (Table 3). The DI method resulted in a loss of the EOs antimicrobial activity probably because the high temperature and pressure used during the baking process, which have caused a partial loss of volatile compounds, which are important to the EOs antimicrobial activity.

Is important to point out that according to preliminary studies that evaluated the antibacterial activity of pures CEO and OEO (data no shown), the inhibitory effects of both EOs incorporated into the polymeric matrices were lower than those found for the pure oils. Benavides, Villalobos-Carvajal and Reyes (2012) also found a similar trend in alginate films incorporated with OEO. In addition, these authors also reported that the processing conditions resulted in a partial loss of volatile compounds of EOs during the films preparation.

Moreover, the trays produced in this work were more effective against molds (*A. niger* and *Penicillium sp.*), yeast (*C. albicans*) and Gram-positive bacterias (*S. aureus* and *B. cereus*) than against Gram-negative bacterias (*E. coli* and *S. Typhimurium*) (Tables 2 and 3). Avila-Sosa et al. (2012) also noted high antifungal effect against molds (*Aspergillus niger* and *Penicillium digitatum*) in films incorporated with oregano and cinnamon essential oils. Lopéz et al. (2007) studied films of polypropylene (PP) and polyethylene/ethylene vinyl alcohol copolymer (PE/EVOH) incorporating essential oil of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*), oregano (*Origanum vulgare*), clove (*Syzygium aro-maticum*) or cinnamon fortified with cinnamaldehyde. They observed that with 4% (w/w) of fortified cinnamon or OEO completely inhibited the growth of the yeast and molds; higher concentrations were required to inhibit the Gram-positive bacteria (8 – 10 %), and higher concentrations still were necessary to inhibit the Gram-negative bacteria. According to these authors, yeasts, molds, followed by Gram positive bacterias, are the most sensitive microorganisms to the vapors of EOs.

Our results agree with other studies that had investigated the antimicrobial activity of essential oils against bacterias. Pelissari et al. (2009), Benavides, Villalobos-Carvajal and Reyes (2012) reported that biodegradable films produced with OEO showed largest inhibition zones for the Gram-positive bacterias (*B. cereus*, *S. aureus* and *Listeria monocytogenes*) and smallest ones for the Gram-negative bacterias (*S. enteritidis* and *E. coli*). These authors suggest that this fact may be related to the absence of an outer membrane around the cell wall in Gram-positive bacteria. External membrane is present only in Gram-negative bacteria and may restrict diffusion of hydrophobic compounds through its lipopolysaccharide covering, than lowering the antimicrobial effect of EOs.

The smallest inhibition halos were observed for *E. faecalis* and *S.mutans* (Tables 2 and 3), at the same results were observed in preliminary studies that evaluated the antibacterial activity of pure CEO and OEO (data no shown). According to Yoshida and Kuramitsu (2002), these bacteria are able to form a biofilm, which can have reduced the antimicrobial effect of the EOs.

In summary, the largest inhibition zones were observed for the trays performed with 5.0 % (OEO – SC5.0) and 7.5 % (OEO – SC7.5) of OEO incorporated by SC method ($p \geq 0.05$). However, as OEO – SC5.0 had a satisfactory antimicrobial effect against all of tested microorganisms using a low amount of OEO, which will

reflect directly in a lower cost of the end product, we selected this formulation to investigate how the incorporation of the OEO influenced the mechanical properties, water absorption capacity and water sorption isotherms of cassava bagasse-PVA biodegradable trays, and we also investigate the stability of the antimicrobial activity of this tray against a Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538) and a Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* ATCC 8739).

3.2 STABILITY OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF OEO – SC5.0 TRAY

The inhibition zones against *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) and *Escherichia coli* (ATCC 8739) were not altered during 15 days of storage. Other studies investigated the stability of the antimicrobial activity of biodegradable film incorporated with OEO. López et al. (2007) noted that the antifungal activities of the films containing OEO remained for more than 60 days after their manufacturing.

3.3 MECHANICAL PROPERTIES

The mechanical properties of OEO – SC5.0 tray compared with control trays (cassava bagasse-PVA – without EOs addition) are shown in Table 4. According to Table 4, the stress at break of the control tray decreased significantly ($p \leq 0.05$) by the addition of OEO. Our results agreed with those of Pelissari et al. (2009), who found a similar trend for cassava starch-chitosan films incorporated with OEO. These authors reported that the OEO caused a reduction of the stress at break in the films due to this plasticizing effect.

