



## Efeito do glicerol como plastificante nas propriedades funcionais de filmes de proteína de soja e óleo essencial de orégano

Isabela dos Santos Paglione<sup>1</sup>, Marcella Vitoria Galindo<sup>2</sup>, Margarida Masami Yamaguchi<sup>3</sup>,  
Claudio Takeo Ueno<sup>4</sup>, Lyssa Setsuko Sakanaka<sup>5</sup>, Marianne Ayumi Shirai<sup>6</sup>

Neste trabalho, avaliou-se o efeito da concentração de glicerol nas propriedades de filmes de proteína de soja (IPS) incorporados de óleo essencial de orégano (OEO). As concentrações de glicerol testadas foram de 20, 25 e 30 g de glicerol/100 g de IPS, e a concentração de OEO utilizada foi de 3% (m/m) em relação à solução filmogênica. O aumento na concentração de glicerol com a presença de OEO promoveu diminuição no módulo de Young, resistência à tração e aumento no alongamento à ruptura e permeabilidade ao vapor de água. Entretanto, em alta concentração de glicerol e OEO o filme mostrou migração aparente desses compostos. Filmes de IPS com OEO apresentaram atividade antimicrobiana frente a *E. coli* e *S. aureus*, e significativa atividade antioxidante (medida pelos métodos DPPH e ABTS), independentemente da concentração de glicerol. Os filmes apresentados são uma opção promissora de embalagens ativas ambientalmente corretas para serem utilizadas na conservação de alimentos.

**Palavras-chave:** Óleo essencial. Compostos bioativos. Biopolímeros. Embalagem ativa.

## Effect of glycerol as plasticizer on the functional properties of soy protein and oregano essential oil film

In this work, the effect of glycerol concentration on the properties of soy protein (SPI) films incorporated with oregano essential oil (OEO) was evaluated. The glycerol concentrations tested were 20, 25 and 30 g glycerol/100 g SPI, and the OEO concentration used was 3 % (w/w) in relation to filmogenic solution. The increase in the glycerol concentration with the presence of OEO promoted a decrease on the Young's modulus, tensile strength and increase on elongation at rupture and water vapor permeability. However, in high concentration of glycerol and OEO the film showed apparent migration of these compounds. SPI films with OEO presented antimicrobial activity against *E. coli* and *S. aureus*, and significant antioxidant activity (measured by DPPH and ABTS assays) regardless of the glycerol concentration. The films presented are a promising option of environmentally friendly active packaging to be used in food conservation.

**Keywords:** Essential oil. Bioactive compounds. Biopolymers. Active packaging.

1 Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Londrina. Paraná. Brasil. *E-mail:* isabela\_paglione@hotmail.com

2 Departamento Acadêmico de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Londrina. Paraná. Brasil. *E-mail:* rpmarcella@hotmail.com

3 Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Londrina. Paraná. Brasil. *E-mail:* mmyamaguchi@utfpr.edu.br

4 Departamento Acadêmico de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Londrina. Paraná. Brasil. *E-mail:* takeo@utfpr.edu.br

5 Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Londrina. Paraná. Brasil. *E-mail:* lyssa@utfpr.edu.br

6 Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Londrina. Paraná. Brasil. *E-mail:* marianneshirai@utfpr.edu.br. Endereço para correspondência: Avenida dos Pioneiros, 3131 – Jardim Morumbi – Londrina – PR, Cep 86036-370. Tel. (43) 3315-6153.

## INTRODUÇÃO

Filmes e revestimentos comestíveis podem ser produzidos utilizando-se como matéria-prima proteínas, polissacarídeos, lipídeos ou a combinação destes. O isolado proteico de soja (IPS) é uma matéria-prima de origem vegetal, pois possui baixo custo, é biodegradável e biocompatível. Além disso, filmes a base de IPS possuem boa barreira ao oxigênio e óleos, em baixas umidades relativas, e possuem boas propriedades mecânicas, permitindo seu uso como embalagens de alimentos e como matriz para incorporação de compostos bioativos<sup>[1]</sup>.

