

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

AKIKAZU PEREIRA TAKEUCHI

CARACTERIZAÇÃO ANTIMICROBIANA DE COMPONENTES
DO AÇAFRÃO (*Curcuma longa* L.) E ELABORAÇÃO DE FILMES
ATIVOS COM MONTIMORILONITA E ÓLEO RESINA DE
AÇAFRÃO

Goiânia

Junho/2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

AKIKAZU PEREIRA TAKEUCHI

CARACTERIZAÇÃO ANTIMICROBIANA DE COMPONENTES DO
AÇAFRÃO (*Curcuma longa* L.) E ELABORAÇÃO DE FILMES ATIVOS
COM MONTIMORILONITA E ÓLEO RESINA DE AÇAFRÃO

Dissertação DEFENDIDA e APROVADA em 22 de junho de 2012, pela Banca
Examinadora constituída pelos membros:

Dr. Eber Antonio Alves Medeiros

DTA/UFV

Prof. Dr. Adriana Régia Marques de Souza

EA/UFG

Prof. Dr. Robson Maia Geraldine

Orientador: EA/UFG

Dedico esta dissertação a Deus, que tem sido a fonte do meu viver.

Aos meus pais Hideichi e Leonilde

Aos meus irmãos Katiuchia, Kelly e Hidekazu.

AGRADECIMENTO

A Deus, pois sem Ele, nada seria possível.

À minha família, pelo amor, confiança, incentivo e apoio em todos os momentos.

À Universidade Federal de Goiás, em especial aos colegas do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimento, pelo apoio.

À Universidade Federal de Viçosa, ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, em especial aos amigos do Laboratório de Embalagem (LABEM), pela oportunidade de desfrutar da infra-estrutura e amizade.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Robson Maia Geraldine, pela orientação, amizade, e apoio durante todo o percurso.

À professora Mirian Fontes Araujo Silveira, pelo auxílio, dedicação e socorro nas horas mais difíceis.

Ao professor Celso José de Moura, pelo auxílio e carinho na elaboração deste trabalho.

À professora Maria Célia Lopes Torres, pela coorientação, amizade e vivência no dia-a-dia de laboratório.

Ao coordenador de laboratório Eber Antonio Alves Medeiros à professora Nilda de Ferreira de Fátima Soares, pela ajuda, amizade, cobrança e incentivo.

À todos do laboratório de embalagens que auxiliaram direta e indiretamente no planejamento e execução desta dissertação.

À todos os demais amigos da Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos e que ajudaram direta e indiretamente na realização deste trabalho.

Aos amigos pelas palavras de incentivo e motivação para que eu terminasse essa dissertação.

AGRADEÇO...

Feliz é o homem que acha sabedoria, e o homem que adquire entendimento;

Provérbios 3:13

**Os que confiam no SENHOR serão como o monte de Sião, que não se abala, mas
permanece para sempre.**

Salmos 125, n.1

RESUMO

A busca por produtos naturais em substituição a produtos sintéticos com características antimicrobianas tem sido motivo de estudos nos últimos anos. Há uma vertente de adição de compostos em embalagens, denominadas embalagens ativas, em vez de serem adicionados diretamente no alimento. Dentre os compostos naturais encontram-se os compostos do açafrão, tema de poucos trabalhos com atividade antimicrobiana sobre micro-organismos deteriorantes e, ou patogênicos. Neste sentido, objetivou-se avaliar o efeito antimicrobiano dos compostos do açafrão (curcumina, óleo essencial e óleo resina) e avaliar o efeito da incorporação de nanocomposto de montimorilonita e óleo resina em filmes ativos de acetato de celulose, nas características mecânicas e físicas dos filmes. Primeiramente pesquisou-se o efeito antimicrobiano dos compostos, curcumina, óleo essencial e óleo resina de açafrão, por meio do método de macrodiluição. Posteriormente, foi analisado o efeito da incorporação do nanocomposto montimorilonita e óleo resina em filmes de acetato de celulose quanto a propriedades de barreira ao vapor de água, mecânicas (força máxima, deformação relativa na carga máxima e módulo de elasticidade), microestrutura da superfície do filme e ópticas (luminosidade, opacidade, cromaticidade e ângulo Hue). Observou-se que a atividade antimicrobiana está diretamente relacionada ao teor de curcumina no composto e que o composto do açafrão com maior capacidade antimicrobiana, foi a curcumina, seguido do óleo essencial e óleo resina. A incorporação de MMT, nas concentrações avaliadas, não alterou as propriedades de barreira ao vapor de água, mecânicas e ópticas dos filmes. Os filmes com óleo resina apresentaram-se mais escuros e opacos, com intensa coloração amarela. O óleo resina aumentou a porosidade dos filmes, diminuiu a permeabilidade ao vapor de água, tornando-os mais flexíveis, porém mais frágeis.

Palavras-chave: açafrão, CIM, filmes ativos, nanocomposto de montimorilonita.,.

SUMÁRIO

RESUMO	VI
ABSTRACT	VII
SUMÁRIO.....	VII
INTRODUÇÃO GERAL	12
CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA	13
1.1 EMBALAGENS ATIVAS	13
1.2 BIOPOLÍMEROS.....	14
1.2.1 Acetato de celulose	15
1.3 AÇAFRÃO	16
1.4 NANOCOMPÓSITOS DE MONTMORILONITA.....	19
1.5 AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DE COMPOSTOS NATURAIS	21
1.6 PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DE FILMES	24
1.6.1 Espessura.....	24
1.6.2 Cor	24
1.6.3 Propriedades mecânicas.....	25
1.6.4 Permeabilidade ao vapor de água.....	26
1.7 OBJETIVO GERAL	28
1.7.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
1.8 REFERÊNCIAS	29
CAPÍTULO 2 - CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA DA CURCUMINA, ÓLEO ESSENCIAL E ÓLEO RESINA DE AÇAFRÃO SOBRE MICRO-ORGANISMOS DETERIORANTES.....	35
RESUMO	35
ABSTRACT	35
2.1. INTRODUÇÃO	36
2.2. MATERIAL E MÉTODOS	37
2.2.1 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)	37
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
2.3.1 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA	38
2.4. CONCLUSÃO	41
2.5. REFERÊNCIAS	42

CAPÍTULO 3 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DE FILMES ATIVOS DE ACETATO DE CELULOSE INCORPORADOS COM NANOPARTÍCULAS DE MONTMORILONITA E ÓLEO RESINA DE AÇAFRÃO (<i>CURCUMA LONGA L.</i>).....	44
RESUMO	44
ABSTRACT	44
3.1. INTRODUÇÃO	45
3.2. MATERIAL E MÉTODOS:.....	45
3.2.1 PRODUÇÃO DOS FILMES ATIVOS	46
3.2.2 TAXA DE PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA (TPVA)	46
3.2.3 COR E OPACIDADE.....	47
3.2.4 PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS FILMES	48
3.2.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	48
3.2.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	49
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
3.4. CONCLUSÃO	57
3.5. REFERÊNCIAS	58

ABSTRACT

Researching of antimicrobial natural products to replace synthetic ones has been the aim of studies in recent years. Increasing research line related towards on addition of antimicrobial compounds into packaging, named of active packaging, instead of addition directly into foods. Among several antimicrobial natural compounds there are the compounds of turmeric, topic of few studies which has antimicrobial activity against microorganisms spoilage of foods and/or pathogens. In this way, the goal of this study was to evaluate the effect of turmeric antimicrobial compounds (curcumin, essential oil and resin oil) and evaluate effect of incorporation of montmorillonite nanocomposite and resin oil into films of cellulose acetate on mechanical and physical properties. First of all, the effect of antimicrobial compounds, such as curcumin, essential oil and turmeric resin oil, was analyzed as antimicrobial activity, using the method of macro dilution. Subsequently, it was investigated the effect of incorporation of montmorillonite nanocomposite and resin oil on barrier (water vapor permeability), mechanical (maximum strength, maximum elongation at break and Young's modulus), optical (color, opacity, chroma and hue angle) and superficial microstructure of films of cellulose acetate. Results showed that the antimicrobial activity was directly related to curcumin concentration of turmeric extract. The higher antimicrobial capacity was observed for the curcumin, followed by essential oil and resin oil. Incorporating MMT under analyzed concentrations did not affect the barrier properties to water vapor, mechanical and optical properties of active films. Films containing resin oil were darker and opaque, with an intense yellowness color. The addition of resin oil increased porosity of films, decreased water vapor permeability, leading to active films more flexible, but more brittle.

Keywords: turmeric, antimicrobial natural compounds, activity packaging, montmorillonite nanocomposite.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Fórmula estrutural do acetato de celulose (CERQUEIRA et al., 2010).	16
Figura 1.2 Fórmula estrutural dos compostos curcuminóides presentes no açafrão (PERET-ALMEIDA, 2005).	18
Figura 1.3. Estrutura dos nanocompostos na matriz celulósica (PADRELA, 2006).	20
Figura 1.4. Esquema para medição de cores CIELAB (1976). L* (claro – escuro), a* (verde – vermelho), b (azul – amarelo). Fonte: Handprint (2012)	25
Figura 3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura com aumento de 1500 vezes dos filmes de acetato incorporados com MMT e Óleo Resina	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 Estudos de Concentração Inibitória Mínima de extratos do açafão contra micro-organismos.....	23
Tabela 3.1. Taxa de Permeabilidade ao vapor de água dos filmes incorporados com óleo resina e MMT, expressos em (g/m ² /dia).....	49
Tabela 3.2. Parâmetros de cor (L*, Croma e Hue) e opacidade dos filmes de acetato de celulose incorporados com óleo resina (50 e.....	52
100 %) e MMT (1, 2 e 3 %).	52
Tabela 3.3. Parâmetros de propriedades mecânicas (força máxima, deformação relativa na ruptura e módulo de elasticidade) dos filmes de acetato de celulose incorporados com MMT (1, 2 e 3 %) e OR (50 e 100 %).	54

INTRODUÇÃO GERAL

A demanda dos consumidores por alimentos naturais vem despertando o interesse de pesquisadores e da indústria de alimentos por compostos, extraídos de plantas, com propriedades antimicrobianas, antioxidantes, entre outras que garantam as qualidades desejáveis no alimento. Entre esses compostos, destacam-se os óleos essenciais, principalmente pelas propriedades antimicrobianas apresentadas em diversos estudos. Dentre os vários óleos com caráter antimicrobiano destaca-se a atividade antimicrobiana *in vitro* do óleo essencial do açafrão (PÉRET-ALMEIDA et al., 2008) e a atividade antioxidante do açafrão (JAYAPRAKASHA et al., 2006).

Uma das aplicações dos óleos essenciais, que apresentam propriedades antimicrobianas e antioxidantes, é a utilização em embalagens, denominadas embalagens ativas. Soares e Gonçalves (2008) relatam que a preocupação com melhorias na segurança alimentar e na qualidade dos alimentos processados tem despertado interesse no uso de filmes antimicrobianos, os quais são incorporados de aditivos antimicrobianos ativos em substituição aos produtos adicionados diretamente no alimento, proporcionando uma liberação parcial deste agente no alimento.

A maior parte das reações de deteriorações ocorre, principalmente, na superfície do alimento embalado, onde está em contato direto com a embalagem. O desenvolvimento das embalagens ativas tem como objetivo estender a vida de prateleira, melhorar a segurança e as propriedades sensoriais, enquanto mantém a qualidade do alimento, através de uma interação desejável entre a embalagem e o alimento (SILVEIRA, 2005).

A incorporação de óleos essenciais em filmes poliméricos pode alterar as propriedades físicas e mecânicas dos mesmos, dependendo das características de cada óleo e das interações com a matriz polimérica (ATARÉS et al., 2010). A incorporação de nanocompostos de montimorilonita em filmes poliméricos tem conferido melhores características de propriedades de barreiras, resistência a altas temperaturas, resistência ao fogo e melhoras nas características termo-mecânicas (PARK et al., 2004a; ROMERO et al., 2009).

Assim, objetivou-se estudar o potencial antimicrobiano *in vitro* de compostos extraídos do açafrão (curcumina, óleo essencial e óleo resina), bem como o efeito da incorporação de montimorilonita e óleo resina de açafrão em matriz polimérica de acetato de celulose sobre as propriedades de barreiras, físicas, mecânicas e óticas do filme.

CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Embalagens ativas

Com o aumento da demanda de embalagens que proporcionem maior frescor e melhor qualidade aos produtos, diversas embalagens têm sido desenvolvidas com o objetivo de interagir de uma forma desejável com o produto (SOARES e GONÇALVES, 2008).

Tradicionalmente, as embalagens para alimentos têm sido planejadas para proteger o produto; um de seus principais requisitos é a não interação com o alimento acondicionado, funcionando assim como uma barreira inerte entre o alimento e o ambiente. Entretanto, as tecnologias envolvendo embalagens ativas visam o planejamento de embalagens que apresentem interações desejáveis com o produto, aumentando ou monitorando sua vida-de-prateleira (AZEREDO et al., 2000; SUPPAKUL et al., 2003; OLIVEIRA e OLIVEIRA, 2004).

As embalagens ativas geralmente são planejadas para corrigir deficiências das embalagens passivas. Soares e Gonçalves (2008) definem embalagem ativa como aquela que exerce algum outro papel na preservação de alimentos que não o de promover uma barreira inerte a influências externas. Segundo Nerin et al. (2006), as embalagens ativas podem ser classificadas em sistemas emissores, que adicionam compostos ativos aos alimentos, como: dióxido de carbono, água, antimicrobianos, aromas, conservantes e absorvedores de substâncias indesejadas (oxigênio, radicais livres, água, etileno, dióxido de carbono, e outros componentes específicos).

Vários aditivos químicos como os antioxidantes podem ser liberados a partir de uma embalagem, a fim de aumentar a vida-de-prateleira do produto (LABUZA e BREENE, 1989). Cunha et al. (2006) desenvolveram embalagens ativas com incorporação da lactase, para facilitar a digestão em indivíduos com intolerância a lactose, verificou-se que houve migração da lactase para o leite em níveis suficientes para degradar a lactose e tornar-se possível sua utilização.

As embalagens ativas são capazes não só de alterar as condições do produto, aumentando sua vida-de-prateleira, mas também de melhorá-lo, em termos de segurança alimentar ou características sensoriais, enquanto mantém a qualidade do alimento, podendo ser incorporados de aditivos ou outros compostos (KERRY et al., 2006). Geralmente são produzidas com materiais biológicos, como polissacarídeos, proteínas, lipídios e derivados.