The strain at break significantly increased ($p \leq 0.05$) with OEO addition (Table 4), especially when the samples were stored at 90 % RH. Benavides, Villalobos-Carvajal and Reyes (2012) also found a similar trend alginate film with OEO. According to these authors the addition of oregano essential oil in the film-forming emulsion may have performed with interactions with the polymer chains, led high the flexibility and chain mobility, acting as a plasticizer.

Even with mechanical properties changes, the stress and strain at break values of OEO – SC5.0 trays remained comparable to those reported for commercial trays of expanded polystyrene used in supermarkets, which presented

around 2.0 MPa of stress and 2.0 % of strain at break, as reported by Schmidt and Laurindo (2010).

3.4 WATER ABSORPTION CAPACITY

Water absorption capacity (WAC) of control and OEO – SC5.0 trays at different immersion times are presented in figure 3. The foams presented similar WAC behavior, with increase of WAC with the increase of the time. According to Sjoqvist et al. (2010), the lower density of the foam porous structure provides a greater absorption capability, similar to that observed in this work. When immersed from 1 to 30 min, the control sample presented significantly higher ($p \leq 0.05$) WAC values (36.92 to 199.44 %) than OEO – SC5.0 one (12.71 to 173.81 %). Besides, OEO – SC5.0 sample presented a saturation in WAC between 20 and 30 min of immersion, while control sample still presented a trend to increase the WAC after 30 min of immersion. The WAC values of our samples were lowest to those obtained by Cinelli et al. (2006) and Vercelheze et al. (2012), who worked with potato starch-corn fibers baked foams and starch-montmorillonite-sugarcane bagasse fibers baked foams, respectively.

3.5 WATER SORPTION ISOTHERMS

Figure 4 shows the water sorption isotherms of the control sample compared to OEO – SC5.0 one, and the GAB model parameters are shown in Table 4. The both sample foams presented similar isotherm patterns and the equilibrium moisture content of the samples increased with increasing relative humidity. Mali et al. (2010) also noted similar tend to starch, sugarcane bagasse fibre and polyvinyl alcohol based foams.

The OEO – SC5.0 sample had lower equilibrium moisture contents (1.30 to 18.25 g/100 g) than control sample (2.37 to 24.84 g/100 g) at all RH conditions. According to Salgado et al. (2008), the main problem with biodegradable packaging are their high sensitivity to moisture, therefore, the OEO effect on cassava bagasse-PVA trays is very interesting.

It is important to highlight that for both the trays were not observed dimensional changes, during storage at all RH conditions. Nabar et al. (2005) reported that starch-based foams tend to gain weight upon or changes their dimension, when stored high RH, which was not observed in this work.

The GAB model fit well ($R^2 > 0.99$) with the experimental data (Figure 4), and similar modeling was considered satisfactory according to others who investigated starch based materials (Mali et al., 2005; 2010). When OEO was incorporated into the cassava bagasse - PVA matrix, the monolayer value (m_0) decreased, if compared to control samples (Table 4). The monolayer value indicates the maximum amount of water that can be adsorbed in a single layer per gram of dry foams and is a measure of the number of sorbing sites (Strauss et al., 1991). Certainly OEO can reduce the moisture sensitivity of cassava bagasse -PVA foams by acting as a hydrophobic agent (Rojas-Graü et al., 2006; Pelissari et al., 2009).

Parameter C is related to a difference in magnitude of water sorption in the upper layers and in the monolayer (Timmermann et al., 2001). This parameter was not affected by foam composition in our work, such as parameter K (Table 4), agreeing with other reports that also stressed that parameter K is effectively independent of composition (Coupland et al., 2000; Mali et al., 2010).

4 CONCLUSIONS

Addition of OEO was more effective than CEO to provide an antimicrobial activity for cassava bagasse-PVA biodegradable trays. The trays produced with the OEO by surface coating had the largest inhibition zones between the trays produced in this work, especially those with 5.0 and 7.5 % (w/w) of addition. The active packaging produced in this work was more effective against molds, yeasts and Gram-positive bacteria than against Gram-negative bacteria. The addition of OEO to cassava bagasse-PVA matrix resulted in less resistant and more flexible trays, with decrease in water absorption and adsorption capacities.

The use of these materials as active biodegradable packaging requires further research, mainly to enhance their stability to water contact. Future research will be conducted to evaluate application of these trays in vegetables, fruits and bakery products.