Os óleos essenciais são compostos bioativos extraídos de plantas, possuem composição química complexa, constituídos de mais de 100 compostos terpênicos diferentes e possuem um amplo espectro de atividade antimicrobiana e antioxidante<sup>[2,3]</sup>. O óleo essencial de orégano tem sido reconhecido pelas suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes devido à presença de compostos fenólicos (carvacrol, carvacrol metileter, timol metileter). O componente majoritário do óleo de orégano é o carvacrol, um monoterpene que apresenta atividades antibacteriana, antifúngica, antitoxigênica, inseticida e antiparasita<sup>[4,5]</sup>. Devido às suas propriedades, o óleo essencial de orégano é uma opção promissora de aditivo natural para alimentos.

Vários estudos relatam a adição de óleo de orégano na produção de filmes ativos biodegradáveis<sup>[6,7,8,9]</sup>. Entretanto, poucos estudos mencionam o efeito da concentração de plastificante em filmes adicionados de óleos essenciais, uma vez que estes também podem atuar como plastificante. Um plastificante é uma pequena molécula de baixa volatilidade que, quando adicionada a materiais poliméricos, modifica a organização tridimensional, diminui as forças intermoleculares atrativas e aumenta o volume livre e a mobilidade da cadeia<sup>[10]</sup>. Como resultado dessas mudanças na organização molecular, os plastificantes modificam as propriedades funcionais dos filmes aumentando a flexibilidade e diminuindo a coesão, elasticidade e rigidez. Os plastificantes mais utilizados na produção de filmes são o glicerol e sorbitol<sup>[11]</sup>, porém há estudos que verificaram o efeito plastificante de óleos essenciais<sup>[12,13]</sup>.

Assim, determinar a concentração adequada de plastificante na formulação de filmes é importante, pois quando adicionado em baixa concentração causam um efeito chamado antiplastificante<sup>[14]</sup>, onde o plastificante não interage com a matriz polimérica o suficiente para aumentar a mobilidade molecular, apenas aumenta o grau de interações e a rigidez desta matriz, causando a redução da flexibilidade e hidrofobicidade<sup>[15,16,17]</sup>. Por outro lado, a adição excessiva de plastificante causa a sua migração deixando a superfície do filme pegajosa, dificultando a sua aplicação. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da concentração de glicerol nas propriedades físicas, antioxidante e antimicrobiana de filmes de isolado proteico de soja adicionados de óleo essencial de orégano.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material

Para a produção dos filmes foram utilizados isolado proteico de soja (>90 % proteína, Bremil, Brasil), glicerol PA (Dinâmica, Brasil), Tween 80 (Anidrol, Brasil) e óleo essencial de orégano (Quinari, Brasil).

### Produção do filme de IPS adicionado de óleo essencial de orégano e glicerol

Os filmes foram preparados pelo método de casting e a formulação consistiu de 7,5 % de IPS, conforme estabelecido em estudos preliminares. Para avaliar o efeito da concentração de glicerol, a concentração de óleo de orégano foi fixada em 3 % (m/m), em relação à solução filmogênica e as concentrações de glicerol estudadas foram 20, 25 e 30 g/100 g de IPS. Inicialmente o IPS foi solubilizado em água destilada a 25°C, em seguida o pH da solução foi ajustado para 10,54 (NaOH 1M), mantido sob agitação por 30 minutos, aquecido até 70°C e mantido por mais 20 minutos. Após o resfriamento da solução filmogênica, adicionou-se o óleo de orégano, o Tween 80 (1% em relação à solução filmogênica, m/m) e homogeneizou-se em Ultraturrax (marca IKA, modelo T18, EUA) a 10.000 rpm por 3 minutos. Aproximadamente 50 g de solução filmogênica foi vertida em placas de acrílico e secas a 25°C por 24 horas. As amostras contendo apenas glicerol foram codificadas como G20, G25 e G30 e as que continham OEO como

G20 OEO, G25 OEO e G30 OEO. A produção do filme foi repetida duas vezes.

### Caracterização física

O teste de tração foi realizado em texturômetro (Stable Micro Systems, modelo TA-TX2, Inglaterra). As propriedades determinadas foram resistência máxima à tração (MPa), alongamento na ruptura (%) e módulo de elasticidade ou de Young (MPa), conforme os métodos e normas da *American Society for Testing and Material* (ASTM D883-12E1, 2012). O teste foi realizado em 10 amostras de cada formulação.