A obtenção das mesmas, assim como a de coberturas biodegradáveis, está baseada na dispersão ou solubilização dos biopolímeros em um solvente (água, etanol ou ácidos orgânicos) e acréscimo de aditivos (plastificantes ou agentes de liga) obtendo-se uma solução ou dispersão filmogênica. Após o preparo, estas coberturas devem passar por uma operação de secagem para a formação dos filmes ou coberturas tipo *casting* (GONTARD et al, 1992).

A utilização de compostos naturais e sintéticos, na elaboração de filmes ativos, têm tido seu potencial antimicrobiano analisado, entre ele, íons metálicos, ácidos orgânicos, bacteriocinas e fungicidas, assim como os benzoatos e sorbatos. Polímeros com atividade antimicrobiana natural, como as quitosanas e as poliamidas, também estão sendo estudados (OLIVEIRA e OLIVEIRA, 2004). Soares e Gonçalves (2008) ressaltam que as maiores concepções de embalagens ativas são os filmes antimicrobianos, os absorvedores de oxigênio, adsorvedores de etileno, reguladores de umidade, liberadores e, ou absorvedores de sabores e odores, sendo que sua utilização está crescendo e necessitando de novas pesquisas no desenvolvimento destas tecnologias.

Filmes antimicrobianos podem ser obtidos mediante fusão ou solubilização em solvente (processo *cast*) do composto antimicrobiano no suporte polimérico, sendo o método por solubilização o mais indicado quando se trata de antimicrobianos sensíveis ao calor (APPENDINI e HOTCHKISS, 2002).

1.2 Biopolímeros

A demanda por polímeros oriundos do petróleo está na faixa de 180 milhões de toneladas ao ano, com possibilidade de crescimento em 5 a 6 % ao ano. Por outro lado, a limitação crescente da disponibilidade, as altas sucessivas do preço do petróleo e a mudança de hábitos de consumo por produtos biodegradáveis têm aumentado o interesse em pesquisas com biopolímeros provenientes de recursos renováveis (PRADELLA, 2006).

Filmes biopoliméricos é o termo dado aos filmes ou coberturas que são formados a partir de polissacarídeos, poliésteres e poliamidas. As matérias primas para confecção são de fontes renováveis de carbono, oriundos de carboidratos, de plantios comerciais de larga escala como: cana-de-açúcar, milho, batata, trigo, beterraba; ou óleos extraídos de soja, girassol, palma ou outra planta oleaginosa (PRADELLA, 2006).

Os biopolímeros podem ser classificados em três categorias: hidrocolóides, lipídicos e compostos. Hidrocolóides incluem amido, proteínas, celulose, alginatos, pectinas e outros polissacarídeos. Lipídios incluem ceras, acilgliceróis e ácidos graxos. Os compostos contêm ambos componentes como bicamada ou aglomerados. Cada grupo destes materiais utilizados na formulação dos filmes apresenta propriedades diferenciadas. Desta forma, muitos trabalhos atualmente utilizam a combinação dos mesmos para promoção de filmes com melhores propriedades (PETERSSON e STADING, 2005).

Segundo Sobral (2000), as propriedades dos biopolímeros dependem do polímero usado, das condições de fabricação e das condições ambientais que são importantes fatores por causa da natureza higroscópica dos biopolímeros.

Filmes a base de polissacarídeos (celulose e derivados, carboidratos e derivados, gomas, entre outros) ou proteínas (gelatina, zeína, farinha de glúten, entre outras) apresentam excelentes propriedades mecânicas e ópticas e eficiente barreira a óleos e lipídios, porém apresentam baixa barreira ao vapor de água por serem sensíveis à umidade. Ao contrário, os filmes compostos de lipídios (ceras, lipídios e derivados, entre outros) apresentam boas propriedades de barreiras ao vapor de água, porém sua aplicação é limitada em função de características mecânicas e sensoriais reduzidas (GUILBERT, 1986).

Os polímeros biodegradáveis mais estudados em pesquisas ou já utilizados para embalagens de alimentos são: amido, poli-beta-hidroxi alcanato (PHA), ácido polilático (PLA) e o acetato de celulose (CA), polímero derivado da celulose, oriundo de compostos orgânicos renováveis.

1.2.1 Acetato de celulose

Dentre os materiais utilizados para a fabricação de filmes ativos tem-se o acetato de celulose (Figura 1.1). Trata-se de um éster produzido pela reação da celulose, extraída e purificada da polpa de madeira, com anidrido acético e ácido acético, na presença de ácido sulfúrico (SASSI e CHANZY, 1995). O produto desta reação é hidrolisado para remover o ácido sulfúrico e grupos sulfato e acetato, até adquirir as propriedades desejadas (normalmente com dois radicais de acetato para cada unidade fundamental da celulose) (CERQUEIRA et al., 2010).

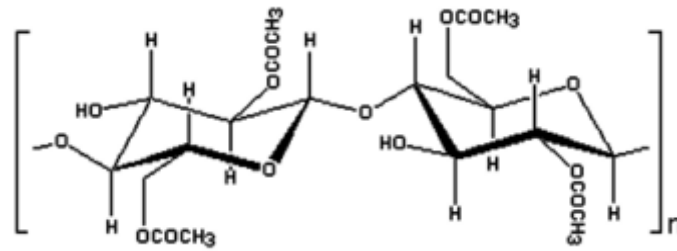


Figura 1. Fórmula estrutural do acetato de celulose (CERQUEIRA et al., 2010).

O acetato de celulose quando biodegradado ou incinerado libera CO_2 para a atmosfera (DAVIS, 2002), sendo um polímero amorfo, não tóxico e inodoro, estável em óleos vegetais e minerais, permeável a vapor de água e, dependendo do grau de substituição (número médio de grupos acetila por unidade glicosídica), solúvel em acetona (OLIVEIRA, 2002). Pode também ser incorporado em misturas heterogêneas contendo acetona e outros compostos, tais como: água, sais, óleos essenciais, antioxidantes (GEMILI et al., 2009). A partir deste polímero é possível formar filmes transparentes e flexíveis (CERQUEIRA et al., 2010). Filmes formados com base de acetato de celulose podem ser utilizados em alimentos (SILVEIRA, 2005; MORAES et al., 2011).

Filmes antimicrobianos podem ser obtidos mediante fusão ou solubilização em solvente (processo *cast*) do composto antimicrobiano no suporte polimérico, sendo o método por solubilização o mais indicado quando se trata de antimicrobianos sensíveis ao calor (APPENDINI e HOTCHKISS, 2002).

1.3 Açafrão

O açafrão, também conhecido como cúrcuma (Zingiberacea, *Curcuma longa* L.), é uma espécie originária do sudeste asiático, sendo ainda encontrado na China, Kuwait, Índia e Sri Lanka (PEREIRA e STRINGHETA, 1998). O cultivo do açafrão no Brasil é mais expressivo na região Centro-Oeste em Mara Rosa-GO (PINHEIRO et al., 2003). Foi difundido no período do bandeirantismo como marcador de trilhas para as jazidas de ouro (SCARTEZZINI e SPERONI, 2000).

A COOPERAÇÃO AÇAFRÃO (Cooperativa dos Produtores de Açafrão de Mara Rosa-GO) atende a 90 % da produção no Estado de Goiás, tendo potencial para atingir a demanda de consumo nacional e abriga aproximadamente 200 produtores de agricultura familiar

(SEBRAE, 2012). Atualmente está em implantação um Arranjo Produtivo Local (APL), financiado pelo BNDES que visa atender a COOPERAÇÃO AÇAFRÃO, para que a sua produção consiga atender a demanda de açafrão no Brasil. O açafrão é uma cultura que não exige muitos tratos culturais, desenvolvendo-se bem em temperaturas que variam de 20 a 30 °C, em condições tropicais e amplas altitudes. Seu ciclo vegetativo varia de sete a nove meses, sendo que em Mara Rosa-GO, a colheita é realizada aproximadamente com doze meses (FILHO et al. 2000).

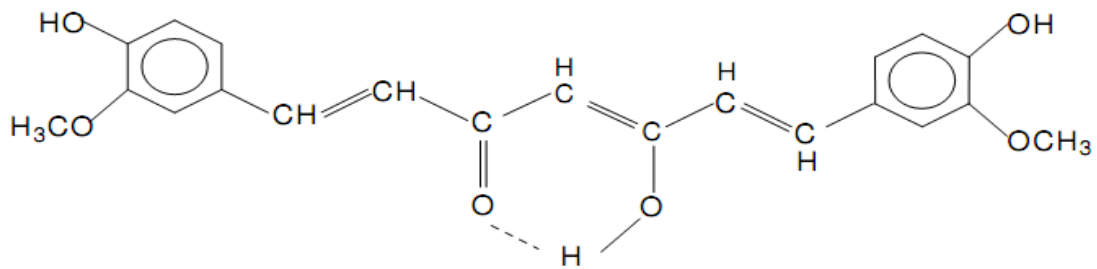
Durante séculos, o açafrão tem sido utilizado em vários países asiáticos como uma especiaria culinária, para conferir sabor e cor característicos, principalmente na base da mistura do curry (ABEROUMAND, 2011). Também adicionada aos alimentos a fim de preservar o seu frescor e valor nutritivo, melhorar a palatabilidade e aparência, e prolongar a vida de prateleira de alimentos perecíveis.

Além de sua principal utilização como condimento, possui substâncias antioxidantes, antimicrobianas e corantes que lhe conferem possibilidade de emprego nas áreas de cosméticos, têxtil, medicinal e alimentício.

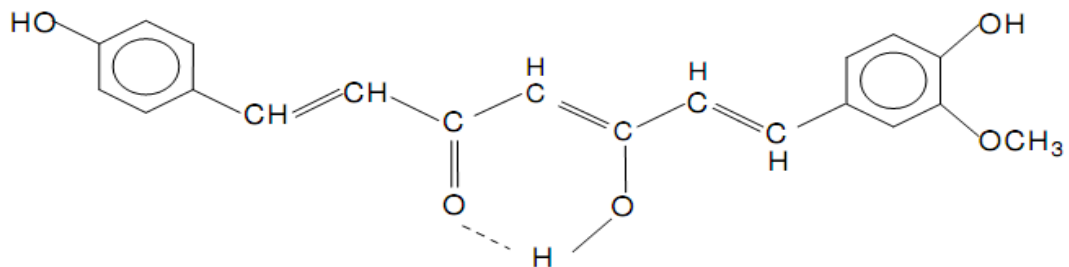
O açafrão é considerado uma especiaria com múltiplos usos, sendo amplamente usado na culinária indiana e uso medicinal. Sendo reconhecido popularmente por apresentar efeitos terapêuticos contra inflamação e infecção (GRANT e SCHNEIDER, 2000). Além disto, o açafrão é bastante conhecido e explorado pela medicina asiática tradicional, sendo amplamente utilizada como digestivo, carminativo, anti-espasmódico, antioxidante, anti-diarréico, diurético, excitante, nas doenças do fígado, como tônico no tratamento de úlceras, no tratamento de tosse e resfriados comuns e, externamente, como pomada na cicatrização de feridas e antimicrobiano (AKRAN, 2010).

Comercialmente o açafrão é vendido nas formas de pó, óleo resina, óleo essencial e curcumina (FILHO, et al., 2000). A curcumina é um dos extratos da cúrcuma que assume grande importância na indústria alimentícia. Com a proibição do uso de pigmento sintético amarelo (tartrazina) nos principais países da América do Norte e Europa, têm-se procurado alternativas naturais para este corante (PEREIRA e STRINGHETA, 1998; FILHO et al., 2009). Assim, a curcumina vem ganhando o mercado mundial como solução para a substituição de corantes sintéticos amarelos, por não apresentar sabor e aroma residual do açafrão, além de ser utilizado também pelas suas propriedades medicinais e farmacológicas (SCARTEZZINI e SPERONI, 2000).

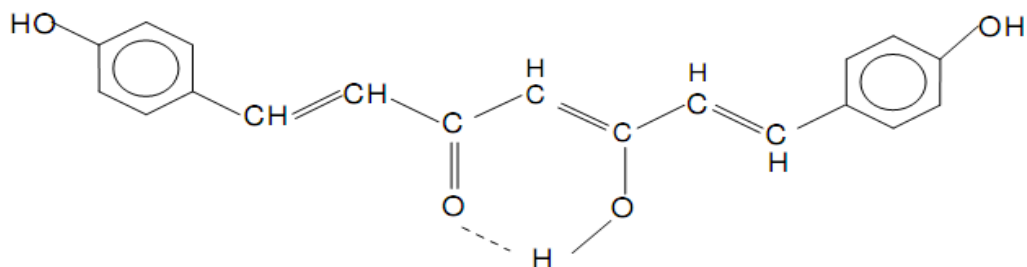
Os três pigmentos curcuminóides encontrados no açafrão são análogos estruturalmente, e pertencem à classe diferoluilmetano ($C_{21}H_{20}O_6$). A curcumina, 1,7-bis-(hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona, possui dois grupos metoxila (OCH_3), a desmetoxicurcumina apenas um, e a bisdesmetoxicurcumina nenhum (Figura 1.2). Estes pigmentos estão presentes nos rizomas do açafrão em concentrações variável de 4 a 6 mg/100 g para curcumina; de 4 a 3 mg/100 g para desmetoxicurcumina, e de 3 a 2 mg/100 g para a bisdesmetoxicurcumina (PEREIRA e STRINGHETA, 1998; PERET-ALMEIDA et al., 2008).



Curcumina



Desmetoxicurcumina



Bisdesmetoxicurcumina

Figura 1.2 Fórmula estrutural dos compostos curcuminóides presentes no açafrão (PERET-ALMEIDA et al., 2008).

A extração de óleo essencial do açafrão é realizada principalmente por hidrodestilação, apresentando um produto de excelente qualidade técnica e sensorial, que possibilita estender sua utilização aos mercados de perfumaria, medicinal, têxtil, condimentar e alimentício. Apresenta sabor e aroma residual, sendo utilizados em alimentos não somente como pigmento, mais para conferir aspectos sensoriais ao produto. Atua também como antimicrobiano e antioxidante natural, em uma ampla variedade de bactérias, parasitas e fungos patogênicos (NAGHETINI, 2006; PERET-ALMEIDA et al., 2008; FILHO et al., 2009; AKRAN et al., 2010).

