

Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais

**EMBALAGENS ATIVAS PARA ALIMENTOS:
CARACTERIZAÇÃO E PROPRIEDADES**

Márcia Pires Fortes Ferreira

Tese de Doutorado
Porto Alegre, 20 de Dezembro de 2012

Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais

**EMBALAGENS ATIVAS PARA ALIMENTOS:
CARACTERIZAÇÃO E PROPRIEDADES**

Márcia Pires Fortes Ferreira

Tese realizada sob a orientação do Prof. Dr. Cesar Liberato Petzhold, apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul em preenchimento parcial dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciência dos Materiais.

Porto Alegre

2012

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Cesar Liberato Petzhold pela orientação e confiança depositados em mim durante o período de realização deste trabalho.

A Prof Dra Kay Cooksey pela supervisão no período de curso na Universidade de Clemson e também pelo apoio nas análises microbiológicas.

Ao Prof. Dr. Adriano Brandelli pelo apoio nas análises microbiológicas e pela colaboração e discussão de resultados da avaliação dos filmes em contato com alimentos.

Aos Prof. Dr. Johny Dias, Profa. Dra. Marly Jacobi, Profa. Dra. Janice da Silva e Dra. Adriane Simanke (Braskem) por participarem da banca examinadora.

Aos colegas Leandro Perão, Manoela Ellwanger, Ramon Vieira Santos, Ana Paula Chies e Giordano Pierozan Bernardes que me auxiliaram neste trabalho como parte de seus estágios.

Aos colegas do Centro de Tecnologia da Braskem, Fernando Silveira, Cleia Barbosa, Regina Nonemacher, Cheuza Lordelo, Mariele Kaipers, Daiane Cabral, Lilian de Moraes, Caroline Kenne, Rodrigo Zeferino, Norton Rossato e Paulo Cesar da Silva pelo apoio na realização de alguns ensaios de caracterização dos filmes estudados.

À colega Silvana Doudt, do Laboratório de Controle de Qualidade da Braskem, e Aline Renz da área de Recurso de Informação e Conhecimento.

A colega Stela Meira, do Departamento de Engenharia de Alimentos da UFRGS, pela realização dos ensaios de microbiologia realizados nos filmes em contato com alimentos.

Aos meus líderes na Braskem pelo apoio e incentivo durante o período do doutorado.

A Braskem S.A. pela disponibilização da estrutura de laboratórios do Centro de Tecnologia e Inovação para realização deste trabalho.

Aos meus colegas da equipe de Ciência de Polímeros pelo apoio, amizade, companheirismo e pelas palavras de apoio e incentivo que me ajudaram a acreditar ainda mais na importância da minha pesquisa.

Aos meus pais e irmãos pelo apoio, palavras de incentivo e pela torcida em todo o período do doutorado.

E ao meu esposo José pela compreensão em todas as minhas ausências, pela atenção dedicada nos momentos mais difíceis, pelas palavras de incentivo que me ajudaram a ultrapassar barreiras e pelos cuidados durante todo este período.

O presente trabalho foi realizado entre Março de 2009 e Novembro de 2012 nos laboratórios do Centro de Tecnologia da Braskem, sob a orientação do Prof. Dr. Cesar Liberato Petzhold. Estudos microbiológicos foram realizados no Departamento de Embalagens da Universidade de Clemson e Instituto de Tecnologia de Alimentos da UFRGS, sob supervisão da Prof. Dra. Kay Cooksey e Prof Dr. Adriano Brandelli, respectivamente.

LISTA DE ABREVIACOES

- DSC – Calorimetria exploratória diferencial
- EVA – copolímero de etileno e acetato de vinila
- FTIR – Infravermelho com transformada de Fourier
- FTIR/ATR - Infravermelho com Transformada de Fourier/ Attenued Transmittance Reflectance
- IF – Índice de fluidez
- KBr – brometo de potássio
- MAP – modified atmosphere packaging
- MO – Microscopia ótica
- N₂ – Atmosfera de nitrogênio
- NaBz – Benzoato de sódio
- PDA – Agar Potato Dextrose
- PEBD – Polietileno de baixa densidade linear
- PELBD – Polietileno linear de baixa densidade
- PVOH – poliálcool vinílico
- rpm – Rotações por minuto
- SK – sorbato de potássio
- Tc – Temperatura de cristalização
- TGA – Análise termogravimétrica
- Tm₂ – Temperatura da segunda fusão
- UFC – Unidades formadoras de colônia
- WDXRF - Fluorescência de Raios X – dispersão de comprimento de onda

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISAO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	ABSORVEDORES DE OXIGÊNIO	4
2.2	ABSORVEDORES DE ETILENO	6
2.3	ABSORVEDORES DE ODORES	7
2.4	ANTIMICROBIANOS	7
3	OBJETIVO	19
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
4	EXPERIMENTAL	20
4.1	MATERIAIS	20
4.1.1	Antimicrobianos	20
4.1.2	Misturas	20
4.1.2.1	Teste 1	21
4.1.2.2	Teste 2	23
4.2	CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS ANTIMICROBIANOS	24
4.2.1	Análise Termogravimétrica (TGA)	24
4.2.2	Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	24
4.3	CARACTERIZAÇÃO DOS GRÃOS (PELBD + ANTIMICROBIANO)	25
4.3.1	Chhalorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	25
4.3.2	Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	25
4.3.3	Fluorescência de Raios X dispersao comprimento de onda(WDFRX)	25
4.3.4	Índice de Fluides (IF)	26
4.3.5	Densidade	26
4.4	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	26
4.4.1	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	27
4.4.2	Microscopia Ótica (MO)	27
4.4.3	Análise de Pontos esbranquiçados via Estéreo Microscópio	27
4.4.4	Analise de pontos esbranquiçados via OCS	27
4.4.5	Avaliação do tipo de defeito	28
4.4.6	Espessura	28
4.4.7	Tração	28

4.4.8	Soldabilidade	29
4.4.9	Perfuração de Filmes	31
4.4.10	Resistência ao Rasgo Elmendorf	31
4.4.11	Testes Microbiológicos	32
4.4.11.1	Avaliação da atividade antimicrobiana contra bactérias	32
4.4.11.2	Avaliação da atividade antimicrobiana contra fungos	33
4.4.11.2.1	<i>Obtenção da solução de partida contendo fungos de pão e queijo</i>	33
4.4.11.2.2	<i>Teste da atividade antimicrobiana dos filmes produzidos no Teste 1</i>	35
4.4.11.3	Avaliação da atividade antimicrobiana – coliformes, microorganismos psicotróficos, bolores e leveduras – análise em queijo	37
4.4.12	Testes de Migração em água	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1	CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS ANTIMICROBIANOS	40
5.2	CARACTERIZAÇÃO DOS GRÃOS TESTE 1	45
5.3	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES TESTE 1	49
5.3.1	Estudo da Migração dos Agentes Antmicrobianos	54
5.3.2	Avaliação do Efeito do Tratamento Superficial dos filmes na migração	59
5.3.3	Avaliação Microbiológica	62
5.3.3.1	Avaliação contra bactérias	62
5.3.3.2	Avaliação contra fungos	65
5.3.4	Avaliação das Propriedades Mecânicas	72
5.4	CARACTERIZAÇÃO DOS GRÃOS TESTE 2	81
5.5	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES TESTE 2	83
6	CONCLUSÕES	104
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	105
	ANEXO A	110
	ANEXO B	114
	ANEXO C	122

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Modelo das funções da embalagem.....	5
Figura 2: Sistemas de embalagem e o comportamento das substâncias antimicrobianas	10
Figura 4: Sistemas de embalagem.....	10
Figura 5: Representação esquemática do crescimento de um endósporo até célula vegetativa	14
Figura 6: Gráfico de tensão versus deformação obtido no teste de tração dos filmes	29
Figura 7: Ponteira, acessórios de fixação e base para teste de perfuração.....	31
Figura 8: Pêndulo para medida da Resistência ao Rasgo Elmendorf	32
Figura 9: Corpo de prova para teste de Resistência ao Rasgo Elmendorf	32
Figura 10: Inoculação da solução de bolores e leveduras.....	35
Figura 11: Amostras do teste da atividade microbiológica realizada com filmes produzidos no Teste 1	36
Figura 12: Incubação em estufa à 25°C por 5 dias.....	37
Figura 13: Termograma do sorbato de potássio (10°C/min, N ₂)	40
Figura 14: Termograma do benzoato de sódio (10°C/min, N ₂).....	41
Figura 15: Termograma do acetato de sódio (10°C/min, N ₂)	41
Figura 16: Termograma do citrato de sódio (10°C/min, N ₂)	42
Figura 17: Termograma do Timol (10°C/min, N ₂)	42
Figura 18: Sobreposição de espectros de FTIR do PELBD puro (filme obtido por compressão a quente dos grãos) e sorbato de potássio puro (pastilha de KBr)	44
Figura 19: Sobreposição de espectros de FTIR do PELBD puro (filme obtido por compressão a quente dos grãos) e benzoato de sódio puro (pastilha de KBr)	44
Figura 20: Termograma de cristalização da amostra grão controle – Teste 1	46
Figura 21: Termograma de fusão da amostra grão controle – Teste 1.....	47
Figura 22: Termograma de cristalização da amostra grão com SK – Teste 1	47
Figura 23: Termograma de fusão da amostra grão com SK – Teste 1	48
Figura 24: Termograma de cristalização da amostra em filme controle – Teste 1	50
Figura 25: Termograma da segunda fusão (T _{m2}) da amostra em filme controle – Teste 1	51
Figura 26: Micrografias óticas do gel do filme de PELBD base hexeno puro +10% PEBD obtidas em diferentes temperaturas	52

Figura 27: Micrografias óticas do gel do filme de PELBD base hexeno + 4,5% de sorbato de potássio +10% PEBD a diferentes temperaturas.....	53
Figura 28: Micrografias óticas do gel do filme de PELBD base hexeno + 4,5% de benzoato de sódio +10% PEBD a diferentes temperaturas.....	53
Figura 29: Sobreposição de espectros de FTIR dos filmes PELBD base hexeno puro	54
Figura 30: Sobreposição dos espectros de FTIR/ATR do filme de PELBD base hexeno puro - variação com o tempo após a extrusão do filme	55
Figura 31: Sobreposição dos espectros de FTIR/ATR do filme de PELBD base hexeno + sorbato de potássio- variação com o tempo após a extrusão do filme	57
Figura 32: Sobreposição dos espectros de FTIR/ATR do filme de PELBD base hexeno + benzoato de sódio- variação com o tempo após a extrusão do filme.	57
Figura 33: Migração do sorbato de potássio no filme de PELBD base hexeno com o tempo (zero a 35 dias de análise após extrusão do filme).	58
Figura 34: Migração do benzoato de sódio no filme de PELBD base hexeno com o tempo (zero a 35 dias após a extrusão do filme).	58
Figura 35: Migração do sorbato de potássio em água a temperatura ambiente – embalagem: saquinhos de 8 cm ² contendo 50 mL de água	62
Figura 36: Teste microbiológico contra Salmonella Typhimurium.....	63
Figura 37: Teste microbiológico contra Listeria monocitogenes	63
Figura 38: Teste microbiológico contra Staphylococcus aureus	64
Figura 39: Resultado do teste de determinação da densidade ótica do liquido contendo Salmonella Typhimurium.....	65
Figura 40: Foto do pão francês e do queijo mussarela após o crescimento superficial de fungos	66
Figura 41: Unidades formadoras de colônia (UFC) de microorganismos psicrotróficos em queijo minas em contato com filme controle (sem SK) e filmes com 5 e 10% de SK após períodos de 7 a 21 dias de estocagem em temperatura de geladeira...	71
Figura 42: Unidades formadoras de colônia (UFC) – contagem padrão de bolores e leveduras em queijo minas em contato com filme controle (sem SK) e filmes com 5 e 10% de SK após períodos de 7 a 21 dias de estocagem em temperatura de geladeira.	71
Figura 43: Coliformes totais – número mais provável de coliformes totais em queijo minas em contato com filme controle (sem SK) e filmes com 5 e 10% de SK após períodos de 7 a 21 dias de estocagem em temperatura de geladeira.	72
Figura 44: Resultados do teste de tração dos filmes estudados – Tensão escoamento	73

Figura 45: Resultados do teste de tração dos filmes estudados – Alongamento no escoamento.	73
Figura 46: Resultados do teste de tração dos filmes estudados – Tensão de ruptura	74
Figura 47: Resultados do teste de tração dos filmes estudados – Alongamento na ruptura	74
Figura 48: Resultados do teste de Resistência ao Rasgo Elmendorf	75
Figura 49: Resultados do teste de Resistência a Punctura – carga máxima.....	76
Figura 50: Resultados do teste de Resistência a Punctura – Alongamento na carga máxima	76
Figura 51: Resultados do teste de Resistência a Punctura – Energia total.....	77
Figura 52: Curva de selagem a quente dos filmes estudados.....	79
Figura 53 Curva de selagem a frio dos filmes estudados	79
Figura 54: Curva de selagem a quente dos filmes estudados.....	80
Figura 55: Termograma de cristalização da amostra filme controle – Teste 2.....	84
Figura 56: Termograma de fusão da amostra filme controle – Teste 2	84
Figura 57: Termograma de cristalização da amostra em filme com sorbato de potássio – Teste 2	85
Figura 58: Termograma de fusão da amostra em filme com sorbato de potássio – Teste 2	85
Figura 59: Distribuição de espessura dos filmes obtidos no Teste 2 – avaliação realizada ao longo da largura do filme	86
Figura 60: Micrografias óticas do gel do filme de PELBD base buteno + 5% de Sorbato de potássio +10% PEBD a diferentes temperaturas.....	88
Figura 61: Micrografias obtidas via estéreomicroscópio do filme produzido no Teste2	89
Figura 62: Sobreposição dos espectros de FTIR/ATR do filme de PELBD base buteno + 5% sorbato de potássio + 10% PEBD – variação com o tempo após extrusão do filme	91
Figura 63: Migração do sorbato de potássio no filme PELBD base buteno + 5% sorbato de potássio + 10% PEBD – dia zero até 35 dias após a extrusão.....	91
Figura 64: Migração do sorbato de potássio em água a temperatura ambiente – embalagem: saquinhos de 8 cm ² contendo 50 mL de água.	93
Figura 65: Migração do sorbato de potássio em água a temperatura ambiente – embalagem: saquinhos de 8 cm ² contendo 50 mL de água – lado tratado externo à embalagem	94
Figura 66: Migração do sorbato de potássio em água e etanol/água a temperatura ambiente – embalagem: saquinhos de 8 cm ² contendo 50 mL de água.....	95

Figura 67: Migração do sorbato de potássio em água a temperatura ambiente – embalagem: saquinhos de 8 cm ² contendo 50 mL de água.	97
Figura 68: Resultados do teste de tração dos filmes estudados – Tensão no escoamento...	99
Figura 69: Resultados do teste de tração dos filmes estudados – Alongamento no escoamento	99
Figura 70: Resultados do teste de tração dos filmes estudados – Tensão de ruptura	100
Figura 71 Resultados do teste de tração dos filmes estudados – Alongamento na ruptura	100
Figura 72: Resultados do teste de Resistência a perfuração do filme – Carga máxima	101
Figura 73: Resultados do teste de resistência a perfuração do filme – Alongamento na carga máxima	101
Figura 74: Resultados do teste de Resistência a perfuração do filme – Energia total	102
Figura 75: Curva de selagem a quente dos filmes estudados.....	103

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Lista de alguns compostos químicos e naturais com atividade antimicrobiana	12
Tabela 2 -	Compostos antimicrobianos utilizados	20
Tabela 3 -	Parâmetros de processamento utilizados para granulação das amostras	22
Tabela 4 -	Condições de temperatura utilizadas para produção dos filmes.....	22
Tabela 5 -	Resumo da composição e identificação das amostras com e sem antimicrobiano estudadas no Teste 1	22
Tabela 6 -	Resumo da composição e identificação das amostras com e sem antimicrobiano estudadas no Teste 2	24
Tabela 7 -	Teste de atividade microbiana dos filmes produzidos no Teste 1	35
Tabela 8 -	Resultados de DSC das amostras (10°C/min em N ₂).....	46
Tabela 9 -	Resultado de FRX para as amostras em grãos.....	48
Tabela 10 -	Resultados de IF e densidade dos grãos de PELBD base hexeno puro e contendo 5% dos antimicrobianos sorbato de potássio e benzoato de sódio....	49
Tabela 11 -	Resultado DSC das amostras (10°C/min em N ₂).....	51
Tabela 12 -	Resultado de FRX para amostra de filme produzido em extrusora plana (SK: sorbato de potássio)	60
Tabela 13 -	Resultados de DSC das amostras de filme produzidos na extrusora plana	60
Tabela 14 -	3 Resultados da contagem de bolores e leveduras nas amostras da solução primária obtidas a partir de pão e queijo	66
Tabela 15 -	Contagem de bolores e leveduras, em pão e queijo, para diferentes concentrações de sorbato de potássio	67
Tabela 16 -	Resultados da contagem de bolores e leveduras em pão e queijo – teste com filmes (análise em triplicata)	69
Tabela 17 -	Resultados de DSC dos grãos obtidos no Teste 2	81
Tabela 18 -	Resultados de IF, densidade e Fluorescência de Raios X das amostras em grãos obtidas no Teste 2	83
Tabela 19 -	Resultados de DSC (10°C/min em N ₂).....	86
Tabela 20 -	Resultados de Fluorescência de Raios X do filme produzido no teste 2.....	87

Tabela 21 - 2 Resultados de análise de pontos esbranquiçados nos filmes obtidos com amostras granuladas e regranuladas. Avaliação realizada durante processamento do filme com leitor ótico OCS	90
---	----

RESUMO

Filmes de polietileno contendo aproximadamente 5% p/p de compostos orgânicos com atividade antimicrobiana foram produzidos, caracterizados e sua atuação como embalagem ativa para alimentos investigada.

A seleção do tipo de polietileno utilizado foi baseada nas formulações normalmente utilizadas na indústria de embalagens. Visto a necessidade de migração dos compostos antimicrobianos para a superfície do filme e, contato filme/produto, os testes foram realizados com filmes produzidos com uma mistura de polietileno linear de baixa densidade (PELBD) e polietileno de baixa densidade (PEBD), formulação normalmente utilizada com função de camada de selagem. Também foi estudada a influência do tipo de processamento assim como o tipo de comonômero presente no PELBD. Os compostos antimicrobianos estudados foram principalmente, sorbato de potássio e benzoato de sódio. A escolha dos compostos antimicrobianos foi definida de acordo com sua estabilidade térmica.

Os grãos e filmes obtidos foram caracterizados através das técnicas de DSC / FRX / IF/ densidade, assim como, ensaio de tração/deformação, resistência a punctura e selabilidade. Também foram realizadas análises de pontos esbranquiçados em filme e migração dos compostos antimicrobianos para a superfície dos mesmos. As propriedades antimicrobianas dos filmes foram avaliadas contra bactérias e fungos, através de análise *in vitro* e também contra fungos em contato direto com alimento (pão e queijo).

Os resultados obtidos mostraram que a adição dos compostos antimicrobianos não afeta a maior parte das propriedades mecânicas dos filmes de polietileno, no entanto, a presença de pontos esbranquiçados no filme, diminuem a resistência a punctura dos mesmos. Além disso, o processo de migração dos compostos para a superfície dos filmes leva a diminuição na força de selagem.

Apesar de comprovada a migração do sorbato de potássio para a superfície do filme, o mesmo apresentou baixa atividade antimicrobiana contra fungos de pão e queijo. Este comportamento pode ser devido a migração lenta do sorbato para a superfície do filme.

ABSTRACT

Polyethylene films containing around 5% w/w of antimicrobial compound were produced and characterized in order to evaluate the influence of organic compounds with antimicrobial activity in their final properties.

The selection of polyethylene was based on the known formulations in packaging industry. Since the antimicrobial compound has to migrate to the film surface and consequently to be in contact film / packaged product, the tests were carried out with films produced from the mixture of linear low density polyethylene (LLDPE) and low density polyethylene (LDPE), formulation used as sealing layer. The film processing used was also studied as the comonomer in the LLDPE. The antimicrobial compounds studied were mainly potassium sorbate and sodium benzoate. The antimicrobial compounds were selected based on their thermal stability.

The flakes obtained after mixture of polyethylene, the antimicrobial compounds and also the films produced were characterized using the technique, DSC / FRX / IF and density, stress/strain tests, puncture resistance and sealability as well. Analyses of spots (fish eyes) and migration of antimicrobial compounds to the film surface were also carried out. The antimicrobial properties of the film with potassium sorbate were evaluated against bacteria and yeasts using in vitro analyses and also in contact with food (bread and cheese).

The obtained results show that the addition of antimicrobial compounds do not have any influence in most mechanical properties of the polyethylene films. However, the agglomeration observed in the films decrease their puncture resistance. Besides, the migration process of antimicrobial compounds to the film surface cause a decrease in the sealing force.

In spite of antimicrobial compound migration to the film surface, this compound showed low antimicrobial activity against yeasts and bacteria from bread and cheese. This behavior can be explained by the slow migration of potassium sorbate to the film surface.

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de embalagens para alimentos envolve fatores importantes como seleção do material da embalagem e função desejada da embalagem. As embalagens convencionais, conhecidas também como embalagens passivas, possuem 4 funções básicas¹.

- proteção: que garante a segurança do alimento durante sua vida de prateleira.
- comunicação: a embalagem é a forma de comunicar ao consumidor informações sobre o produto, tais como, dados nutricionais. Porém, a embalagem tem sido usada cada vez mais como forma de comunicação da marca, seja por textos e/ou figuras/logos, impressos na embalagem, ou até mesmo, através do desenho diferenciado da própria embalagem. Esta função se mostra cada vez mais aplicada a embalagens para o público infantil.
- conveniência: que trata também do desenho e tamanho da embalagem para garantir facilidades ao consumidor. Neste item, pode-se listar a função *to go*, que trata justamente de formas de embalagem para consumo durante deslocamentos, etc. Além disso, a conveniência também trata de formas de abertura e tamanho de embalagem.
- contenção: a embalagem tem a função primária de conter o alimento durante o tempo de vida de prateleira. Assim, também indiretamente ligado à segurança, a embalagem deve garantir a contenção do alimento durante toda a cadeia de produção, distribuição e também nos pontos de venda.

Atualmente, a necessidade por aumento de tempo de vida de prateleira dos alimentos vem crescendo muito, visto o grande número de perdas que ocorrem em toda a cadeia. Um dos principais fatores que determinam a perda na qualidade dos alimentos é o crescimento microbiológico e vários processos são utilizados para garantir a segurança alimentar, porém, existem limitações como no uso de conservantes e alguns processos como pasteurização, por exemplo.

Somado a estes fatores, atualmente, os consumidores percebem uma necessidade de produtos com menor carga de conservantes, produtos *in natura* e ou minimamente processados. Por isso, a área de desenvolvimento de embalagens tem buscado novas

tecnologias que possam aumentar o tempo de vida de prateleira dos alimentos, garantindo a segurança a seu consumo. Uma das tecnologias que tem sido estudada nos últimos tempos são as embalagens ativas, que podem, por meio do uso de uma ação antimicrobiana, levar a diminuição da carga de conservantes normalmente usada, e/ou aumentar o tempo de vida de prateleira. No entanto, este tipo de desenvolvimento, envolve não só o conhecimento na área de alimentos, mas também o conhecimento na área de materiais, tornando-se fator crucial, a combinação das várias competências para um determinado desenvolvimento na área de embalagens.

Embalagens ativas que atuam por migração de um composto antimicrobiano para sua superfície, precisam ser estudadas quanto ao seu perfil de migração, assim como o efeito da presença de um composto antimicrobiano na superfície da embalagem. Além disso, existem poucos estudos com adição de compostos antimicrobianos, como sais de ácidos orgânicos, em poliolefinas, tornando-se importante a existência de pesquisas nesta área, que possam mostrar o efeito destes compostos nas propriedades finais dos filmes.

2 REVISAO BIBLIOGRÁFICA

As embalagens são a forma de conter o produto e garantir sua qualidade durante o transporte e tempo de prateleira do produto. Muitos materiais podem ser utilizados para produção de embalagens, são eles: polímeros, papel, metal e até mesmo a combinação entre estes materiais. A escolha do material da embalagem depende da aplicação e dos requisitos do produto embalado.

O polietileno (PELBD, PEAD, PEBD) é largamente utilizado na produção de frascos, tampas e embalagens flexíveis. No caso de embalagens flexíveis, este polímero é utilizado principalmente por suas propriedades de selagem, que garantem a integridade da embalagem.

Outros polímeros como PP, PVC, poliamidas e EVOH são utilizados na produção de embalagens, sendo estes últimos, principalmente pela sua propriedade de barreira a gases, desta forma, sua aplicação em embalagens multicamada combinado a outros materiais é bastante aplicada.

Embalagens flexíveis são largamente utilizadas pois podem garantir a proteção do produto, são leves e ocupam pequeno volume físico. Este tipo de embalagem pode ser obtido, principalmente, pelo processo de extrusão tubular (balão) ou extrusão plana. Em ambos os processos, os grãos de polietileno são adicionados ao processo por meio de uma linha de alimentação, onde pode ser utilizado o polímero puro, blendas com outros materiais e/ou adição de outros compostos e aditivos. Após etapa de fusão do polímero, que no caso de poliolefinas, ocorre a altas temperaturas (ex: 200/C), e mistura, que ocorrem dentro de um sistema contendo um parafuso que possui elementos de mistura e transporte, o material fundido, passa por uma matriz a qual, dependendo do tipo de processo, possui forma e características diferentes. No caso do filme obtido pelo processo tubular, o polímero passa por uma matriz em forma de tubo, formando um balão pelo uso de ar, em seguida, o filme é puxado e enrolado em bobinas. Na extrusão plana, o polímero fundido passa por uma matriz plana, como o próprio nome descreve, e este, é resfriado ao tocar um cilindro e puxado e bobinado.

O polietileno tem sido muito utilizado também pela sua característica de fácil processamento, e resistência mecânica. Desta forma, pode-se garantir a integridade do produto embalado unindo as características do polietileno com a de outros materiais, como EVOH e poliamidas.

A necessidade por novos desenvolvimentos na área de embalagens tem sido impulsionada principalmente pelo ganho no tempo de vida de prateleira dos produtos, visando diminuir as perdas de alimentos, que hoje, é uma das principais preocupações mundiais. As inovações na área de embalagens estão principalmente ligadas ao desenvolvimento de novos materiais e combinação de polímeros com diferentes propriedades, no entanto, a existência de um parque de máquinas de transformação já bem estabelecido, limita ou dificulta o uso de materiais diferentes de poliolefinas, poliamidas, etc. Considerando este cenário, novos desenvolvimentos em poliolefinas são um dos caminhos para garantir inovação nesta área, e um dos caminhos, tem sido explorar o conceito de embalagens ativas.

Embalagens ativas são àquelas que alteram suas condições internas a fim de aumentar a segurança, melhorar propriedades sensoriais, com objetivo de aumentar o tempo de vida útil do produto embalado^{2,3}.

Outros conceitos também são encontrados na literatura abordando a interação da embalagem com o produto, mantendo sua qualidade nutricional. A embalagem ativa corrige deficiências existentes nas embalagens convencionais (passivas)^{4,5}. Segundo a regulamentação Européia 1935/2004/EC e 450/2009/EC materiais ativos aumentam o tempo de prateleira ou mantêm ou melhoram as condições do alimento embalado. Estes materiais podem absorver ou liberar substâncias do ou para o produto embalado ou para o ambiente ao redor⁶.

Atualmente, existem dois conceitos inovadores na área de desenvolvimento em embalagens: as chamadas embalagens ativas, descritas acima, e as embalagens inteligentes, as quais monitoram as condições do produto embalado e comunicam sua qualidade durante o transporte e armazenamento. Exemplos típicos de embalagens inteligentes são os indicadores de tempo/temperatura, indicadores de vazamento de gases (aplicado, normalmente em embalagens de atmosfera modificada) e sensores de crescimento microbológico².

Estes novos conceitos, embalagens ativas e inteligentes, complementam o conceito das embalagens convencionais, podendo ser trabalhados em conjunto ou em separado, pois cada um apresenta uma função específica (Figura 2).



Figura 2: Modelo das funções da embalagem: proteção; comunicação, contenção e conveniência. As tecnologias de embalagens ativas estão focadas na função de proteção, enquanto que as embalagens inteligentes, atuam na comunicação¹.