ACKNOWLEDGMENTS - The authors wish to thank the Laboratory of Microscopy and Microanalysis (LMEM), Laboratory of X-Ray Diffraction (LDRX) - State University of Londrina for the analysis, and also to CNPq - Brazil for financial support (No. 479768-2012-9).

REFERENCES

- ABNT—Associação Brasileira de normas Técnicas. NBR NM ISO 535. *Papel e Cartão*. Determinação da capacidade de absorção de água. Método de Cobb, 1999.
- Avila-Sosa, R., Palou, E., Munguía, M. T. J., Nevárez-Moorillón, G. V., Cruz, A. R., & López-Malo, A. (2012). Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch ediblefilms. *International Journal of Food Microbiology*, 153, 66–72.
- Benavides, S., Villalobos-Carvajal, R., & Reyes, J. E. (2012). Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. *Journal of Food Engineering*, 110, 232–239.
- Bizot, H. (1984). Using the GAB model to construct sorption isotherms. In: Jowitt, R., Escher, F., Hallstrom, B., Meffert, H.F.T., Spiess, W.E.L., Vos, G. (Eds.), *Physical Properties of Foods*. Applied Science Publishers, London, 27–41.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223–253.
- Campos, C. A., Gerschenson, L. N., & Flores, S. K. (2011). Development of Edible Films and Coatings with Antimicrobial Activity. *Food Bioprocess Technol*, 4, 849–875.
- Chiellini, E., Cinelli, P., Ilieva, V. I., Imam, S. H., & Lawton, J. W. (2009). Environmentally Compatible Foamed Articles Based on Potato Starch, Corn Fiber, and Poly(Vinyl Alcohol). *Journal of Cellular Plastics*, 45, 17-32.
- Cinelli, P., Chiellini, E., Lawton, J. W., & Imam, S. H. (2006). Foamed articles based on potato starch, corn fibers and poly (vinyl alcohol). *Polymer Degradation and Stability*, 91, 1147-1155.
- Coupland, J. N., Shaw, N. B., Monahan, F. J., O’Riordan, E. D., & Sullivan, M. (2000). Modeling the effect of glycerol on the moisture sorption behavior of whey protein edible films. *Journal of Food Engineering*, 43, 25–30.
- Debiagi, F., Mali, S., Grossmann, M. V. E., & Yamashita, F. (2011). Biodegradable foams based on starch, polyvinyl alcohol, chitosan and sugarcane fibers obtained by extrusion. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54, 1043-1052.
- Gómez-Estaca, J., Lacey, A. L., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, P. (2010). Biodegradable gelatinechitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiology*, 27, 889-896.

- Hosseini, M. H., Razavi, S.H., & Mousavi, M. A. (2009). Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33, 727–743.
- Kechichian, V., Ditchfield, C., Veiga-Santos, P., & Tadini, C. C. (2010). Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch. *LWT - Food Science and Technology*, 43, 1088-1094.
- López, P., Sánchez, C., Batlle, R., & Nerín C. (2007). Development of Flexible Antimicrobial Films Using Essential Oils as Active Agents. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 55, 8814 – 8824.
- Mali, S., Debiagi, F., Grossmann, M. V. E., & Yamashita, F. (2010). Starch, sugarcane bagasse fibre, and polyvinyl alcohol effects on extruded foam properties: A mixture design approach. *Industrial Crops and Products*, 32, 353–359.
- Mali, S., Grossmann, M. V. E., García, M. A., Martino, M. M., & Zaritzky, N. E. (2005). Mechanical and thermal properties of yam starch films. *Food Hydrocolloids*, 19, 157-164.
- Moreira, M. R., Ponce, A. G., Del Valle, C. E., & Roura, S. I. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT - Food Science and Technology*, 38, 565–570.
- Nabar, Y., Raquez, J. M., Dubois, P., & Narayan, R. (2005). Production of starch foams by twin-screw extrusion: effect of maleated poly (butylene adipate-co-terephthalate) as a compatibilizer. *Biomacromolecules*, 6, 807–817.
- Pelissari, F. M., Grossmann, M. V. E., Yamashita, F., & Pineda, E. A. G. (2009). Antimicrobial, Mechanical, and Barrier Properties of Cassava Starch-Chitosan Films Incorporated with Oregano Essential Oil. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 57, 7499–7504.
- Pranoto, Y., Salokhe, V. M., & Rakshit, S. K. (2005). Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. *Food Research International* 38, 267–272.
- Rojas-Graü, M. A., Avena-Bustillos, R. J., Friedman, M., Henika, P. R., Martián-Belloso, O., & Mchugh, T. H. (2006). Mechanical, Barrier, and Antimicrobial Properties of Apple Puree Edible Films Containing Plant Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 9262–9267.
- Salgado, P. R., Schmidt, V. C., Ortiz, S. E., Mauri, A. N., & Laurindo, J. B. (2008). Biodegradable foams based on cassava starch, sunflower proteins and cellulose fibers obtained by a baking process. *Journal of Food Engineering*, 85, 435–443.
- Sánchez-González, L., González-Martínez, C., Chiralt, A., & Cháfer, M. (2010). Physical and antimicrobial properties of chitosan–tea tree essential oil composite films. *Journal of Food Engineering*, 98, 443–452.