A extração do óleo resina é obtida através de solventes orgânicos dos rizomas de açafrão desidratados e moídos, seguido de filtração. Comumente é usado uma relação (p/v) de 1:6 de açafrão moído e solvente orgânico. O solvente pode ser éter de petróleo, hexano, clorofórmio, acetona e etanol, sendo que, o solvente define a composição final do produto (WILSON et al., 2005). O óleo resina é utilizado no intuito de concentrar os compostos curcuminóides em relação ao açafrão moído em pó, pois elimina o amido presente em maior quantidade no rizoma (25 a 50 %) (NAGHETINI, 2006). Também é usado no controle de bactérias, parasitas, leveduras e fungos (WILSON et al., 2005; KHATTAK et al., 2005; FILHO et al., 2009). Apresenta-se como a forma mais simples e barata de obtenção de compostos curcuminóides concentrados do açafrão.

1.4 Nanocompósitos de montmorilonita

A busca por novas tecnologias em materiais com propriedades, sejam elas mecânicas, ópticas e eletrônicas, sempre despertou muito interesse. Neste sentido surgiram os denominados compósitos. Tais sistemas constituem uma classe de materiais constituídos de duas ou mais fases distintas, separadas entre si por uma interface, e exibem propriedades únicas, as quais não são possíveis de serem obtidas a partir dos seus componentes individuais. Quando pelo menos uma das fases constituintes do compósito possui dimensões em escala nanométrica, o material é denominado nanocompósito (PADRELLA, 2006).

São três os principais tipos de estruturas obtidas quando um nanocompósito de argila montmorilonita é dispersa em uma matriz polimérica (Figura 3): estrutura de fase separada (quando as cadeias poliméricas não intercalam as camadas de argila levando à obtenção de uma estrutura de propriedades similares as de um compósito convencional); estrutura

intercalada (quando as cadeias poliméricas são intercaladas entre as camadas de argila, formando uma estrutura multicamada bem ordenada, que apresenta propriedades superiores à de um compósito convencional); e estrutura esfoliada, onde a argila é completa e uniformemente dispersa em uma matriz polimérica, maximiza as interações polímero-argila e leva a significativas melhorias nas propriedades físicas e mecânicas (PADRELLA, 2006; PAIVA e MORALES, 2006; COELHO et al., 2007a; COELHO et al., 2007b).

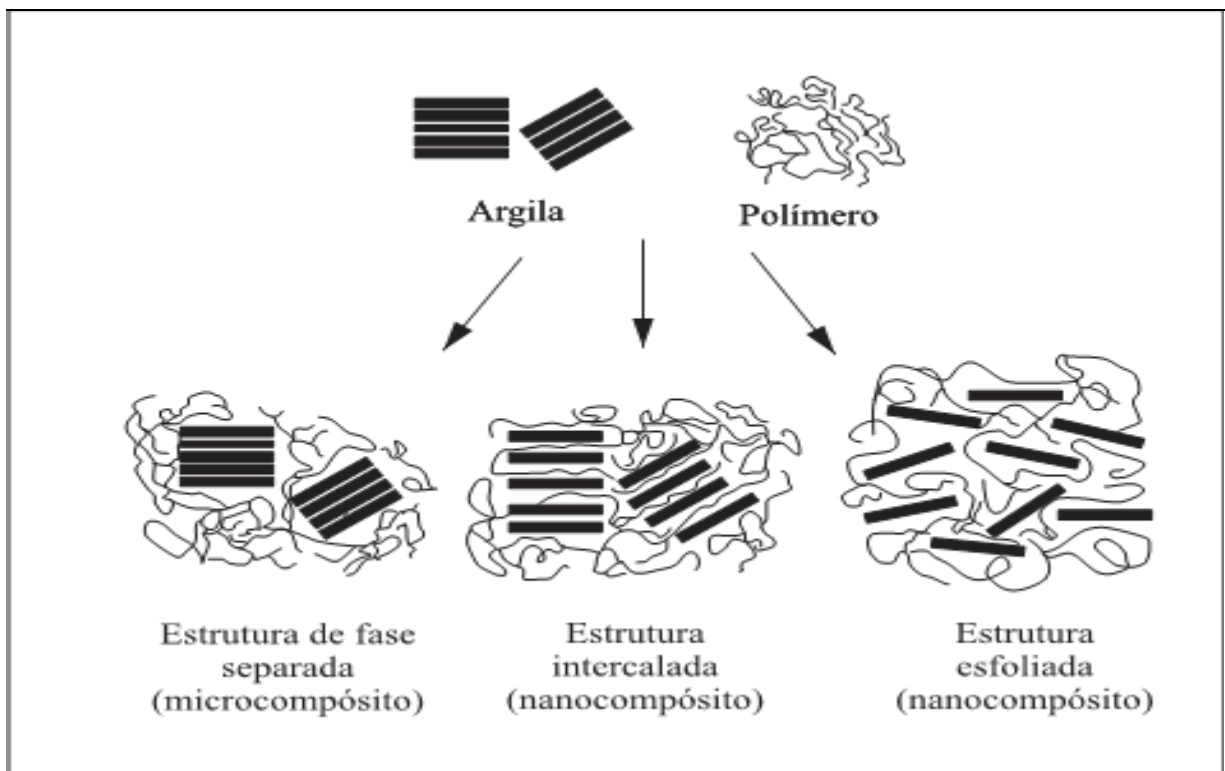


Figura 1.3. Estrutura dos nanocompostos na matriz celulósica (PADRELLA, 2006).

O desenvolvimento de nanocompósitos para utilização em embalagem tem aumentado, visto que a incorporação de nanocompósitos tem apresentado melhorias nas propriedades de barreira, propriedades mecânicas, capacidade de delaminação somada à alta resistência a solventes e estabilidade térmica necessária aos processos de polimerização e de extrusão. Estes fatores levaram à sua popularização como carga para nanocompósitos com eficácia comprovada (PAIVA e MORALES, 2006; MOORE, 2010).

Estudos recentes apontam o uso de embalagens ativas biodegradáveis com adição de nanocompósitos de montmorilonita (MMT), como filmes a base de amido de mandioca (FARIA et al., 2011) acetato de celulose (PARK et al., 2004b; ROMERO et al., 2009;

RODRÍGUEZ et al., 2012) carboxi-metil-celulose (GUTIÉRREZ et al., 2012), quitosana (KUREK et al., 2011) dentre outros.

1.5 Avaliação antimicrobiana de compostos naturais

A contaminação por micro-organismos deteriorantes é uma das causas da perda de qualidade de alimentos e diminuição da vida-de-prateleira (SOARES e GONÇALVES, 2008).

A busca por produtos naturais e com capacidade antimicrobiana de extratos vegetais pode ser avaliada através da determinação de uma pequena quantidade da substância necessária para inibir o crescimento do micro-organismo-teste, valor conhecido como Concentração Inibitória Mínima (CIM). Um aspecto bastante relevante na determinação da CMI de extratos vegetais é a preocupação em relação aos aspectos toxicológicos, microbiológicos e legais pertinentes aos compostos naturais ou suas combinações (PINTO et al., 2008).

Uma grande variedade de métodos pode ser empregada para medir a atividade *in vitro* de micro-organismos contra os agentes antimicrobianos naturais extraídos de plantas. Os principais métodos microbiológicos de detecção de atividade antimicrobiana encontrados na literatura tanto para detecção da atividade de bactérias, quanto fungos e leveduras podem ser classificados em três tipos: ensaios bioautográficos, de difusão e de diluição (OSTROSKY et al., 2008).

Os ensaios de difusão, também chamados de difusão em placas, são um método físico, no qual, um organismo é confrontado contra uma substância biologicamente ativa, em um meio de cultura sólido, levando-se em conta a formação de uma zona de inibição do crescimento pela concentração da substância. Os métodos de difusão são: difusão em disco, em cilindros de aço inoxidáveis e perfuração em Agar, sendo que os ensaios de difusão geram dados qualitativos (PINTO et al., 2008; OSTROSKY et al., 2008). Sejas et al. (2003) observaram desempenho não satisfatório de discos de antibiogramas comerciais utilizados como controle positivo em ensaios de difusão, sugerindo cuidados na utilização de métodos de difusão para definir a CIM de uma substância.

Os ensaios de diluição em caldo de crescimento bacteriano consideram a relação entre a proporção de crescimento do micro-organismo no meio líquido e a concentração da substância ensaiada. A avaliação é comparada frente a um padrão biológico de referência. Entende-se por proporção, a densidade da turbidez provocada pelo crescimento microbiano.

(PINTO et al., 2008). O método fornece resultados quantitativos, sendo que, a velocidade de crescimentos dos micro-organismos não é afetada. Esta análise apresenta dificuldade na detecção da CIM por contaminação, principalmente em teste de materiais clínicos, uma vez que, o crescimento em caldo não é seletivo. Duas metodologias podem ser empregadas: macro e microdiluição, sendo que, a utilização da macrodiluição é utilizada quando há poucas réplicas, por ser um método laborioso, exigir muito espaço no laboratório e gerar uma grande quantidade de resíduos. Já a microdiluição é utilizado em multiplacas com noventa e seis poços, utilizado principalmente quando há grande quantidade de réplicas. Apresenta vantagem, por ser um método que consome pouco reagente e gera pouco resíduos (OSTROSKY et al., 2008).

Os compostos do açafrão possuem atividade antimicrobiana, mas sua efetividade frente à micro-organismos deteriorantes de alimentos é muito pouco estudada (Tabela 1.1). Tais compostos apresentam atividade contra: fungos filamentosos e leveduras, micro-organismos Gram positivos e Gram negativos. O método mais utilizado de detecção de CIM do óleo essencial e do óleo resina de açafrão é o de difusão, enquanto que para a curcumina é o de diluição.

Tabela 1.1 Estudos de Concentração Inibitória Mínima de extratos do açafrão contra micro-organismos

Agente antimicrobiano	Micro-organismos testados	Método estudado	CIM	Referência
Óleo resina	<i>Staphylococcus aureus</i>	Contagem de colônias	Diminuição de 10^8 para 10^6 UFC/mL com 2% de incorporação	ROLIM, 2004
Curcumina, óleo essencial, óleo resina	<i>S. aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Salmonella choleraesuis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Sacharomices cerevisiae</i> , <i>Candida albicans</i>	Halo-difusão	Óleo essencial (90 µg/disco 6 mm): 10 mm (<i>E. coli</i>) – 18 mm (<i>B. subtilis</i>) Curcumina e óleo resina: ND*	PERET-ALMEIDA, et al., 2008
Óleo essencial	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> <i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Trichophyton. mentagrophytes</i> , <i>Epidermophyton flacosum</i> ,	Inibição micelial	100 % inibição	SILVA et al, 2008
Óleo resina e curcumina	<i>Microsporium gypseum</i> , <i>C. albicans</i> , <i>Candida tropicalis</i> , <i>Candida stellatoidea</i> , <i>Sporothrix schenckii</i>	Halo-difusão	Óleo resina: 3676,8 µg/mL (25 µL/disco): 10,5 mm (<i>S. apiospermum</i>) – 32,5 (<i>T. rubrum</i>). Curcumina: ND	APISARIYAKUL et al., 1995
Óleo resina	<i>E. coli</i> e <i>Enterobacter aerogenes</i>	Contagem de colônias	2 % óleo resina (p/v): diminuição de (10^4 para 10^2 UFC/mL)	MAIA et al., 2004
curcumina	<i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>A. niger</i> , <i>Penicillium notatum</i>	Halo de difusão e macrodiluição	Macrodiluição: ND (<i>P. notatum</i>) 400 µg/mL (<i>A. niger</i>) Halo-difusão (400 µg/mL disco: 9 mm (<i>E. coli</i>) 15 mm (<i>B. subtilis</i>)	BHAWANA et al., 2010

* Não detectável

1.6 Propriedades tecnológicas de filmes

1.6.1 Espessura

A espessura dos filmes é definida como a distância perpendicular entre duas superfícies principais do material. Conhecendo-se a espessura é possível obter informações sobre a resistência mecânica e as propriedades de barreira aos gases e ao vapor de água do material. A gramatura, que está relacionada com a espessura é definida como o peso de uma determinada área, ela está diretamente relacionada à resistência mecânica dos filmes, sendo que maiores gramaturas oferecem maiores resistências mecânicas (OLIVEIRA et al., 1996; SARANTÓPOULOS et al., 2002).

A espessura dos filmes é um parâmetro que influencia também as propriedades ópticas. O controle da espessura dos filmes é importante para se avaliar a uniformidade desses materiais, a repetibilidade da medida de suas propriedades e a validade das comparações entre filmes. Tal controle é difícil, sobretudo nos processos de produção do tipo *casting* (RODRÍGUEZ et al., 2012).

A incorporação de compostos na matriz de celulose dificulta a padronização da espessura, principalmente em filmes obtidos por “*casting*” (ESPITIA, 2011).

1.6.2 Cor

A medida de cor é um parâmetro usado como índice de qualidade de alimentos crus ou processados, bem como para avaliar as mudanças de qualidade em consequência de processamento, armazenamento ou outros fatores (ABEROUMAND, 2011).

Wang et al. (1997) avaliando o comportamento de consumidores por produtos embalados por coberturas comestíveis, verificaram que a cor da embalagem é um importante atributo na intenção de compra de um produto.

Diversos métodos foram desenvolvidos para a análise de cor, mas o sistema CIELAB 1976 (Comissão Internacional de Iluminantes) (Figura 1.4) é o que apresenta maior aceitação, pois é o método indicativo da percepção sensorial.