Os compostos adicionados às embalagens para torná-las ativas ou inteligentes devem ser permitidos para contato com alimentos segundo regulamentação vigente no país. A Regulamentação Européia incluiu sistemas ativos e inteligentes nos anexos sobre compostos para contatos com alimento. Sendo assim, esta regulamentação autoriza o uso de embalagens ativas as quais, comprovadamente, melhoram a segurança, qualidade e o tempo de vida útil do produto. Para isso, os produtos utilizados nestas embalagens devem ser autorizados como produtos aprovados para contato com alimentos. Nos casos de embalagens que envolvam a migração de compostos, alterando a composição do alimento, estes devem estar presentes nas listas de aditivos grau alimentício, garantindo assim a segurança dos produtos embalados⁷.

Existem diversos tipos de embalagens ativas⁸. Cada uma das tecnologias é utilizada dependendo da aplicação e necessidade do produto a ser embalado como mostrado a seguir.

2.1 ABSORVEDORES DE OXIGÊNIO

A presença de oxigênio, em alguns produtos alimentícios, como carnes, queijos e produtos gordurosos, pode causar perda de qualidade sensorial pela oxidação de lipídeos e aromas, ou até mesmo causar problemas de segurança alimentar devido ao crescimento microbológico. Para estes produtos são utilizados diversos tipos de embalagens contendo barreiras passivas ao oxigênio, as quais impedem ou retardam a permeação deste gás através da embalagem, impedindo seu contato com o alimento. Em alguns casos, o uso de embalagens com atmosfera modificada (MAP – modified atmosphere packaging) é utilizado para minimizar este problema. Nestes sistemas a atmosfera natural da embalagem é trocada

por uma mistura conhecida de gases a fim de eliminar o oxigênio presente no seu interior.^{4, 9, 10, 11}

O risco de oxidação e crescimento microbiológico pode ser minimizado pelo uso de absorvedores de oxigênio. Sistemas típicos utilizados nessa tecnologia são baseados na oxidação de compostos de ferro. Estes compostos são mantidos em sachês, os quais são colocados dentro das embalagens. O material que forma o sachê deve ser altamente permeável ao oxigênio para que o gás entre em contato com o pó de ferro contido no seu interior.

O tipo e quantidade de ferro em cada sachê são definidos pelo tamanho da embalagem, quantidade de oxigênio inicial e quantidade de oxigênio dissolvido no produto.

Os absorvedores de oxigênio são os sistemas ativos comerciais mais antigos dentre as tecnologias ativas existentes e foi primeiramente desenvolvido pela Mitsubischi Gás Chemical Company, agora Ageless.^{4, 11, 2}

Outros desenvolvimentos, na área de absorvedores de oxigênio, envolvem o uso de compostos ativos como ácido ascórbico ou catecol, carbonato de ferro ou sulfito de ferro. Além destes compostos, absorvedores a base de reação enzimática também foram desenvolvidos, como por exemplo, glucose/ glucose-oxidase^{4, 12}. A capacidade antioxidante do ácido ascórbico foi estudada em filmes de etileno vinil álcool (EVOH), onde este composto foi disperso no polímero e sua liberação para sistemas simulantes foi acompanhada. Neste trabalho a eficiência do ácido ascórbico como antioxidante para peixes foi apresentada¹³.

2.2 ABSORVEDORES DE ETILENO

O etileno é o gás natural liberado por frutas e hortaliças o qual acelera a respiração destes alimentos. Quando estes produtos estão embalados, o excesso de etileno acelera o processo de maturação destes vegetais. Sendo assim, os absorvedores de etileno são sistemas ativos utilizados para frutas e hortaliças para minimizar perdas pela maturação.

Os sistemas utilizados como absorvedores de etileno são sachês contendo permanganato de potássio, o qual oxida o etileno a etileno glicol. Além destes, também podem ser incorporados ao material da embalagem, compostos porosos, como zeólitas, argilas e sílica gel. O uso de reações químicas com dienos e trienos eletrodeficientes, como benzenos, piridina, triazinas, substituídas com grupos alquil fluorados, também podem ser usadas para

remover o etileno da atmosfera. Estes compostos podem ser adicionados em sacos plásticos permeáveis assim como adicionados na tinta de impressão.

O desempenho dos absorvedores de etileno depende do tipo de produto, visto que a produção de etileno para cada alimento é diferente^{2, 4, 5, 11}.

2.3 ABSORVEDORES DE ODORES

A presença de odor na embalagem é um grande problema, não só para a indústria de alimentos, mas também para a indústria farmacêutica. Por esta razão, compostos como zeólitas também foram estudados como absorvedores de odores em embalagens de alimentos com base em polietileno.

Durante o processamento de polímeros, a formação de compostos voláteis pode ser iniciada devido a degradação pelo uso de altas temperaturas e cisalhamento. A geração destes voláteis pode ser minimizada pelo uso de antioxidantes, porém, em alguns casos, estes aditivos não impedem a formação de alguns compostos orgânicos voláteis. Dessa forma, outras tecnologias tem sido estudadas visando contornar este problema, conforme mostrado por Hodigson e co-autores, que fizeram uma pesquisa sobre o uso de zeólitas para diversas aplicações, incluindo absorvedor de odores. Neste trabalho são listados pontos importantes que devem ser estudados neste tipo de tecnologia, tais como: pureza da zeólita, dimensões dos poros para absorção dos compostos voláteis, além da possibilidade de alteração de propriedades mecânicas do filme final^{14, 15}.

Também são considerados como embalagens ativas àquelas que contêm absorvedores de umidade e dióxido de carbono, além de liberadores de aromas e antioxidantes. Rooney publicou uma revisão sobre vários estudos em embalagens ativas, incluindo estas tecnologias. Neste trabalho, o autor mostra o impacto do uso de absorvedores e liberadores de compostos para o produto embalado, assim como as tecnologias utilizadas para atingir esta propriedade⁵.

2.4 ANTIMICROBIANOS

Na indústria de alimentos, vários métodos de conservação são utilizados a fim de manter a qualidade de produto assim como aumentar o seu tempo de prateleira, o que muitas vezes é definido pelo crescimento microbiológico. Tecnologias de pasteurização, desidratação, congelamento e outros métodos têm sido utilizadas como meios de preservação

para os alimentos¹⁶. No entanto, a adição de agentes químicos para garantir a conservação, gera benefícios para o produto embalado, prevenindo contra contaminações pós-processamento e exercendo efeito sobre o crescimento microbiológico que reduz o tempo de vida dos alimentos e aumenta o risco de doenças causadas por intoxicação alimentar⁴.

Embalagem antimicrobiana é uma possibilidade para empacotamento de vários produtos, como carnes, massas, queijos, etc. Principalmente, por que a contaminação destes produtos se inicia na superfície, devido ao manuseio após corte e processamento, por exemplo^{17,18,19}. Uma das técnicas que pode ser aplicada é a aspersão de um agente antimicrobiano diretamente na superfície do alimento, porém, dependendo do tipo de alimento, este é um benefício limitado devido à possibilidade de neutralização da substância ativa pela sua difusão, da superfície para o interior da massa do produto.

Desta forma, a utilização de embalagens, contendo agentes antimicrobianos em sua formulação, pode ser bem mais eficiente devido à lenta migração do composto ativo do material da embalagem para a superfície do produto, comparado a tecnologia de aspersão. Se a embalagem antimicrobiana apresentar a característica de liberação do composto por um longo período de tempo, poderá ser utilizada desde o transporte até o armazenamento, garantindo sua ação por todo o tempo em que o produto está embalado.

Substâncias antimicrobianas incorporadas à embalagem podem controlar a contaminação microbiana por vários efeitos:

- reduzindo a taxa de crescimento da população microbiana;
- aumentando a chamada fase “lag” de crescimento microbiano (onde o número de microorganismos permanece praticamente inalterado);
- ou ainda, pela inativação dos microorganismos, através do contato direto filme/produto embalado.

Os sistemas de embalagem podem envolver o contato direto da embalagem com o produto ou a embalagem sem contato direto com o produto, ou seja, contendo espaço livre dentro da embalagem¹⁹.

Vários agentes antimicrobianos podem ser incorporados em sistemas de embalagens. O composto ativo pode estar no material da embalagem ou na atmosfera interna da embalagem (espaço livre - *headspace*), variando o método de incorporação. O composto ativo

deve ser transferido para a superfície do alimento para impedir o crescimento microbiano. Alguns métodos de incorporação do agente antimicrobiano envolvem:

- incorporação do composto ativo no material da embalagem, antes do processo de produção da mesma;
- incorporação em solventes para recobrimento;
- incorporação em materiais, utilizados para recobrimento comestível;
- misturas em materiais como o papel cartão.

No caso de agentes antimicrobianos gasosos, estes podem ser adicionados na atmosfera da embalagem.

As embalagens antimicrobianas podem ser produzidas através de dois conceitos diferentes:

- Com migração do agente antimicrobiano;
- Sem migração do agente antimicrobiano.

Nos tipos de embalagens com migração do composto ativo, este composto migra parcialmente ou completamente da embalagem para o alimento ou para o espaço ao redor do alimento (ocorre por difusão de uma fase para outra). Por outro lado, a embalagem ativa, sem migração do agente antimicrobiano, contém no material ou na sua superfície, um composto ativo ou produz, em certas condições, um composto ativo que atua como antimicrobiano quando o microorganismo alvo entra em contato com a superfície da embalagem^{20,21}.

Para ambos os tipos de embalagem antimicrobiana (com e sem migração) é necessário ocorrer contato entre o produto embalado e o material da embalagem, dessa forma, aplicações em potencial para este tipo de embalagem incluem especialmente produtos embalados a vácuo ou *skin-packaged*, por exemplo: carnes, peixes, aves ou queijos, pães, frutas, vegetais e algumas massas^{20,22}.

Em sistemas sem a presença de espaço livre interno livre (headspace), utilizados para produtos cárneos prontos para consumo e queijos, por exemplo, a difusão entre o material da embalagem e o produto é o principal fenômeno envolvido (Figura 2 a).

Sistemas contendo espaço interno dentro da embalagem, sem contato direto com o produto (headspace), normalmente utilizados em embalagens flexíveis, copos e caixas, a evaporação ou distribuição equilibrada do composto antimicrobiano através do headspace, é considerada uma das partes principais do mecanismo de migração. Uma substância volátil pode ser usada nestes sistemas, para que possa migrar através do headspace até o produto (Figura 3 b).

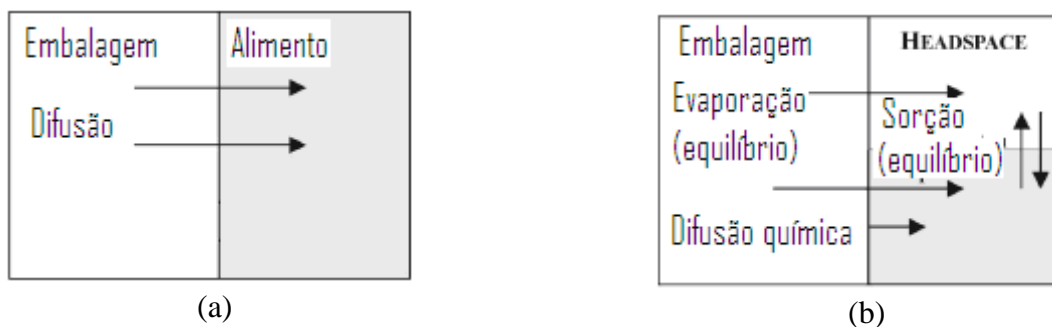


Figura 3: Sistemas de embalagem e o comportamento das substâncias antimicrobianas (Han, 2000). (a) embalagem sem espaço interno livre – contato direto alimento/embalagem (b) embalagem com espaço interno livre

Além de difusão e sorção equilibrada, algumas embalagens antimicrobianas utilizam compostos ativos (antibióticos ou fungicidas) covalentemente imobilizados na sua superfície. Nestes casos, ocorre inibição do crescimento microbiano pelo contato com a substância antimicrobiana imobilizada no material da embalagem sem transferência de massa. (Figura).

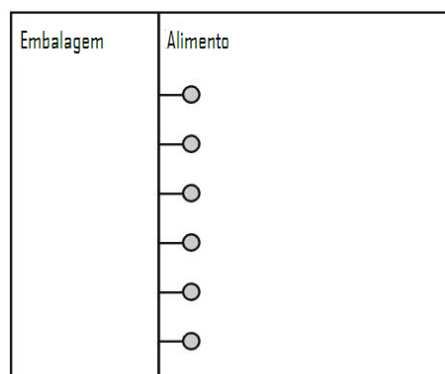


Figura 4: Sistemas de embalagem: Composto, com ação antimicrobiana, imobilizado na superfície do filme (Han, 2000).

A produção de uma embalagem contendo um composto ativo ligado (imobilizado) na sua superfície requer que este composto apresente uma estrutura molecular grande o suficiente para atuar ativamente na superfície da parede celular do microorganismo, uma vez que permanece ligado na superfície da embalagem. Compostos capazes de atender estas características são enzimas e algumas proteínas antimicrobianas^{19, 23, 24, 25, 26}. A imobilização do composto antimicrobiano pode ser obtida também por modificação química do polímero através da reação de graftização. Autores reportam na literatura a ação antimicrobiana contra bactérias do polietileno graftizado com amidas após etapa de cloração (sistema estudado para aplicação em fibras)^{27,28}. Outra forma de sistema de embalagem, sem migração do composto ativo, é o uso de recobrimento de biopolímeros sobre o filme da embalagem, ou filmes produzidos com biopolímeros, onde estes apresentam propriedade antimicrobiana. Sua atuação também depende do contato da embalagem com o alimento embalado^{29,30,31}.

Vários agentes antimicrobianos podem ser incorporados no sistema de embalagem e podem ser geralmente classificados em dois grupos: agentes químicos e agentes naturais (estes últimos incluem: óleos essenciais, enzimas, entre outros)³². Estudos com nisina, lisozima e lactase mostram o efeito antimicrobiano destas enzimas contra algumas bactérias quando disperso no polímero e/ou quando imobilizadas na superfície do filme^{25, 33, 34, 35}. O comportamento antimicrobiano de enzimas (como a lisozima) foi estudado não só em sistemas poliméricos, mas também incorporadas durante o processo de produção de papel, mantendo sua propriedade antimicrobiana, mesmo nestas condições³⁶.

Na última década diversos estudos tem sido publicados, e alguns destes dados foram apresentados por Bonilla e co-autor, mostrando o efeito antimicrobiano de polímeros, com diferentes grupos químicos, tais como nitrogênio quaternário e polímeros halogenados³⁷. Estudo recente com poli(adipato de butileno) funcionalizado com grupos fosfônio quaternário mostrou a atividade antimicrobiana deste polímero, reportando a vantagem de não necessitar de liberação de nenhum composto para o produto embalado para garantir o desempenho da embalagem³⁸.

Estudos da literatura também mostram diversos desenvolvimentos baseados no uso de biopolímeros, como quitosana, na produção de filmes antimicrobianos, visto o efeito antimicrobiano característico deste polímero^{39,40}. Trabalho utilizando quitosana modificada foi publicado na literatura, mostrando que o complexo quitosana- glucose apresenta atividade antimicrobiana maior que a quitosana pura contra algumas bactérias, e ainda com superior atividade antioxidante⁴¹.

A Tabela 1 mostra alguns compostos que apresentam atividade antimicrobiana^{19, 20,42, 43}.

Tabela 1 - Lista de alguns compostos químicos e naturais com atividade antimicrobiana

Classe	Exemplos de Antimicrobianos
Ácidos Orgânicos	Ácido acético, ácido benzóico, ácido málico, ácido p-amino benzóico, ácido láctico, ácido propiônico, ácido tartárico, ácido succínico, mistura de ácidos orgânicos
Sais de ácidos	Benzoato de sódio, benzoato de potássio; sorbato de potássio; acetato de sódio
Anidrido de ácido	Anidrido benzóico, anidrido sórbico
Ácidos graxos	Ácido láurico, ácido palmitolêico
Agentes Quelantes	EDTA, citrato
Metais	Prata, cobre, zircônio
Extrato de plantas	Extratos de semente de uva, óleo de orégano; timol
Enzimas	Nisina, lisozima

Além de compostos orgânicos e biopolímeros, a Tabela 1 também apresenta enzimas e metais como prata e titânio (TiO_2) em forma nanométrica como possíveis agentes antimicrobianos^{44, 45, 46, 47, 48}. No entanto, o uso de biopolímeros como quitosana, e metais apresentam algumas restrições pelo odor característico e, no caso dos metais, pela sua forma nanométrica. A mesma limitação quanto ao odor deve ser considerada no uso de óleos essenciais, os quais normalmente possuem baixa estabilidade térmica. No entanto estudos mostram o seu uso como agente antimicrobiano em filmes de polipropileno quando utilizadas temperaturas de processamento relativamente baixas⁴⁹.

Dentre os diversos compostos, com atividade antimicrobiana, existem àqueles ativos para uma determinada faixa de microorganismos, podendo ser específicos para cada tipo de alimento. A escolha do antimicrobiano a ser utilizado envolve tanto a atividade antimicrobiana em si, quanto à possibilidade de entrar em contato com alimento. Em sistemas onde ocorre migração do composto ativo para o alimento, devem ser considerados apenas àqueles compostos aprovados como aditivos de alimentos⁶. Exemplos de aditivos para alimentos são alguns ácidos orgânicos e seus derivados.

Vários estudos têm sido realizados mostrando o uso de sorbatos e outros sais orgânicos no controle do crescimento microbiano em alimentos. Estes estudos mostram a aplicação destes compostos diretamente no alimento ou adicionados à embalagem^{50, 51, 52, 53,54, 55, 56, 57}.

A definição do sistema a ser utilizado é um dos pontos mais importantes no desenvolvimento de uma embalagem ativa antimicrobiana, sendo que vários fatores afetam o desenho final da embalagem, como por exemplo, condições de processamento do filme, características do composto antimicrobiano e do alimento e o coeficiente de transferência de massa, nos casos com migração do composto antimicrobiano.

Considerando as condições de processamento, deve-se levar em conta a possibilidade de perda da atividade antimicrobiana do composto selecionado, visto o uso de altas temperaturas, cisalhamento e pressão, normalmente utilizados durante o processamento de polímeros (extrusão do filme, por exemplo). As altas temperaturas, necessárias para extrusão de poliolefinas, podem afetar a estabilidade química do composto ativo escolhido, reduzindo ou inibindo sua ação antimicrobiana. Nestas condições, além da degradação térmica, a perda de compostos voláteis também pode ser uma das razões da perda de atividade. Estudo da literatura mostra, também, a possibilidade de perda de compostos antioxidantes durante o processamento do polímero, visto sua ação de protegê-lo durante o processamento, diminuindo, assim, seu teor ativo no filme final, para proteção do produto a ser embalado⁵⁸.

O mecanismo de inibição do crescimento microbiológico, assim como, a cinética de inibição, são fatores a serem considerados para a seleção do composto antimicrobiano. A cinética de liberação do composto antimicrobiano precisa ser conhecida a fim de manter a concentração deste composto, acima da sua concentração crítica inibitória.

A migração em embalagens plásticas é o resultado do mecanismo de difusão e dissolução do permeante na matriz, envolvendo compostos de baixa massa molecular sendo transferidos através da matriz polimérica. Sendo assim, o sistema de liberação de composto antimicrobiano é difusional, sendo o composto ativo, liberado da embalagem para o alimento. A difusividade do composto ativo no alimento, também afeta o seu perfil de difusão total, assim como a difusividade no material da embalagem (matriz). Alguns estudos mostram o uso de uma camada controle na embalagem, visando evitar perdas do composto ativo e/ou, como o próprio nome indica, controlar a liberação deste composto dependendo da necessidade.

Quando o composto ativo se move através da matriz (material da embalagem), a força motriz da transferência é a diferença de concentração. Portanto, a difusividade do composto é constante e característica de uma matriz específica. No entanto, quando o composto passa através da linha de contato entre a matriz e o outro meio heterogêneo (alimento), o perfil de concentração deste composto apresenta um gradiente não contínuo entre estas interfaces, como um salto repentino, ou uma queda na concentração, ou o caso onde o transporte não

ocorre, chegando a um valor de fluxo igual a zero. Portanto, a constante de distribuição do composto na interface, assim como, a difusividade, deve ser considerada importante no coeficiente de transferência de massa. Esta constante de distribuição pode incluir: coeficiente de partição, constante de adsorção/dessorção, constante de solubilidade e/ou volatilidade do composto.^{58, 59}

Além do mercado de carnes e sucos outra área onde as embalagens ativas apresentam grande aplicação é em produtos tais como massas, pães e bolos. Estes produtos perdem sua qualidade por perda de umidade e crescimento de bolores. Estudos com sais de ácido orgânico, como propionato de sódio, incorporado em filmes de celulose mostram a redução significativa do crescimento microbiano em fatias de pão, quando comparados com filmes sem o propionato de sódio. O uso deste agente ativo pode promover 50% de aumento na vida útil do produto⁶⁰.

Testes em filmes de polietileno de baixa densidade, contendo 3-6% de ácido sórbico, mostram atividade antimicrobiana deste composto contra *Staphylococcus*. Neste trabalho, os autores realizaram testes diretamente em contato com massa para pastel, mostrando a efetividade deste composto como agente antimicrobiano⁵⁵. O ácido sórbico também foi estudado quando disperso no recobrimento de poli(acetato de vinila) sobre filme de polietileno. Este trabalho foi realizado com o objetivo de melhorar a tecnologia de produção do filme antimicrobiano, mostrando sua eficiência para aplicação como embalagem ativa⁶¹.

Outros derivados de ácidos orgânicos, tal como sorbato de potássio, têm sido estudados como agente antimicrobiano em filmes comestíveis. Filmes comestíveis a base de amido de tapioca e também glúten de aveia contendo este sal, se mostraram ativos contra alguns microrganismos (bolores) e o mecanismo de liberação do composto antimicrobiano também foi estudado neste tipo de sistema^{62,63, 64}. Além da difusão do sorbato de potássio também foram estudadas variáveis que poderiam influenciar na sua difusão, tais como pH e temperatura. Resultados obtidos mostraram que no sistema estudado, o sorbato segue a lei de Fick, sem mostrar influência do pH, porém, a difusão do sorbato diminui com a diminuição da temperatura. Estes fatores estão diretamente ligados à resposta da embalagem ativa, visto que a migração do composto antimicrobiano, da embalagem para ao alimento, é um dos pontos principais para o desempenho da tecnologia^{65, 66}.

Sorbato de potássio também foi estudado como agente antimicrobiano em filmes de amido. A atividade antimicrobiana destes filmes foi observada apenas com altas concentrações de sorbato de potássio (15%), sendo que em concentrações menores, a falta de

ação antimicrobiana foi explicada pela interação entre os grupos químicos do amido (hidroxila) e a carbonila do sorbato de potássio. Este comportamento mostra a importância do tipo de material de embalagem utilizado, o que afeta diretamente na etapa de migração do sorbato de potássio para o alimento. Este estudo também reportou a queda das propriedades mecânicas e de barreira com a adição deste sal⁶⁷.

Os sorbatos são conhecidamente eficientes contra mofo e leveduras, porém, algumas pesquisas mostram sua ação contra uma variedade de bactérias. A principal aplicação dos sorbatos é como antifúngico em produtos como queijos, sucos de frutas, bebidas e molhos. Em bolores, o efeito antimicrobiano do sorbato se dá, devido à inibição do sistema enzimático da desidrogenase. Em esporos germinativos, o sorbato evita o crescimento de células vegetativas. Resumidamente, íons hidrogênio e íons hidroxila são separados pela membrana citoplasmática do microorganismo. Os íons hidrogênio permanecem do lado externo da célula, aumentando o pH ácido e os íons hidroxila, no lado interno, levando o pH à neutralidade. Este processo permite o transporte de alguns compostos, como aminoácidos. Na presença de sorbatos, estes se difundem através da membrana do microorganismo e a molécula não dissociada, se ioniza dentro da célula e diminui o pH intracelular, resultando no enfraquecimento do gradiente através da membrana, prejudicando o transporte dos aminoácidos^{68,69} (Figura 5)

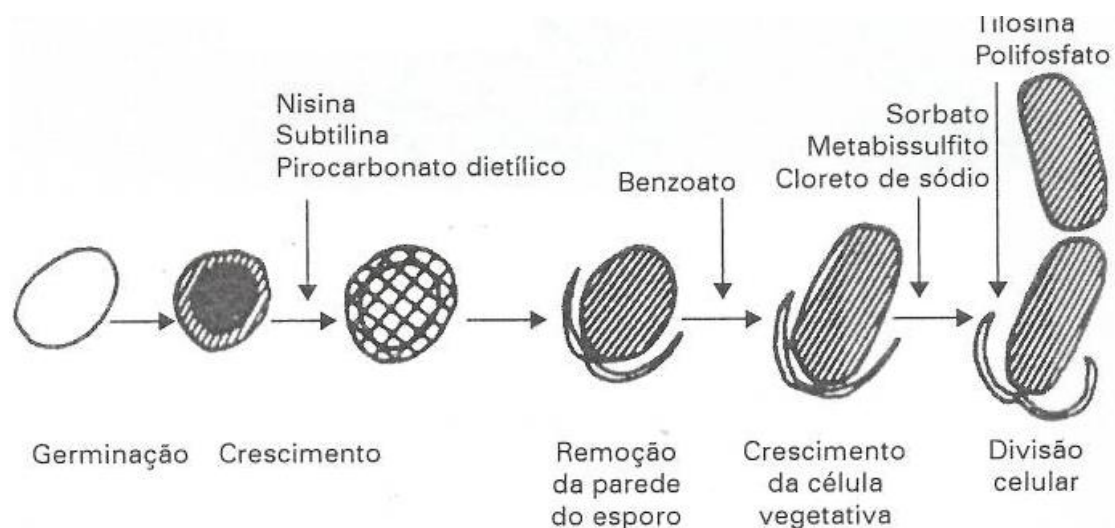


Figura 5: Representação esquemática do crescimento de um endósporo até célula vegetativa: estágios interrompidos por sorbatos.⁶⁹

A migração do sorbato de potássio também foi estudada em sistemas de embalagem baseados em biopolímeros. O controle da migração foi conseguido pela produção de filme

multicamada base acetato de celulose, alterando a cristalização do sal pelas condições de produção do filme⁵⁶.

Outros sais como benzoato de cálcio também mostram ação antimicrobiana e por esta razão, a liberação de benzoato de cálcio em filmes de alginato de sódio reticulados também tem sido amplamente estudado na literatura⁷⁰.

Pesquisa com derivados do ácido 2,4-hexadienóico também mostrou a atividade antimicrobiana destes compostos. Além disso, os autores determinaram a concentração mínima inibitória de cada composto, mostrando o potencial de uso destes derivados como agentes antimicrobianos.⁷¹

O efeito antimicrobiano de ácidos orgânicos e seus derivados também foram estudados diretamente em contato com produtos cárneos utilizando uma combinação entre vários compostos. Testes realizados com lactato de sódio, sorbato de sódio e acetato de sódio, utilizados em conjunto, sobre peças de carnes, mostraram resultados positivos contra os *Lactobacillus Curvatus* aumentando o tempo de prateleira do produto em 10 dias^{50, 72, 73}.

Sais orgânicos são comumente utilizados como agentes antimicrobianos e são aprovados como aditivos para alimentos⁷⁴. Sendo assim, estes compostos podem ser utilizados como agentes antimicrobianos em embalagens que atuarão por migração deste composto para o produto. Um dos compostos, estudados na literatura, como já mencionado, é o sal do ácido sórbico (sorbato de potássio), o qual apresenta a maior solubilidade em água dentre os sais derivados deste ácido (58,2% p/v a 20°C). A concentração antimicrobiana efetiva dos sorbatos, contra bolores, na maior parte dos alimentos é em torno de 0,02 a 0,3% (alguns estudos mostram efetividade com 0.05–0.30 g/100 mL), sendo que a inibição destes microorganismos, pela ação do sorbato ocorre, preferencialmente, em alimentos de baixo pH e moderada atividade de água (água disponível no alimento). Estudos mostraram que, em determinadas condições, certas cepas são resistentes e podem metabolizar o sorbato utilizando-o como fonte de energia^{75,76}.

Outros autores reportaram o uso do sorbato de potássio como agente antimicrobiano em filmes base PEBD, mostrando sua ação antimicrobiana contra algumas bactérias⁷⁷. No entanto, estudo realizado com filmes de PELBD + EVA não mostrou ação antimicrobiana quando sorbato de potássio foi utilizado, sendo este desempenho atribuído a baixa migração do composto antimicrobiano para a superfície do filme⁷⁸. Estes resultados mostram a complexidade no desenvolvimento de filmes antimicrobianos, sendo que o efeito do polímero base a ser estudado tem papel importante no desempenho da embalagem final.