Schmidt, V. C. R., & Laurindo, J. B. (2010). Characterization of foams obtained from cassava starch, cellulose fibres and dolomitic limestone by a thermopressing process. *Brazilian archives of Biology and Technology*, 53, 185-192.

Sjöqvist, M., Boldizar, A., & Rigdahl, M. (2010). Processing and Water Absorption Behaviour of Foamed Potato Starch. *Journal of Cellular Plastics*, 1-22.

Strauss, U.P., Porcja, R.J., & Chen, Y. (1991). Volume effects of starch water interactions. In: Levine, H., Slade, L. (Eds.), *Water Relationships in Foods*. Plenum Press, New York, 351–364.

Timmermann, E.O., Chirife, J., & Iglesias, H.A., (2001). Water sorption isotherms of foods and foodstuffs: BET or GAB parameters. *Journal of Food Engineering*, 48, 19–31.

Vercelheze, A. E. S., Fakhouri, F. M., Dall'antônia, L. H., Urbano, A., Youssef, A. E., Yamashita, F., & Mali, S. (2012). Properties of baked foams based on cassava starch, sugarcane bagasse fibers and montmorillonite. *Carbohydrate Polymers*, 87, 1302–1311.

Yoshida, A., & Kuramitsu, H. K. (2002). Multiple *Streptococcus mutans* genes are involved in biofilm formation. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 6284-6291.

ANEXO B

Figures

Figure 1 – Biodegradable trays based on cassava bagasse and polyvinyl alcohol incorporated with essential oils

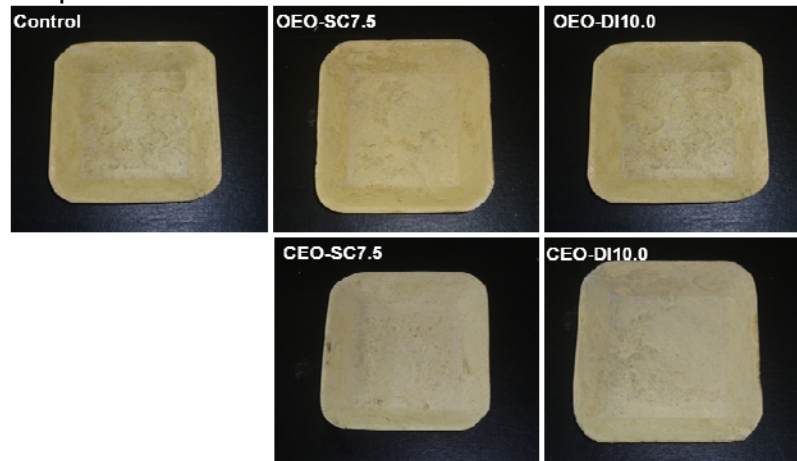


Figure 2 – Inhibition zones of control (first line), OEO-SC5.0 (second line) and OEO-SC7.5 (third line) trays: (A) *S. aureus*; (B) *B. cereus*; (C) *S. mutans*; (D) *E. faecalis*; (E) *E. coli*; (F) *S. Typhimurium*; (G) *C. albicans*; (H) *A. niger*; (I) *Penicillium sp*; (J) MRSA