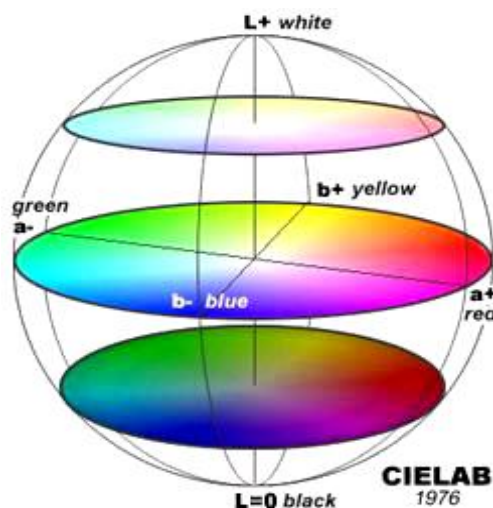


Figura 1.4. Esquema para medição de cores CIELAB (1976). L^* (claro – escuro), a^* (verde – vermelho), b^* (azul – amarelo). Fonte: Handprint (2012)

Este sistema mede o grau de luminosidade (L^*), que é a relação entre a luz refletida e absorvida, cromaticidade vermelha/verde ($\pm a^*$) e cromaticidade amarela/azul ($\pm b^*$). A cor, representada no sistema de coordenadas retangulares (L^* , a^* , b^*), mostra variáveis dependentes e de difícil interpretação, quando avaliadas separadamente. A maneira mais apropriada para a interpretação dos resultados é por meio de transformação em coordenadas polares, denominados Croma e ângulo Hue. O ângulo de coloração ou tom (H^*) é o aspecto da cor mais familiar que pode ser descrito, pois identifica cores como vermelho, verde, azul ou amarelo. Inicia no eixo $+a^*$ e é expresso em graus: 0° para vermelho ($+a^*$), 90° para amarelo ($+b^*$), 180° para verde ($-a^*$) e 270° para azul ($-b^*$). O índice de croma (C^*) indica a intensidade ou pureza do tom, independente de quão clara ou escura é a cor. Quanto maior é o seu valor, a cor é mais intensa ou altamente cromática parecendo luminosa ou concentrada, enquanto que valores baixos (acromático) indicam cor acinzentada, fraca ou diluída (GONNET, 1998).

1.6.3 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas de filmes flexíveis estão associadas com o desempenho mecânico destes materiais, frente às inúmeras solicitações dos ambientes de estocagem e distribuição. Sendo associadas a questões críticas como produtividade, custos, perdas e

segurança. Fatores como espessura, características inerentes ao filme e ao processo de fabricação interferem nas propriedades mecânicas dos filmes (SARANTÓPOULUS et al., 2002).

As propriedades de tração são úteis para identificação e caracterização dos filmes ativos flexíveis, para aplicação no desenvolvimento, na especificação e na avaliação da qualidade desses materiais. A tração expressa a resistência do material à deformação por alongamento, quando submetido à tração. A deformação é o alongamento relativo do corpo de prova em relação ao seu comprimento original. Observa-se inicialmente, que o material oferece resistência crescente à solitação de tração, a qual provoca alongamento. A partir de certo ponto, o aumento da resistência passa a ser menor para um mesmo aumento de deformação até o ponto de escoamento, a partir do qual, é possível alongar o filme sem que esse responda com aumento da resistência. Continuando o alongamento, o material resiste até que ocorra a sua ruptura (OLIVEIRA et al., 1996).

A incorporação de produtos em filmes de acetato de celulose altera significativamente as suas características mecânicas, sejam nanocompostos (PARK et al., 2004; ROMERO, et al., 2009; RODRÍGUEZ et al., 2012), ácido sórbico (SILVEIRA, 2005; MORAES et al., 2007), óleos essenciais (ESPITIA et al., 2011), quitosana (SHIH et al., 2009), ciano-etil-quitosana (ABOUD-ZEID et al., 2011), dentre outros.

1.6.4 Permeabilidade ao vapor de água

As embalagens possuem diversas funções, dentre elas a de proteger o produto. Geralmente esta proteção está associada a dois aspectos: contra danos físicos e mecânicos durante a movimentação, transporte e distribuição; e contra a ação de fatores ambientais como gases, luz, vapor de água e odores. Assim a embalagem deve constituir uma barreira que dificulte ou impeça o contato entre o ambiente externo e o produto em seu interior (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Muitos produtos necessitam de embalagens que apresentem uma barreira ao vapor de água, para evitar o ganho ou perda de umidade. Em alimentos com baixa atividade de água, o ganho de umidade favorece o crescimento microbiano, a oxidação de gorduras, a ação enzimática e a diminuição da crocância. Em alimentos com alta atividade de água, a perda de umidade para o meio ambiente, representa perda de peso, acarretando em alterações físicas,

químicas e sensoriais. Assim, a utilização de embalagem com propriedades de barreira ao vapor de água para produtos sensíveis a perda e ao ganho de umidade, permite que a integridade do produto seja mantida (OLIVEIRA et al., 1996).

O processo de permeação de vapores pelos espaços intermoleculares ocorre por mecanismos de sorção/difusão, ocorrendo em três etapas:

- 1 – adsorção e solubilização do permeante na superfície do material;
- 2 – difusão do permeante através do material, devido ao gradiente de concentração entre os dois materiais;
- 3 – desorção e evaporação do permeante na outra face do material.

Filmes de acetato de celulose apresentam alta permeabilidade a gases e ao vapor de água. Nanocompostos têm sido incorporados em filmes de acetato de celulose no intuito de diminuir a sua permeabilidade (PARK et al., 2004a; PARK et al., 2004b).

1.7 OBJETIVO GERAL

Avaliar a concentração inibitória dos compostos do açafrão frente a micro-organismos deteriorantes e patogênicos de alimentos e avaliar o efeito da incorporação de nanocomposto de montimorilonita e óleo resina de açafrão em filmes de acetato de celulose

1.7.1 Objetivos específicos

- Quantificar o poder antimicrobiano da curcumina, óleo resina e óleo essencial de açafrão, por meio da determinação da concentração inibitória mínima;
- Avaliar a efetividade de cada composto frente à micro-organismos patogênicos e deteriorantes de alimentos;
- Avaliar o efeito da incorporação de nanopartículas de montimorilonita e óleo resina em filmes de acetato de celulose quanto a propriedades de barreira ao vapor de água;
- Avaliar o efeito da incorporação de nanopartículas de montimorilonita e óleo resina em filmes de acetato de celulose quanto a propriedades mecânicas (força máxima, deformação relativa na carga máxima e módulo de elasticidade);
- Avaliar o efeito da incorporação de nanopartículas de montimorilonita e óleo resina em filmes de acetato de celulose quanto a microestrutura da superfície do filme;
- Avaliar o efeito da incorporação de nanopartículas de montimorilonita e óleo resina em filmes de acetato de celulose quanto a propriedades ópticas (luminosidade, opacidade, cromaticidade e ângulo hue).

1.8 REFERÊNCIAS

ABEROUMAND, A. A review on edible pigments properties and sources as natural biocolorants in foodstuff and food industry. **World Journal of Dairy & Food Science**, Punjab, v. 6, n. 1, p. 71-78. 2011.

ABOUD-ZEID, N. Y.; WALY, A. I.; KANDILE, N. G.; RUSHDY, A. A.; EL-SHEIKH, M. A.; IBRAHIM, M. H. Preparation, characterization and antibacterial properties of cyanoethylchitosan/acetate polymer blended films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 84, p. 223-230. 2011.

AKRAN, M.; SHAHAB-UDDIN; AHMED, A.; USMANGHANI, K.; HANNAN, A.; MOHIUDDIN, E.; ASIF, M.; Curcuma longa and curcumin: a review article. **Romanian Journal of Biology – Plant Biology**, Bucuresti, v. 55, p. 65-70. 2010.

APISARIYAKUL, A.; VANITTANAKON, N.; BUDDHASUKH, D. Antifungal activity of turmeric oil extracted from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). **Journal of Ethnopharmacologic**, Limerick, v. 49, p. 163-169. 1995.

APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. H. Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, v.3, n.2, p.113-126. 2002.

ATARÉS, L.; DE JESÚS, C.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Characterization of SPI-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. **Journal of Food Engineering**, London, v. 99, n. 3, p. 384-391. 2010.

AZEREDO, H. M. C.; FARIA, J. A. F.; AZEREDO, A. M. C. Embalagens ativas para alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.20, n.3. 2000.

BHAWANA; BASNIWAL, R. K.; BUTTAR, H. S.; JAIN, V. K.; JAIN, N. Curcumin nanoparticles: preparation, characterization, and antimicrobial study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 59, p. 2056-2061. 2010.

CERQUEIRA, D. A.; FILHO, G. R.; CARVALHO, R. A.; VALENTE, A. J. M. Caracterização de acetato de celulose obtido a partir do bagaço de cana-de-açúcar por ¹H-RMN. **Polímeros**, São Carlos, v. 20, n. 2, p. 85-91. 2010.

COELHO, A. C.; SANTOS, P. S.; SANTOS, H. S. Argilas especiais: argilas quimicamente modificadas – uma revisão. **Química Nova**, Londrina, v. 30, n. 5, p. 1282-1294. 2007a.

COELHO, A. C.; SANTOS, P. S.; SANTOS, H. S. Argilas especiais: o que são, caracterização e propriedades. **Química Nova**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 146-152. 2007b.

CUNHA, L. R.; SOARES, N. F. F.; ASSIS, F. C. C.; MELO, N. R.; PEREIRA, A., F.; SILVA, C. B. Desenvolvimento e avaliação de embalagem ativa com incorporação de lactase. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27 (supl.), p. 23-26. 2006.

DAVIS, G. Characterization and characteristics of degradable polymer sacks. **Materials Characterization**, New York, v. 51, n. 2-3, p. 27-38. 2002.

ESPITIA, P. J. P.; SOARES, N. F. F.; BOTTI, L.; C. M.; SILVA, W. A. Effect of essential oil in the properties of cellulosic active packaging. **Macromolecules Symposium**, Weinheim, v. 299/300, p. 199-205. 2011.

FARIA, F. O.; VERCELHEZE, A. E. S; MALI, S. Propriedades físicas de filmes biodegradáveis à base de amido de mandioca, álcool polivinílico e montimorilonita. **Química Nova**, Londrina, v. XY, n. 00, p. 1-6. 2011.

FILHO, A. B. C.; SOUZA, R. J.; BRAZ, L. T.; TAVARES M. Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 1, p. 171-175. 2000.

FILHO, C. R. M. S.; SOUZA, A. G.; CONCEIÇÃO, M. M.; SILVA, T. G.; SILVA, T. M. S.; RIBEIRO, A. P. L. Avaliação da bioatividade de extratos cúrcuma (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae) em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 19, n. 4, p. 919-923. 2009.

GAUTAN, R.; SAKLANI, A.; JACHAK, S. M. Indian medicinal plants as a source of antimycobacterial agents. **Journal of Ethno-Pharmacology**, Limerick, v. 110, p. 200-234. 2007.

GEMILI, S.; YEMENICIOGLU, A.; ALTINKAYA, S. A. Development of cellulose acetate based antimicrobial food packaging materials for controlled release of lysozyme. **Journal of Food Engineering**. London, v. 90, p. 453-462. 2009.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 53, n. 1, p. 206-211. 1992.

GUTIÉRREZ, M. Q.; ECHEVERRÍA, I.; IHL, M.; BIFANI, V.; MAURI, A. N. Carboximethylcellulose-montmorillonite nanocomposite film activated with murta (*Ugni molinae* Turcz) leaf extract. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 87, p. 1495-1502. 2012.

GUILBERT, S. Technology and application of edible protective film. In: **Food Packaging and Preservation**, New York: Elsevier Applied Science Publishers, 1986, cap. 19, p. 371-394.

GONNET, J. F. Colour effects of co-pigmentation of anthocyanins revisited-1. A colorimetric definition using the CIELAB scale. **Food Chemistry**, Barking, v.63, n.3, p.409-415. 1998.

GRANT, K. L.; SCHNEIDER, C. D.; Turmeric. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 57, n. 12, p. 1121-1122. 2000.

HANDPRINT. **Modern color models.** Disponível em: <http://www.handprint.com/HP/WCL/color7.html#CIELAB>>. Acesso em: 20/04/2012.

JAYAPRAKASHA, G. K.; JAGANMOHAN-RAO, L.; SAKARIAH, K., K. Antioxidant activities of curcumin demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. **Food Chemistry**, Barking, n. 98, p. 720-724. 2006.

KHATTAK, S.; REHMAN, S.; SHAH, H. U.; AHMAD, W.; AHMAD, M. Biological effects of indigenous medicinal plants *Curcuma longa* and *Alpinia galanga*. **Fitoterapia**, Milano, v. 76, p. 254-257. 2005.

KERRY, J. P.; O'GRADY, M. N.; HOGANS, S. A. Past, current and potential utilization of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: a review. **Meat Science**, Barking, v. 74, n. 1, p.113-130. 2006.

KUREK, M.; DESCOURS, E.; GALIC, K.; VOILLEY, A.; DEBEAUFORT, F. How composition and process parameters affect volatile compounds in biopolymers films. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, p. 646-656. 2011.

LABUZA, T. P.; BREENE, W.M. Applications of "active packaging" for improvement of shelf-life and nutritional quality of fresh and extended shelf-life foods. **Journal of Food Processing and Preservation**, Malden, v. 13, n. 1, p. 1-69. 1989.

MAIA, S. R.; FERREIRA, A. C.; ABREU, L. R. Uso do açafrão (*Curcuma longa* L.) na redução da *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048) em ricota. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 2, p. 358-365. 2004.

MOORE, G. **Nanotecnologia em alimentos**. Editora Blucher. São Paulo. 1º ed. 2010

MORAES, A. R. F.; VIDIGAL, M. C. T. R.; SOARES, N. F. F.; MORAES, L. P.; MELO, N. R.; GONÇALVES, M. P. J. Desenvolvimento e avaliação de filme antimicrobiano aromatizado para aplicação em massa de pastel. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 3, p. 537-543. 2011.

NAGHETINI, C. C. **Caracterização físico-química e atividade antifúngica dos óleos essenciais de cúrcuma**. 2006. 61f. Dissertação (Master Scientiae em Ciência de Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Minas Gerais.

NERIN, C.; TOVAR, L.; DJENANE, D.; CAMO, J.; SALAFRANCA, J.; BELTRÁN, J.A.; RONCALÉS, P.; Stabilization of beef meat by a new active packaging containing natural antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, p. 7840-7846. 2006.

OLIVEIRA, L. M.; ALVES, R. M. V.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L. Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis. Campinas: **Centro de Tecnologia de Embalagem**, CETEA, 219 p. 1996.

OLIVEIRA, L. M. OLIVEIRA, P. A. P. L. V. Revisão: principais agentes antimicrobianos utilizados em embalagens plásticas, **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 7, n. 2, p. 161-165. 2004.