Além de sais derivados de sorbatos, o benzoato de sódio também foi estudado como agente antimicrobiano em filmes multicamadas base PVOH (poliálcool vinílico). Neste estudo, foi observado que a taxa de migração do benzoato de sódio não pôde ser controlada pelo grau de reticulação do polímero. Este efeito foi explicado pela diferença de tamanho entre a molécula do benzoato de sódio e rede de ligações cruzadas gerada no PVOH por reticulação^{52,79}.

O benzoato de sódio foi o primeiro conservante químico que recebeu permissão do FDA (Food Drug Administration) para ser usado em alimentos. A atividade antimicrobiana do benzoato de sódio ocorre com sua molécula não dissociada, sendo mais ativos em pH baixo (alimentos ácidos). A forma não dissociada, é solúvel na membrana celular do microorganismo, facilitando o escoamento de prótons para o interior da células, atuando na etapa de remoção da parede do esporo, afetando assim o ciclo do crescimento de um endósporo até a célula vegetativa, havendo alteração na atividade da membrana celular, afetando o transporte de aminoácidos⁸⁰.

Além da ação antimicrobiana de compostos isolados, estudo da literatura também mostrou a eficiência da combinação de derivados de ácido orgânico (lactato de potássio) e enzimas (nisina) como antimicrobianos⁸¹.

São encontrados na literatura, vários estudos com uso de agentes antimicrobianos diretamente no alimento, porém, alguns problemas de oxidação de compostos como sorbato de potássio, e conseqüentemente, perda de sua atividade, devido a condições de processamento do alimento tem sido reportados⁸². O desenvolvimento de uma embalagem ativa, onde o agente antimicrobiano é adicionado ao material da embalagem, envolve vários fatores importantes, tais como, a estabilidade térmica destes compostos⁸³. Dependendo das condições de processamento do material, o desempenho da embalagem pode ser prejudicado. Nos casos de embalagens ativas com migração do composto antimicrobiano, visto que a atividade depende da migração destes compostos para a superfície de contato embalagem/alimento, esta é também uma importante propriedade a ser considerada⁶⁵. Além de avaliações experimentais da migração dos compostos antimicrobianos, estudos teóricos têm sido realizados e mostram considerações importantes quanto às etapas que envolvem a migração, onde, além da difusão do agente antimicrobiano através da matriz polimérica e transferência para o alimento, o consumo do composto antimicrobiano pelo microorganismo presente também é considerado⁸⁴.

A etapa de migração do composto antimicrobiano tem sido estudada não só para compostos derivados de ácidos orgânicos, mas também para compostos naturais, como os óleos essenciais, como linalol e metilcavicol adicionados ao polietileno⁸⁵. Além da migração do composto antimicrobiano, o sistema acima foi avaliado quanto à perda deste composto durante o armazenamento do filme. Os resultados obtidos mostraram que, apesar de ocorrer perda do composto antimicrobiano durante o tempo de armazenagem, o efeito antimicrobiano do filme de polietileno contendo linalol se manteve⁸⁶. Estudos semelhantes, com ácidos orgânicos e derivados, não foram identificados na literatura.

Alguns estudos sobre o uso de agentes antimicrobianos em polietileno de baixa densidade (PEBD), mostram a possibilidade de desenvolver embalagens antimicrobianas, mesmo com sistemas que envolvem processamentos em altas temperaturas. No entanto, para a maioria das estruturas de embalagem, o polietileno linear de baixa densidade (PELBD) é mais empregado pelas suas propriedades mecânicas. Sendo este, um polímero com maior cristalinidade, o uso de compostos antimicrobianos precisa ser estudado em maior profundidade, visto que, esta propriedade pode afetar o desempenho do composto antimicrobiano pelo efeito na migração do mesmo.

3 OBJETIVO

O trabalho tem por objetivo estudar variáveis envolvidas no desenvolvimento de uma embalagem ativa antimicrobiana, base polietileno, para aplicação na indústria alimentícia.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- estudo do desempenho de compostos orgânicos adicionados à matriz de polietileno linear de baixa densidade, como agentes antimicrobianos;
- estudo da migração dos compostos antimicrobianos utilizados;
- estudo da influência dos compostos antimicrobianos adicionados nas propriedades finais dos filmes.

4 EXPERIMENTAL

4.1 MATERIAIS

4.1.1 Antimicrobianos

Inicialmente foi feito um mapeamento de vários tipos de compostos antimicrobianos utilizados na literatura. Com base nestes dados e considerando sua atividade antimicrobiana comprovada em estudos com alimentos, foram escolhidos os compostos apresentados na Tabela 2:

Tabela 2 - Compostos antimicrobianos utilizados

Composto	Fornecedor/pureza	Número CAS	Fórmula
Sorbato de Potássio	Merck	24634-61-5	$C_6H_7KO_2$
Acetato de Sódio	Merck Suprapur 99,99%;	127-09-3	CH_3COONa
Citrato de Sódio	EMD Bioscience molecular biology grade	6132-04-3	$C_6H_5O_7Na_3$
Benzoato de Sódio	Vetec Quimica	532-32-1	$NaC_6H_5CO_2$
Timol	Vetec Quimica	168432-40-4	$C_{10}H_{14}O$

4.1.2 Misturas

Para efeito de comparação, foram realizados 2 testes com diferentes “grades” de polietileno linear de baixa densidade. Sendo que, no primeiro teste foi utilizado um PELBD base hexeno e no segundo teste, um PELBD base buteno.

A mistura de PELBD + 10% PEBD foi escolhida por ser esta uma formulação normalmente utilizada na produção de embalagens monocamada ou em estruturas multicamadas sendo esta, a camada de selagem que permanece em contato com o produto embalado.

4.1.2.1 Teste 1

Esferas de polietileno de baixa densidade linear (PELBD), contendo hexeno como comonômero (índice de fluidez aproximadamente 1g/10min (medido a 190°C/2,16kg), foram aditivadas com antioxidante secundário; antiácido e auxiliar de fluxo. Para pesagem dos aditivos e esferas, utilizou-se uma balança semi-analítica. Visto a instabilidade térmica de alguns dos compostos selecionados na temperatura de processamento dos filmes e odor característico do óleo essencial timol, os antimicrobianos escolhidos para o Teste 1 foram: sorbato de potássio, acetato de sódio e benzoato de sódio. Primeiramente preparou-se misturas com 5% em peso de cada composto antimicrobiano escolhido com relação ao PELBD. Após granulação as amostras foram diluídas em 10% de polietileno de baixa densidade (PEBD) para produção dos filmes.

Sendo assim, o estudo foi realizado com as amostras abaixo, diferindo pelo antimicrobiano utilizado:

- PELBD puro
- PELBD + 5%* sorbato de potássio
- PELBD + 5%* acetato de sódio
- PELBD + 5%* benzoato de sodio

*teor escolhido com base em estudos da literatura e também com base na limitação de alimentação nos equipamentos de granulação.

As amostras de polietileno utilizadas neste estudo são “grades” comerciais da Braskem S.A.

A granulação das misturas foi realizada em extrusora dupla-rosca Coperion, modelo ZSK18 K38 com dosadora gravimétrica Brabender (com uso de nitrogênio na alimentação), DDW-MD2-DSR28-10-ISC, com capacidade de 1 a 5 kg/h , controlador de produtividade Brabender Congrav RC4, acoplada a Secador Sugador Plus BGM, modelo SSP, e pelletizador BGM. O material foi extrudado usando-se sistema de degasagem a vácuo, matriz de dois furos e com resfriamento em água. As amostras foram secas em secador Arburg por 2 horas a 90°C, pois apresentaram umidade residual, após a granulação. Os parâmetros de processamento estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Parâmetros de processamento utilizados para granulação das amostras

Variáveis da granulação	Unidade	Extrusora: R18-06
Perfil de temperatura	°C	160/170/180/185/190/195/200
Produtividade	kg/h	3
Rotação	RPM	350
Fluxo de N ₂	N.m ³ /h	3

A extrusão dos filmes produzidos a partir dos grãos obtidos no teste 1 foi realizada em uma extrusora tubular de bancada LAB-16, fabricada pela AX Plásticos, modelo AX 16LD26, utilizando o perfil de temperatura indicado na Tabela 4Tabela .

Tabela 4 - Condições de temperatura utilizadas para produção dos filmes

Variáveis da extrusora	Unidade	Valores
Perfil de temperatura	°C	190/200/215
Rotação	Rpm	72
Torque	N.m	42

Também foram produzidos filmes em extrusora plana, utilizando as condições descritas a seguir (Teste 2).

Os filmes foram preparados adicionando 10% de PEBD a fim de auxiliar no processamento e melhorar propriedades óticas, seguindo formulação normalmente utilizada para embalagens flexíveis. Desta forma, as amostras finais de filmes contêm, aproximadamente 4,5% em peso de composto antimicrobiano (Tabela 5)

Tabela 5 - Resumo da composição e identificação das amostras com e sem antimicrobiano estudadas no Teste 1

Composição (Grão)	Identificação filme final
PELBD puro 10% PEBD	PELBD base hexeno + 10% PEBD
PELBD + 5% sorbato de potássio 10% PEBD	PELBD base hexeno + 4,5% sorbato de potássio + 10% PEBD
PELBD + 5% acetato de sódio 10% PEBD	PELBD base hexeno + 4,5% acetato de sódio + 10% PEBD
PELBD + 5% benzoato de sódio 10% PEBD	PELBD base hexeno + 4,5% benzoato de sódio + 10% PEBD

4.1.2.2 Teste 2

Um segundo teste foi realizado, utilizando-se esferas de polietileno de baixa densidade linear (PELBD), contendo buteno como comonômero (índice de fluidez aproximadamente 2,4g/10min (medido a 190°C/2,16kg). Neste teste, utilizou-se a mesma aditivação descrita no Teste 1, diferindo-se apenas no teor de antimicrobiano utilizado (sorbato de potássio, único composto utilizado neste teste) (5,5%). Também foi preparada uma amostra padrão, sem composto antimicrobiano para comparação.

As amostras de polietileno utilizadas neste estudo são amostras comerciais da Braskem S.A.

As amostras foram granuladas em extrusora dupla-rosca, seguindo a mesma metodologia e equipamento utilizado para o Teste 1.

Sendo assim, o estudo foi realizado com as amostras abaixo:

- PELBD puro
- PELBD + 5,5% sorbato de potássio

A extrusão dos filmes produzidos a partir dos grãos obtidos no teste 2, foi realizada em uma extrusora de filme plano, semi-industrial, Leonard 6405.2.

Este teste teve como objetivo a obtenção de amostras com melhor distribuição de espessura no filme. Para isto foram utilizadas as seguintes condições de processamento: rotação de rosca de 42 rpm, temperatura de massa de 259°C, pressão de massa de 64 bar, velocidade dos puxadores de 10,8 rpm e temperatura do *chill roll* de 15°C. O perfil de temperatura utilizado nas zonas 1 a 7 foi de 220°C a 210°C, sendo utilizado um aumento de 10°C por zona. As amostras de grãos, obtidas no Teste 2, foram diluídas em 10% de polietileno de baixa densidade (PEBD) para produção dos filmes. Desta forma, as amostras finais de filmes contêm aproximadamente 5% em peso de composto antimicrobiano (Tabela 6).

Tabela 6 - Resumo da composição e identificação das amostras com e sem antimicrobiano estudadas no Teste 2

Composição (Grão)	Identificação do filme final
PELBD puro 10% PEBD	PELBD base buteno + 10% PEBD
PELBD + 5,5% sorbato de potássio 10% PEBD	PELBD base buteno + 5% sorbato de potássio + 10% PEBD

4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS ANTIMICROBIANOS

Cada composto antimicrobiano estudado foi caracterizado pelas técnicas de análise termogravimétrica e infravermelho por transformada de Fourier a fim de avaliar sua estabilidade térmica e identificar bandas características de sua estrutura química para posterior caracterização dos grãos e filmes obtidos nas misturas com polietileno.

4.2.1 Análise Termogravimétrica (TGA)

A temperatura de decomposição térmica dos compostos antimicrobianos foi determinada em equipamento de TGA da TA Instruments, modelo: Hi-Res Modulated TGA 2950. As amostras foram aquecidas a 600°C a 10°C/min, permanecendo na temperatura de decomposição até finalização do processo de perda de massa.

4.2.2 Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

O espectro de FTIR dos compostos antimicrobianos foi obtido em equipamento Thermo Nicolet, modelo Nexus 470. As amostras foram analisadas em pastilhas de KBr, utilizando-se uma concentração de 3:1 (KBr: composto antimicrobiano). Os espectros foram coletados em transmitância, região de 400 a 5000 cm^{-1} com 64 scans e resolução de 4 cm^{-1} .

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS GRÃOS (PELBD + ANTIMICROBIANO)

4.3.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As temperaturas de fusão e cristalização das misturas foram determinadas em equipamento DSC da TA Instruments, modelo: Q2000.

A primeira fusão da amostra foi determinada com aquecimento a 200°C, utilizando-se uma taxa de aquecimento de 10°C/min. A temperatura de cristalização da amostra foi determinada após resfriamento à -20°C, na mesma taxa. A segunda fusão foi determinada com novo aquecimento da amostra de -20°C a 200°C, utilizando-se uma taxa de aquecimento de 10°C/min. Toda a análise foi realizada em atmosfera de nitrogênio com vazão 50 mL/min. Os calores de fusão das amostras foram calculados a partir da área dos picos endotérmicos da segunda fusão, e convertidos a grau de cristalinidade assumindo-se o calor de fusão do polietileno 100% cristalino como 290J/g⁸⁷.

4.3.2 Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A caracterização das amostras foi realizada em equipamento Thermo Nicolet, modelo Nexus 470. As amostras foram analisadas em forma de filmes prensados e os espectros foram coletados em transmitância, região de 400 a 5000 cm⁻¹ com 64scans e resolução de 4 cm⁻¹.

4.3.3 Fluorescência de Raios X – dispersão de comprimento de onda (WDXRF)

O teor de composto antimicrobiano adicionado foi determinado através da análise de FRX, em equipamento Bruker modelo S4, fonte de Rodio. Foi utilizado método de varredura de elementos com uso de vácuo, método semiquantitativo. Os elementos químicos determinados foram potássio (K) para amostras contendo sorbato de potássio, sódio (Na) para amostras contendo acetato e benzoato de sódio. As amostras foram analisadas em forma de disco prensado a 180°C em prensa hidráulica com espessura de 6 mm. O teor total do composto antimicrobiano foi determinado por estequiometria, considerando a fórmula molecular de cada composto.

4.3.4 Índice de Fluidez (IF)

O índice de fluidez das misturas foi determinado segundo a norma ASTM D-1238 em equipamento CEAST – Melt Flow Tester 2000. Nesta avaliação aproximadamente 50 g de amostra foi inserida no barril pré-aquecido, sendo a massa compactada com ajuda de um pistão a fim de evitar a formação de bolhas. Após total fusão do polímero, este passou por uma matriz sendo medida a massa de polímero que fluiu em 10 minutos de análise. O corte do espagete fundido foi feito mecanicamente pelo equipamento e a massa foi pesada em balança analítica.

4.3.5 Densidade

A densidade das misturas foi determinada segundo a norma ASTM D- 1505 em coluna de deslocamento de líquido elaborada no laboratório do Centro de Tecnologia da Braskem. A análise foi realizada utilizando-se uma pequena parte do polímero retirado do teste de IF. A densidade foi medida após acondicionamento do corpo de prova em uma mistura de álcool isopropílico e água. Após o período de acondicionamento, o corpo de prova foi cuidadosamente colocado dentro da coluna (contendo água e álcool isopropílico) e altura em que se manteve foi medida. Para determinação da densidade foi utilizada uma curva de calibração construída no laboratório do Centro de Tecnologia e Inovação da Braskem onde se correlaciona altura e densidade de padrões.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

Infravermelho com Transformada de Fourier/ Attenued Transmittance Reflectance (FTIR/ATR)

Após produção dos filmes a migração do composto antimicrobiano foi acompanhada, periodicamente, por análise de FTIR na superfície do filme utilizando equipamento Thermo Nicolet, modelo Nexus 470 com acessório de ATR (Attenued Transmittance Reflectance), utilizando cristal de germânio.

4.4.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Foi utilizada a mesma metodologia descrita para caracterização dos grãos.

4.4.2 Microscopia Ótica (MO)

A análise de microscopia ótica foi realizada para avaliação de pontos esbranquiçados observados no filme, também conhecidos na literatura por *fish-eye*. Para realização da análise, foi recortada uma região do filme ao redor do ponto e esta amostra foi avaliada em microscópio ótico (Nicolet) com acessório de aquecimento (hot stage), utilizando as seguintes rampas de temperatura: Aquecimento: 10°C/min até 200°C, 30°C/min até 300°C. O comportamento térmico destes pontos foi acompanhado utilizando luz transmitida polarizada e lente com magnificação de 100X. Foram coletadas fotos durante o aquecimento.

4.4.3 Análise de Pontos esbranquiçados via Estéreo Microscópio

Os pontos esbranquiçados observados nos filmes também foram avaliados em Estéreo Microscópio Leica modelo MZ16A. Para esta avaliação, parte do filme, contendo pontos esbranquiçados, foi observado e micrografias foram registradas (testes realizado no filme produzido do Teste 2, contendo SK).

4.4.4 Análise de pontos esbranquiçados via OCS

Os pontos esbranquiçados presentes nos filmes foram quantificados e avaliados quanto seu tipo utilizando Extrusora OCS, matriz plana flexível Modelo ME20/26 V2 e CR8 com leitor automático FSA100

4.4.5 Avaliação do tipo de defeito

Defeito Tipo "A" (Pontas de Flecha)- Caracterizam-se por duas linhas que se interceptam, sendo que a intersecção descreve um arco similar a uma hipérbole. Essas imperfeições apontam na direção da extrusão.

Defeito Tipo "B" (Ponta de Alfinete) - São pequenas imperfeições arredondadas que causam a impressão do filme ter sido picado por um alfinete em toda sua superfície. São uniformemente dispersos e numerosos, o suficiente para causar uma aparência granulosa ao filme.

Defeito Tipo "C" (Olhos de Peixe) - São imperfeições elípticas ou arredondadas com a mesma coloração do filme. Variam bastante em tamanho, desde fracamente visíveis até aproximadamente 1,5 mm de diâmetro. São erráticas no tamanho e na distribuição no filme.

Defeito Tipo "D" (Pontos esbranquiçados Oxidados) -São imperfeições elípticas ou arredondadas, com coloração variando do marrom-amarelado ao preto, em seu centro.

4.4.6 Espessura

A espessura dos filmes foi obtida utilizando espessímetro de bancada TMI modelo 49-70, baseada na norma ASTM D-2103. Foram realizadas análises de 3 pontos ao longo da largura do filmes para obtenção de uma média.

No caso dos filmes obtidos no Teste 2, foram realizadas várias leituras ao longo da largura do filme a fim de determinar sua variação.

4.4.7 Tração

As propriedades de tração dos filmes foram determinadas segundo a norma ASTM D-882 (MPa) em equipamento Instron modelo 4466. A análise foi realizada na direção de extrusão do filme (direção de máquina: DM). Corpos de prova de 25,4 mm de largura e 50 mm de comprimento foram preparados utilizando equipamento de corte Frank Prüfgeräte GmbH.

O teste de tração foi realizado após acondicionamento dos corpos de prova em temperatura $23 \pm 2^\circ\text{C}$ e $50 \pm 5\%$ de UR, utilizando-se 500 mm/min de velocidade, distância inicial de garras de 50 mm e célula de carga de 1 kN, para obtenção do gráfico de tensão x deformação (Figura). Os resultados de tensão no alongamento e na ruptura, assim como, alongamento do filme no ponto de escoamento e ruptura foram expressos graficamente.

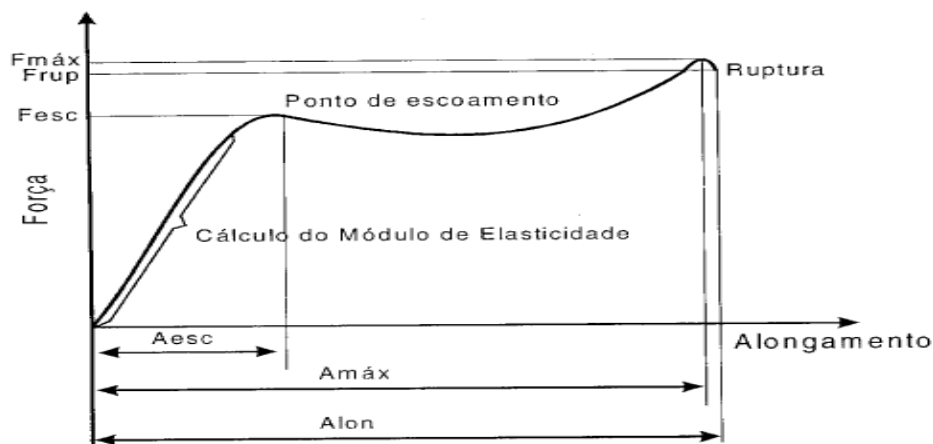


Figura 6: Gráfico de tensão versus deformação obtido no teste de tração dos filmes

4.4.8 Soldabilidade

As propriedades de tração na solda a quente (Hot Tack) foram determinadas em equipamento J&B segundo norma ASTM D 1921. O Hot tack pode ser definido como a medida da resistência da solda após a selagem do corpo de prova, obtendo-se o pico de força 0,2s após a abertura das barras de solda.

As condições utilizadas para o ensaio foram 5 segundos de tempo de contato do corpo de prova com as barras de solda, 44 Psi de pressão e 200 mm/s de velocidade de tração. A temperatura de teste foi, inicialmente de 95°C , variando-se de 5°C em 5°C até obtenção da solda das amostras. O teste foi repetido duas vezes na temperatura de solda obtida e mais duas leituras, em temperaturas de 5°C e 10°C acima desta temperatura foram realizadas. Os resultados foram expressos em um gráfico de temperatura versus força.

A resistência da solda após seu resfriamento (22 s após contato com as barras de solda) foi realizada em equipamento Theller, seguindo a norma ASTM 2029.

Para ambos os testes foram selecionadas regiões do filme com mínima variação de espessura, sendo esta mantida entre 60 e 65 μm para os filmes obtidos no Teste 1 e 50 a 60 μm

para os filmes obtidos no Teste 2. Os corpos de prova foram preparados utilizando cortador Frank Prüfgeräte GmbH e testados utilizando um filme de poliéster para proteção da barra de selagem.

4.4.9 Perfuração de Filmes

A capacidade de resistência de um filme flexível a penetração de uma ponteira foi medida segundo a norma ASTM F 1306 utilizando equipamento Instron 4466 e acessório.

Os corpos de prova (quadrados 10 x 10 cm) foram acondicionados por 40 h após extrusão do filme em temperatura de $\pm 2^{\circ}\text{C}$ e $50 \pm 5\%$ de UR. Após este período, foram fixados na base do acessório utilizado para a perfuração e uma ponteira foi utilizada na velocidade de 25mm/min (Figura).



Figura 7: Ponteira, acessórios de fixação e base para teste de perfuração

O teste foi realizado até que uma fratura fosse observada no filme. A energia total medida é aquela absorvida pelo filme desde o primeiro contato da ponteira até a ruptura.

4.4.10 Resistência ao Rasgo Elmendorf

O teste de Rasgo foi realizado para medir a força média requerida para propagar um rasgo no filme ao longo de uma distância especificada. A força calculada através dos resultados obtidos foi expressa em kgf/cm.

A medida foi realizada utilizando-se um pêndulo padrão (TMI Tearing tester serie 83-10) que atua por gravidade, oscilando ao longo de um arco propagando o rasgo (Figura 8).

Os corpos de prova em formato arredondado (Figura 9) foram obtidos utilizando-se um equipamento tipo estampa. O teste foi realizado após acondicionamento dos corpos de prova por 40 h após extrusão do filme em temperatura de $\pm 2^{\circ}\text{C}$ e $50 \pm 5\%$ de UR.



Figura 8: Pêndulo para medida da Resistência ao Rasgo Elmendorf

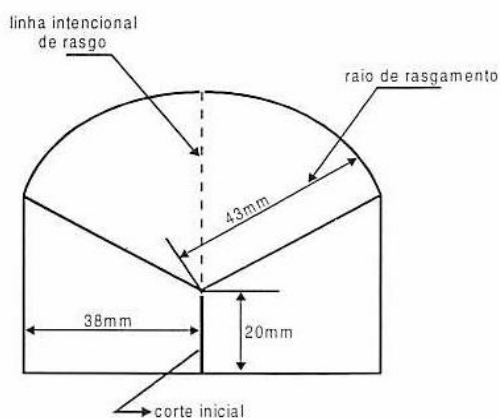


Figura 9: Corpo de prova para teste de Resistência ao Rasgo Elmendorf

4.4.11 Testes Microbiológicos

4.4.11.1 Avaliação da atividade antimicrobiana contra bactérias

Os testes com bactérias foram realizados utilizando-se os métodos de avaliação do halo de inibição e densidade ótica.

A avaliação pelo halo de inibição se fundamenta na difusão do composto a ser testado em um meio de cultura sólido e inoculado com o microorganismo. A partir da difusão, ocorre o aparecimento de um halo, onde não ocorre crescimento do microorganismo. Nesta metodologia as amostras de filmes padrão (sem antimicrobiano) e com sorbato de potássio

foram colocadas em contato direto com o microorganismo a ser testado, utilizando-se uma placa Petri contendo Agar Potato Dextrose (PDA).

Além deste teste, também foi realizada a avaliação de turbidez de solução via densidade ótica, onde o filme a ser avaliado foi colocado em contato com uma solução padrão do microorganismo. Após 24h a densidade ótica da solução foi determinada e o crescimento do microorganismo foi definido pela formação de turbidez na solução. Esta avaliação é feita através de uma curva de calibração que correlaciona o logaritmo do número de unidades formadoras de colônias/mL (log UFC/mL) com o valor de densidade ótica medido.

Para ambos os testes foi realizada avaliação nos filmes de PELBD base hexeno (Teste 1), sendo um filme puro e outro contendo sorbato de potássio como composto antimicrobiano. Os testes microbiológicos foram realizados na Universidade de Clemson (SC - EUA), onde a Braskem é sócia e possui parceria para desenvolvimentos de projetos na área de embalagens.

Os microorganismos testados foram: *Salmonella Typhimurium* (ATCC 18028); *Listeria monocytogenes* (ATCC 15313) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

4.4.11.2 Avaliação da atividade antimicrobiana contra fungos

Os testes com fungos foram realizados utilizando-se o método de diluição seriada em tubos de ensaio para determinação da contagem de unidades formadoras de colônias (UFC)

Esta avaliação foi realizada nos filmes de PELBD base hexeno (Teste 1), sendo um filme puro e outro contendo sorbato de potássio como composto antimicrobiano. Os testes microbiológicos foram realizados na Universidade do Contestado (SC - Brasil), onde já eram realizados trabalhos anteriores na área de microbiologia. A descrição do teste segue abaixo:

4.4.11.2.1 Obtenção da solução de partida contendo fungos de pão e queijo

A solução de microorganismos utilizada para avaliação da atividade microbiológica dos filmes de PELBD base hexeno + SK foi preparada no laboratório, a partir de alimentos envelhecidos em condições específicas. Procedimento semelhante foi publicado na literatura por A. Conte e co-autores⁷⁹. Este procedimento teve o objetivo de utilizar condição de contaminação mais próxima daquela produzida no alimento em condições reais. Dessa forma, os fungos (bolores e leveduras) testados, foram obtidos por método direto qualitativo

utilizando-se uma amostra de pão francês e de queijo mussarela, adquiridos no mercado local, e acondicionadas em condições idênticas às aquelas praticadas comercialmente. Os alimentos foram submetidos à aplicação de Agar PDA (Potato Dextrose Agar), previamente preparado e borrifado sobre as amostras, com o objetivo de ativar o desenvolvimento de bolores e leveduras na superfície desses produtos. As condições de incubação foram: 25°C durante cinco dias para o crescimento de bolores e leveduras. Todos os testes foram realizados em duplicata.

De cada produto testado (pão e queijo) foi retirada uma amostra de 25g da superfície, procurando, juntamente com a amostra, obter colônias típicas dos respectivos fungos, em excesso (uma vez que se trata de um teste qualitativo – inativação do crescimento). As amostras foram homogeneizadas com 225mL de água peptonada (caldo diluente) a 0,1%, obtendo-se a diluição 10^{-1} .