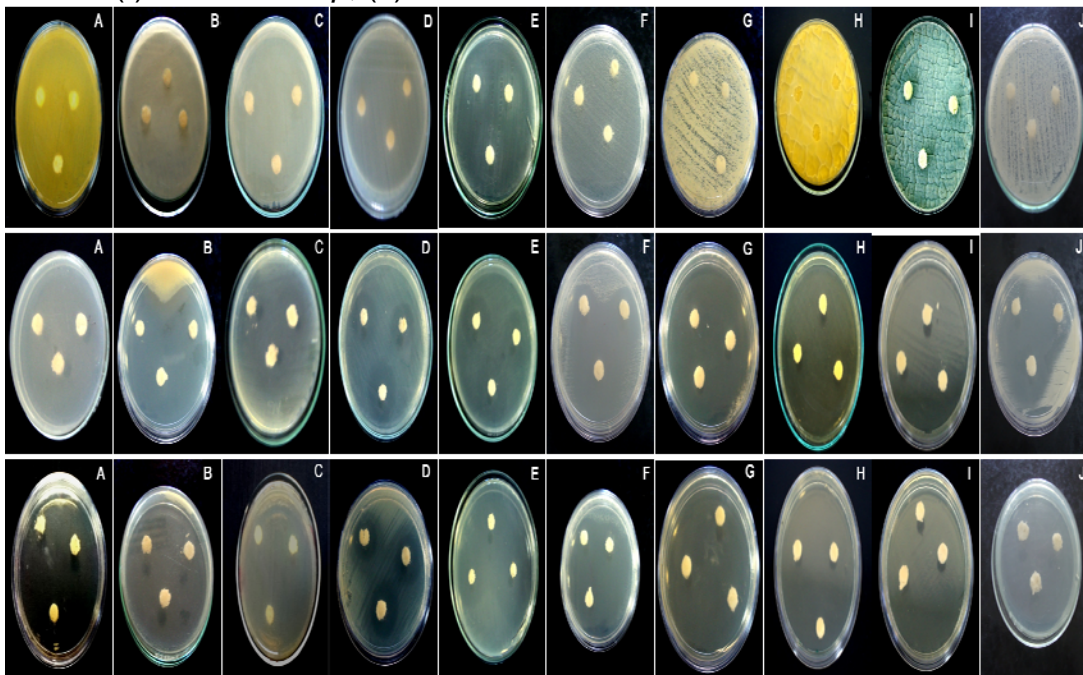


Figure 3 – Water absorption capacity of biodegradable foams: (■) Control tray; (●) OEO-SC5.0 tray

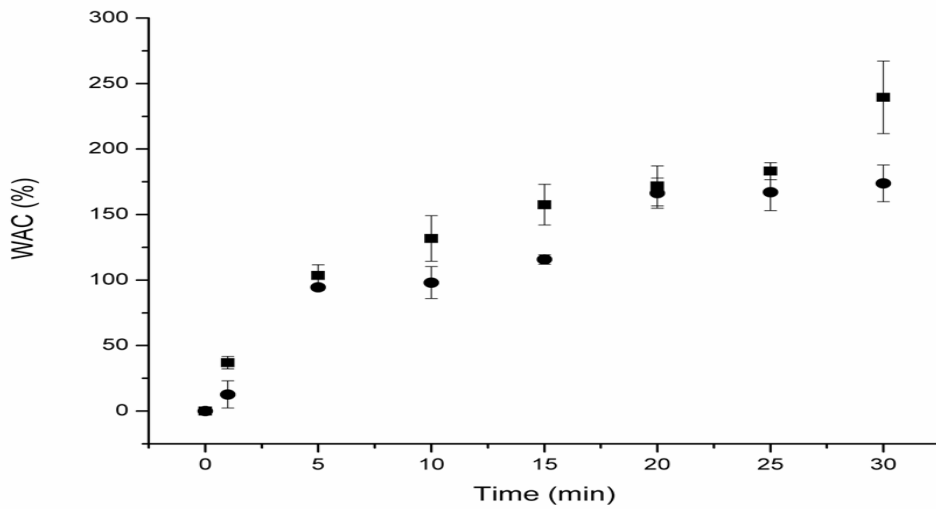
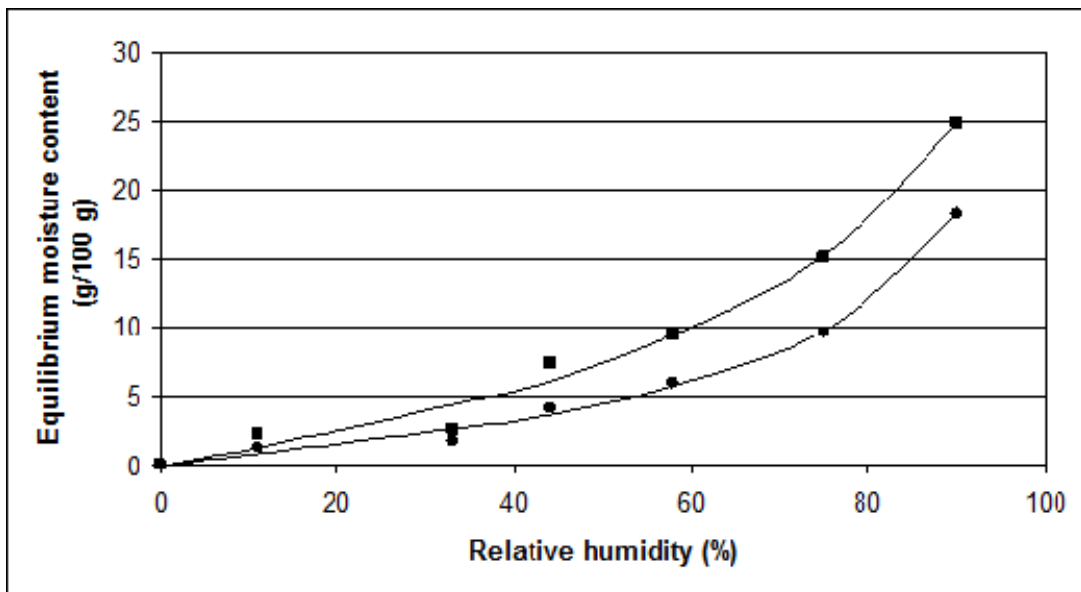