OLIVEIRA JR, A. R. **Obtenção e caracterização de acetato de celulose modificado com organossilano**. 2002, 91f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2002.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos de avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 301-307. 2008.

PAIVA, L. B.; MORALES, A. R. Propriedades mecânicas de nanocompósitos de polipropileno e montmorilonita organofílica. **Polímeros: Ciência e tecnologia**, São Carlos, v. 16, n. 2, p. 136-140. 2006.

PRADELLA, J.G; Biopolímeros e intermediários químicos – Relatório técnico n° 84396-205. **Centro de Gestão e Recursos Estratégicos**. São Paulo, 2006.

PARK, H.-M.; LIANG, X.; MOHANTY, A.K.; MISRA, M.; DRZAL, L.T. Effect of compatibilizer on nanostructure of the biodegradable cellulose acetate/organoclay nanocomposites. **Macromolecules**, Washington, v. 37, p. 9076–9082. 2004a

PARK, H.-M.; MISRA, M.; DRZAL, L.T.; MOHANTY, A.K. “Green” nanocompósitos from cellulose acetate bioplastic and clay: effect of eco-friendly triethyl citrate plasticizer. **Biomacromolecules**, Washington, v. 5, p. 2281–2288. 2004b

- PEREIRA, A. S.; STRINGHETA, P. C. Considerações sobre a cultura e processamento do açafrão. **Horticultura Brasileira**, v. 16, n. 2, p. 102 -105. 1998
- PÉRET-ALMEIDA, L. NAGHETINI, C. C. NUNAN, E. A. JUNQUEIRA, R. G. GLÓRIA, M. B. A. Atividade antimicrobiana *in vitro* do rizoma em pó dos pigmentos curcuminóides e dos óleos essenciais da *Curcuma longa* L. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 875-881. 2008
- PETERSSON, M. STADING, M. Water vapour permeability and mechanical properties of mixed starch-mono-glyceride films and effect of film forming conditions. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 19, p.123-132. 2005.
- PINHEIRO, J. B. ZUCCHI, M. I. TELES, F. L. ÁZARA, N. A. Diversidade genética molecular em acessos de açafrão utilizando marcadores RAPD. **Acta Scientiarum: Agronomy**, Maringá, v. 25, n. 1, p. 195-199. 2003
- PINTO, M. S.; SOARES, N. F. F.; FONTES, E. A. F.; GERALDINE, R. M.; JUNIOR, J. C. B. MELO, N. R. Development of active plastic create and evaluation of phytopathogenic and pathogenic food spoilage micro-organism inhibition, **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 88, p.1939-1942. 2008.
- RODRÍGUEZ, F. J.; GALOTTO, M. J.; GUARDA, A.; BRUNA, J. E. Modification of cellulose acetate films using nanofillers based organoclays. **Journal of Food Engineering**, London, v. 110, p. 262-268. 2012.
- ROLIM, M. T. Avaliação da eficácia do açafrão (*Curcuma longa* L.) no controle de *Staphylococcus aureus* em queijo prato. **Revistade Patologia Tropical**, v. 33, n. 3. 2004.
- ROMERO, R. B.; LEITE, C. A. P.; GONÇALVES, M. C. The effect of the solvent on the morphology of cellulose acetate/montmorillonite nanocomposites. **Polymer**, v. 50, p. 161-170, 2009.
- SARANTÓPOULUS, G. I. G.; OLIVEIRA, L. M.; COLTRO, M.; COLTRO, L.; ALVES, R. M. V.; GARCIA, E. E. C. **Embalagens plásticas flexíveis**. Principais polímeros e avaliação de propriedades. Campinas, CETEA/ITAL, 2002. 267p.
- SASSI, J. F.; CHANZY, H. Ultrastructural aspects of the acetylation of cellulose, **Cellulose**, London, v. 2, n. 2, p. 111-127. 1995
- SCARTEZZINI, P.; SPERONI, E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity, **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v.71, p.23-43. 2000.

SEBRAE GOIÁS – Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Agência de notícias**. Açafrão: tempero do desenvolvimento sustentável. Disponível em: <http://www.sebraego.com.br/site/site.do?idArtigo=1833>. Acesso em: 05 de abril de 2012.

SEJAS, L. M.; SILBERT, S.; REIS, A. O.; SADER, H. S. Avaliação da qualidade dos discos de antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 1, p. 27-35. 2003.

SILVA, A. C.; SALES, N. L. P.; ARAÚJO, A. L.; JUNIOR, C. F. C. Efeito “in vitro” de compostos de plantas sobre fungo *Colletotrichum gloeosporioides* penz. isolado do maracujazeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, p. 1853-1860. 2008.

SILVEIRA, M. F. A. **Filme antimicrobiano incorporado com ácido sórbico na conservação de massa de pastel**. 2005. 64f. Tese (Doctor Scientiae em Ciência e Tecnologia de alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

SHIH, C.-M.; SHIEH, Y.-T.; TWU, Y.-K. Preparation and characterization of cellulose/chitosan blend films. **Carbohydrate Polymers**, Barking v. 78, p. 169-174. 2009.

SOARES, N; F. F.; GONÇALVES, M. P. J. C. Embalagens ativas para alimentos. In: BASTOS, M. S. R. **Ferramentas da ciência e tecnologia para a segurança dos alimentos**, Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical: Banco do Nordeste do Brasil, cap. 7, p. 175-192. 2008.

SOBRAL, P. J. A. Propriedades funcionais de biofilmes de gelatina em função da espessura. **Ciência & Engenharia**, Uberlândia, v. 8, n. 1, p. 60-67. 1999.

SOBRAL, P. J. A. Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.6, p.1251-1259. 2000.

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

WANG, Y.-J.; PAN, M.-H.; CHENG, A.-L.; LIN, L.-I.; HO, Y.-S.; HSIEH, C.-Y.; LIN, J.-K. Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 15, p. 1867-1876. 1997.

WILSON, B.; ABRAHAN, G.; MANJU, V.S.; MATHEW, M.; VIMALA, B.; SUNDARESAN, S.; NAMBISAN, B.; Antimicrobial activity of *Curcuma zedoaria* and *Curcuma malabarica* tubers. **Journal of Ethno-Pharmacology**, Limerrick, v. 99, p. 147-151. 2005.

CAPÍTULO 2 - CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA DA CURCUMINA, ÓLEO ESSENCIAL E ÓLEO RESINA DE AÇAFRÃO SOBRE MICRO-ORGANISMOS DETERIORANTES

RESUMO

A busca por produtos naturais que interajam com os alimentos conferindo-lhes atividade antimicrobiana contra micro-organismos deteriorantes tem sido objeto de estudos. Dentre os compostos naturais encontram-se os produtos extraídos do açafrão: curcumina, óleo essencial e óleo resina. Verificou-se a capacidade antimicrobiana destes três compostos pelo uso da metodologia de macrodiluição em caldo. Observou-se que a curcumina possui melhor atividade antimicrobiana, com menor concentração inibitória mínima (CIM) seguida do óleo essencial e do óleo resina, para a maioria dos micro-organismos avaliados. Apesar de apresentar valores de CIM maior que o óleo essencial, o óleo resina apresentou-se eficiente para maior número de micro-organismos avaliados (*S. chorelaesuis*, *L. monocytogenes* e *L. innocua*).

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana de compostos naturais, açafrão, curcumina, óleo essencial, óleo resina.

ABSTRACT

Researching of natural products that interact with food, promoting antimicrobial activity against spoilage microorganism of foods and/or pathogens has been widely studied. Among several antimicrobial natural compounds there are the compounds of turmeric, such as curcumin, essential oil and resin oil. Antimicrobial activity of these three turmeric compounds was analyzed, using macro dilution in broth. Results showed that the higher antimicrobial activity was observed for curcumin, showing lesser minimal inhibition concentration (MIC), followed by essential oil and resin oil, considering major microorganisms evaluated. Despite of resin oil show higher values of MIC than essential oil, the effectiveness of resin oil was observed to inhibition a greater number of microorganisms evaluated (*S. chorelaesuis*, *L. monocytogenes* and *L. innocua*).

Keywords: antimicrobial activity of natural compound, turmeric, curcumin, essential oil, resin oil.

2.1. INTRODUÇÃO

Algumas plantas podem ser utilizadas como alternativa para o controle de agentes deteriorantes de alimentos por conterem substâncias com atividade antimicrobiana e por terem sido consumidas por várias décadas sem causar efeitos adversos ao homem (KIM et al., 2003; LEE et al., 2003). Produtos naturais extraídos de plantas têm sido utilizados ao longo da história humana para prevenção e tratamento de doenças. Os polifenóis, de origem natural, aparecem como um dos grupos mais importante, principalmente devido a suas propriedades funcionais. Dentre os polifenóis, a curcumina encontrada no açafrão, é um pigmento natural que possui múltiplos usos (AKRAN et al., 2010).

Nas últimas décadas, vários trabalhos têm relatado atividades dos extratos do açafrão, dentre elas, carminativa, antiespasmódica, antimicrobiana, antiprotozoária, antiviral, antioxidante, e anticancerígena (LEE et al., 2003; GUL et al., 2004). Os produtos derivados do açafrão disponíveis no mercado são: o açafrão em pó, o óleo resina, o óleo essencial e curcumina purificada. Sendo que, o açafrão em pó é obtido do rizoma desidratado moído, o óleo resina com o uso de solvente orgânico hexano do açafrão em pó, o óleo essencial através de hidrodestilação com hexano do rizoma e a curcumina extraído do óleo resina com solventes. Estes têm sido utilizados como pigmento vegetal para colorir alimentos e bebidas, como condimento, como flavorizante e como medicamento, sendo que, a curcumina, por não apresentar sabor e aroma do açafrão, é mais utilizada em alimentos que não necessite destes atributos, ou seja, em que o sabor e aroma não são desejáveis (MARTINS e RUSIG, 1992; PEREIRA E STRINGHETA, 1998; MESA et al., 2000).

O interesse pelo açafrão tem aumentado significativamente nos últimos anos. Isto se deve ao fato da curcumina ser um corante natural com potencial de substituição da tartrazina, corante amarelo sintético muito utilizado na indústria alimentícia e farmacêutica, que tem provocado reações adversas ao homem (PEREIRA e STRINGHETA, 1998).

Os compostos do açafrão possuem atividade antimicrobiana, mas sua efetividade frente aos micro-organismos deteriorantes de alimentos é muito pouco estudada. A curcumina apresenta atividade contra fungos (APISARIYAKUL et al., 1999; KHATTAK et al., 2004; SILVA et al., 2009; WILSON et al., 2005, NAGHETI, 2006) micro-organismos Gram positivos e negativos (WILSON et al., 2005; GAUTAN et al., 2007; BHAWANA et al., 2010) e leveduras (HWANG et al., 2008).

Neste trabalho objetivou-se quantificar o poder antimicrobiano da curcumina, óleo essencial e óleo resina de açafrão, por meio da determinação da concentração inibitória mínima, avaliando a efetividade de cada composto frente à micro-organismos e deteriorantes de alimentos.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados nos laboratórios do Setor de Tecnologia de Alimentos da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, Goiânia-Goiás e Laboratório de Embalagem no Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa.

Foram avaliados, quanto ao potencial antimicrobiano, os seguintes componentes do açafrão: curcumina (MERCK) com 98 % de pureza; óleo essencial (LASZLO) contém: ar-turmerona (70 %), alfa-turmerona (21 %) e curcumina (2 %) e óleo resina (LASZLO) composição: 1-3 % de a-curcumeno, ar-turmerona (70-80 %), sesquifelandreno (<1 %), curlona (3-5 %), a-turmerona (7-8 %) e curcumina (>15 %).

2.2.1 Concentração inibitória mínima (CIM)

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) da curcumina, do óleo essencial e da óleo resina foi realizada utilizando-se o método de macrodiluição em caldo, de acordo com a norma dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbio (NCCLS, 2003) e para os fungos (NCCLS, 2002) com algumas modificações (NASCIMENTO et al., 2007).

Foram preparadas, volumetricamente, as diluições seriadas para cada um dos antimicrobianos em dimetil sulfóxido (DMSO) nas concentrações de 4000 a 0,98 µg/mL, sendo que cada diluição corresponde exatamente a metade da concentração anterior, posteriormente acrescido em caldo Mueller-Hinton, conforme descrito na norma. Inóculos de *Escherichia coli* (ATCC 11229), *Lactobacillus plantarum* (ATCC 8014), *Listeria monocytogenes* (ATCC 15313), *Listeria innocua* (ATCC 33090), *Salmonella choleraesius* (ATCC 10708), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC

15442) foram preparados, separadamente, por meio da suspensão direta, em solução salina esterilizada, de colônias isoladas selecionadas de uma placa de meio não seletivo inoculada com cada micro-organismo e incubada a 35 °C por 18 a 24 h.

Os fungos *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Fusarium senectum*, *Lasidiopodia sp.*, *Rhizopus stolonifer* foram preparados, separadamente, por meio da suspensão direta, em solução salina esterilizada contendo 2% (v/v) de Tween 20%, de hifas cultivadas em meio não seletivo (caldo sabouraud dextrose). As suspensões foram ajustadas até sua turbidez coincidir com a da solução padrão de McFarland 0,5 (1×10^8 UFC.mL⁻¹). Posteriormente, o inóculo foi ajustado de forma que após a inoculação cada tubo contenha, aproximadamente, 5×10^5 UFC.mL⁻¹ (NCCLS 2003).

Após a inoculação, os tubos com as bactérias foram incubados em estufa bacteriológica a 35 ± 2 °C, por 18 a 24 h e os fungos a 25° C por 5 dias. A concentração inibitória mínima é a menor concentração do antimicrobiano que inibe completamente o crescimento dos micro-organismos nos tubos, conforme detecção por observação visual da turbidez. Os valores de CIM foram expressos em µg/mL. As análises estatísticas dos dados foram realizadas considerando-se a média de três repetições.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Concentração inibitória mínima

Os valores médios da Concentração Inibitória Mínima dos antimicrobianos são apresentados na Tabela 1. Observou-se menores valores de CIM para curcumina seguido de óleo essencial e óleo resina de açafraão.