As amostras de fungos, retiradas dos alimentos, foram agitadas em sacos Bag Mix juntamente com um volume do caldo diluente. A diluição citada (10^{-1}) foi identificada como “solução de partida rica em fungos” (bolores e leveduras oriundos de pão francês e queijo tipo mussarela, separadamente). Em seguida, foram preparadas as diluições subsequentes até a diluição 10^{-7} , para contagem do número de unidades formadoras de colônias por grama de alimento (UFC/g) presentes na solução de partida.

A diluição se faz necessária devido ao alto número de colônias de microorganismos presentes nas soluções mais concentradas. A contagem do número de unidades formadoras de colônia é feita visualmente, utilizando-se uma lupa. Dessa forma, a contagem foi realizada na placa das soluções mais diluídas e o número de UFC da solução padrão foi calculado.

A inoculação das soluções acima descritas foi realizada conforme descritos nas normas analíticas microbiológicas APHA222 (Figura 10). O meio utilizado neste caso foi o Agar PDA acidificado. Os procedimentos foram conduzidos em duplicata.

As amostras retiradas foram imediatamente destinadas ao processo de inoculação, sendo então colocadas em placas tipo Petri sobre a superfície do Agar PDA estéril e incubadas por mais cinco dias a 25° C, com o objetivo de se avaliar, na solução de partida, o número de unidades formadoras de colônias/grama de alimento (UFC). Este resultado foi utilizado nas avaliações de atividade antimicrobiana do sorbato de potássio e filmes produzidos com este composto.

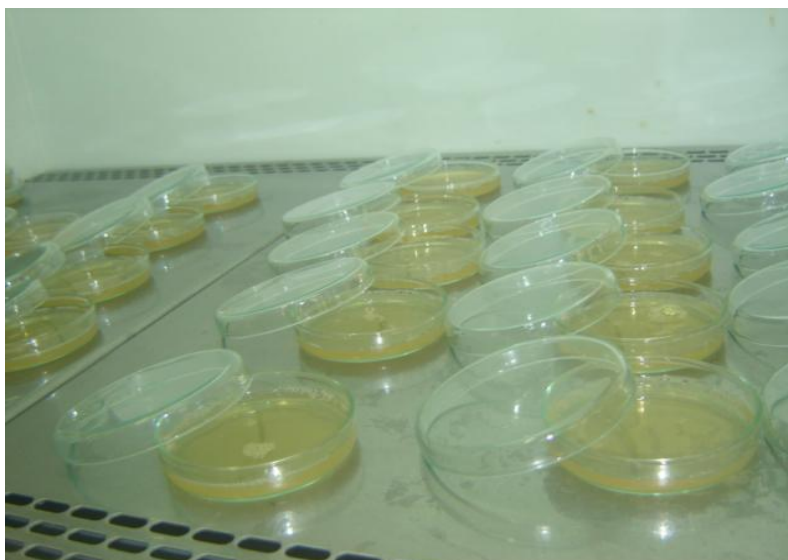


Figura 10: Inoculação da solução de bolores e leveduras

4.4.11.2.2 Teste da atividade antimicrobiana dos filmes produzidos no Teste 1

Preparou-se uma série com 06 tubos de ensaio para avaliação da atividade antimicrobiana contra fungos de pão, e 06 tubos para queijo. Em cada um dos tubos, colocou-se 10 mL da solução de partida preparada anteriormente (10-1) e os testes foram realizados em triplicata, conforme apresentado na Tabela 7 e Figura 11.

Os testes foram realizados com filme produzido sem composto antimicrobiano (C) e com filme contendo sorbato de potássio 4,5% p/p (D)

Tabela 7 - Teste de atividade microbiana dos filmes produzidos no Teste 1

Tratamentos – pão e queijo	Descrição
Tubo C1	Solução de partida+ 1cm ² filme controle
Tubo C2	Solução de partida + 1cm ² filme controle
Tubo C3	Solução de partida + 1cm ² filme controle
Tubo D4	Solução de partida + 1cm ² filme (c/SK)
Tubo D5	Solução de partida + 1cm ² filme (c/SK)
Tubo D6	Solução de partida + 1cm ² filme (c/ SK)



(a)



(b)

Figura 11: Amostras do teste da atividade microbiológica realizada com filmes produzidos no Teste 1 – (a) tubos contendo solução primária e filme PELBD + SK + PEBD; (b) tubos contendo solução primária e filme PELBD + PEBD controle

Após adição da solução padrão, foram feitas homogeneizações em agitador Vortex. Os tubos foram todos tampados somente com buchas estéreis de algodão para permitir a microaeração. Em seguida, as soluções foram adicionadas em placas Petri contendo Agar PDA para todas as diluições 10^{-1} à 10^{-7} e foram incubados à 25°C durante 5 dias (Figura 12). As placas foram avaliadas após o período de incubação e o número de colônias de microorganismos foi contado a fim de se avaliar o efeito antimicrobiano dos filmes.



Figura 12: Incubação em estufa à 25°C por 5 dias.

4.4.11.3 Avaliação da atividade antimicrobiana – coliformes, microorganismos psicotróficos, bolores e leveduras – análise em queijo

A análise de bolores e leveduras seguiu a Instrução Normativa 62 de 26 de Agosto de 2003 do MAPA. A contagem total de microorganismos psicotróficos seguiu a metodologia descrita no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4a Edição. Washington, 2001 e a análise de coliformes foi realizada de acordo com a IN 62/2003.

Para esta avaliação, 25g de queijo minas foram pesados e embalados no filme controle (sem SK) e no filme com SK. As amostras foram mantidas em geladeira e a avaliação do número de coliformes totais (número mais provável (NMP)/g) e contagem total de psicotróficos (número de unidades formadoras de colônia/g (UFC/g), foi realizada periodicamente, após dissolução e homogeneização do queijo em sacos Bag mix juntamente com um volume do caldo diluente (225mL de água peptonada 0,1%), obtendo-se a diluição 10^{-1} . A partir desta diluição, uma série de diluições subsequentes foram preparadas, ao longo do período de análises.

A inoculação foi realizada conforme descritos nas normas analíticas oficiais. Os meios de cultura utilizados foram: PDA acidificado para fungos e Agar Padrão para Contagem em Placa (PCA) para bactérias psicotróficas.

A fim de avaliar o efeito do teor de sorbato de potássio no desempenho do filme como antimicrobiano, um filme contendo 10% de SK (PELBD + 10% SK + 10% PEBD) foi preparado especificamente para esta análise.

4.4.12 Testes de Migração em água

A migração do composto antimicrobiano foi avaliada pela técnica de absorção ultravioleta (UV-Vis).

Primeiramente, uma solução de sorbato de potássio em água foi preparada e analisada em um espectrômetro Varian Cary 100 UV-Vis na faixa de comprimento de onda de 200 a 800 nm usando células de quartzo (1,0 cm de caminho ótico), para determinação do comprimento de onda de absorção do sorbato de potássio.

Curvas de calibração foram confeccionadas, utilizando soluções de sorbato de potássio em água em concentrações conhecidas obtidas por diluições de uma primeira solução preparada a partir de uma massa pré-determinada de sorbato de potássio pesada em balança analítica e dissolvida em 10 mL de água deionizada.

A avaliação da migração foi realizada nos grãos e também nos filmes produzidos no Teste 2.

Amostras de aproximadamente 1g de grão da amostra padrão (sem composto antimicrobiano) e grão da amostra contendo sorbato de potássio foram colocados em contato com 10 mL de água deionizada, logo após processadas. As amostras foram acondicionadas em temperatura ambiente em frascos diferentes. Alíquotas da solução foram avaliadas no UV-Vis para determinação da quantidade de sorbato de potássio que migrou do grão para a água. Para esta determinação foi analisado um frasco diferente para cada período pré-determinado (Frasco 1: 1 dia após processamento, Frasco 2: 8 dias após processamento; Frasco 3: 15 dias após processamento; Frasco 4: 22 dias após processamento e Frasco 5: 29 dias após processamento).

O mesmo procedimento foi realizado com os filmes sendo, neste caso, utilizados corpos de prova retirados da parte mais central da bobina, com relação as bordas do filme, a fim de garantir menor variação de espessura. A migração do sorbato de potássio foi avaliada após embalar 50 mL de água em saquinhos produzidos com os filmes em estudo, sendo, cada saquinho com dimensões de aproximadamente 10 x 10 cm totalizando aproximadamente 1g.

Após leitura da absorbância obtida em cada avaliação, a concentração de sorbato de potássio foi determinada a partir da curva de calibração previamente definida. Com base nas massas de cada corpo de prova, foi determinado também o teor de sorbato de potássio migrado para a água, em relação ao teor de sorbato de potássio total que poderia migrar. O efeito da temperatura de teste foi avaliado, em uma das leituras, mantendo-se o corpo de prova (saquinho + água) em temperatura de geladeira.

O efeito do simulante utilizado no teste de migração foi avaliado, utilizando-se uma mistura de etanol/água (95%/5%), assim como o efeito da presença de tratamento superficial dos filmes.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS ANTIMICROBIANOS

A estabilidade térmica dos compostos antimicrobianos selecionados foi determinada por TGA, visto a possibilidade de ocorrer degradação destes compostos na temperatura de processamento do polietileno. Conforme reportado da literatura, o composto antimicrobiano pode perder sua eficiência devido a alta temperatura utilizada durante a preparação dos filmes⁸³. A Figura 13 até Figura 17 mostram os resultados obtidos.

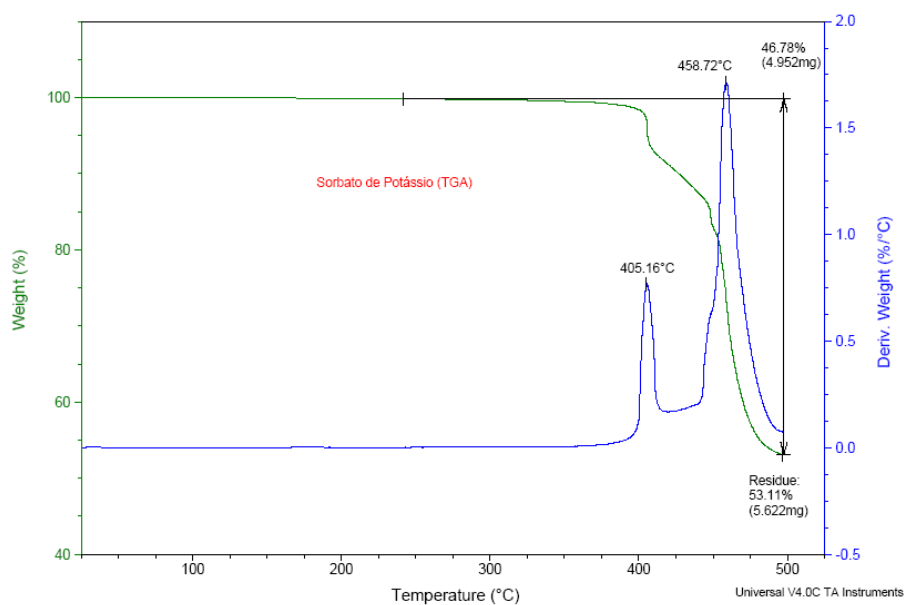


Figura 13:Termograma do sorbato de potássio (10°C/min, N₂)

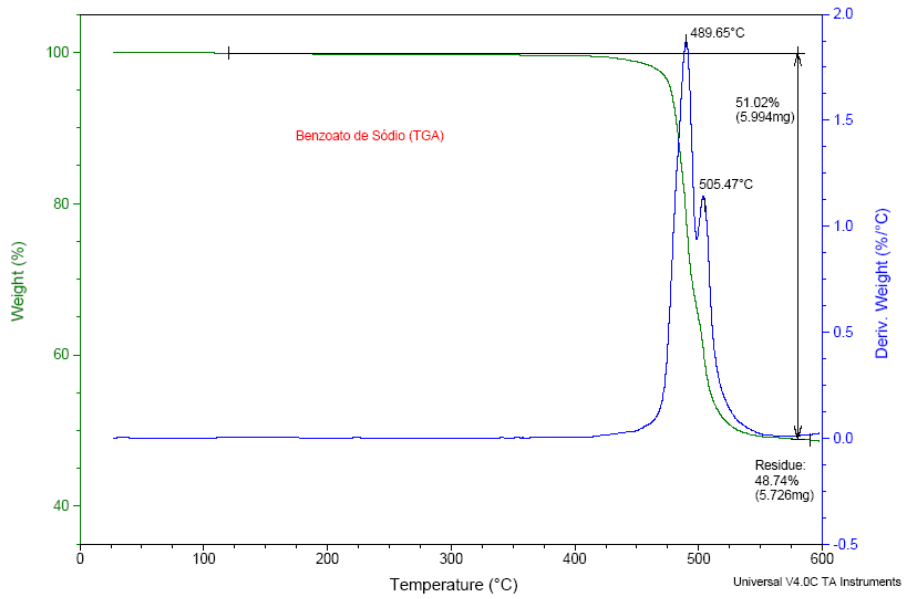


Figura 14: Termograma do benzoato do sódio (10°C/min, N₂)

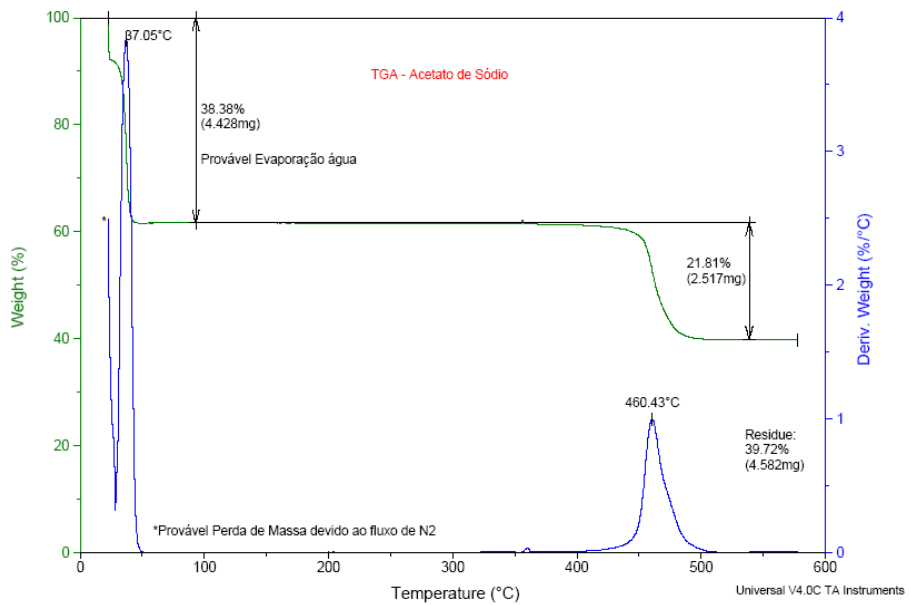


Figura 15: Termograma do acetato de sódio (10°C/min, N₂)

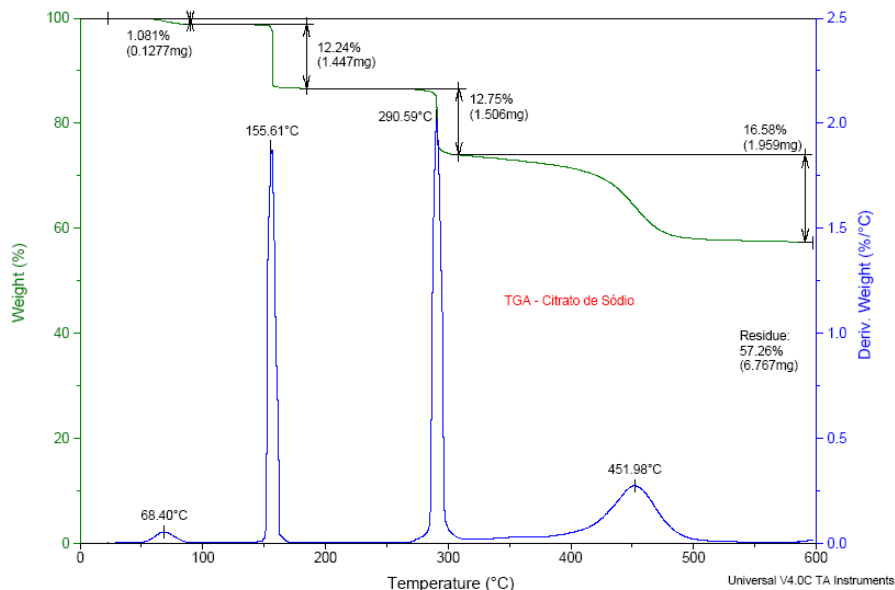


Figura 16: Termograma do citrato de sódio (10°C/min, N₂)

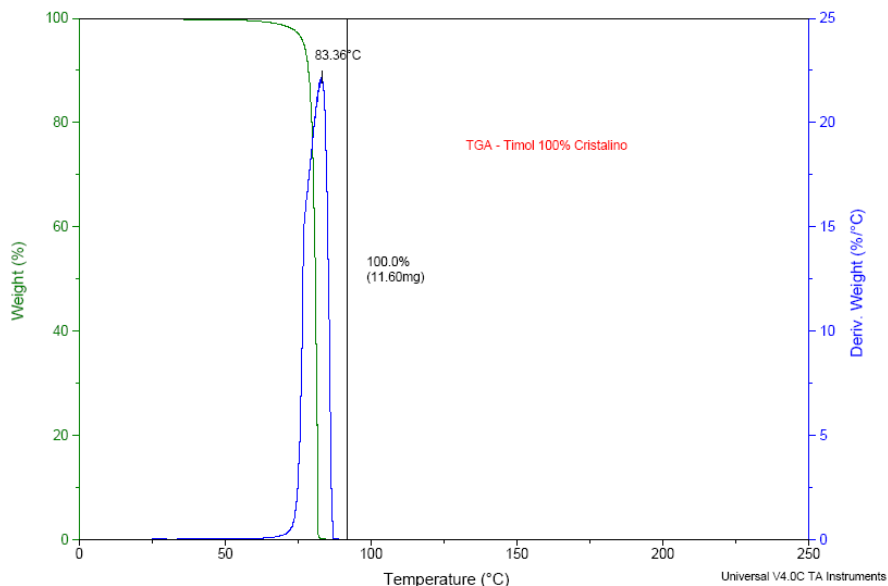


Figura 17: Termograma do Timol (10°C/min, N₂)

Através da análise de TGA foi observado que a temperatura de degradação térmica do sorbato de potássio é acima de 400°C sendo possível utilizá-lo nas condições de processamento das poliolefinas (Figura 13). O mesmo comportamento foi observado para o benzoato de sódio (Figura 14). Este resultado mostra que é possível utilizar tanto o sorbato de potássio como o benzoato de sódio como agentes antimicrobianos, utilizando as condições de extrusão do polietileno sem comprometer a estabilidade térmica destes compostos.

O resultado obtido para o acetato de sódio (Figura 15) mostra que este sal orgânico apresenta um alto teor de água, o que foi verificado pela perda inicial durante a análise. A alta

temperatura de degradação do acetato de sódio, acima de 400°C, após desidratação (87°C), mostra que é necessário realizar uma etapa de secagem deste composto antes da mistura e granulação com o polímero, dessa forma, evita-se a presença de umidade na extrusão mantendo a estabilidade térmica do composto nas condições de processamento, no entanto, este procedimento não foi suficiente como será descrito posteriormente.

No termograma obtido para o citrato de sódio foram observadas perdas significativas entre 150°C e 290°C indicando sua baixa estabilidade térmica nas condições de processamento do polímero (Figura 16). Por esta razão, o citrato de sódio não foi testado como composto antimicrobiano. O mesmo foi observado para o Timol, que sendo este um óleo essencial, apresentou sublimação total da amostra a 86°C (Figura 17).

Com base na estabilidade térmica destes compostos foi realizada a avaliação via FTIR do sorbato de potássio e benzoato de sódio e também do PELBD puro, a fim de identificar as bandas características de cada um deles. A avaliação do acetato de sódio não foi realizada devido à dificuldade de obtenção de filme contendo este composto, conforme será mostrado na etapa de avaliação dos filmes (item 5.3)

No espectro de FTIR do sorbato de potássio (Figura 18) foram observadas as bandas entre 1650 a 1550 cm^{-1} , região característica de deformação axial de dienos conjugados e de estiramento simétrico e assimétrico do ânion carboxilato^{88, 89}. Estudo da literatura, utilizando sorbato de potássio em filme de polímeros de amido, também mostrou o uso da técnica de FT-IR para identificação de bandas características do composto antimicrobiano, confirmando a correlação de bandas e estrutura química realizada no presente trabalho⁶³.

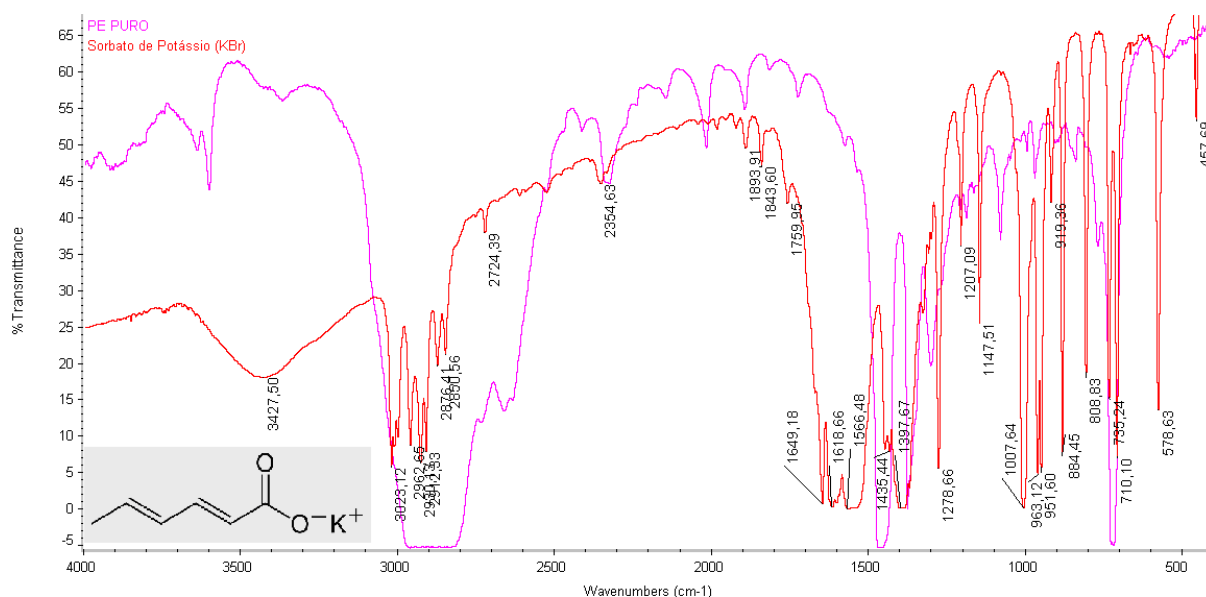


Figura 18: Sobreposição de espectros de FTIR do PELBD puro (filme obtido por compressão a quente dos grãos) e sorbato de potássio puro (pastilha de KBr)

Através da análise de FTIR do benzoato de sódio (Figura 19) foi possível observar a presença de bandas principais em 1623cm^{-1} , característica de deformação axial $\text{C}=\text{C}$ do anel; banda 1597cm^{-1} característica de deformação axial assimétrica do ânion carboxilato ($\text{C}=\text{O}$)⁻ e banda a 1414cm^{-1} característica de deformação axial simétrica do ânion carboxilato ($\text{C}=\text{O}$)⁻. Estas bandas são específicas do benzoato de sódio diferenciando do espectro do polietileno.⁸⁸

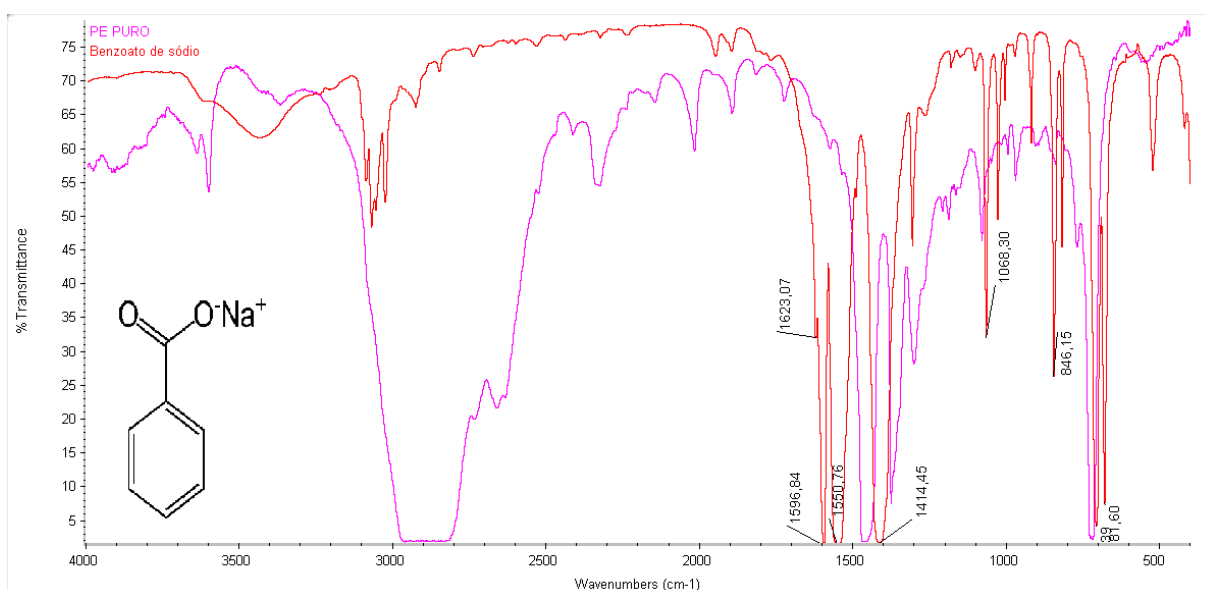


Figura 19: Sobreposição de espectros de FTIR do PELBD puro (filme obtido por compressão a quente dos grãos) e benzoato de sódio puro (pastilha de KBr)

Com base nestes resultados, as principais bandas que diferem os compostos antimicrobianos analisados do polietileno, são as bandas referentes ao íon carboxilato. Estas bandas foram utilizados para a posterior caracterização dos grãos e filmes obtidos nos testes realizados, com o objetivo de comprovar a incorporação do composto antimicrobiano e também de acompanhar sua migração para a superfície do filme.

Após caracterização dos antimicrobianos selecionados foram preparadas misturas de sorbato de potássio, acetato de sódio e benzoato de sódio com polietileno. As misturas foram preparadas previamente, utilizando um misturador, com posterior granulação. Os Grãos obtidos foram caracterizados quanto a suas propriedades térmicas, teor de composto antimicrobiano incorporado, índice de fluidez e densidade a fim de avaliar a influencia da adição dos compostos antimicrobianos nestas propriedades.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS GRÃOS TESTE 1

Os resultados obtidos na análise de DSC dos grãos (Teste 1) mostraram que a adição de sorbato de potássio não gerou diferenças expressivas nas temperaturas de cristalização (T_c) e fusão (T_m) e cristalinidade do polietileno (Tabela 8). Nesta análise foi observado, para ambas as amostras (controle e com SK), a presença de um pico a 111°C , durante o resfriamento e um pico a 125°C , durante o segundo aquecimento, característicos da cristalização e fusão do PELBD (Figura 20 a Figura 23). O mesmo comportamento foi observado para a amostra contendo benzoato de sódio. Também não foi observada diferença significativa nos termogramas de fusão e cristalização da amostra granulada com acetato de sódio apesar da visível presença de umidade nos grãos. Os termogramas das amostras com benzoato de sódio e acetato de sódio estão apresentados no Anexo A deste trabalho.

Estes resultados mostram que a adição de 5% dos compostos antimicrobianos estudados, não interferem nas propriedades térmicas do PELBD base hexeno, o que é importante para as propriedades mecânicas e de processamento dos filmes.