Filmes com dimensões de 2 x 2 cm foram pesados e secos a 105 °C por 24 h e estufa. Após este período as amostras foram pesadas e o conteúdo de umidade foi calculado como a porcentagem de água removida do filme. A solubilidade em água foi determinada conforme Gontard, Guilbert e Cuq (1993)<sup>[10]</sup>. Os ensaios foram conduzidos em triplicata.

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada por método gravimétrico, conforme a norma da *American Society for Testing and Material* (ASTM E-96-00, 2000). O teste foi conduzido em triplicata.

### Atividade antimicrobiana

Para esta análise, primeiramente, foi feita a reativação das bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922) e *Escherichia coli* (ATCC 35218) em caldo Müller Hinton a 35°C, até alcançar ou exceder a turbidez de uma solução padrão McFarland de 0,5 (aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL). Inoculou-se então 0,1 mL das suspensões bacterianas ( $10^8$  UFC/mL) em placas contendo ágar Müller-Hinton, discos dos filmes foram colocados na superfície e incubou-se a 37°C por 24 horas. Após esse período analisou-se a placa, observando a formação de halo de inibição. O diâmetro do halo foi medido com auxílio de paquímetro e expresso em milímetros<sup>[18]</sup>. *S. aureus* e *E. coli* foram escolhidos porque são bactérias patogênicas geralmente encontradas em alimentos. O teste foi conduzido em triplicata.

### Extração dos compostos antioxidantes dos filmes

Para a extração dos compostos antioxidantes dos filmes, 20 mL de etanol absoluto (Anidrol, Brasil) foi adicionado a 0,5 g de filme e a mistura foi homogeneizada em agitador de tubos (Phoenix, Brasil) durante 24 horas a temperatura ambiente. Após, a mistura foi centrifugada e o sobrenadante foi utilizado nas análises de compostos fenólicos totais, DPPH e ABTS. A extração foi realizada em triplicata.

### Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu. Em tubos de ensaio foram misturados 200 µL da fração etanólica extraída do filme e 1000 µL do reagente de Folin-Ciocalteu (10%, v/v). Em seguida foi adicionado 800 µL da solução de carbonato de sódio (7,5%, p/v) e os tubos foram mantidos em ambiente escuro por 2 horas para reação. Uma amostra “branco” foi preparada substituindo-se o extrato por etanol. A absorbância foi medida em comprimento de onda de 765 nm utilizando um espectrofotômetro UV-Vis (Femto, Brasil). Uma curva analítica foi previamente preparada utilizando diferentes concentrações de ácido gálico ( $y = 10,85x - 0,0051$ ;  $R^2 = 0,99$ ; y representa a absorbância e x a concentração de fenólicos). O conteúdo de compostos fenólicos totais foi expresso em mg ácido gálico equivalente/ g filme.

A capacidade antioxidante dos filmes foi avaliada pelos métodos de captura do radical livre ABTS e DPPH<sup>[19,20]</sup>. A determinação da capacidade antioxidante pelo método ABTS foi realizada conforme Rufino *et al.* (2007), onde inicialmente foi preparada uma solução estoque de ABTS 7mM e persulfato de potássio 140 mM. Para o preparo do radical ABTS (ABTS<sup>+</sup>), 5 mL da solução estoque de ABTS foi misturada com 88 µL da solução de persulfato de potássio e mantida em ambiente escuro, a temperatura ambiente, por 16 horas. Em seguida, diluiu-se 1 mL desta mistura em álcool etílico até obter uma absorbância de  $0,70 \pm 0,05$  a 734 nm. Em tubos de ensaio uma alíquota de 30 µL do extrato do filme foi misturada com 3,0 mL do radical ABTS<sup>+</sup> e a leitura da absorbância (734 nm) foi realizada após 6 minutos. Os resultados foram calculados utilizando-se uma curva analítica de

Trolox( $y = -0,0003x + 0,6609$ ;  $R^2 = 0,99$ ;  $y$  representa a absorvância e  $x$  a capacidade antioxidante) e expressos em  $\mu\text{M}$  de Trolox equivalente por g de filme.