A curcumina demonstrou-se efetiva tanto para bactérias Gram positiva (*S. aureus*, *L. monocytogenes* e *L. innocua*) quanto Gram negativas (*E. coli* e *S. choleraesuis*) e efetiva para fungos (*A. alternata*, *F. senectum* e *A. niger*). Observou-se discordância entre alguns autores, com relação atividade antimicrobiana da curcumina. Apisariyakul et al. (1995) e Peret-Almeida (2008) não observaram ação antifúngica e antimicrobiana em seus trabalhos, discurdando de Bhawana et al. (2010) observaram ação tanto antifúngica, quanto antibacteriana. Vale ressaltar que a curcumina é um composto fenólico, que sofre foto-

oxidação e possui baixa estabilidade em pH básicos (WANG et al., 2009). Assim, seu potencial inibitório pode ser afetado diretamente quando tais fatores não são devidamente considerados.

Tabela 2.1 Valores médios de Concentração Inibitória Mínima dos antimicrobianos curcumina, óleo essencial e óleo-resina de açafrão.

		CIM ($\mu\text{g/mL}$)		
		Curcumina	Óleo essencial	Óleo Resina
Gram negativas	<i>E. coli</i>	7,81	2667	2000
	<i>S. chorelaesuis</i>	53	ND	667
	<i>P. aeruginosa</i>	ND	2000	ND
Gram positivas	<i>S. aureus</i>	5,2	5,2	1333
	<i>L. innocua</i>	2,6	ND	333
	<i>L. Monocytogenes</i>	3,25	ND	250
	<i>L. plantarum</i>	3,25	2	416
Fungos	<i>R. stolonifer</i>	ND	ND	ND
	<i>A. alternate</i>	0,49	2000	ND
	<i>Lasidiphylla sp</i>	ND	2000	ND
	<i>F. sentectum</i>	7,8	52,1	417
	<i>A. niger</i>	250	400	ND*

ND* – valores de CIM não detectável

Bhawana et al. (2010), avaliando o modo de ação da curcumina em *S. aureus* por microscopia eletrônica de transmitância, observaram que a curcumina causa a lise celular pela quebra da cadeia de peptídeos-glicanos da membrana plasmática e das estruturas das organelas do citoplasma. Possivelmente, a barreira de peptídeo-glicanos da membrana plasmática das bactérias Gram positivas e negativas não foi suficiente para impedir a ação da curcumina na lise celular.

O óleo essencial de açafrão apresentou atividade antimicrobiana superior para bactérias Gram negativas, sendo ainda o mais efetivo contra fungos dentre os componentes testados. Os valores de CIM encontrados na literatura são menores para óleo essencial (APISARIYAKUL et al. 1995).

A atividade antifúngica e antimicrobiana observada pode ser devida a substâncias voláteis dos óleos essenciais como, por exemplo, a ar-turmerona presente em percentuais significativos no óleo essencial. Naghetini (2006) observaram atividade antifúngica da ar-turmerona isolada da fração hexânica quando testada na concentração de 500 µg/mL contra os fungos *Erysiphe graminis* e *Phytophthora infestans*. Como os óleos essenciais são misturas complexas de várias substâncias, a atividade antifúngica observada não pode ser atribuída a uma substância isolada, mas ao conjunto delas. Peret-Almeida et al. (2006) também associa aos compostos voláteis a atividade antimicrobiana, em teste de difusão em ágar para *Bacillus subtilis*, *Salmonella choleraesuis*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger* e *Sacharomices cerevisiae*, observaram valores de halo próximos aos antibióticos Anfotericina e Clorafenicol. De acordo com Holley e Patel (2005), a composição química bem como os grupos funcionais dos óleos têm um papel importante na atividade antimicrobiana e essa atividade pode ser potencializada.

O óleo resina apresentou altos valores para CIM. A óleo resina contém aproximadamente 15% de curcumina em sua composição (LASZLO, 2011), justificando o efeito inibitório inferior à curcumina purificada. Wilson et al. (2005) avaliando a CIM da óleo resina obtida de duas variedades de açafrão, por meio de vários solventes (hexano, éter de petróleo, acetona, clorofórmio e álcool), obtiveram melhores resultados com solvente hexano em *Curcuma zedoaria* (0,01 a 0,15 mg/mL). Já Peret-Almeida et al. (2008), avaliando a atividade antimicrobiana por halo de difusão do óleo resina, da curcumina e do óleo essencial, não observaram atividade na concentração de 100 µg/disco para curcumina e óleo resina obtidos com solvente etanol, para os micro-organismos (*S. aureus*, *B. subtilis*, *S. choleraesuis*, *E. coli*, *A. niger*, *S. cerevisiae*, *Candida albicans*). Segundo Pereira e Stringheta (1998), o método de extração, a variedade do cultivar, o clima, o solo e adubação influenciam na quantidade dos componentes curcuminóides no produto final, interferindo diretamente em maior ou menor efetividade da CIM.

Os testes de CIM por macrodiluição são afetados por diversos fatores, como pH do meio de cultura, carga microbiana, natureza do antimicrobiano, temperatura (OSTROSKY, 2008). Os grandes desvios observados para alguns ensaios podem estar relacionados às dificuldades de controle absoluto de todas estas variáveis.

2.4. CONCLUSÃO

Dentre os compostos do açafrão a curcumina obteve melhores resultados de concentração inibitória mínima, seguido do óleo essencial e óleo resina.

2.5. REFERÊNCIAS

AKRAN, M.; SHAHAB-UDDIN; AHMED, A.; USMANGHANI, K.; HANNAN, A.; MOHIUDDIN, E.; ASIF, M. Curcuma longa and curcumin: a review article. **Romanian Journal of Biology – Plant Biology**, Bucuresti, v. 55, p. 65-70. 2010.

APISARIYAKUL, A.; VANITTANAKON, N.; BUDDHASUKH, D. Antifungal activity of turmeric oil extracted from *Curcuma longa* (Zingiberaceae), **Journal of Ethnopharmacologic**, Limerick, v. 49, p. 163-169. 1995.

BHAWANA, BASNIWAL, R.K.; BUTTAR, H.S.; JAIN, V.K.; JAIN, N. Curcumin nanoparticles: preparation, characterization, and antimicrobial study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v. 59, p. 2056-2061. 2010.

GAUTAN, R.; SAKLANI, A.; JACHAK, S. M. Indian medicinal plants as a source of antimycobacterial agents. **Journal of Ethno-Pharmacology**, Limerick, v. 110, p. 200-234. 2007.

GUL, N.; MUJAHID T.Y.; JEHAN, N.; AHMAD, S. Studies on the antibacterial effect of the different fractions of *Curcuma longa* against tract infections isolated. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 12, n. 7, p. 2055-2060. 2004

HOLLEY, R.A.; PATEL, D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microbiology**, London, v. 22, p. 273-292. 2005.

KIM, J. K.; JO, C.; HWANG, H. J.; PARK, H. J.; KIM, Y. J.; BYUM, M. W. Color improvement by irradiation of *Curcuma aromatica* extract for industrial application. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 75, p. 449-452. 2006

LEE, H.; CHOI, K.; CHO, K.; AHN, Y. Fungicidal activity of ar-turmerone identified in *Curcuma longa* rhizome against six phytopathogenic fungi. **Agricultural Chemistry Biotechnology**, v. 46, n. 1, p. 23-28. 2003.

MARTINS, M.C.; RUSIG, O. Cúrcuma um corante natural. **Boletim da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, p. 53-65. 1992.

MESA, M. D.; RAMIREZ-TORTOSA, M. C.; AGUILERA, C. M.; RAMIREZ-BOSCA, A.; GIL, A. Efectos farmacológicos e nutricionales de los extractos de *Curcuma longa* L. y de los curcuminoides. **Ars Pharmaceutica**, Granada, v. 41, n.3, p. 307-321, 2000.

NAGHETINI, C.C. **Caracterização físico-química e atividade antifúngica dos óleos essenciais de cúrcuma**. 2006. 61f. Dissertação (Master Scientiae em Ciência de Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Minas Gerais.

NCCLS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Sixth Edition. NCCLS document M7-A6 [ISBN 1-56238-486-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

NCCLS. Método de referência para testes de diluição em caldo para a determinação da sensibilidade a terapia antifúngica das leveduras; Norma Aprovada—Segunda Edição. NCCLS document M27-A2 [ISBN 1-56238-469-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 Estados Unidos, 2002.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos de avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 301-307. 2008.

PEREIRA, A. S.; STRINGHETA, P. C. Considerações sobre a cultura e processamento do açafrão. **Horticultura Brasileira**, v. 16, n. 2, p. 102 -105. 1998

PÉRET-ALMEIDA, L.; NAGHETINI, C., C.; NUNAN, E. A.; JUNQUEIRA, R., G.; GLÓRIA, M., B., A., Atividade antimicrobiana *in vitro* do rizoma em pó dos pigmentos curcuminóides e dos óleos essenciais da *Curcuma longa* L. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 875-881. 2008

WILSON, B.; ABRAHAN, G.; MANJU, V.S.; MATHEW, M.; VIMALA, B.; SUNDARESAN, S.; NAMBISAN, B.; Antimicrobial activity of *Curcuma zedoaria* and *Curcuma malabarica* tubers. **Journal of Ethno-Pharmacology**. v. 99, p. 147-151. 2005.

CAPÍTULO 3 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DE FILMES ATIVOS DE ACETATO DE CELULOSE INCORPORADOS COM NANOPARTÍCULAS DE MONTIMORILONITA E ÓLEO RESINA DE AÇAFRÃO (*Curcuma longa L.*)

RESUMO

O efeito da incorporação de nanopartículas de montmorilonita e óleo resina de açafrão (*Curcuma longa L.*) em filmes ativos biodegradáveis de acetato de celulose foi avaliado por meio de caracterização física. Observou-se que a adição de montmorilonita não alterou significativamente a análise de microscopia superficial dos filmes, já com a adição de óleo resina, observou-se a formação de filmes porosos. As propriedades mecânicas (carga máxima, deformação relativa na carga máxima e módulo de Young), não foram afetadas com a adição de montmorilonita. A taxa de permeabilidade ao vapor de água foi alterado significativamente ($p < 0,05$), quando acrescido de 2 e 3 % de montmorilonita e 50 % de óleo resina. Os filmes adicionados de óleo resina são transparentes e de tonalidade amarelados com intensa coloração.

Palavras chaves: filmes ativos biodegradáveis, óleo resina de açafrão, nanopartícula de montmorilonita.

ABSTRACT

Was investigated the effect of incorporation of montmorillonite nanocomposite and turmeric (*Curcuma longa L.*) resin oil into films of cellulose acetate on mechanical and physical properties mechanical. Incorporating MMT under analyzed concentrations did not affect the barrier properties to water vapor, mechanical and optical properties of active films. Films containing resin oil were darker and opaque, with an intense yellowness color. The addition of resin oil increased porosity of films, decreased water vapor permeability, leading to active films more flexible, but more brittle.

Keywords: active biodegradable films, turmeric resin oil, montmorillonite nanoparticle.

3.1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem-se ampliado as pesquisas na área de embalagens ativas para o acondicionamento de alimentos. Essas embalagens interagem com o produto acondicionado objetivando melhorar sensorialmente e, ou estender a vida-de-prateleira dos produtos (SOARES et al., 2008).

Filmes de acetato de celulose são filmes ativos biodegradáveis, estáveis em óleos e permeáveis ao vapor de água. Estudos apontam para o uso de incorporação de substâncias em filmes de acetato de celulose como: ácido sórbico (SILVEIRA, 2005), óleos essenciais (ESPITIA et al., 2011), conferindo ao mesmo caráter de filme ativo.

Nanopartículas de montimorilonita (MMT) têm sido incorporados em embalagem no intuito de melhorar as propriedades de barreiras a gases, vapor de água e mecânicas (ESPITIA et al., 2011).

O óleo resina (OR) do açafrão (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae) é um componente extraído do rizoma desidratado e moído, por solventes orgânicos, sendo composto por óleo essencial, resinas e curcuminóides. Seu uso não se restringe apenas na indústria de alimentos e farmacêutica, mas também, como corantes, antioxidantes, carminativo, antiespasmódico e antimicrobianos. Contudo, o efeito de sua incorporação sobre as propriedades físicas de filmes de acetato de celulose ainda não foi estudado.

Buscou-se neste estudo, avaliar o efeito da incorporação de nanopartículas de montimorilonita e óleo resina em filmes de acetato de celulose quanto a propriedades de barreira ao vapor de água, mecânicas (força máxima, deformação relativa na carga máxima e módulo de elasticidade), microestrutura da superfície do filme e ópticas (luminosidade, opacidade, cromaticidade e ângulo Hue).

3.2. MATERIAL E MÉTODOS:

Os ensaios foram realizados nos laboratórios do Setor de Tecnologia de Alimentos da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, Goiânia-Goiás e Laboratório de Embalagem no Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-Minas Gerais.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com número de repetições entre 3 e 15 unidades experimentais.

3.2.1 Produção dos filmes ativos

Os filmes foram produzidos utilizando-se acetato de celulose cedido pela empresa Rhodia®. Utilizou-se o óleo resina de açafrão (LASZLO) com α -curcumeno (1-3 %) ar-turmerona (70-80 %), sesquifelandreno (<1 %), curlicona (3-5 %), β -turmerona (7-8 %) e curcumina (~15 %). Foi utilizada nanopartícula de montmorilonita 10A modificada com dimetil, benzil desidrogenado com quaternário de amônio, ângulo de difração por raio-X de $4,58^\circ$ e espaço entre camadas de 19,2 Angstrom, doados pela empresa Southern Clay Products.

Os filmes foram produzidos pelo método *cast*, segundo metodologia descrita por Soares (2008). Os flocos celulósicos foram dissolvidos em acetona, na proporção de 1 g/10 mL. À solução foi adicionado óleo resina, nas proporções de 1:1 e 2:1 (p/p), e montmorilonita, nas concentrações de 1, 2 e 3 %, em relação ao acetato. A mistura foi homogeneizada, deixada em repouso por 30 minutos para evitar a presença de bolhas. Em seguida a mistura foi espalhada em uma lâmina de vidro com auxílio de um bastão de vidro, controlando-se a altura do filme para fins de padronização da espessura do filme ($40 \pm 5 \mu\text{m}$). Após completa evaporação da acetona, os filmes foram removidos das placas, separados por folhas de papel branco e estocados em temperatura ambiente, ao abrigo da luz, para análises posteriores.