Tabela 8 - Resultados de DSC das amostras (10°C/min em N₂)

Amostra	T _c (°C)	T _{m 2} (°C)	Entalpia de Fusão (J/g)	Cristalinidade (%)
PELBD base hexeno puro	111	125	114	39
PELBD base hexeno + 5% sorbato de potássio	111	125	114	39
PELBD base hexeno + 5% de acetato de sódio	111	125	111	38
PELBD base hexeno + 5% de benzoato de sódio	112	126	110	38

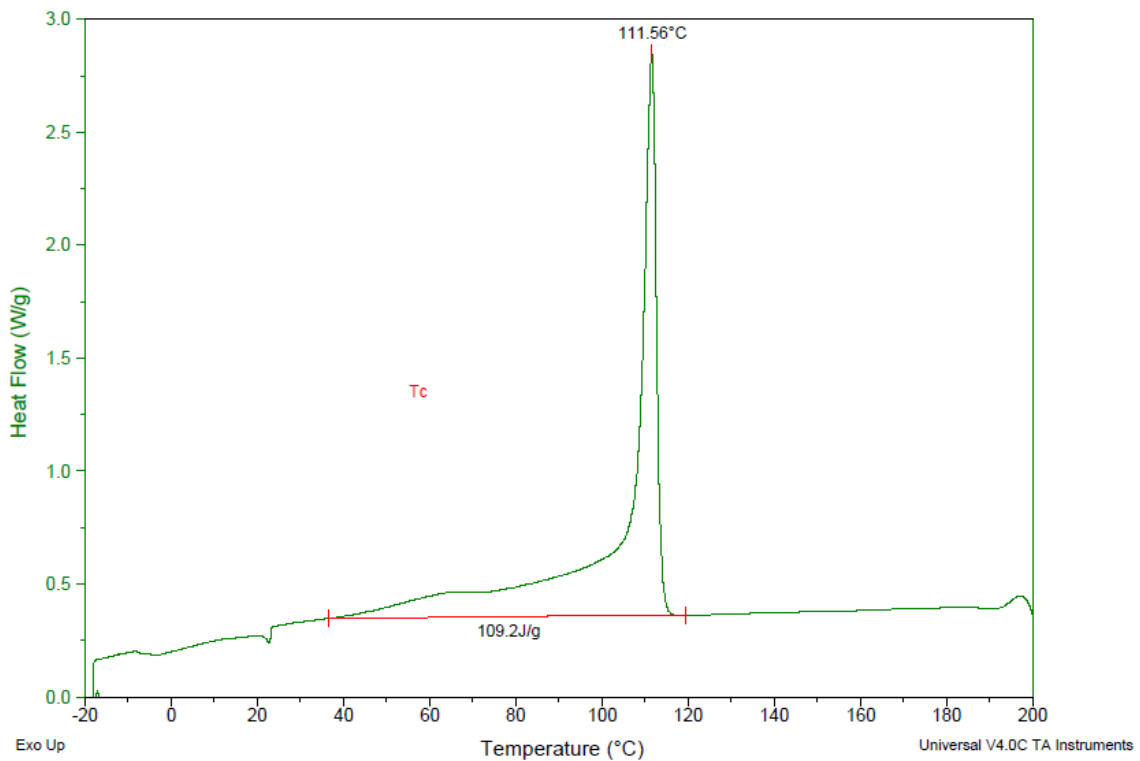


Figura 20: Termograma de cristalização da amostra grão controle – Teste 1: PELBD base hexeno puro

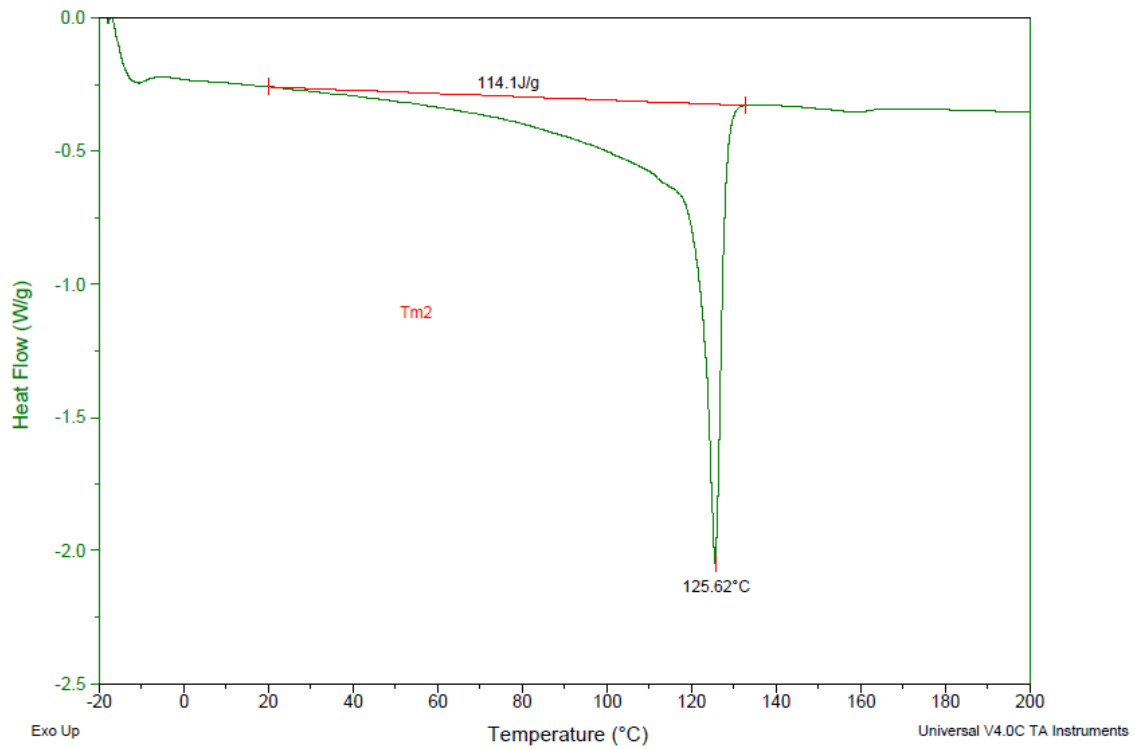


Figura 21: Termograma de fusão da amostra grão controle – Teste 1: PELBD base hexeno puro

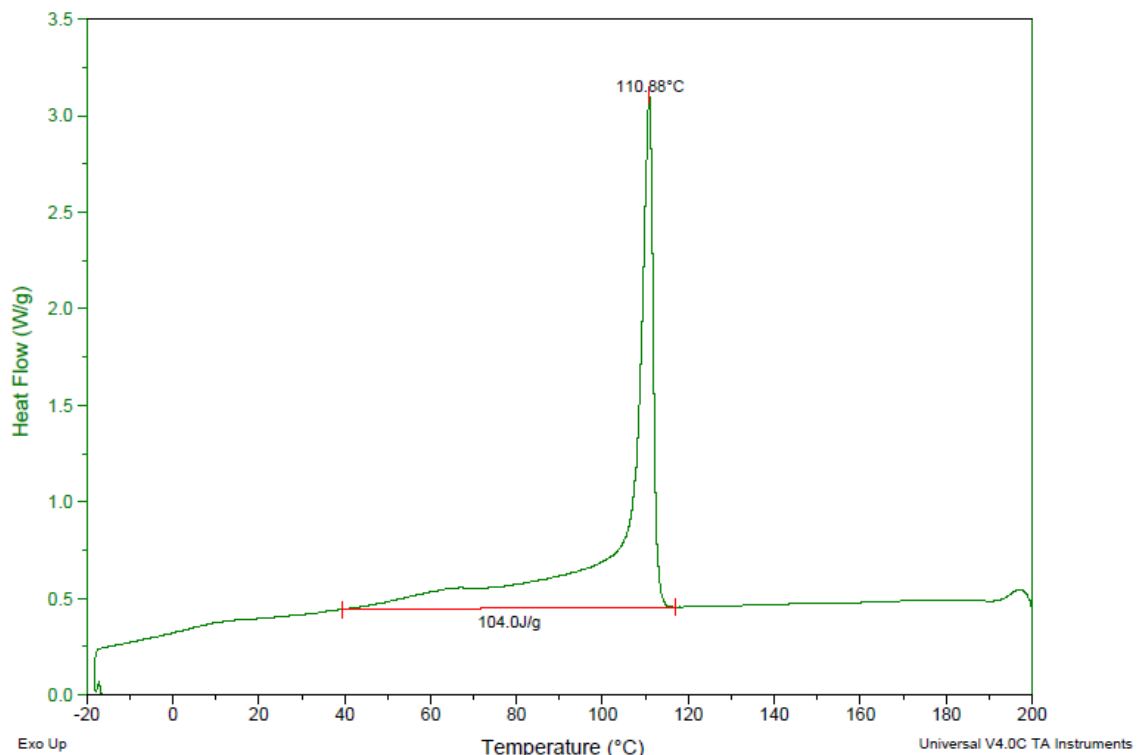


Figura 22: Termograma de cristalização da amostra grão com SK – Teste 1: PELBD base hexeno + 5% SK

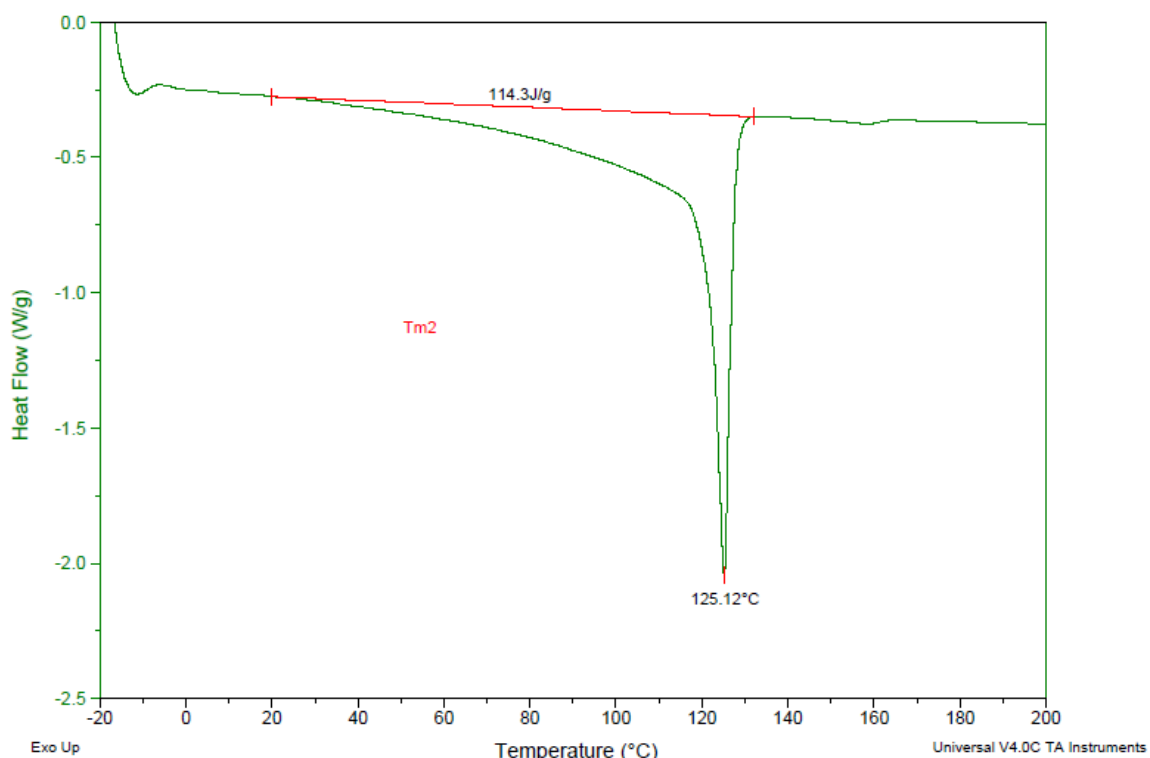


Figura 23: Termograma de fusão da amostra grão com SK – Teste 1: PELBD base hexeno + 5% SK

Além das propriedades térmicas, também foi realizada a quantificação do composto antimicrobiano incorporado nas amostras através da análise de FRX. A partir desta análise foi determinado o teor de potássio e sódio e, utilizando-se o cálculo estequiométrico, considerando a estrutura química de cada composto antimicrobiano adicionado, seus teores na amostra após processamento foram determinados a fim de avaliar o teor real incorporado no polietileno. Os dados obtidos pela análise de FRX (Tabela 9) mostram que ocorreu uma perda de composto antimicrobiano durante a granulação das misturas, como já observado por outros autores da literatura^{85, 86}.

Tabela 9 - Resultado de FRX para as amostras em grãos

Amostra	Concentração do elemento (%)	Provável composto e concentração
PELBD base hexeno+ 5% sorbato de potássio (grão)	1,2	sorbato de potássio: 4,6%
PELBD base hexeno + 5% benzoato de sódio	0,68	benzoato de sódio: 4,3%
PELBD base hexeno puro	0	---

O uso de compostos antimicrobianos com o objetivo de produção de uma embalagem ativa não pode comprometer as propriedades finais do filme, assim como sua processabilidade, por esta razão, deseja-se que o índice de fluidez final da mistura não seja alterado pelo uso destes compostos. Por esta razão, as amostras em estudo foram avaliadas quanto esta propriedade e também quanto a sua densidade. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 10, onde foi observado que a adição de 5% dos compostos antimicrobianos em estudo, não alteram, significativamente, o índice de fluidez do polímero. O aumento na densidade já era esperado considerando a maior densidade dos compostos antimicrobianos puros com relação à densidade do polietileno.

Os testes de FRX, densidade e IF não foram realizados na amostra contendo acetato de sódio devido ao alto nível de umidade na amostra dificultando a preparação dos corpos de prova pela formação de bolhas.

Tabela 10 - Resultados de IF e densidade dos grãos de PELBD base hexeno puro e contendo 5% dos antimicrobianos sorbato de potássio e benzoato de sódio

Amostras	IF (g/10 min)	Densidade (g/cm ³)
PELBD base hexeno puro	0,90 ± 0,03	0,9175 ± 0,0001
PELBD base hexeno+ 5% sorbato de potássio	0,88 ± 0,01	0,9308 ± 0,0002
PELBD base hexeno + 5% benzoato de sódio	0,91 ± 0,01	0,9353 ± 0,0001

5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES TESTE 1

A produção dos filmes foi realizada em extrusora para filme tubular (extrusora de bancada). Após fusão do polímero, este passa por uma matriz em forma de anel, onde um jato de ar soprado constantemente expande o material formando um balão. A amostra contendo acetato de sódio apresentou alta quantidade de bolhas geradas durante o processamento, ocorrendo furos no balão, não permitindo que o mesmo fosse formado, impedindo a coleta do filme e posterior bobinamento. Este comportamento da amostra foi devido à presença de umidade nos grãos oriunda do acetato de sódio, mostrando que a etapa de secagem do composto antimicrobiano (realizada anteriormente à granulação) não foi suficiente para eliminação total da água. Desta forma, a caracterização completa foi realizada somente nos filmes padrão (PE puro), PE contendo sorbato de potássio e PE contendo benzoato de sódio.

Os filmes obtidos, a partir dos grãos, em uma extrusora de bancada tipo balão foram caracterizados por DSC, FTIR, pontos esbranquiçados, migração e suas propriedades mecânicas e antimicrobianas foram medidas.

Através da análise de DSC dos filmes obtidos, não foram observadas diferenças expressivas nos termogramas de cristalização, indicando, novamente, que a adição de sorbato de potássio e benzoato de sódio não interfere na cristalização das amostras (Tabela 11). Nos termogramas do segundo aquecimento das amostras de filmes, foi observado, além da fusão do PELBD (~125°C), um ombro a temperaturas mais baixas (~110°C), sendo esta temperatura, característica da fusão do PEBD adicionado durante o processamento dos filmes, conforme metodologia descrita na parte experimental deste trabalho (Figura 24 e Figura 25). Novamente, não se observou diferenças significativas nas temperaturas de cristalização e fusão com adição dos compostos antimicrobianos estudados. Os termogramas estão apresentados no Anexo B deste trabalho.

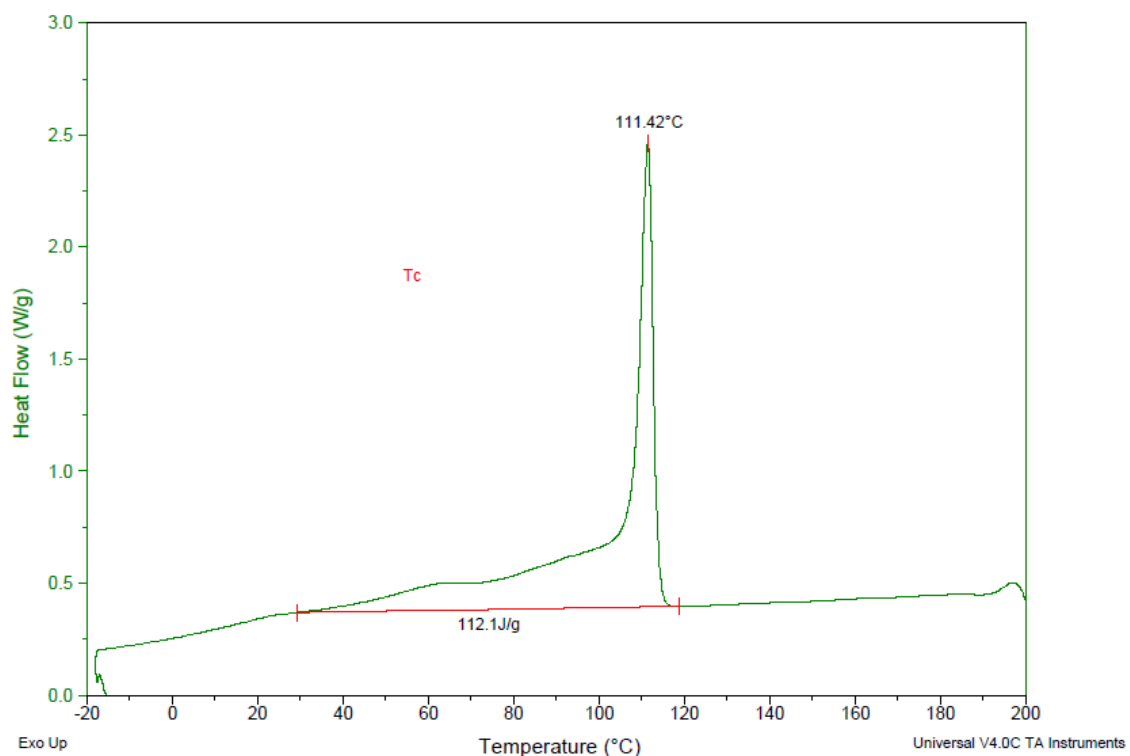


Figura 24: Termograma de cristalização da amostra em filme controle – Teste 1: PELBD base hexeno puro + 10% PELBD

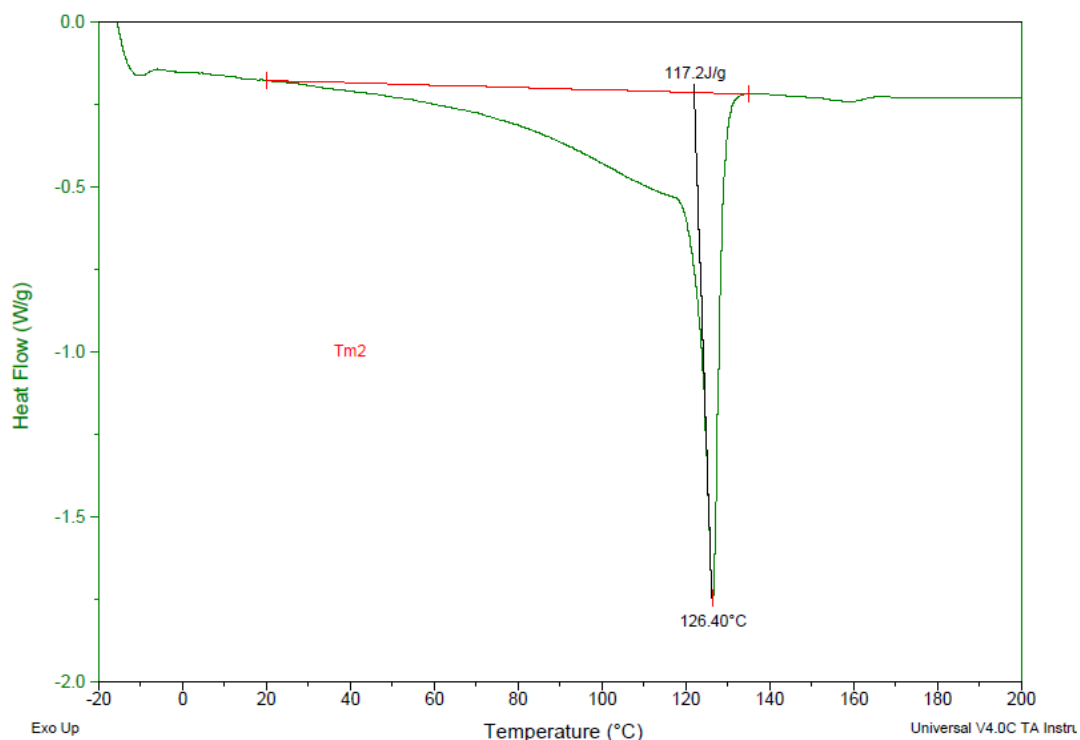


Figura 25: Termograma da segunda fusão (Tm2) da amostra em filme controle – Teste 1 PELBD puro + 10% PELBD

Tabela 11 - Resultado DSC das amostras (10°C/min em N₂)

Amostra	Tc (°C)	Tm2 (°C)	Entalpia de fusão (J/g)	Cristalinidade (%)
PELBD base hexeno puro + 10% PEBD	111	110/126	117	40
PELBD base hexeno + 4,5% *de SK + 10% PEBD	110	109/125	115	40
PELBD base hexeno + 4,5% *NaBz + 10% PEBD	112	109/126	113	39

SK = sorbato de potássio; NaBz = benzoato de sódio

*O percentual total de composto antimicrobiano no filme foi calculado considerando a diluição dos grãos com 10% de PEBD

Uma avaliação visual dos filmes obtidos mostrou a existência de alguns pontos esbranquiçados, os quais foram investigados por microscopia ótica (Figura 26). O filme de PE puro também apresentou alguns pontos, porém, estes fundiram durante o aquecimento até 150°C (Figura 26d). Este comportamento indica que tratam-se de pontos esbranquiçados de algum tipo de contaminante ou mistura ineficiente que, durante o resfriamento (Figura 26e; Figura 26f) recristaliza na temperatura de cristalização do filme.

Os pontos esbranquiçados observados nos filmes contendo sorbato de potássio e benzoato de sódio não fundiram durante o teste, permanecendo no filme mesmo após cristalização. Este resultado mostra que, parte dos compostos antimicrobianos adicionados permanece em forma de aglomerados e não funde nas temperaturas analisadas (Figura 27 e Figura 28). Também foi observado, visualmente, maior heterogeneidade na distribuição dos pontos esbranquiçados na amostra contendo benzoato de sódio, apresentando áreas com menor número de pontos esbranquiçados e outras, com maior número de pontos esbranquiçados. Estes resultados indicam a necessidade de uma melhor homogeneização da amostra durante as etapas de processamento, visando evitar sua aglomeração, diminuindo assim, o tamanho dos pontos esbranquiçados formados por estes compostos.

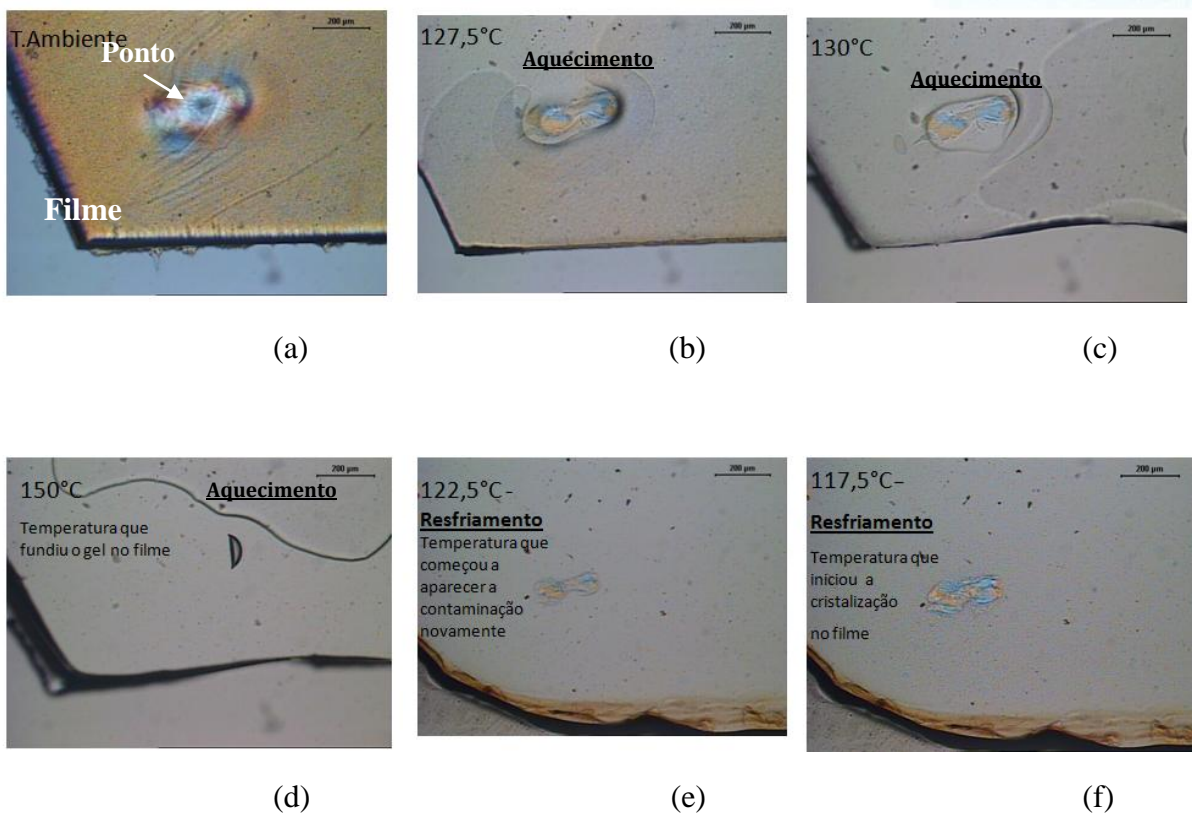


Figura 26: Micrografias óticas do gel do filme de PELBD base hexeno puro +10% PEBD obtidas em diferentes temperaturas: (a) Filme contendo gel, micrografia obtida na temperatura ambiente; (b) 127,5°C etapa de aquecimento da amostra; (c) 130°C etapa de aquecimento da amostra – fusão do filme; (d) 150°C etapa de aquecimento da amostra – gel e filme em estado fundido; (e) 122°C etapa de resfriamento da amostra;

(f) 117°C etapa de resfriamento da amostra – recristalização do filme e gel - luz transmitida polarizada e lente de 100X.

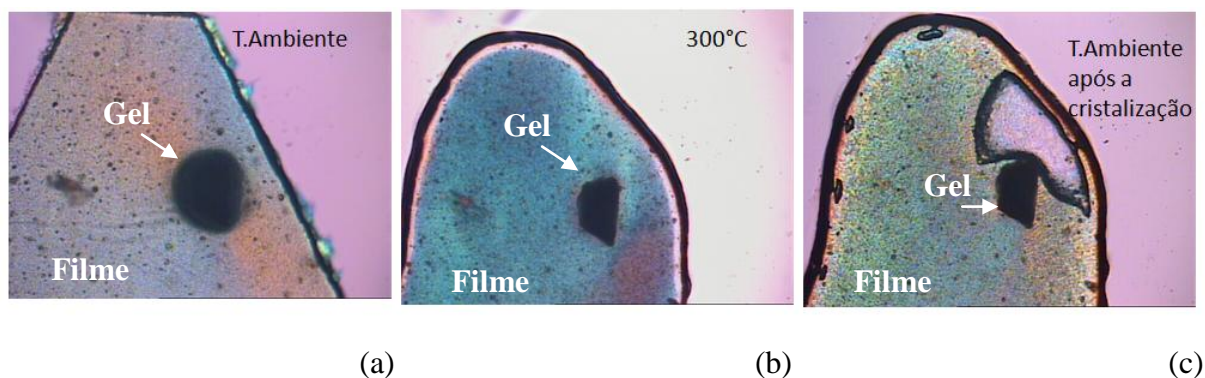


Figura 27: Micrografias óticas do gel do filme de PELBD base hexeno + 4,5% de sorbato de potássio +10% PEBD a diferentes temperaturas: (a) Filme contendo gel, micrografia obtida na temperatura ambiente; (b) 300°C etapa de aquecimento – filme fundido e gel permanece inalterado; (c) temperatura ambiente após recristalização do filme - luz transmitida polarizada e lente de 100X.