Figure 4 - Water sorption isotherms of biodegradable foams: (■) Control tray; (●) OEO-SC5.0 tray. The lines are derived from GAB model



ANEXO C

Tables

Table 1 - Description of trays samples

Trays samples	Type of essential oil	Method of incorporation of essential oil	Oil concentration (% w/w)
Control sample	-	-	-
CEO – DI6.5	Clove	Direct incorporation	6.5
CEO – DI8.5	Clove	Direct incorporation	8.5
CEO – DI10	Clove	Direct incorporation	10.0
CEO – SC2.5	Clove	Surface coating	2.5
CEO – SC5.0	Clove	Surface coating	5.0
CEO – SC7.5	Clove	Surface coating	7.5
OEO – DI6.5	Oregano	Direct incorporation	6.5
OEO – DI8.5	Oregano	Direct incorporation	8.5
OEO – DI10	Oregano	Direct incorporation	10.0
OEO – SC2.5	Oregano	Surface coating	2.5
OEO – SC5.0	Oregano	Surface coating	5.0
OEO – SC7.5	Oregano	Surface coating	7.5

Table 2 – Antimicrobial activity of cassava bagasse-PVA foams incorporated with CEO by different methods against the tested microorganisms

Microorganisms	Inhibitory zone (mm)						
	Control	Direct incorporation (% w/w)			Surface coating (% w/w)		
		6.5	8.5	10.0	2.5	5.0	7.5
<i>S. aureus</i>	0 ± 0 a, C	0 ± 0 b, C	0 ± 0 b, C	0 ± 0 b, C	3 ± 2 b, B	25 ± 0 b, A	26 ± 1 b, A
<i>B. cereus</i>	0 ± 0 a, C	0 ± 0 b, C	0 ± 0 b, C	0 ± 0 b, C	0 ± 0 C	12 ± 1 d, B	15 ± 0 c, A
<i>E. coli</i>	0 ± 0 a, C	0 ± 0 b, C	0 ± 0 b, C	0 ± 0 b, C	0 ± 0 b, C	15 ± 1 c, B	16 ± 1 c, A
<i>S. typhimurium</i>	0 ± 0 a, C	0 ± 0 b, C	0 ± 0 b, B	0 ± 0 b, C	0 ± 0 b, C	13 ± 1 c, B	15 ± 0 c, A
<i>S. mutans</i>	0 ± 0 a, B	0 ± 0 b, B	0 ± 0 b, B	0 ± 0 b, B	0 ± 0 b, B	10 ± 1 d, A	11 ± 1 A
<i>E. faecalis</i>	0 ± 0 a, B	0 ± 0 b, B	0 ± 0 b, B	0 ± 0 b, B	0 ± 0 b, B	11 ± 1 d, A	11 ± 1A
<i>C. albicans</i>	0 ± 0 a, E	14 ± 2 a, D	21 ± 1a, C	28 ± 1 a, B	15 ± 3 a, D	40 ± 0 a, A	40 ± 0 a, A
<i>A. niger</i>	0 ± 0 a, B	0 ± 0 b, B	0 ± 0 b, B	0 ± 0 b, B	0 ± 0 b, B	39 ± 1 a, A	40 ± 0 a, A
<i>Penicillium sp</i>	0 ± 0 a, C	0 ± 0 b, C	0 ± 0 b, C	0 ± 0 b, C	0 ± 0 b, C	23 ± 1 b, B	26 ± 1b, A
MRSA	0 ± 0 a, C	0 ± 0 c, C	0 ± 0 b, C	0 ± 0 b, C	17 ± 1 c, A	17 ± 1c, A	0 ± 0 c, C