3.2.2 Taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA)

A taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) dos filmes foi determinada por meio do método dessecante, segundo a metodologia ASTM E 96/E 96M-05 (ASTM, 2005), com algumas modificações. Foram utilizadas cápsulas circulares ($\varnothing = 82,3 \text{ mm}$), com paredes impermeáveis, contendo 25 g de cloreto de cálcio anidro, granulometria entre $600 \mu\text{m}$ e $2,36 \text{ mm}$. Os filmes foram vedados na junção filme/cápsula com auxílio de parafina. Após a montagem das cápsulas, estas foram acondicionadas em dessecadores contendo solução super

saturada de cloreto de sódio em seu interior, de forma a manter a umidade relativa (UR) em 75 %. A temperatura foi mantida a 23 °C. As análises foram realizadas em triplicata.

O ganho de massa associado à umidade permeada pelo filme, foi analisado por meio da pesagem diárias. Os dados de ganho de massa e tempo foram representados em gráfico e, a partir da porção linear da reta (regressão linear), definido o estado estacionário de transferência de vapor de água através do material. Assim, foi calculado o coeficiente angular da parte linear da curva relativo ao ganho de massa pelo tempo, conforme Equação 1.

$$TPVA = \frac{G}{t.A} \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

TVPA = taxa de permeabilidade ao vapor de água (g água/(m².dia)

G/t = coeficiente angular (g água/dia)

A = área de permeação do corpo de prova (m²)

3.2.3 Cor e opacidade

Para as análises de cor e opacidade, foram cortados filmes quadrados de 4 cm de comprimento por 4 cm de largura. Os tratamentos foram avaliados em triplicatas e realizadas cinco leituras aleatórias em cada filme, após calibragem do aparelho.

A cor e a opacidade dos filmes foram determinadas utilizando-se colorímetro (Hunter Associates Laboratory Inc - Colorquest XE, EUA) com índice iluminante D65 e ângulo de observação de 10°. Os parâmetros L* (indica luminosidade), a* (indica variação de cor do verde ao vermelho), b* (indica variação de cor do azul ao amarelo) e opacidade foram coletados. A opacidade dos filmes foi determinada através da Equação 2.

$$op = \frac{opn}{opb} \times 100\% \quad \text{Equação 2}$$

Onde:

op = opacidade do filme (%);

opn = opacidade do filme sobreposto a um fundo negro;

opb = opacidade do filme sobreposto a um fundo branco.

Os dados de a^* e b^* foram utilizados como base para cálculo dos parâmetros de croma (intensidade de cor) e ângulo Hue (tonalidade de cor). Os valores de croma (C) e Hue (h) foram calculados por meio da Equação 3 e 4.

$$C = \sqrt{a^2 + b^2} \quad \text{Equação 3}$$

$$h = \tan^{-1}\left(\frac{b}{a}\right) \quad \text{Equação 4}$$

3.2.4 Propriedades mecânicas dos filmes

Os corpos de prova tiveram a espessura aferida utilizando-se micrômetro (Insize, 3210-25, China, resolução 0,001 mm). Foram realizadas medições em dez pontos aleatórios do filme, utilizando-se a média como resultado. Posteriormente, foram acondicionados de acordo com a norma ASTM D638-02a (2002), cortados, em formato retangular com 17,5 cm de comprimento e 2,5 cm de largura, com auxílio de lâmina de bisturi. Os corpos de prova foram submetidos à força de tração, com velocidade de 5 mm.s^{-1} e célula de carga de 1 kN, com auxílio da máquina universal de testes mecânicos (INSTRON Série 3367, Grove City, EUA). Foram calculados os valores de carga máxima (N), deformação relativa na carga máxima (%) e módulo de elasticidade (MPa), conforme ASTM D882-02 (2002).

3.2.5 Microscopia eletrônica de varredura

As amostras foram cortadas com 10 mm de diâmetro e mantidas a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ e umidade relativa de 50 %, em dessecadores com sílica gel.

As amostras foram fixadas com fita condutora nos “stubs” de alumínio e analisadas superficialmente, em aumentos de 500 e 1500 x, no microscópio eletrônico de varredura de

bancada (Tabletop Microscope: 3000 - Hitachi, Tokyo, Japão), com 15 kV de feixe de elétrons.

3.2.6 Análises estatísticas

A Análise de Variância (ANOVA) foi aplicada na análise dos dados obtidos, e as diferenças entre os tratamentos avaliadas pelo teste de médias de Tukey, a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa computacional *Statistical Analysis System 6.0* (SAS, 1996).

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De forma isolada, tanto a MMT quanto o OR não alterou significativamente ($p > 0,05$) a taxa de permeabilidade ao vapor de água dos filmes. Provavelmente a alta afinidade do acetato de celulose com a água foi maior que a propriedade de barreira da MMT e da hidrofobicidade natural da óleo resina (Tabela 3.1).

Tabela 3.1. Taxa de Permeabilidade ao vapor de água dos filmes incorporados com óleo resina e MMT, expressos em ($\text{g}/\text{m}^2/\text{dia}$).

MMT (%)	Óleo Resina %		
	0	50	100
0	308,67 ± 65,25 ^{Aa*}	218,44 ± 14,39 ^{Aa}	235,67 ± 60,15 ^{Aa}
1	271,62 ± 46,63 ^{Aa}	241,90 ± 59,87 ^{Aa}	232,44 ± 23,84 ^{Aa}
2	285,36 ± 28,59 ^{Aa}	160,35 ± 2,82 ^{Ab}	189,63 ± 17,30 ^{Ab}
3	335,767 ± 43,38 ^{Aa}	143,52 ± 13,52 ^{Ab}	169,27 ± 12,25 ^{Ab}

* Letras maiúsculas diferentes demonstram diferenças entre as concentrações de MMT e letras minúsculas diferentes são determinadas por diferenças entre as concentrações de OR.

Filmes de acetato são naturalmente hidrofílicos. Espera-se que com a adição de nanocompostos de MMT a permeabilidade ao vapor de água reduza, devido à estrutura esfoliada do filme, caracterizada pelo arranjo macromolecular das reações químicas entre o nanocomposto com alto peso molecular e compostos orgânicos, que dificulta a permeabilidade ao vapor de água (RODRÍGUEZ et al., 2012). Similar observação foi verificada por Park et al. (2004a) e Gutiérrez et al. (2012), apontando que a reação acetato

com MMT em determinadas concentrações (5 % MMT 30B) forma uma matriz celulósica com caminhos tortuosos, dificultando a passagem de vapor de água, bem como a passagem de gases. Provavelmente, as baixas concentrações de MMT utilizadas no presente trabalho não foram suficientes para promover, isoladamente, a redução da permeabilidade relatada em outros estudos.

A incorporação de óleos essenciais em filmes de acetato de celulose tem sido estudada principalmente por suas características antimicrobiológicas (ESPITIA et al., 2011; BOTRE et al., 2010; MORAES et al., 2011). A presença de poros só foi observada em altas concentrações de óleo resina (50 e 100 %). Espitia et al. (2011), não observaram presença de poros em filmes de acetato de celulose incorporados com 20 % de óleo essencial. Possivelmente, a presença de poros no filme incorporado com óleo resina anula o efeito hidrofóbico do óleo.

Contudo, observou-se interação entre estes componentes no filme, provocando a redução da TPVA. A partir de 50 % de óleo resina e 2 % de MMT houve redução significativa ($p < 0,05$) da taxa de permeabilidade (Tabela 1).

Rodríguez et al. (2012) observaram diminuição da TPVA com o acréscimo de 5 % de MMT em filmes de acetato de celulose. Soares et al. (2007), observaram também uma pequena diminuição da taxa de permeabilidade ($p < 0,05$) com a adição de 5 % de nanocomposto em filmes de acetato de celulose e lactato de sódio.

Os valores de L^* , opacidade, croma e hue são apresentados na Tabela 2. Os filmes apresentaram-se mais escuros (menores valores de L^*) com aumento de óleo resina. O acréscimo de MMT nos filmes sem OR não afetou a luminosidade ($p > 0,05$). De modo geral, os filmes sem adição de OR apresentaram-se mais claros e filmes com 100 % de OR, mais escuros. Romero et al. (2009) observaram que a espessura afeta mais a luminosidade e opacidade que a incorporação de MMT. Kim et al. (2006) avaliando o efeito da irradiação em extratos de açafrão para utilização em indústria, observaram que a característica amarelo escuro (menores valores de L^*) em extratos de açafrão não são interessantes para a indústria de alimentos e que o aumento da dose de radiação (0, 15 e 30 kGy) tornou os extratos mais claros (83,2; 91,7 e 99,9), consequentemente com melhor aceitação industrial.

Os valores de ângulo hue segundo a sequência CIELAB hue (Mcguire, 1992), define a cor vermelha como 0° h, amarelo como 90° h, verde como 180° h e azul como 270° h. O chroma (C^*) define a intensidade de cor, ou seja, valores próximos a zero são indicativos de cores neutras (branco e/ou cinza) e valores ao redor de 60 indicam cores vívidas e/ou intensas. Os

filmes apresentaram coloração amarelada com acréscimo de óleo resina, com valores de ângulo hue próximos a 90° . Analisando conjuntamente os valores de hue e croma, observou-se que filmes sem incorporação de OR apresentaram-se com coloração branca/neutra, sendo que, a adição de MMT não alterou significativamente ($p>0,05$) a cor do filme. Uma das vantagens da incorporação de MMT em polímeros é que as propriedades ópticas não são afetadas significativamente com baixas concentrações desta nanopartícula (ROMERO et al., 2012).

De modo geral os filmes ativos incorporados com óleo resina apresentaram coloração amarelada. A MMT, que isoladamente não alterou a cor do filme, no entanto, na presença de OR afetou ($p<0,05$) algumas amostras. Provavelmente isto ocorreu pela pigmentação da MMT pelo OR, intensificando a coloração amarelada destes filmes.

Tabela 3.2. Parâmetros de cor (L*, Croma e Hue) e opacidade dos filmes de acetato de celulose incorporados com óleo resina (50 e 100 %) e MMT (1, 2 e 3 %).

Parâmetros	MMT (%)	Óleo Resina (%)		
		0	50	100
L	0	92,42 ± 0,08 ^{Aa}	85,61 ± 0,14 ^{Cb}	82,77 ± 0,84 ^{Cc}
	1	92,50 ± 0,08 ^{Aa}	80,65 ± 0,16 ^{Ab}	79,81 ± 0,37 ^{Ac}
	2	92,65 ± 0,11 ^{Aa}	85,24 ± 0,12 ^{BCb}	80,78 ± 0,08 ^{Bc}
	3	92,56 ± 0,13 ^{Aa}	84,68 ± 0,06 ^{Bb}	85,21 ± 0,23 ^{Db}
Croma	0	1,07 ± 0,00 ^{Ac}	76,28 ± 0,04 ^{Aa}	74,12 ± 0,77 ^{Bb}
	1	1,00 ± 0,02 ^{Ab}	72,58 ± 0,51 ^{Ba}	71,97 ± 0,34 ^{Da}
	2	0,97 ± 0,04 ^{Ac}	76,27 ± 0,19 ^{Aa}	73,01 ± 0,15 ^{Cb}
	3	0,99 ± 0,05 ^{Ab}	75,92 ± 0,08 ^{Aa}	76,17 ± 0,07 ^{Aa}
Hue	0	139,44 ± 0,79 ^{Aa}	92,71 ± 0,09 ^{Ab}	88,45 ± 1,20 ^{ABb}
	1	142,07 ± 0,98 ^{Aa}	85,99 ± 0,10 ^{Bb}	84,30 ± 0,40 ^{Bb}
	2	144,19 ± 4,27 ^{Aa}	92,51 ± 0,15 ^{Ac}	85,97 ± 0,10 ^{Bb}
	3	144,46 ± 4,04 ^{Aa}	91,83 ± 0,12 ^{Ab}	92,04 ± 0,40 ^{Ab}
Opacidade	0	14,69 ± 0,33 ^{Ba}	15,02 ± 0,58 ^{Ca}	14,95 ± 1,30 ^{Ba}
	1	16,73 ± 2,15 ^{Ba}	17,86 ± 0,37 ^{ABa}	18,78 ± 0,46 ^{Aa}
	2	20,86 ± 0,51 ^{Aa}	20,55 ± 1,29 ^{Aa}	17,19 ± 0,16 ^{Ab}
	3	17,24 ± 0,21 ^{Ba}	17,16 ± 0,03 ^{BCa}	17,92 ± 0,79 ^{Aa}

Letras maiúsculas referente a diferenças entre MMT, letras minúsculas referente a diferença entre Óleo Resina

Valores de carga máxima, deformação relativa na carga máxima e módulo de elasticidade, estão apresentados na Tabela 3.3 A carga máxima suportada pelo filme não foi alterada significativamente ($p < 0,05$) com a incorporação de MMT. Provavelmente, a adição de 3 % de MMT não foi suficiente para alterar as interações moleculares que afetam a resistência a tração. Já a adição de óleo resina à matriz celulósica diminuiu significativamente ($p < 0,05$) a força máxima, que foi reduzida aproximadamente à metade nos filmes incorporados com 100 % de óleo resina.

Alguns autores sugerem que o óleo essencial incorporada na matriz celulósica tem efeito plastificante, diminuindo a carga máxima e aumentando a elongação dos filmes (PARK et al., 2004; MORAES et al., 2004; ESPITIA et al., 2011).

O módulo de Young ou de elasticidade foi reduzido significativamente ($p < 0,05$) com o acréscimo de OR, indicando uma menor deformação elástica resultante da aplicação da tensão. Já a adição de montimorilonita não afetou a rigidez dos filmes. O módulo de Young está relacionado com as ligações fracas entre as moléculas, sendo que, nesta região as reações de elongação e força máxima são reversíveis (MELITO e DAUBERT, 2011).

De modo geral os filmes apresentaram-se rígido e tenaz. As concentrações de MMT não foram suficientes para afetar as propriedades mecânicas avaliadas dos filmes. Com a incorporação de OR na matriz polimérica, os filmes tornaram-se mais flexíveis (aumento da elongação) e tornaram-se mais frágeis. Um dos fatores que possivelmente contribuiu para a fragilidade dos filmes foi o aumento da porosidade, detectada na análise microscópica da superfície do filme.

Tabela 3.3. Parâmetros de propriedades mecânicas (força máxima, deformação relativa na ruptura e módulo de elasticidade) dos filmes de acetato de celulose incorporados com MMT (1, 2 e 3 %) e OR (50 e 100 %).