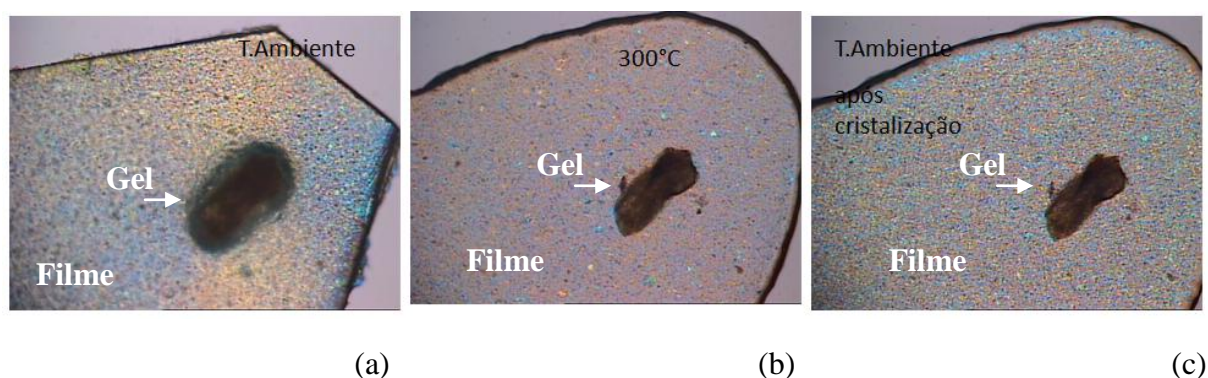


Figura 28: Micrografias óticas do gel do filme de PELBD base hexeno + 4,5% de benzoato de sódio +10% PEBD a diferentes temperaturas: (a) Filme contendo gel, micrografia obtida na temperatura ambiente; (b) 300°C etapa de aquecimento – filme fundido e gel permanece inalterado; (c) temperatura ambiente após recristalização do filme - luz transmitida polarizada e lente de 100X.

A presença dos compostos antimicrobianos, sorbato de potássio e benzoato de sódio após produção dos filmes também foi verificada por FTIR modo transmitância. Através desta análise foi possível observar bandas, na região de $1600 - 1500 \text{ cm}^{-1}$, inexistentes no filme de PE puro (Figura 29), as quais são características do estiramento do íon carboxilato presentes em ambos os compostos estudados, conforme caracterização realizada anteriormente. Através

desta análise, foi possível identificar as bandas referentes à deformação axial de dienos conjugados e estiramentos, simétrico e assimétrico do íon carboxilato presentes no sorbato de potássio (1621cm^{-1} e 1650cm^{-1} , respectivamente), assim como a deformação axial simétrica e assimétrica do íon carboxilato presentes no benzoato de sódio (1597cm^{-1} e 1414cm^{-1} , respectivamente).

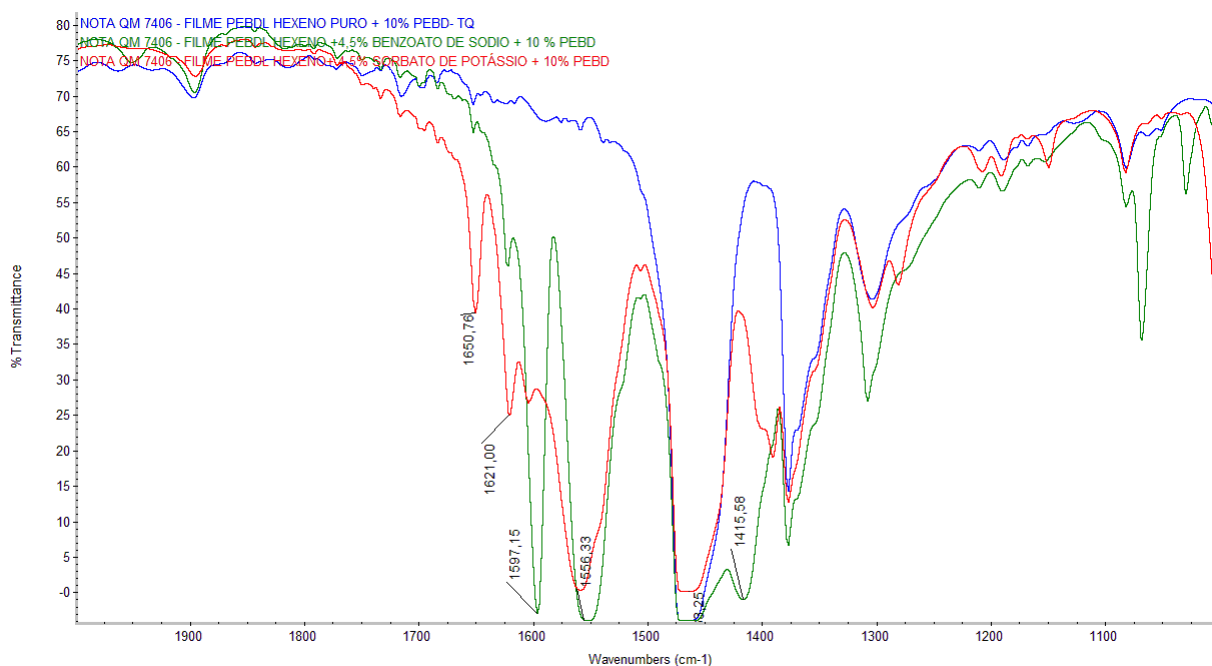


Figura 29: Sobreposição de espectros de FTIR dos filmes PELBD base hexeno puro, PELBD base hexeno + 4,5% de benzoato de sódio + 10% PEBD e PELBD base hexeno + 4,5% de sorbato de potássio + 10% PEBD (espectro expandido região $2000 - 1000\text{cm}^{-1}$)

5.3.1 Estudo da Migração dos Agentes Antimicrobianos

Conforme literatura, a transferência de massa do composto antimicrobiano ocorre da embalagem para o alimento, dependendo então da difusão dos compostos para a superfície do filme, permitindo que a ação antimicrobiana ocorra. Han e Floros⁹⁰ determinaram a difusividade para o sorbato de potássio em materiais plásticos, sendo esta, dentro de uma faixa de 1×10^{-8} a 1×10^{-14} cm^2/s , valores 10^2 a 10^6 vezes menores que a difusividade do sorbato de potássio em alimentos sólidos como queijos. Devido a isto, a liberação do composto antimicrobiano do material da embalagem para o alimento, depende muito da difusividade do composto antimicrobiano no material da embalagem⁹⁰. Com base nesta informação, além da análise por FTIR modo transmitância, a superfície dos filmes também foi avaliada por

FTIR/ATR. Através desta técnica, foi possível observar a presença de bandas características dos compostos antimicrobianos na superfície dos filmes aditivados com sorbato de potássio e benzoato de sódio, assim como o aumento de suas intensidades com o tempo após processamento, o que indica maior concentração do composto na superfície do file. As bandas referentes a estes compostos não foram observadas no filme de PE puro (Figura 30). Além disso, o espectro de FTIR, obtido da superfície do filme de PE puro, permaneceu inalterado com o tempo.

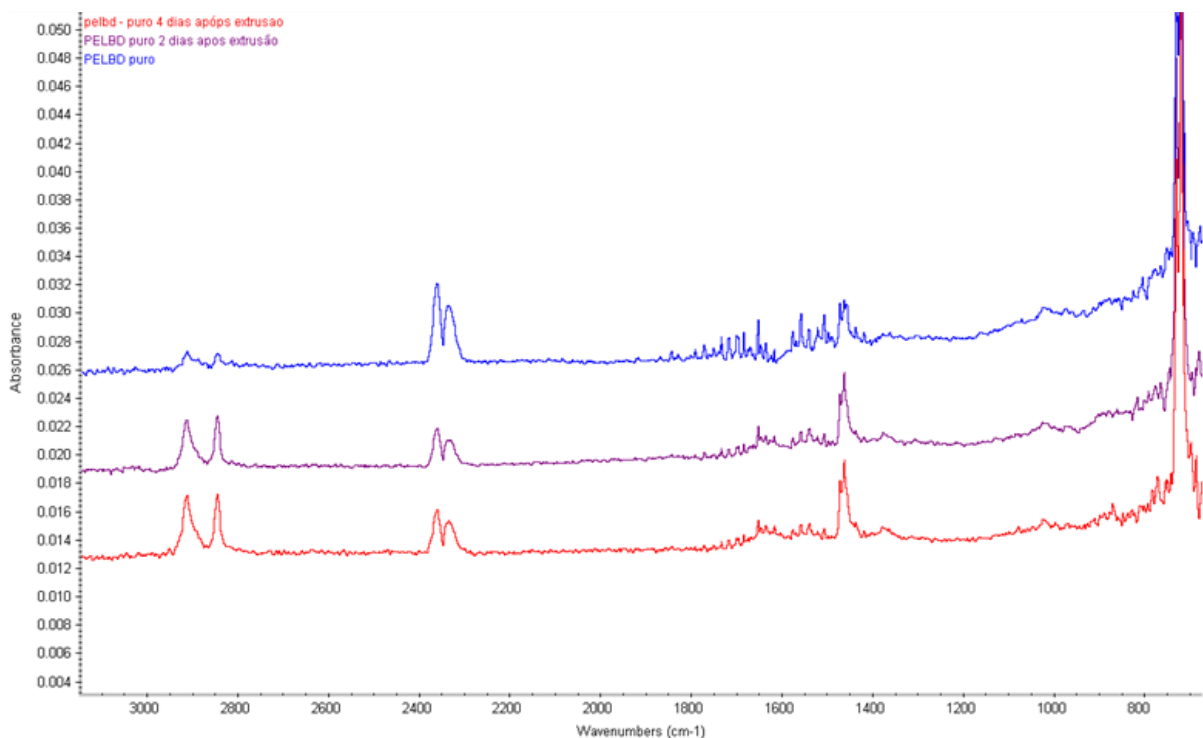


Figura 30: Sobreposição dos espectros de FTIR/ATR do filme de PELBD base hexeno puro - variação com o tempo após a extrusão do filme

A análise de FTIR/ATR na superfície das amostras foi realizada periodicamente, sendo: tempo zero (no mesmo dia da extrusão), dia 1 (um dia após a extrusão); dia 2 (dois dias após a extrusão) e dia 8 (oito dias após a extrusão). Apesar das bandas características dos compostos antimicrobianos apresentarem baixa intensidade, foi possível observar a variação de intensidade das mesmas. Através de uma avaliação de relação de áreas, entre as bandas características dos compostos antimicrobianos e as bandas características do polietileno, observou-se uma tendência de aumento da área referente às bandas de absorção dos compostos antimicrobianos, quanto maior o tempo após a extrusão do filme. Este resultado indica que a migração dos compostos aumenta com o tempo, principalmente para o filme

contendo sorbato de potássio, como observado em outros estudos da literatura^{59,63}, (Figura 31 e Figura 32).

As medidas realizadas até 9 dias após a extrusão do filme, indicaram um aumento na área característica da deformação axial de dienos conjugados e de estiramento assimétrico e simétrico do ânion carboxilato presentes no sorbato de potássio, indicando, assim, que ocorre migração do composto antimicrobiano para a superfície do filme com o passar do tempo. Após este período, foi observada uma diminuição na área avaliada, indicando possivelmente a perda do composto antimicrobiano da superfície do filme, provocada provavelmente, pelo manuseio da amostra (Figura 33). Esta avaliação foi realizada com 3 leituras em pontos diferentes do mesmo corpo de prova. O corpo de prova foi mantido no ambiente do laboratório em dessecador, para avaliação durante o tempo pré-estabelecido.

A Figura 34 mostra que a área da banda característica do ânion carboxilato presente no benzoato de sódio também varia com o tempo. No entanto, ao contrário do sorbato de potássio, apresenta um máximo de migração logo após a extrusão do filme, sendo observada uma rápida diminuição na relação de bandas, com o tempo, indicando que ocorre perda deste composto. Estes resultados mostram que o sorbato de potássio migra mais lentamente quando comparado com benzoato de sódio. Conforme mostram estudos da literatura, a difusão do sorbato de potássio depende de características da rede macromolecular e da interação com o permeante^{65, 91}. Sendo assim, o comportamento observado para o sorbato de potássio em relação ao benzoato de sódio pode ser devido ao tamanho da molécula de sorbato de potássio, e também pela semelhança da cadeia apolar, presente neste composto (sorbato de potássio), com a estrutura química do polietileno, dificultando sua difusão para a superfície do filme.

Estudo da literatura mostra o uso da técnica de FTIR/ATR na determinação da cinética de migração de compostos como linalol através de uma matriz de polietileno linear de baixa densidade, sendo que a avaliação via FTIR/ATR foi validada por outras técnicas como métodos gravimétricos. Neste trabalho, foi determinado o perfil de difusão dos compostos estudados, sendo este bastante semelhante ao perfil observado neste estudo da migração de sorbato de potássio e benzoato de sódio presentes na matriz polimérica⁹².

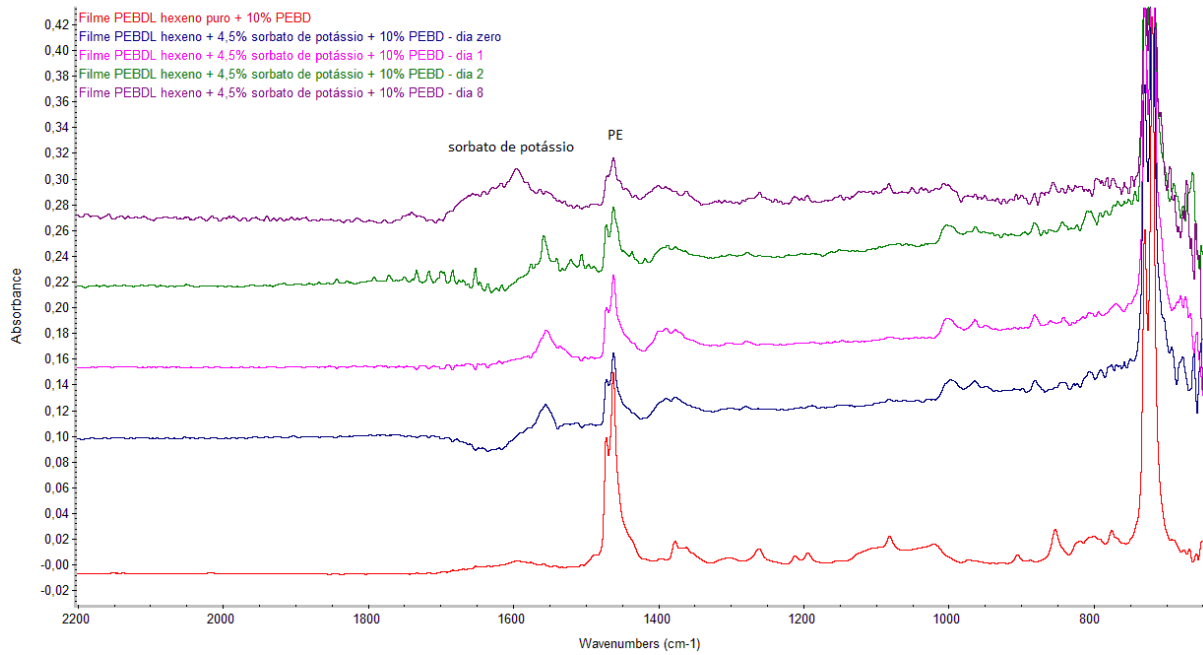


Figura 31: Sobreposição dos espectros de FTIR/ATR do filme de PELBD base hexeno + sorbato de potássio- variação com o tempo após a extrusão do filme.

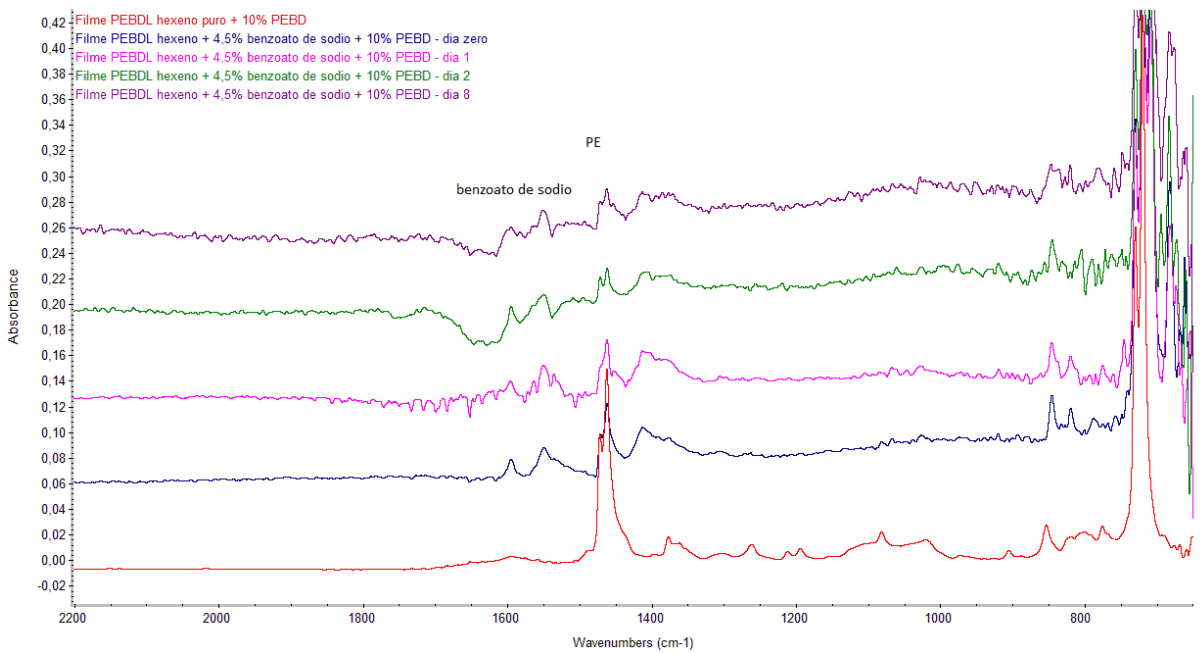


Figura 32: Sobreposição dos espectros de FTIR/ATR do filme de PELBD base hexeno + benzoato de sódio- variação com o tempo após a extrusão do filme.

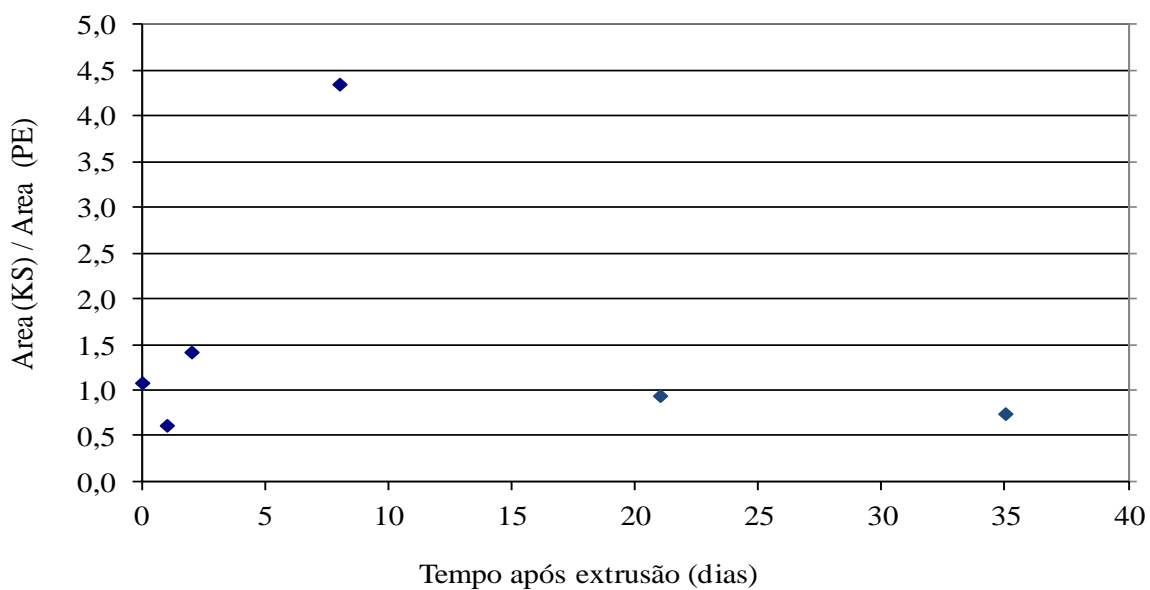


Figura 33: Migração do sorbato de potássio no filme de PELBD base hexeno com o tempo (zero a 35 dias de análise após extrusão do filme).

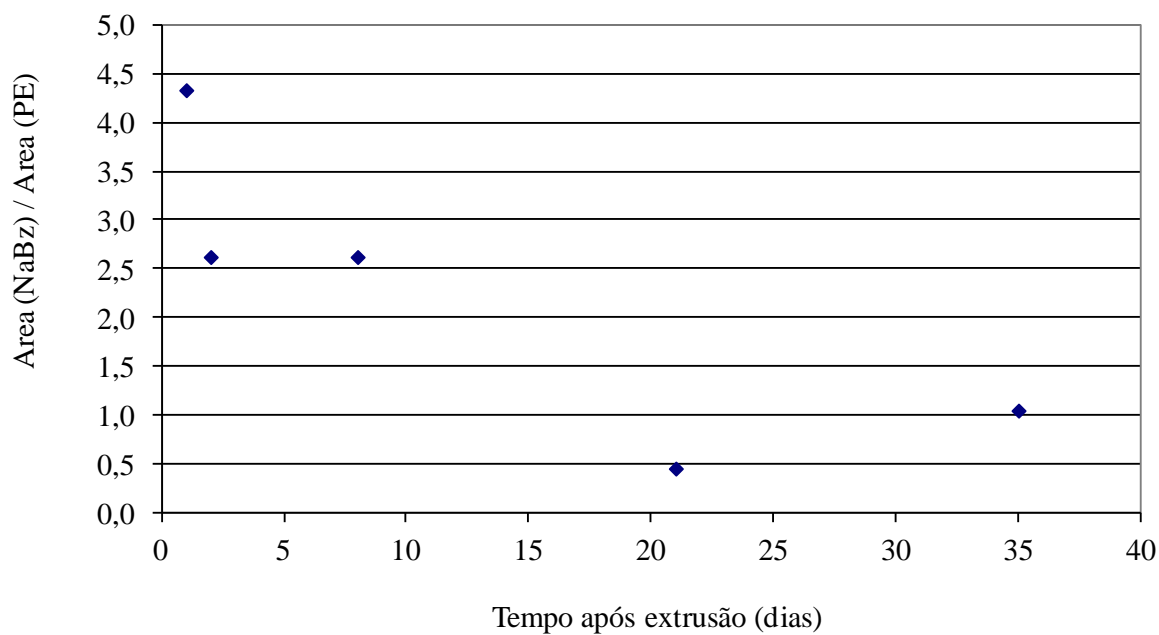


Figura 34: Migração do benzoato de sódio no filme de PELBD base hexeno com o tempo (zero a 35 dias após a extrusão do filme).

5.3.2 Avaliação do Efeito do Tratamento Superficial dos filmes na migração

Uma das etapas da cadeia de produção de embalagens trata da preparação dos filmes para impressão, laminação, etc. O tratamento superficial em filmes é bastante empregado com o objetivo de aumentar a polaridade de sua superfície através da oxidação, sendo o tratamento corona, um dos métodos mais empregados⁹³. A presença de grupos polares na superfície dos filmes ajuda na ancoragem de tintas e adesivos, porém, pode também influenciar na migração de compostos polares presentes em matrizes apolares, como o caso do sorbato de potássio em filme de polietileno. Dessa forma, a influência da presença de tratamento superficial do filme na migração do sorbato de potássio também foi avaliada. Para esta etapa do trabalho, foi produzido um filme plano, tratado com descarga corona, a fim de aumentar a polaridade de uma de suas superfícies. A extrusora plana foi utilizada a fim de obter um filme de maior qualidade, principalmente quanto a variação de espessura e distribuição de pontos esbranquiçados. Os filmes obtidos apresentaram espessura de $59 \pm 7,4$ micra para o filme PELBD base hexeno + 10% PEBD puro e de $61 \pm 5,9$ micra para o filme PELBD base hexeno + 10% PEBD + 5% SK. Ambos apresentaram tensão superficial de 42 dinas /cm² após o processo de tratamento corona, sendo 36 dinas / cm² o valor típico para filmes de polietileno sem tratamento.

Algumas propriedades foram determinadas nos filmes obtidos nesta etapa (produzidos em extrusora plana), assim como nos filmes produzidos na extrusora balão de bancada a fim de avaliar alguma alteração devido ao processamento. Estes foram caracterizados através das técnicas de FRX e DSC, visando, respectivamente, avaliar a perda de composto antimicrobiano durante o processamento e confirmar o comportamento térmico das amostras.

Através da análise de FRX foi identificada a presença e concentração do sorbato de potássio no filme (Tabela 12).

Tabela 12 - Resultado de FRX para amostra de filme produzido em extrusora plana (SK: sorbato de potássio)

Amostra	Concentração do composto AM
PELBD base hexeno puro + 10% PEBD	---
PELBD base hexeno + 10% PEBD + 5% SK	Sorbato de potássio: 4%

As temperaturas de fusão e cristalização do filme de polietileno produzido na extrusora plana, não se alteraram com a adição de sorbato de potássio, no entanto, foi observado uma pequena redução na cristalinidade do filme (Tabela 13) diferente do comportamento observado nos filmes produzidos na extrusora de bancada tipo balão, possivelmente por algum problema na análise de DSC, visto que também foi observado diferença na amostra sem sorbato de potássio. Apesar do uso de uma extrusora de porte semi-industrial (plana) foi possível observar, visualmente, um comportamento de aglomeração do composto antimicrobiano, gerando, novamente, a presença de alguns pontos esbranquiçados no filme. De posse destes dados o efeito do tratamento superficial dos filmes foi avaliado.

Tabela 13 - Resultados de DSC das amostras de filme produzidos na extrusora plana

Amostra	T _c (°C)	T _{m2} (°C)	Entalpia fusão (J/g)	Cristalinidade (%)
PELBD base hexeno puro + 10% PEBD	111	100/124	132	46
PELBD base hexeno + 10% PEBD + 5% SK	111	100/124	124	43

Como já mencionado, o tratamento superficial de filmes é utilizado com o objetivo de aumentar a polaridade da sua superfície, para posterior impressão, ou seja, durante a aplicação deste filme, a superfície tratada não entra em contato direto com o alimento embalado. Estudo da literatura mostra o efeito do tratamento corona na migração de substâncias presentes no filme de polietileno. No entanto, a migração foi avaliada, colocando-se a superfície tratada do filme em contato direto com o simulante, sendo avaliado o efeito da maior hidrofobicidade no grau de interpenetração do solvente (dependendo de sua polaridade) no filme. Desta forma, a presença de carga residual na superfície do filme, gerada pelo tratamento, apesar de

comprovada, não foi avaliada em condições de uso do filme onde a superfície tratada não tem contato direto com o simulante⁹⁴. Sendo assim, no presente trabalho, após o tratamento do filme, a migração do sorbato de potássio, em água, foi avaliada colocando-se somente a superfície não tratada do filme em contato com o simulante, conforme descrito na parte experimental. Desta forma, 50 mL de água foram embalados em vários sacos de aproximadamente 10 x 10 cm e a concentração do sorbato de potássio, liberado na água, foi avaliada por UV-Vis. A preparação das amostras foi realizada, assim que o filme foi produzido e tratado. A Figura mostra que o sorbato de potássio migra constantemente com o tempo, atingindo um patamar após 20 dias do início da análise. Este resultado mostra o efeito do processamento do filme, sendo que, o filme processado na extrusora de bancada tipo balão, apresentou, um máximo de migração, após 8 dias (avaliado por FT-IR/ATR). A maior velocidade de migração observada para o filme produzido na extrusora de bancada pode ser devido ao baixo grau de orientação do filme quando comparado com a extrusora semi-industrial plana. Estudos da literatura mostram que o grau de orientação atingido no processamento do filme tem conseqüências diretas na orientação das cadeias poliméricas, aumentando a barreira à migração de compostos e aditivos presentes no filme.

Na Figura 35, também foi observado que o tratamento superficial não apresentou efeito sobre a migração do sorbato de potássio. Sendo assim, espera-se que a migração do composto estudado não será influenciada pelo processo de tratamento dos filmes para posterior impressão e uso de adesivos na aplicação final.