Para a determinação da capacidade antioxidante pela captura do radical livre DPPH uma alíquota de 0,1 mL do extrato foi misturada com 3,9 mL de solução de DPPH 0,06 mM. Após 40 minutos a absorvância foi medida em espectrofotômetro a 515 nm. Os resultados foram calculados utilizando-se uma curva analítica de Trolox ( $y = -0,0003x + 0,5632$ ;  $R^2 = 0,99$ ) e expressos em  $\mu\text{M}$  de Trolox equivalente por g de filme.

### Análise estatística

Os resultados obtidos foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e a média dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% significância ( $p < 0,05$ ) utilizando o *software Statistica*, versão 10 (Statsoft, Tulsa, OK, USA).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A formulação contendo 30 g de glicerol/100 g de IPS e OEO (G30 OEO) apresentou migração de glicerol e OEO para a superfície do filme e como essa característica não é desejável, este não foi caracterizado. A migração do glicerol ocorreu devido à concentração excessiva em relação ao valor do IPS. Os demais filmes apresentaram espessura média de 240  $\mu\text{m}$ , não apresentaram migração aparente de glicerol, foram facilmente removidos das placas de acrílico, a coloração foi amarelada, com aspecto contínuo, opaco e boa manuseabilidade.

### Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes foram influenciadas tanto em relação a concentração de glicerol como pela presença de OEO (Tabela 1). A elevação na concentração de glicerol diminuiu a resistência à tração (RT) e o módulo de Young (MY) e elevou a elongação na ruptura ( $\epsilon$ ) dos filmes, sendo que esses efeitos foram mais pronunciados quando adicionou-se o OEO. A incorporação de OEO causou um decréscimo de

aproximadamente 400 % na RT e 297% no MY e um acréscimo ao redor de 222% na  $\epsilon$ , por exemplo, no filme G20 OEO. Resultados similares foram reportados em filmes de gelatina e quitosana adicionados de OEO<sup>[7]</sup> e em filmes de IPS contendo óleo essencial de cravo<sup>[13]</sup>. Os filmes de IPS com óleo essencial de orégano produzidos neste trabalho apresentaram menor RT (18,99 MPa) e maior (99,10 %) e YM (80,75 MPa) quanto comparados a filmes de polietileno de baixa densidade (PEBD)<sup>[21]</sup>.

**Tabela 1:** Propriedades mecânicas de filmes de IPS contendo óleo de orégano e diferentes concentrações de glicerol.

Filme	RT (MPa)	$\epsilon$ (%)	MY (MPa)
G20	19,2 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	59,7 $\pm$ 15,8 <sup>c</sup>	423,9 $\pm$ 27,6 <sup>a</sup>
G25	12,2 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	133,0 $\pm$ 27,6 <sup>b</sup>	254,2 $\pm$ 16,4 <sup>b</sup>
G20 OEO	4,7 $\pm$ 0,5 <sup>c</sup>	142,5 $\pm$ 29,8 <sup>b</sup>	142,6 $\pm$ 17,3 <sup>c</sup>
G25 OEO	3,3 $\pm$ 0,6 <sup>d</sup>	255,3 $\pm$ 9,3 <sup>a</sup>	79,5 $\pm$ 14,7 <sup>d</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras iguais na coluna não apresentaram diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ). RT = Resistência à tração;  $\epsilon$  = Elongação na ruptura; MY = Módulo de Young.

Os resultados das propriedades mecânicas podem ser explicados, pois plastificantes como o glicerol diminuem a força intermolecular, amenizam a rigidez da estrutura do filme, elevam a mobilidade das cadeias poliméricas e assim contribuem com a diminuição da RT e MY e elevação da  $\epsilon$ <sup>[22]</sup>. Este fenômeno é interessante quando se deseja obter filmes flexíveis. Considerando o efeito da adição de OEO no filme de IPS, este pode ter atuado como um plastificante impedindo ou enfraquecendo a interação polímero-polímero e isso facilitou o deslizamento das cadeias durante a tração do filme<sup>[23]</sup>. Além disso, como o OEO é líquido a temperatura ambiente, este poderia estar presente no filme na forma de gotículas de óleo que foram facilmente deformadas, desenvolvendo então uma estrutura heterogênea com descontinuidades<sup>[24]</sup>.