Testes	MMT (%)	Óleo Resina (%)		
		0	50	100
Força Máxima (N)	0	35,37 ± 1,55 ^{Aa*}	27,50 ± 0,71 ^{Ab}	21,05 ± 0,28 ^{Ac}
	1	35,97 ± 2,64 ^{Aa}	26,28 ± 0,65 ^{Ab}	19,10 ± 0,16 ^{Ac}
	2	36,15 ± 5,40 ^{Aa}	23,72 ± 0,82 ^{Ab}	22,20 ± 1,46 ^{Ab}
	3	32,34 ± 3,68 ^{Aa}	24,54 ± 0,69 ^{Ab}	17,23 ± 0,29 ^{Ac}
Deformação Relativa na Carga Máxima (%)	0	2,48 ± 0,09 ^{Ab}	2,59 ± 0,06 ^{Bb}	15,45 ± 0,86 ^{Aa}
	1	2,30 ± 0,14 ^{Ab}	2,59 ± 0,09 ^{Bb}	14,56 ± 1,35 ^{Aa}
	2	1,79 ± 0,08 ^{Ac}	11,54 ± 2,01 ^{Ab}	16,38 ± 1,19 ^{Aa}
	3	2,50 ± 0,19 ^{Ac}	13,65 ± 0,37 ^{Ab}	14,74 ± 0,80 ^{Aa}
Modulo de Young (MPa)	0	2328,23 ± 181,22 ^{Aa}	1540,93 ± 142,22 ^{Ab}	887,70 ± 47,46 ^{Ac}
	1	2285,16 ± 236,37 ^{Aa}	1461,39 ± 213,99 ^{Ab}	863,29 ± 65,70 ^{Ac}
	2	2317,43 ± 175,43 ^{Aa}	1508,29 ± 95,00 ^{Ab}	917,63 ± 9,18 ^{Ac}
	3	2306,44 ± 307,96 ^{Aa}	1279,79 ± 105,09 ^{Ab}	679,47 ± 34,61 ^{Ac}

* Letras maiúsculas são referentes a diferenças entre MMT, letras minúsculas são referentes a diferenças entre óleo resina

Moraes et al. (2011) e Gouveia et al. (2006) observaram a mesma tendência de diminuição da carga máxima na ruptura e aumento da elongação em filmes de acetato de celulose com aumento de aromatizantes à matriz.

Espitia et al. (2011) avaliando as propriedades mecânicas de filmes incorporados com óleos essenciais de orégano, canela e capim-limão, observaram diminuição da carga máxima na ruptura e aumento da deformação relativa na carga máxima com o aumento da incorporação dos óleos essenciais. A diminuição da força máxima foi atribuída à interação entre as cadeias poliméricas do polímero (alta massa molecular) com o óleo essencial (baixo peso molecular), que atua como um plastificante.

A análise superficial dos filmes por microscopia eletrônica de varredura (MEV), em aumento de 1500 vezes, está apresentada na Figura 5. Observou-se resíduos de acetato de celulose não dissolvidos pela acetona na estrutura do filme, em todos os tratamentos. Espitia et al. (2011) observaram a presença de pequenos aglomerados de celulose, tanto na análise superficial, como na secção transversal de filmes de celulose incorporados com óleo essencial de canela e orégano.

Não houve diferença visual nos tratamentos com incorporação de MMT, mostrando que a dissolução da nanopartícula na matriz celulósica pode ter sido completa. A incorporação de MMT não interferiu na quantidade nem nos tamanhos dos poros dos filmes, observados em todos os tratamentos. A detecção por microscopia eletrônica de varredura da MMT em filmes de acetato de celulose é difícil, uma vez que, ela apresenta-se dispersa na matriz polimérica (GEMILI et al., 2009; RODRÍGUEZ et al., 2012).

Nos filmes incorporados com óleo resina houve aumento na quantidade de poros (Figura 5). Na concentração de 100 % de OR os poros apresentaram diâmetro entre 10 e 30 μm e com 50 %, entre 5 e 15 μm . Gemili et al. (2009) analisando cortes transversais de filmes de acetato de celulose incorporados com lisozima, em aumento de 3000 vezes, observaram que o aumento de acetato provocou a redução da porosidade dos filmes. Espitia et al. (2011) não observaram a presença de poros em filmes de acetato incorporados com óleo essencial de orégano, canela e capim-limão. A adição de compostos apolares em matriz celulósica não necessariamente formará filmes porosos. A maior porosidade do filme pode implicar em enfraquecimento da rede do filme, levando a diminuição da resistência à tração, menor deformação na ruptura e possível aumento de permeabilidade.

Bonzanini e Gonçalves (2006) estudando três tipos de filmes, polietileno glicol (PEG) e acetato, acetato e MMT e acetato PEG e MMT em microscopia eletrônica de varredura com

fonte de emissão, relataram a presença de tactóides na matriz polimérica somente dos filmes de acetato e MMT, sendo que, filmes de acetato PEG e MMT apresentaram característica semelhante ao controle (acetato e PEG). Isso mostra a dificuldade de avaliar a incorporação de MMT em uma matriz polimérica a partir de MEV.

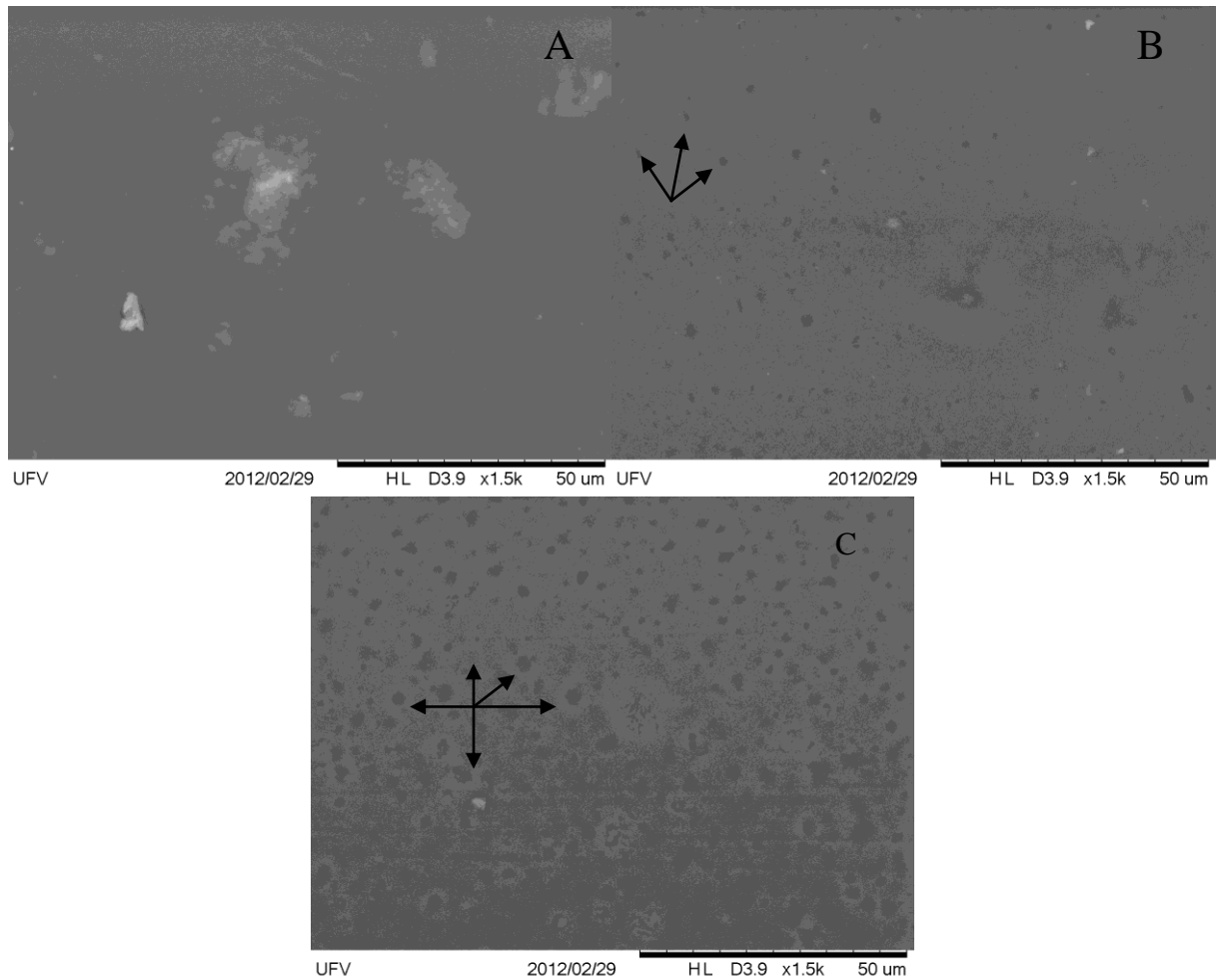


Figura 5 Microscopia Eletrônica de Varredura com aumento de 1500 vezes, dos filmes de acetato incorporados com MMT e Óleo Resina. Filme com 0 % de OR (A), filme incorporado com 50 % de OR (B) e filme incorporado com 100 % de OR.

3.4. CONCLUSÃO

A incorporação de MMT, nas concentrações avaliadas, não alterou as propriedades mecânicas de barreira ao vapor de água e ópticas dos filmes.

Os filmes incorporados com óleo resina apresentaram-se mais escuros e opacos, com intensa coloração amarelada. O óleo resina tornou os filmes mais porosos, aumentando a quantidade e o diâmetro dos poros, diminuiu a permeabilidade ao vapor de água, tornando-os mais flexíveis, porém mais frágeis.

3.5. REFERÊNCIAS

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIAL. **ASTM D 638 – 02a**: Standard test method for tensile properties of plastic. Philadelphia, 2002.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIAL. **ASTM D 882 – 09**: Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. Philadelphia, 2009.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIAL. **ASTM E96/E96M-05**: Standard test method of water vapor transmission of materials. Philadelphia, 2005.

BONZANINI, R.; GONÇALVES, M., C.; Propriedades térmicas e morfológicas de compósitos de acetato de celulose/montimorilonita na presença de compatibilizante. In: Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais 17., 2006, Foz do Iguaçu. **Anais Eletrônicos...** Foz do Iguaçu: Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 2006. Disponível em: www.metallum.com.br/17cbecimat/resumos/17cbecimat-201-010.pdf. Acesso em: 23 abr. 2012.

BOTRE, D. A.; SOARES, N. F. F. S.; ESPITIA, P. J. P. SOUSA, S.; RENHE, I. R. T. Avaliação de filme incorporado com óleo essencial de orégano para conservação de pizza pronta. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n. 3, p. 283-291. 2010.

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Functional properties of myofibrillar protein-based biopackaging as effected by film thickness. **Journal of Food Science**, Chicago, v.61, n.3, p. 580-584. 1996.

DAVIS, G. Characterization and characteristics of degradable polymer sacks. **Materials Characterization**, New York, v. 51, n. 2-3, p. 27-38. 2002.

ESPITIA, P. J. P.; SOARES, N. F. F.; BOTTI, L. C. M.; SILVA, W. A. Effect of essential oil in the properties of cellulosic active packaging. **Macromolecules Symposium**, Weinheim, v. 299/300, p. 199-205. 2011.

GEMILI, S.; YEMENICIOGLU, A.; ALTINKAYA, S. A. Development of cellulose acetate based antimicrobial food packaging materials for controlled release of lysozyme. **Journal of Food Engineering**. London, v. 90, p. 453-462. 2009.

GOUVEIA, L.E.R. et al. Desenvolvimento e avaliação de filme ativo aromatizado na incorporação de sabor de ricota. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Curitiba, v. 61, n. 351, p. 138-141. 2006.

GUTIÉRREZ, M. Q.; ECHEVERRÍA, I.; IHL, M.; BIFANI, V.; MAURI, A.; N. Carboximethylcellulose-montmorillonite nanocomposite film activated with murta (*Ugni molinae* Turcz) leave extract. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 87, p. 1495-1502. 2012.

KIM, J. K.; JO, C.; HWANG, H. J.; PARK, H. J.; KIM, Y. J.; BYUM, M. W. Color improvement by irradiation of *Curcuma aromatica* extract for industrial application. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 75, p. 449-452. 2006

MELITO, H. S.; DAUBERT, C. R. Rheological innovations for characterizing food material properties, **Annual Reviews of Food Science and Technology**, Palo Alto, v. 2, p. 79-153. 2011.

MORAES, A. R. F.; VIDIGAL, M. C. T. R.; SOARES, N. F. F.; MORAES, L. P.; MELO, N. R.; GONÇALVES, M. P. J. Desenvolvimento e avaliação de filme antimicrobiano aromatizado para aplicação em massa de pastel. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 3, p. 537-543. 2011.

MCGUIRE RG. Reporting of objective color measurements. **Horticultural Science**, Praha, v. 27, p. 1254-1255. 1992.

PARK, H. M.; MISRA, M.; DRZAL, L. T.; MOHANTY, A. K. Green nanocomposites from cellulose acetate bioplastic and clay: effect of eco-friendly triethyl citrate plasticizer. **Biomacromolecules**, Washington, v. 5, p. 2281-2288. 2004

RODRÍGUEZ, F. J.; GALOTTO, M. J.; GUARDA, A.; BRUNA, J. E. Modification of cellulose acetate films using nanofillers based organoclays. **Journal of Food Engineering**, London, v. 110, p. 262-268, 2012.

ROMERO, R. B.; LEITE, C. A. P.; GONÇALVES, M. C. The effect of the solvent on the morphology of cellulose acetate/montmorillonite nanocompósitos. **Polymer**, v. 50, p. 161-170, 2009.

SAS – Statistical Analysis System Institute. SAS/QC: software usage and reference. Version 6.0: SAS, 1996. CD-ROM.

SILVEIRA, M. F. A. **Filme antimicrobiano incorporado com ácido sórbico na conservação de massa de pastel**. 2005. 64f. Tese (Doctor Scientiae em Ciência e Tecnologia de alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

SOARES, N. F. F.; GONÇALVES, M. P. J. C. Embalagens ativas para alimentos. In: BASTOS, M. S. R. **Ferramentas da ciência e tecnologia para a segurança dos alimentos**, Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical: Banco do Nordeste do Brasil, cap. 7, p. 175-192.1 2008.