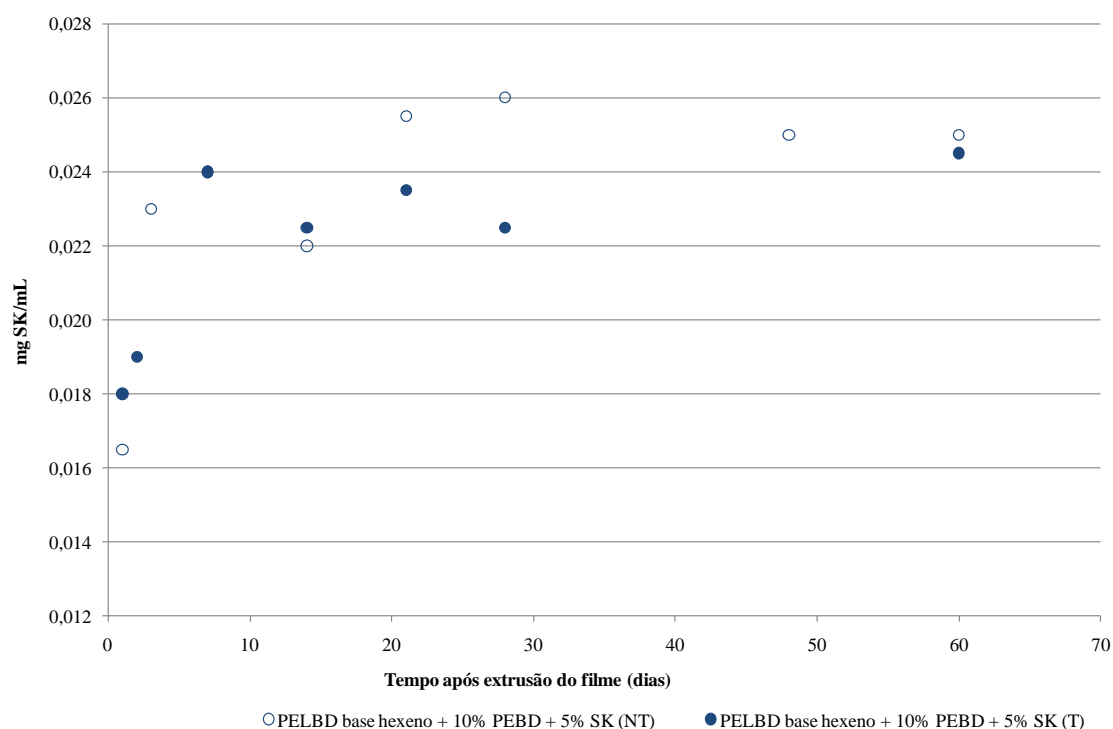


Figura 35: Migração do sorbato de potássio em água a temperatura ambiente – embalagem: saquinhos de 8 cm² contendo 50 mL de água. Comparativo entre o filme de PELBD + 10% PEBD + 5% SK com e sem tratamento.

5.3.3 Avaliação Microbiológica

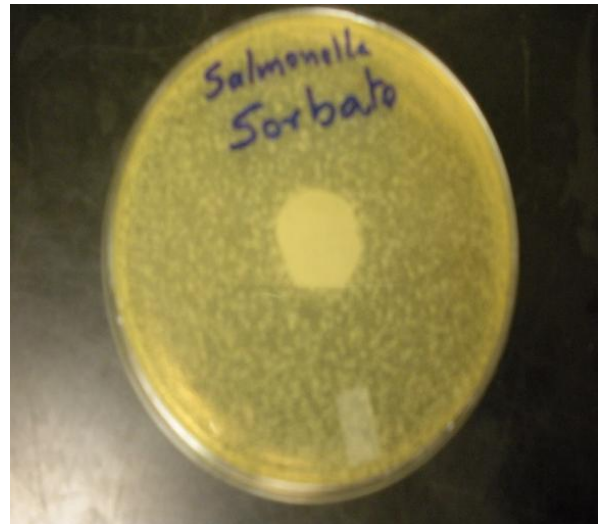
5.3.3.1 Avaliação contra bactérias

Com a confirmação da migração dos compostos antimicrobianos para a superfície dos filmes, etapa importante para que a ação antimicrobiana ocorra, foram realizadas avaliações da atividade microbiológica dos filmes contendo sorbato de potássio e benzoato de sódio, contra algumas bactérias, através do teste *in vitro*.

As propriedades antimicrobianas foram avaliadas inicialmente contra as bactérias *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Listeria monocytogenes* (ATCC 15313) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) através da técnica de halo de inibição. Não foi observada formação de zona de inibição para nenhum dos microorganismos testados, indicando que não houve atividade antimicrobiana dos filmes contendo sorbato de potássio. O mesmo comportamento também foi observado para o filme contendo benzoato de sódio, que também foi avaliado na análise contra bactérias (Figura 36 a Figura 38).

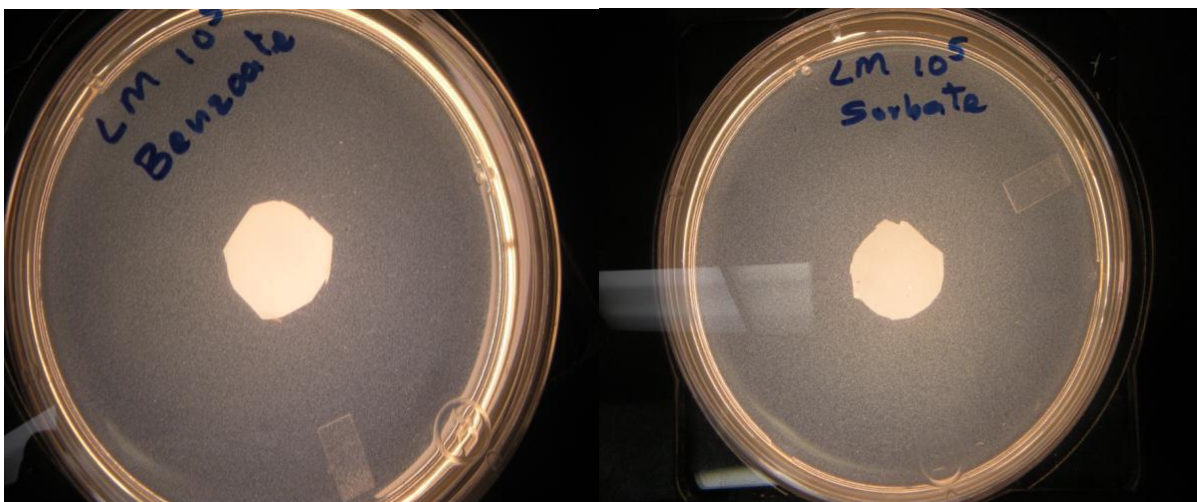


(a)

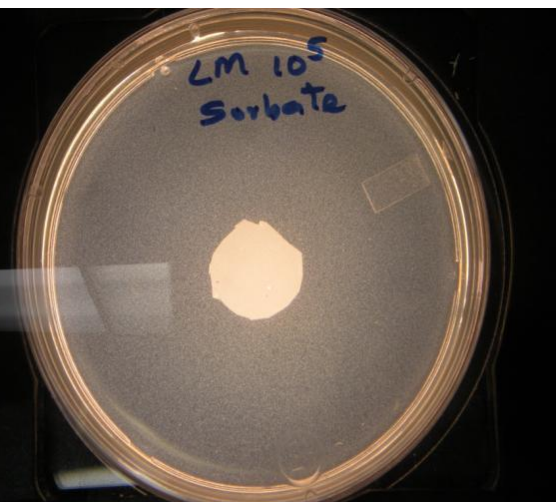


(b)

Figura 36: Teste microbiológico contra Salmonella Typhimurium: (a) Filme com benzoato de sódio; (b) filme com sorbato de potássio.



(a)



(b)

Figura 37: Teste microbiológico contra Listeria monocitogenes: (a) Filme com benzoato de sódio; (b) filme com sorbato de potássio.

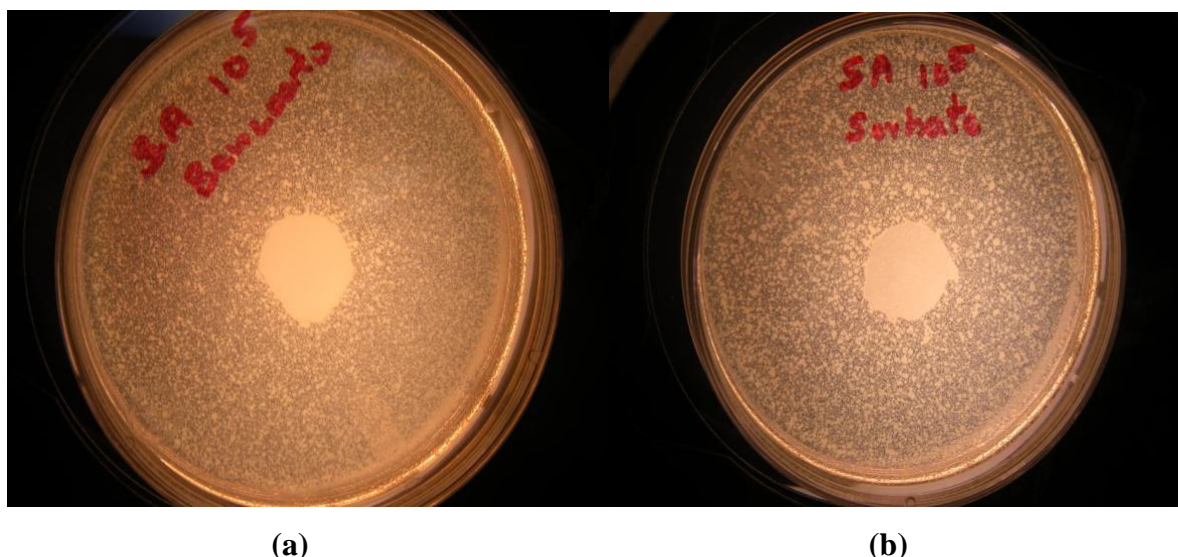
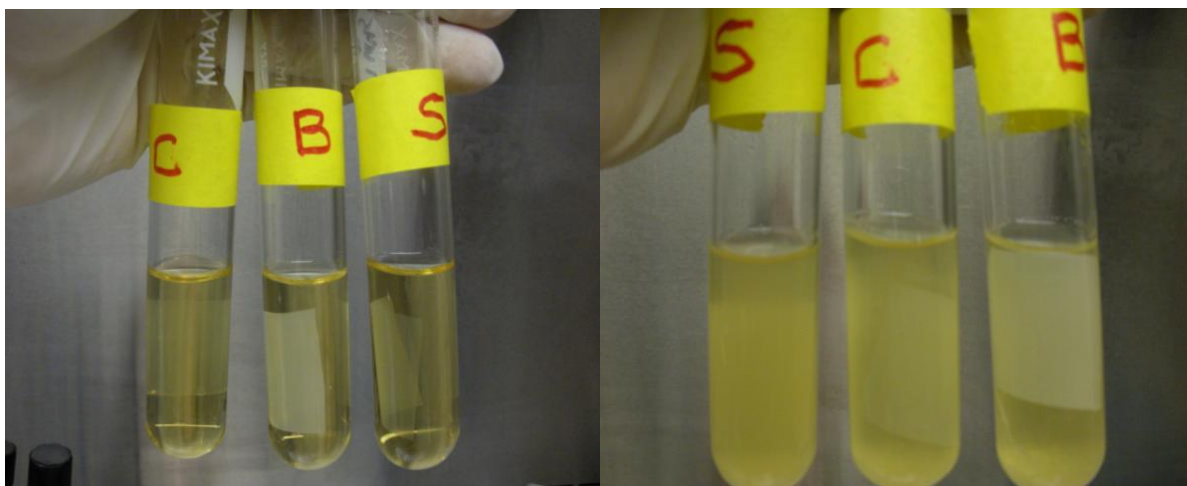


Figura 38: Teste microbiológico contra Staphylococcus aureus- (a) Filme com benzoato de sódio; (b) filme com sorbato de potássio.

A avaliação da densidade ótica de soluções, contendo o filme com benzoato de sódio e sorbato de potássio, também não mostrou atividade antimicrobiana destes compostos contra bactérias. No exemplo mostrado na Figura 39 é possível observar aumento na turbidez da solução após 24h de incubação indicando que ocorreu crescimento microbiológico, mesmo em contato com filmes contendo sorbato de potássio e benzoato de sódio.

Apesar dos sorbatos serem conhecidamente eficientes contra mofo e leveduras, o resultado negativo obtido surpreendeu. Este comportamento pode ser explicado pela dispersão obtida do composto antimicrobiano no filme, conforme observado pela formação de aglomerados, além disso, o manuseio do filme, pode também ter gerado a perda do composto migrado para sua superfície. Estudos da literatura mostram o efeito antimicrobiano deste composto contra bactérias quando utilizado diretamente no alimento quanto disperso em filmes poliméricos (principalmente biopolímeros) ⁹⁵ ⁹⁶, mostrando que em matrizes poliméricas polares a migração do sorbato de potássio é maior.



Tempo de incubação: 0 horas

Tempo de incubação: 24 horas

Figura 39: Resultado do teste de determinação da densidade ótica do líquido contendo *Salmonella Typhimurium* (C – controle; B – filme com benzoato de sódio; S – filme com sorbato de potássio)

Os resultados obtidos nos testes de migração mostraram que o sorbato de potássio apresenta migração mais lenta para a superfície do filme, em comparação ao benzoato de sódio. Considerando a logística envolvida entre a produção de um filme, envase do alimento e seu estoque na aplicação final, o filme contendo sorbato de potássio foi escolhido para continuidade dos estudos e avaliação da atividade antimicrobiana contra fungos.

5.3.3.2 Avaliação contra fungos

A avaliação da atividade microbiológica do filme contendo sorbato de potássio foi avaliada *in vitro* e em contato com alimento.

Neste teste, uma solução primária, rica em microorganismos típicos do envelhecimento de produto de panificação e derivado do leite, foi preparada a partir de amostras de pão francês e queijo mussarela, conforme metodologia descrita na parte experimental. Após cinco dias de armazenamento em temperatura ambiente, foi possível detectar visualmente o crescimento de bolores e leveduras nestas amostras (Figura 40).

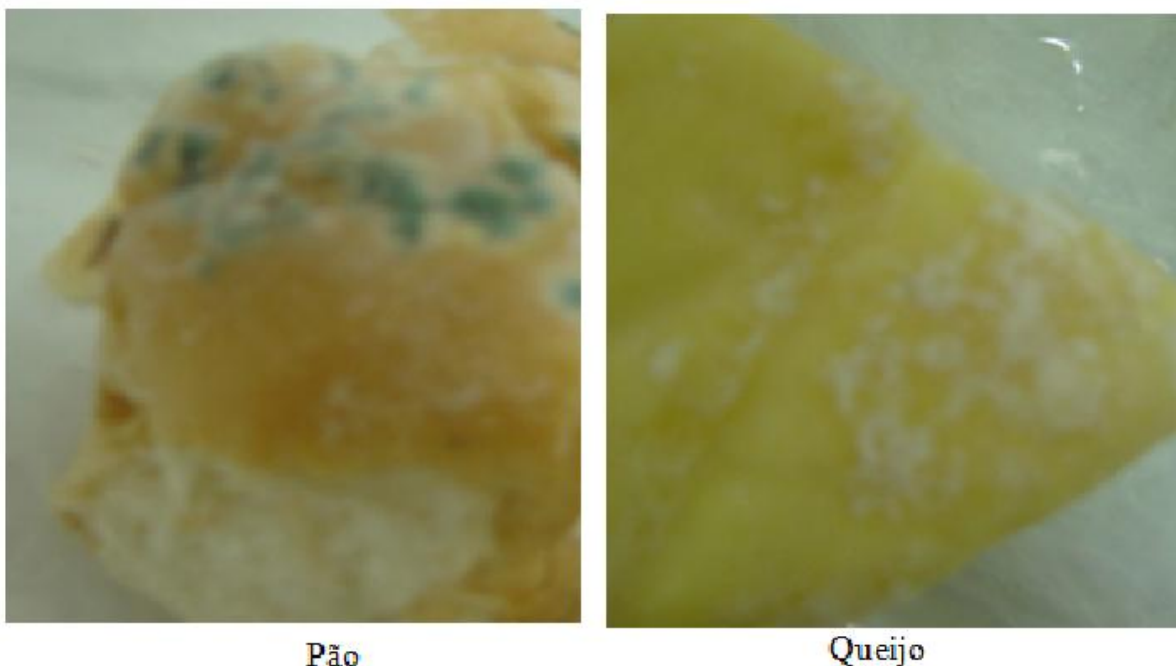


Figura 40: Foto do pão francês e do queijo mussarela após o crescimento superficial de fungos

Após obtenção da solução primária, contendo microorganismos do queijo e pão, a contagem microbiológica de bolores e leveduras desta solução e suas diluições foram realizadas em triplicata. Os resultados estão apresentados na Tabela 14.

A solução primária foi utilizada para posterior caracterização quanto à contagem de bolores e leveduras quando em contato com o sorbato de potássio puro e filme contendo sorbato de potássio (Teste 1), segundo procedimento descrito na parte experimental.

Tabela 14 - Resultados da contagem de bolores e leveduras nas amostras da solução primária obtidas a partir de pão e queijo

Pão		Queijo	
Resultados (UFC/g)		Resultados (UFC/g)	
Repetição 1	$6,7 \times 10^6$	Repetição 1	$1,7 \times 10^7$
Repetição 2	$5,8 \times 10^6$	Repetição 2	$1,8 \times 10^7$
Repetição 3	$6,3 \times 10^6$	Repetição 3	$1,8 \times 10^7$

Com base nos resultados obtidos na caracterização de contagem de bolores e leveduras oriundas de pão e queijo, o número de unidades formadoras de colônias (UFC)/g, presentes no pão, nas condições coletadas foi de 10^6 e 10^7 UFC/g para a amostra de queijo. Vale ressaltar

que nas condições de coleta, a concentração de microorganismos nos alimentos escolhidos foi extremamente elevada. Esta etapa teve como objetivo, a preparação de uma solução, rica em microorganismos, para posterior avaliação, quanto à atividade microbiológica do sorbato de potássio puro e também dos filmes produzidos com este composto.

Para avaliação da atividade do sorbato de potássio puro, como antimicrobiano, este composto foi colocado em contato com a solução de microorganismos, aqui identificada como primária, e a contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFC) foi determinada para cada concentração de sorbato de potássio testada.

A Tabela 15 mostra os resultados obtidos após 05 dias de contato da solução padrão de bolores e leveduras e as quantidades mássicas pré-estabelecidas do composto antimicrobiano. Nesta avaliação a concentração inibitória foi considerada como aquela concentração de composto antimicrobiano na qual se observa uma redução microbiana, em ciclos logarítmicos, a partir do UFC típico para cada alimento (neste caso, 10^6 para o pão e 10^7 para o queijo).

Tabela 15 - Contagem de bolores e leveduras, em pão e queijo, para diferentes concentrações de sorbato de potássio

Pão		Queijo	
Teste	Resultados (UFC/g)	Teste	Resultados (UFC/g)
1p (sem aditivo)	$6,3 \times 10^6$	1q (sem aditivo)	$1,8 \times 10^7$
2p (1mg)	$1,1 \times 10^7$	2q (1mg)	$1,6 \times 10^7$
3p (2mg)	$1,5 \times 10^7$	3q (2mg)	$1,2 \times 10^7$
4p (4mg)	$3,1 \times 10^6$	4q (4mg)	$1,0 \times 10^7$
5p (5mg)	$3,0 \times 10^5$	5q (5mg)	$5,4 \times 10^6$
6p (6mg)	$1,0 \times 10^4$	6q (6mg)	$4,5 \times 10^6$
7p (7mg)	$7,5 \times 10^3$	7q (7mg)	$4,0 \times 10^6$
8p (8mg)	$7,0 \times 10^3$	8q (8mg)	$4,0 \times 10^6$
9p (9mg)	$4,3 \times 10^3$	9q (9mg)	$4,6 \times 10^6$
10p (10mg)	$1,8 \times 10^3$	10q (10mg)	$2,7 \times 10^6$
11p (12mg)	$1,5 \times 10^3$	11q (12mg)	$3,1 \times 10^6$
12p (15mg)	$2,3 \times 10^3$	12q (15mg)	$4,5 \times 10^6$

p: pão; q:queijo

Os resultados mostram que foram necessários 5mg de sorbato de potássio, para reduzir a população microbiana inicial do pão, de 10^6 (medido anteriormente) para 10^5 UFC/g, ou seja, um ciclo logarítmico da população de microrganismos presentes no pão.

Verificou-se que na medida em que a concentração do sorbato de potássio aumenta, a população microbiana no pão diminui, indicando que o sorbato de potássio apresenta potencial redução de bolores e leveduras em um ciclo logarítmico em solução obtida a partir de microrganismos de queijo e pão francês. Também foi observado que os fungos presentes no pão podem ser considerados mais sensíveis ao efeito deste composto.

No caso dos microrganismos presentes no queijo a concentração inibitória foi de 5mg, porém, a população microbiana não diminui com o aumento da concentração do composto.

Na Tabela 16 estão apresentados os resultados obtidos após 05 dias de contato da solução padrão de bolores e leveduras com uma amostra do filme de 1cm^2 de área.

Neste experimento, a mesma solução de bolores e leveduras oriundas de pão e queijo (solução primária) foi incubada com amostras de filmes, sendo um filme contendo sorbato de potássio e outro filme controle (PELBD puro + 10% PEBD). Os resultados mostram que houve uma redução de um ciclo logarítmico para os bolores e leveduras extraídos da amostra de pão francês (de 10^7 para 10^6 UFC/g), mostrando baixa atividade antimicrobiana nas condições testadas.

O teste conduzido com bolores e leveduras oriundos de amostra de queijo, também não mostrou redução expressiva, em termos logarítmicos, na concentração de fungos testada, permanecendo valores de UFC/g em nível de 10^6 UFC/g. Estes resultados mostram comportamento diferente de trabalho publicado na literatura⁷⁷ onde o uso de 10% de sorbato de potássio em filme de PELBD apresenta atividade antimicrobiana quando aplicado em queijo. Sugere-se que este efeito pode ser devido a três fatores:

- elevada concentração de microrganismos presente nas amostras utilizadas de pão e queijo, contendo ainda um largo espectro de microrganismos, podendo nem todos apresentarem sensibilidade ao composto antimicrobiano testado;
- menor quantidade de sorbato de potássio utilizada neste trabalho;
- diferente migração deste composto na matriz de PEBD.
- Formação de aglomerados de sorbato de potássio dificultando sua migração

Portanto, o filme aditivado com sorbato de potássio apresentou baixa eficiência na redução dos ciclos logarítmicos de bolores e leveduras para o pão e queijo, diferindo dos resultados encontrados na literatura com PEBD, onde se observou migração do composto e formação de halo de inibição na análise em placa ⁷⁷.

Desconsiderando a diferença no processo de obtenção dos filmes do presente trabalho e do estudo da literatura, espera-se que a migração do sorbato de potássio em matriz de PEBD seja mais facilitada, visto a sua menor cristalinidade em comparação com PELBD. Sendo assim, a maior quantidade de regiões amorfas presentes no PEBD facilita a migração deste composto, enquanto que no PELBD, a presença de maior número de cristais atua como uma barreira a migração do composto estudado, impedindo assim, a total migração para a superfície do filme. Este efeito da diferença de cristalinidade da matriz polimérica também é observado na permeação de gases⁹⁷. Estudo envolvendo matrizes poliméricas semicristalinas com polaridades diferentes (PELBD x EVA) mostrou que a migração de um antioxidante (alfa tocoferol) foi mais lenta na matriz apolar, porém, os autores não publicaram a diferença de cristalinidade e temperaturas de fusão entre os dois polímeros, o que poderia explicar os resultados obtidos⁵⁸.

Tabela 16 - Resultados da contagem de bolores e leveduras em pão e queijo – teste com filmes (análise em triplicata)

Amostra	Resultados (UFC/g)
Filme PELBD base hexeno + 10% PEBD puro (microorganismos de pão)	$1,5 \times 10^7 \pm 0,31 \times 10^7$
Filme PELBD base hexeno + 10% PEBD + sorbato de potássio (microorganismos de pão)	$5,1 \times 10^6 \pm 1,7 \times 10^6$
Filme PELBD base hexeno + 10% PEBD puro (microorganismos de queijo)	$9,2 \times 10^6 \pm 4,2 \times 10^6$
Filme PELBD base hexeno 10% PEBD + sorbato de potássio (microorganismos de queijo)	$2,8 \times 10^6 \pm 0,45 \times 10^6$

Na Figura 41, Figura 42 e Figura 43 são apresentados os resultados de contagem de unidades formadoras de colônia de microorganismos psicrotróficos, bolores e leveduras e

numero mais provável de coliformes totais em queijo minas quando em contato com filme contendo 5% de SK e 10% de SK, após 7, 14 e 21 dias.

Nesta avaliação foi observada uma leve redução de um ciclo logarítmico, no UFC de microorganismos psicrotóxicos, com filme contendo maior quantidade de SK (10%) em 14 dias (Figura 41 e Figura 42). No caso de coliformes totais (Figura 43) os filmes com SK apresentam uma leve redução, porém, considerando que o resultado representa uma contagem de número mais provável, e como é de conhecimento, que o sorbato de potássio apresenta alta atividade contra fungos, este resultado não foi considerado suficiente para indicar os filmes estudados como filmes antimicrobianos, devido a baixa atividade detectada nestes testes.

O teste realizado com filme contendo 10% de SK também mostrou baixa atividade antimicrobiana diferindo de resultados apresentados na literatura onde foi observado resultados positivos no uso de sorbato de potássio em filmes de alginato, PEBD e quitosana.^{66, 77}. Porém, o mesmo efeito foi observado por outros autores⁷⁸.

Estes dados mostram que o uso somente de SK como agente antimicrobiano não é suficiente para garantir aumento de tempo de vida de prateleira para pão e queijo. Considerando o número diferente de microorganismos presentes no pão e no queijo, melhores resultados poderiam ser atingidos com a combinação de diferentes compostos antimicrobianos. Além disso, o uso de matriz polimérica apolar também dificulta a migração do composto antimicrobiano como o sorbato de potássio, conforme observado neste trabalho e em estudos de outros autores, já citados, usando biopolímeros como matrizes para formação dos filmes.

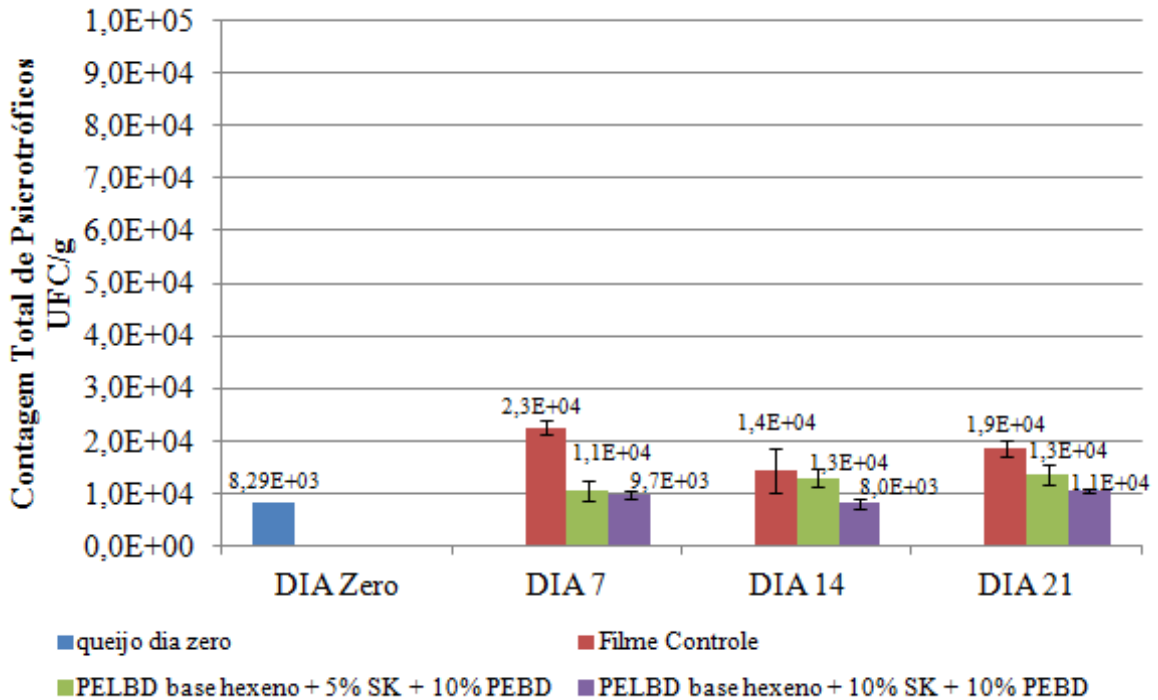


Figura 41: Unidades formadoras de colônia (UFC) de microorganismos psicrotróficos em queijo minas em contato com filme controle (sem SK) e filmes com 5 e 10% de SK após períodos de 7 a 21 dias de estocagem em temperatura de geladeira.