Por outro lado, alguns autores relatam que o efeito plastificante de óleos essenciais depende do tipo de óleo e polímero utilizado na formulação do filme e da interação entre esses compostos<sup>[24]</sup>. Em filmes de proteína do soro de leite (WPC), por exemplo, o filme controle teve uma RT menor que os filmes adicionados de OEO nas proporções de 0,5, 1 e 1,5%<sup>[8]</sup>, sugerindo que em menores concentrações, o

OEO não apresenta um efeito plastificante tão pronunciado.

### Permeabilidade ao vapor de água, solubilidade em água e umidade

A umidade dos filmes variou de 7,3 a 9,5% e não apresentaram diferença significativa entre as amostras. Os resultados da solubilidade em água (SOL) e permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes de IPS com diferentes concentrações de glicerol e com ou sem adição de OEO estão apresentados na Tabela 2. A solubilidade em água dos filmes variou de 29,4 a 38,2 % e as formulações não apresentaram diferença significativa. Valores próximos de solubilidade foram relatados em filmes de IPS adicionados de montmorilonita e óleo essencial de cravo<sup>[13]</sup> e valores inferiores foram reportados em filmes de IPS adicionados de óleo de coco e extrato de *Yuccaschidigera*<sup>[24]</sup>.

**Tabela 2:** Solubilidade e permeabilidade ao vapor de água de filmes de IPS contendo óleo de orégano e diferentes concentrações de glicerol.

Filme	SOL (%)	PVA x 10 <sup>-7</sup> (g/m.h.Pa)
G20	33,2 ± 2,1 <sup>a</sup>	4,2 ± 0,2 <sup>b</sup>
G25	38,2 ± 9,9 <sup>a</sup>	5,4 ± 0,6 <sup>ab</sup>
G20 OEO	29,4 ± 1,6 <sup>a</sup>	5,9 ± 0,8 <sup>a</sup>
G25 OEO	34,9 ± 3,3 <sup>a</sup>	6,5 ± 0,5 <sup>a</sup>

<sup>ab</sup>Letras iguais na coluna não apresentaram diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ). SOL = solubilidade em água; PVA = permeabilidade ao vapor de água.

Os resultados de PVA variaram de  $4,2 \times 10^{-7}$  a  $6,5 \times 10^{-7}$  g/m.h.Pa e a variação na concentração de glicerol não apresentou efeito significativo. Valores similares de PVA foram obtidos em outros estudos sobre produção de filmes a base de proteínas<sup>[12,13,25]</sup>. Avaliando o efeito da adição de OEO, comparando-se com a amostra G20, houve elevação significativa nos valores de PVA e resultado semelhante foi descrito por Oliveira *et al.* (2017)<sup>[8]</sup> em filmes de WPC adicionados de OEO. Resultado diferente foi reportado por Carpiné *et al.* (2016)<sup>[25]</sup>, que observou que a adição de óleo de coco e extrato de *Yuccaschidigera* diminuiu em aproximadamente 35,4% a PVA dos filmes em relação ao filme controle. Aguirre *et al.* (2013)<sup>[12]</sup> não obtiveram redução significativa nos valores de PVA em razão da adição de OEO em filmes proteicos de triticale. Assim como já discutido nas propriedades mecânicas, o OEO atuou como um

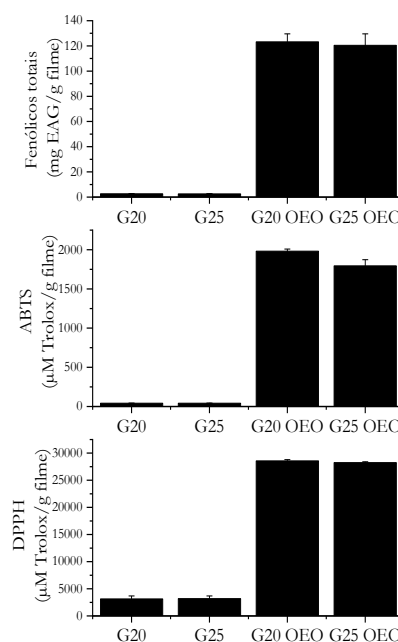
plastificante reduzindo a interação polímero-polímero, desestabilizando a estrutura do filme e contribuiu na formação de espaços por onde a água pode ter permeado com maior facilidade.

### Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante

A concentração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante (DPPH e ABTS) dos filmes estão apresentados no Gráfico 1.

As formulações contendo OEO foram as que apresentaram maior conteúdo de compostos fenólicos totais e maior capacidade antioxidante e não foi observado diferença significativa entre as amostras, visto que a quantidade de OEO adicionada foi a mesma. Os principais compostos fenólicos presentes no OEO e responsáveis pela capacidade antioxidante são carvacrol e timol<sup>[26,27,28]</sup>. Diversos estudos também demonstraram que a adição de OEO nas formulações de filmes biodegradáveis proporcionou capacidade antioxidante aos mesmos, sendo que o aumento da atividade foi proporcional à elevação na concentração de OEO<sup>[13,29,30]</sup>.

**Gráfico 1.** Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante de filmes de IPS com diferentes concentrações de glicerol e incorporação de OEO.



**Fonte:** Dado obtido. Londrina. 2019.

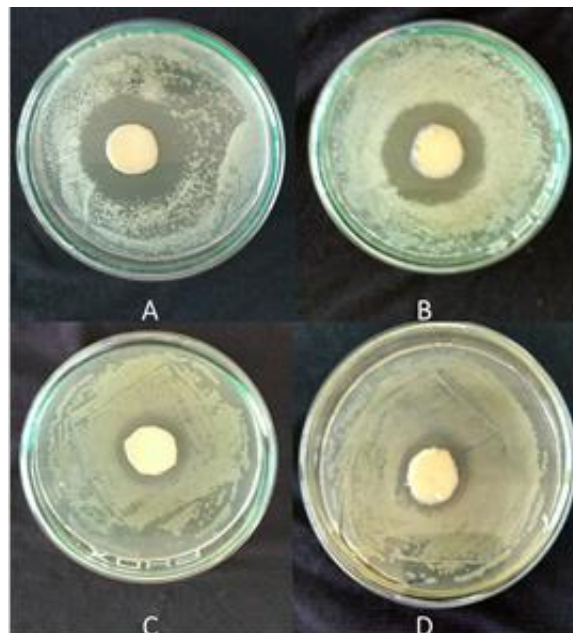
As formulações G20 e G25 apresentaram valores de compostos fenólicos de 2,55 e 2,61 mg EAG/ g filme, respectivamente, e também mostraram capacidade de capturar os radicais DPPH e ABTS<sup>+</sup>. Este fato pode ser atribuído à reação do reagente Folin-Ciocalteu e dos radicais DPPH e ABTS<sup>+</sup> com as cadeias laterais fenólicas de alguns aminoácidos presentes no IPS como fenilalanina, tirosina e triptofano<sup>[1]</sup>. Outros compostos fenólicos presentes como isoflavonas e ácidos clorogênicos, cafeico e ferúlico<sup>[13]</sup> também podem ter contribuído na elevação dos compostos fenólicos dos filmes.

### Atividade antimicrobiana

As formulações G20 e G25 não apresentaram atividade antimicrobiana. Em contrapartida, os filmes de IPS contendo OEO apresentaram halo de inibição contra *E. coli* e *S. aureus* (Figura 1). Os diâmetros dos halos para *E. coli* variaram de 20 a 27 mm e para *S. aureus* foram de 33 a 41 mm e a adição de diferentes concentrações de glicerol não alteraram de forma significativa o diâmetro do halo formado, pois a concentração de OEO foram as mesmas em todas as formulações. A atividade antimicrobiana também foi verificada em filmes de gelatina e quitosana<sup>[7]</sup>, filmes de WPC<sup>[8]</sup>, filmes de amido e quitosana<sup>[6]</sup>, filmes de proteína de triticale <sup>[12]</sup>, filmes de semente de pimental<sup>[29]</sup> e filmes de IPS<sup>[31]</sup>.