The data are the means of replicate determinations ± standard deviation. Small letters indicate differences between the types of microorganisms in each column, and capital letters indicate differences between OEC concentrations and the process in each line ($p \leq 0.05$).

Table 3 - Antimicrobial activity of cassava bagasse-PVA foams incorporated with OEO by different methods against the tested microorganisms

Microorganisms	Inhibitory zone (mm)						
	Control	Direct incorporation (% w/w)			Surface coating (% w/w)		
		6.5	8.5	10.0	2.5	5.0	7.5
<i>S. aureus</i>	0 ± 0 a, C	31 ± 1 a, B	34 ± 2 a, B	43 ± 3 a, A	TI	TI	TI
<i>B. cereus</i>	0 ± 0 a, D	8 ± 2 b, C, D	11 ± 2 b, C	27 ± 1 b, B	35 ± 2 b, B	45 ± 0 a, A	TI
<i>E. coli</i>	0 ± 0 a, C	0 ± 0 c, C	10 ± 8 c, B	14 ± 1 d, B	25 ± 1 d, A	33 ± 2 d, A	TI
<i>S. Typhimurium</i>	0 ± 0 a, C	0 ± 0 c, C	9 ± 7 b, B, C	16 ± 1 d, B	16 ± 2 e, A	25 ± 1 c, A	27 ± 3 b, B
<i>S. mutans</i>	0 ± 0 a, C	0 ± 0 c, C	0 ± 0 c, C	12 ± 1 d, B	8 ± 6 g, B	29 ± 2 c, A	32 ± 0 a, A
<i>E. faecalis</i>	0 ± 0 a, C	0 ± 0 c, C	6 ± 4 c, C	15 ± 0 d, B	0 ± 0 g, C	31 ± 2 c, A	33 ± 3 a, A
<i>C. albicans</i>	0 ± 0 a, C	0 ± 0 c, C	31 ± 2 a, B	38 ± 3 a, A	29 ± 1 c, B	TI	TI
<i>A. niger</i>	0 ± 0 a, D	0 ± 0 c, D	28 ± 1 a, B	41 ± 2 a, A	20 ± 1 f, C	TI	TI
<i>Penicillium sp</i>	0 ± 0 a, C	0 ± 0 c, C	20 ± 2 a, B	40 ± 0 a, A	49 ± 1 a, A	TI	TI
MRSA	0 ± 0 a, C	0 ± 0 c, C	17 ± 4 b, B	22 ± 3 c, B	31 ± 1 c, A	38 ± 3 b, A	TI

TI = total inhibition. The data are the means of replicate determinations ± standard deviation. Small letters indicate differences between the types of microorganisms in each column, and capital letters indicate differences between OEO concentrations and the process in each line ($p \leq 0.05$).

Table 4 – Mechanical properties and GAB model parameters of control and OEO-SC5.0 trays

Samples	Stress at break (MPa)			
	33% RH	58% RH	90% RH	
Control	269 ± 23 a, A	168 ± 64 b, A	31 ± 6 c, A	
OEO-SC5.0	10 ± 5 a, B	6 ± 1 b, B	1 ± 0 c, B	
Samples	Strain at break (%)			
	33% RH	58% RH	90% RH	
Control	3 ± 1 b, B	6 ± 2 b, B	17 ± 3 a, B	
OEO-SC5.0	11 ± 1 c, A	32 ± 1 b, A	45 ± 2 a, A	
Samples	GAB model parameters			
	m_0 (g/100g)	C	K	R ²
Control	8.25	1.7597	0.8068	0.994
OEO-SC5.0	3.90	2.1873	0.8966	0.997