Os resultados da atividade antimicrobiana corroboram com os de atividade antioxidante, ou seja, os filmes com OEO apresentaram maior conteúdo de compostos fenólicos e conseqüentemente maior capacidade antioxidante e antimicrobiana. Os compostos fenólicos possuem caráter hidrofóbico e o seu sítio de ação é a membrana celular da célula microbiana. Esses compostos se acumulam na bicamada lipídica causando desarranjo na função e na estrutura da membrana e penetram a célula bacteriana, exercendo atividade inibitória no citoplasma celular, provocando lise e liberação do ATP intracelular. Outro mecanismo reportado é de que os compostos fenólicos presentes no OEO causam aumento na permeabilidade da membrana citoplasmática, acarretando em perda de constituintes celulares<sup>[27,32,33]</sup>.

**Figura 1.** Halos de inibição de filmes de IPS contendo OEO. A –filme G20 OEO frente a *S. aureus*; B – filme G20 OEO frente a *E. coli*; C – filme G25 OEO frente a *S. aureus*; D –filme G25 OEO frente a *E. coli*.



Fonte: Dado obtido. Londrina. 2019.

### CONCLUSÃO

A adição de diferentes concentrações de glicerol em filmes de IPS contendo OEO influenciaram nas propriedades mecânicas e PVA, tornando os filmes menos resistentes e mais permeáveis ao vapor de água. Os filmes contendo OEO apresentaram atividade antimicrobiana frente aos microrganismos *E. coli* e *S. aureus* e capacidade antioxidante significativa, independente da concentração de glicerol empregada. Os filmes produzidos neste trabalho podem ser uma alternativa para a produção de embalagens ativas para conservação de alimentos e também contribuir com a minimização de resíduos plásticos no meio ambiente.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela bolsa de iniciação científica e auxílio financeiro (Processo nº 445272/2014-7).

## REFERÊNCIAS

- [1] Wang H, Hu D, Ma Q, Wang L. Physical and antioxidant properties of flexible soy protein isolate films by incorporating chestnut (*Castaneamollissima*) bur extracts. *LWT - Food Science and Technology*. 2016; 71: 33–39.
- [2] Ruiz-Navajas Y, Viuda-Martos M, Sendra E., Perez-Alvarez JA, Fernández-López J. In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. *FoodControl*. 2013; 30: 386–392.
- [3] Viuda-Martos M, El Gendy AENG, Sendra E, Fernández-López J, Abd El Razik KA, Omer EA, Pérez-Alvarez JA. Chemical composition and antioxidant and anti-*Listeria* activities of essential oils obtained from some egyptian plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010; 58: 9063–9070.
- [4] Seydim AC, Sarikus G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Research International*. 2006; 39: 639–644.
- [5] Royo M, Fernández-Pan I, Maté JI. Antimicrobial effectiveness of oregano and sage essential oils incorporated into whey protein films or cellulose-based filter paper. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2010; 90: 1513–1519.
- [6] Pelissari FM, Yamashita F, Grossmann MVE. Extrusion parameters related to starch/chitosan active films properties. *International Journal of Food Science & Technology*. 2011; 46: 702–710.
- [7] Hosseini SF, Rezaei M, Zandi M, Farahmandghavi F. Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. *Industrial Crops and Products*. 2015; 67: 403–413.
- [8] Oliveira SPLF, Bertan LC, De Rensis CMVB, Bilck AP, Vianna PCB. Whey protein-based films incorporated with oregano essential oil. *Polímeros*. 2017; 27: 158–164.
- [9] Galindo MV, Paglione IS, Balan G, Sakanaka LS, Shirai MA. Atividade antimicrobiana e antioxidante de filmes comestíveis de gelatina e quitosana adicionados de óleos essenciais. *Segurança Alimentar e Nutricional*. 2019; 26:e019008.
- [10] Gontard N, Guilbert S, Cuq JL. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. *Journal of Food Science*. 1993; 58: 206–211.
- [11] Swain SN, Biswal SM, Nanda PK, Nayak PL. Biodegradable soy-based plastics: opportunities and challenges. *Journal of Polymers and the Environment*. 2004; 12: 35–42.
- [12] Aguirre A, Borneo R, León AE. Antimicrobial, mechanical and barrier properties of triticale protein films incorporated with oregano essential oil. *Food Bioscience*. 2013; 1: 2–9.
- [13] Echeverría I, López-Caballero ME, Gómez-Guillén MC, Mauri AN, Montero MP. Structure, functionality, and active release of nanoclay–soy protein films affected by clove essential oil. *Food and Bioprocess Technology*. 2016; 9: 1937–1950.
- [14] Gaudin S, Lourdin D, Forssell P, Colonna P. Antiplasticisation and oxygen permeability of starch–sorbitol films. *Carbohydrate Polymers*. 2000; 43: 33–37.
- [15] Mali S, Sakanaka LS, Yamashita F, Grossmann MVE. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. *Carbohydrate Polymers*. 2005; 60: 283–289.
- [16] Chang YP, Abd Karim A, Seow CC. Interactive plasticizing-antiplasticizing effects of water and glycerol on the tensile properties of tapioca starch films. *FoodHydrocolloids*. 2006; 20: 1–8.
- [17] Shimazu AA, Mali S, Grossmann MVE. Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. *Semina: CiênciasAgrárias*. 2007; 28: 79.
- [18] Clinical and laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Clinical and laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA. 2018; 13.
- [19] Rufino MSM, Alves RE, Brito ES, Morais SM, Sampaio CG, Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto FD.

Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Fortaleza: Embrapa, Comunicado técnico online 127, 2007.

[20] Rufino MSM, Alves RE, Brito ES, Morais SM, Sampaio CG, Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto FD. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. Fortaleza: Embrapa, Comunicado técnico online 128, 2007.

[21] Polt S, Fenercioglu H, Güçlü M. Effect of metal nanoparticles on the physical migration properties of low density polyethylene films. *Journal of Food Engineering*. 2018; 229: 32-42.

[22] Ziani K, Osés J, Coma V, Maté JI. Effect of the presence of glycerol and Tween 20 on the chemical and physical properties of films based on chitosan with different degree of deacetylation. *LWT - Food Science and Technology*. 2008; 41: 2159–2165.

[23] Zahedi Y, Ghanbarzadeh B, Sedaghat N. Physical properties of edible emulsified films based on pistachio globulin protein and fatty acids. *Journal of Food Engineering*. 2010; 100: 102–108.

[24] Fabra MJ, Talens P, Chiralt A. Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid–beeswax mixtures. *Journal of Food Engineering*. 2008; 85: 393–400.

[25] Carpiné D, Dagostin JLA, Andrade EF, Bertan LC, Mafra MR. Effect of the natural surfactant *Yucca schidigera* extract on the properties of biodegradable emulsified films produced from soy protein isolate and coconut oil. *Industrial Crops and Products*. 2016; 83: 364–371.

[26] Boskabady MH, Tabatabaee A, Jalali S. Potential effect of the extract of *Zataria multiflora* and its constituent, carvacrol, on lung pathology, total and differential WBC, IgE and eosinophil peroxidase levels in sensitized guinea pigs. *Journal of Functional Foods*. 2014; 11: 49–61.

[27] Selzer D, Abdel-Mottaleb MMA, Hahn T, Schaefer UF, Neumann D. Finite and infinite dosing: difficulties in measurements, evaluations and predictions. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2013; 65: 278–294.

[28] Silva JPL, Duarte-Almeida JM, Perez DV, Franco BDGM. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella Enteritidis*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2010; 30: 136–141.

[29] Hashemi SMB, MousaviKhaneghah A. Characterization of novel basil-seed gum active edible films and coatings containing oregano essential oil. *Progress in Organic Coatings*. 2017; 110: 35–41.

[30] Lee JH, Yang HJ, Lee KY, Song K. Physical properties and application of a red pepper seed meal protein composite film containing oregano oil. *Food Hydrocolloids*. 2016; 55: 136–143.

[31] Emiroğlu ZK, Yemiş GP, Coşkun BK, Candoğan K. Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. *Meat Science*. 2010; 86: 283–288.

[32] Ultee A, Bennik MHJ, Moezelaar R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 2002; 68: 1561–1568.

[33] Nazzaro F, Fratianni F, De Martino L, Coppola R, De Feo V. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*. 2013; 6: 1451–1474.