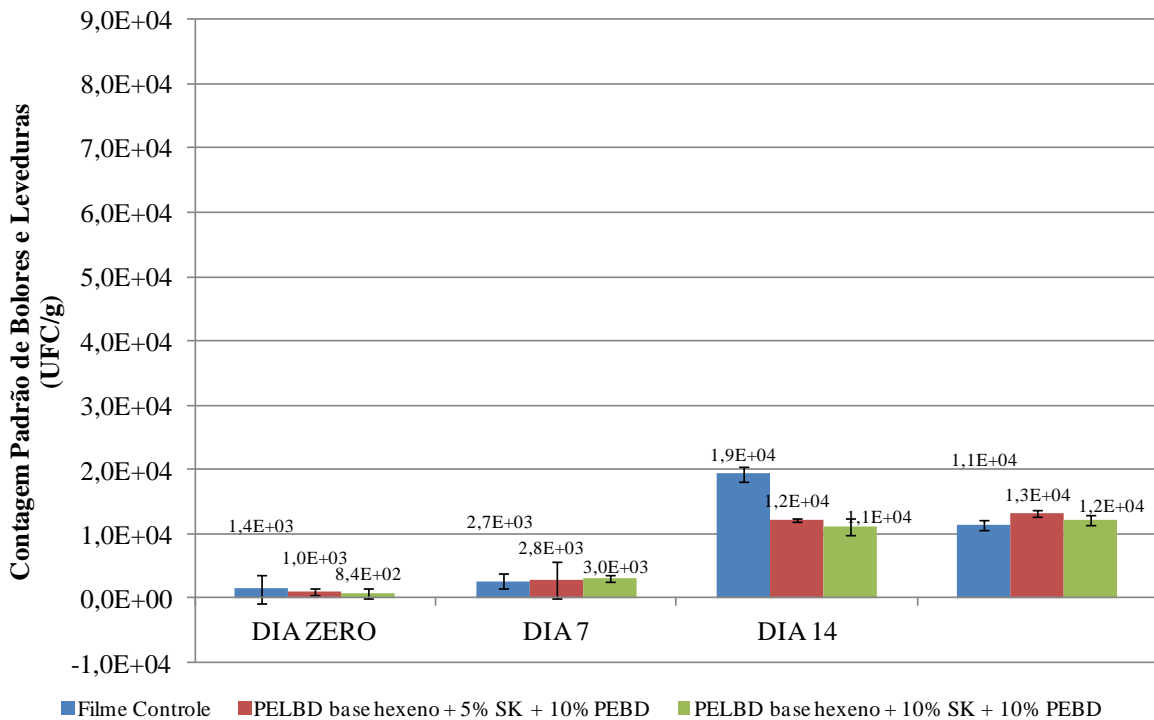


Figura 42: Unidades formadoras de colônia (UFC) – contagem padrão de bolores e leveduras em queijo minas em contato com filme controle (sem SK) e filmes com 5 e 10% de SK após períodos de 7 a 21 dias de estocagem em temperatura de geladeira.

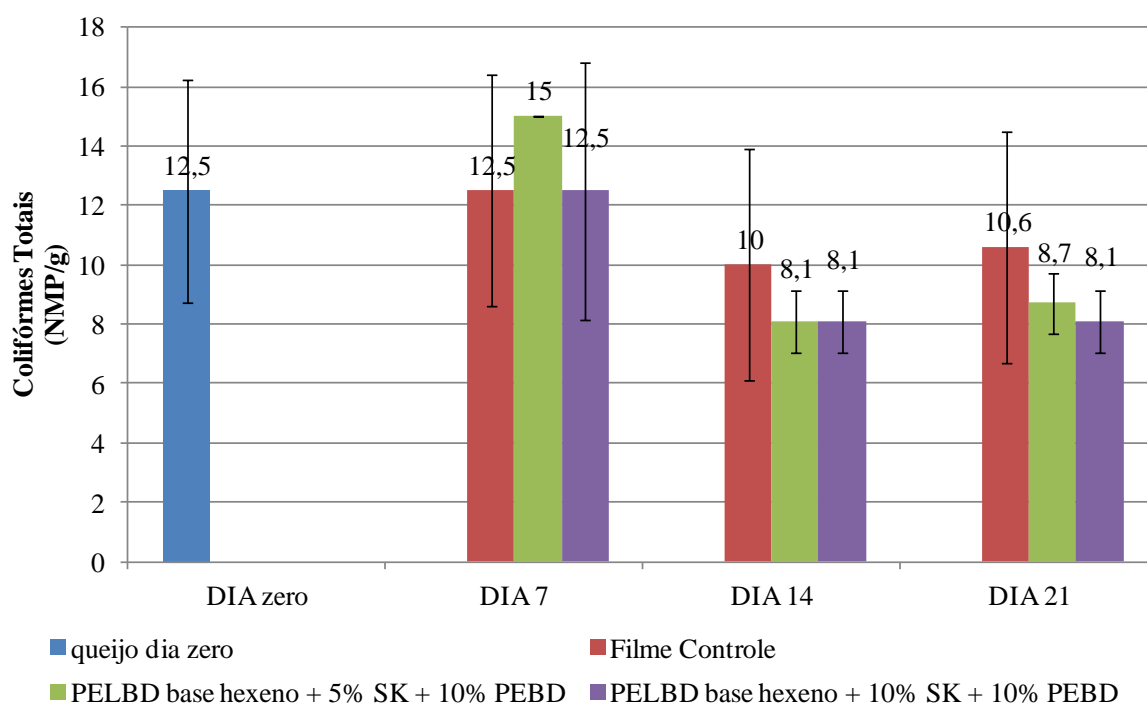


Figura 43: Coliformes totais – número mais provável de coliformes totais em queijo minas em contato com filme controle (sem SK) e filmes com 5 e 10% de SK após períodos de 7 a 21 dias de estocagem em temperatura de geladeira.

5.3.4 Avaliação das Propriedades Mecânicas

Apesar do resultado pouco promissor quanto ao uso dos filmes de polietileno contendo SK e NaBz como antimicrobiano, as propriedades mecânicas das amostras foram avaliadas, visto sua importância na aplicação final da embalagem. Os filmes obtidos neste primeiro teste apresentaram espessura bastante variável, assim como uma heterogeneidade na distribuição de pontos esbranquiçados, efeito característico da extrusora de bancada utilizada. A fim de minimizar estes efeitos, os corpos de prova utilizados para os testes mecânicos, foram retirados da parte do filme com menor número de pontos esbranquiçados e com menor variação de espessura (parte central do filme).

Os resultados obtidos na avaliação das propriedades de tensão e deformação dos filmes mostraram que, considerando o desvio obtido para cada medida, a adição dos compostos antimicrobianos no polietileno não influenciou nas medidas de tensão de escoamento e ruptura, assim como no alongamento no escoamento e na ruptura dos corpos de

prova avaliados na direção de processamento dos filmes (DM – direção de máquina) (Figura 44 a Figura 47).

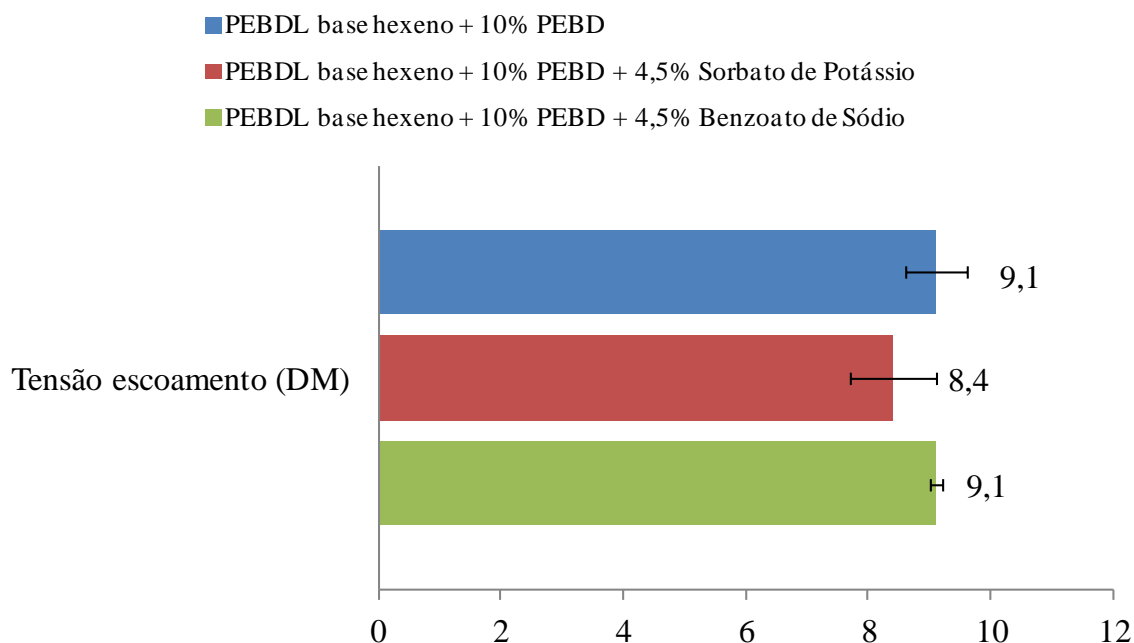


Figura 44: Resultados do teste de tração dos filmes estudados – Tensão escoamento (média aritmética de resultados e respectivo desvio padrão obtidos na avaliação de 10 corpos de prova)

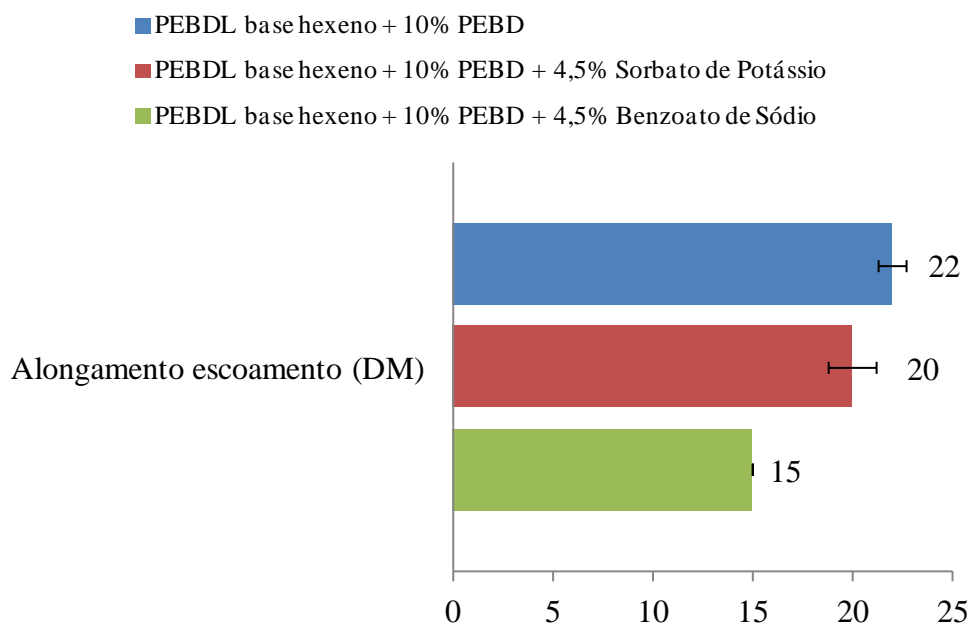


Figura 45: Resultados do teste de tração dos filmes estudados – alongamento no escoamento. (média aritmética de resultados e respectivo desvio padrão obtidos na avaliação de 10 corpos de prova)

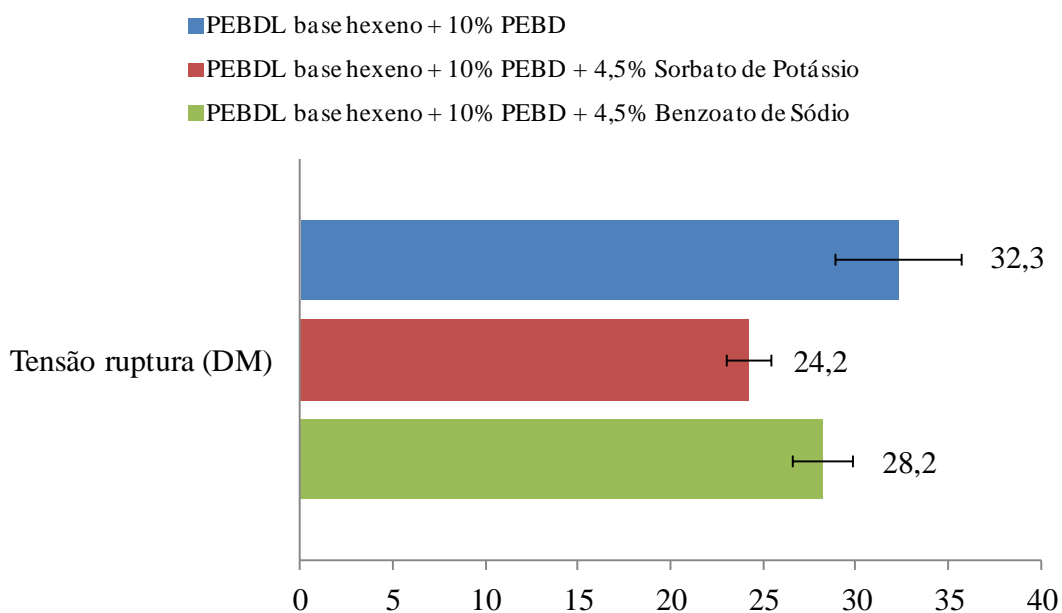


Figura 46: Resultados do teste de tração dos filmes estudados – Tensão de ruptura (média aritmética de resultados e respectivo desvio padrão obtidos na avaliação de 10 corpos de prova)

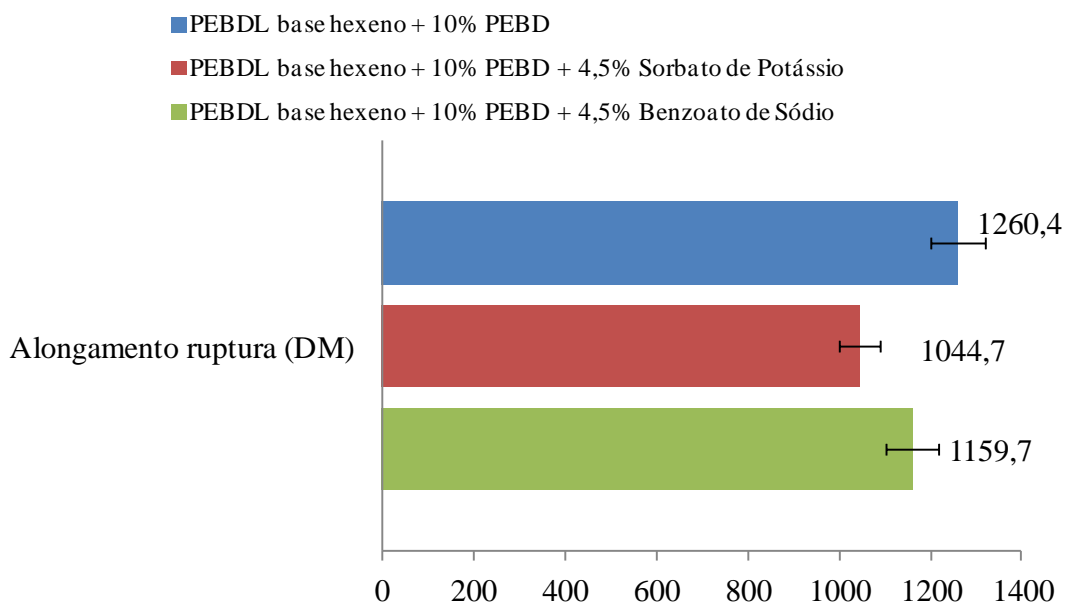


Figura 47: Resultados do teste de tração dos filmes estudados –alongamento na ruptura (média aritmética de resultados e respectivo desvio padrão obtidos na avaliação de 10 corpos de prova)

Também não foi observada variação na resistência ao rasgo Elmendorf dos filmes contendo SK e NaBz, quando comparados ao filme controle (sem agente microbiano), mostrando mais uma vez que os compostos antimicrobianos não interferem na cristalização e orientação dos filmes durante o processamento (Figura 48).

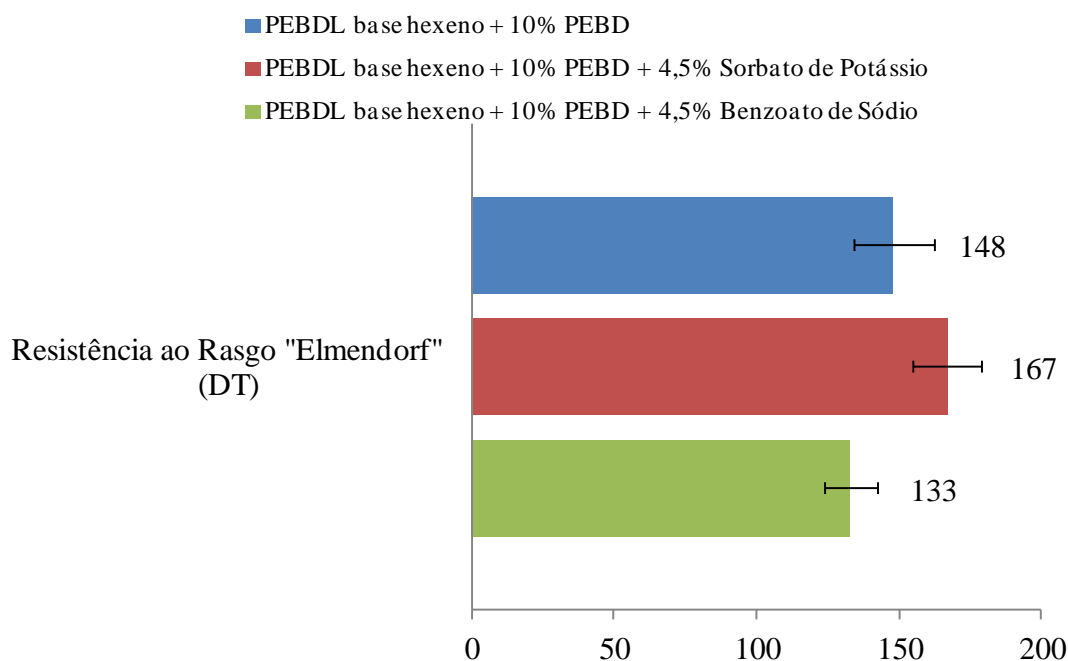


Figura 48: Resultados do teste de Resistência ao Rasgo Elmendorf (média aritmética de resultados e respectivo desvio padrão obtidos na avaliação de 10 corpos de prova)

Na avaliação da resistência à punctura dos filmes, em que se mede a energia absorvida pelo material durante o ensaio, a principal propriedade determinada é a energia total. Este valor mostra a energia absorvida pelo material desde o primeiro contato da ponteira utilizada para perfurar o corpo de prova até a ruptura do filme. Neste teste também não foi observado diferenças entre as amostras contendo os compostos antimicrobianos e o filme controle (Figura 49 a Figura 51).

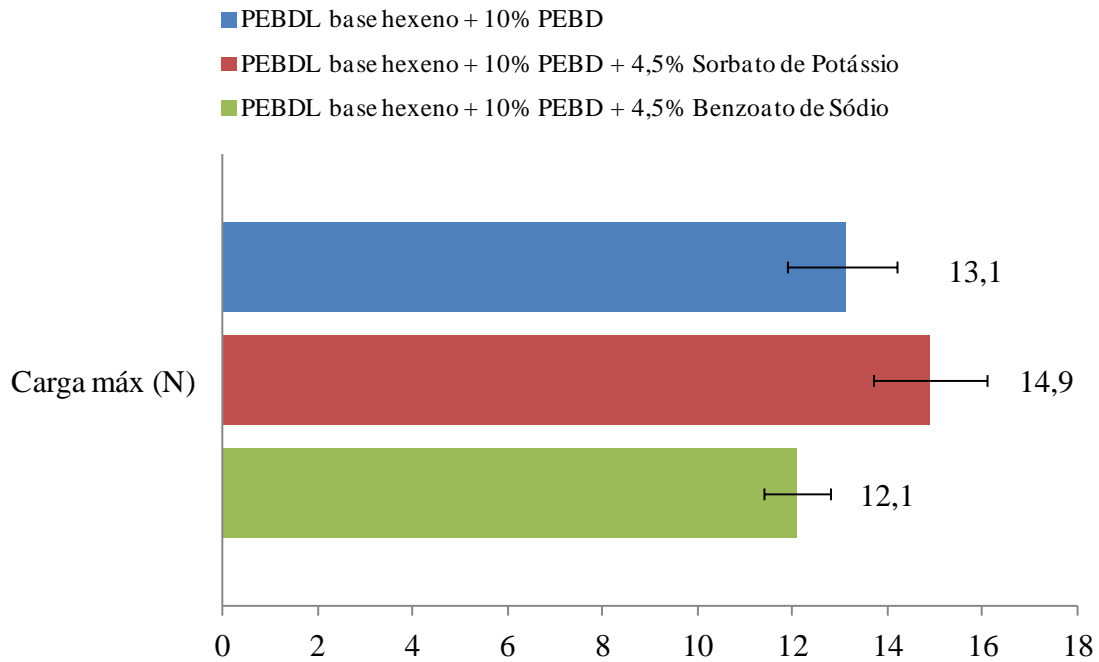


Figura 49: Resultados do teste de Resistência a Punctura – carga máxima (média aritmética de resultados e respectivo desvio padrão obtidos na avaliação de 10 corpos de prova)

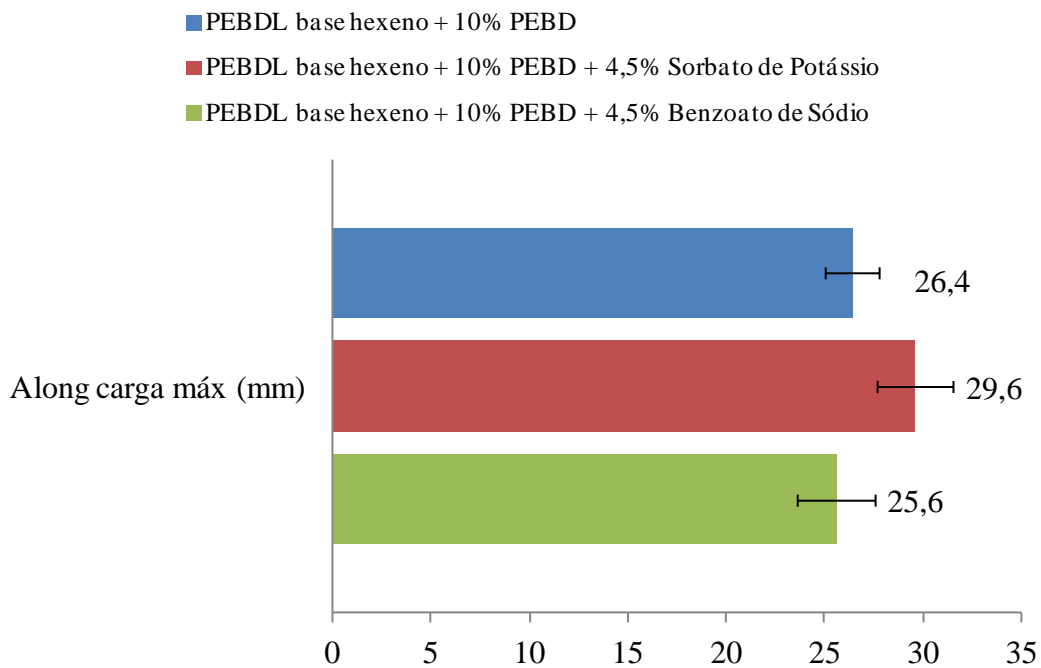


Figura 50: Resultados do teste de Resistência a Punctura – alongamento na carga máxima (média aritmética de resultados e respectivo desvio padrão obtidos na avaliação de 10 corpos de prova)

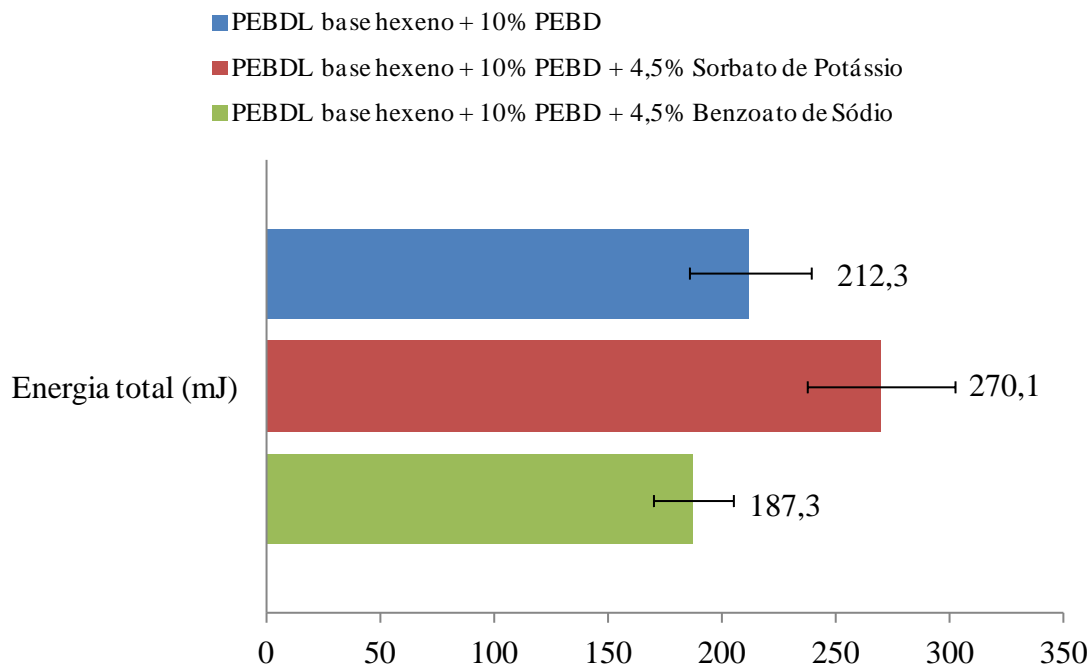


Figura 51: Resultados do teste de Resistência a Punctura – Energia total (média aritmética de resultados e respectivo desvio padrão obtidos na avaliação de 10 corpos de prova)

Os resultados mecânicos obtidos indicam que, na quantidade estudada, o composto antimicrobiano provavelmente está localizado nas regiões amorfas do polímero e não afeta as propriedades mecânicas que são dependentes da estrutura cristalina e das cadeias de ligação entre os cristais (tie layers). Este mesmo efeito foi observado por Han e Floros, no estudo que mostrou que compostos antimicrobianos que apresentam baixa massa molecular, comparado com o tamanho da estrutura molecular do polímero, se localizam na região amorfa da estrutura polimérica⁴².

Baseado no fato de existir a migração dos compostos antimicrobianos para a superfície do filme, as propriedades de selagem destes filmes foram avaliadas, visto que esta propriedade, depende do contato entre as superfícies dos mesmos. O mecanismo discutido na literatura para explicar a selagem de filmes poliolefinicos envolve basicamente três etapas^{98, 99}. Após contato dos filmes e aquecimento dos mesmos com uso de uma barra de solda, ocorre a fusão das frações do polímero que apresentam temperatura de fusão abaixo da temperatura da barra de solda, ocorrendo difusão das frações de polímero no estado fundido através da interface dos filmes e emaranhamento das cadeias poliméricas. Após resfriamento ocorre a cristalização destas frações formando pontos de amarração entre estas cadeias gerando assim a região de solda.

Considerando este mecanismo de selagem proposto para filmes poliolefinicos e o alto teor de composto antimicrobiano utilizado, as propriedades de solda foram medidas a fim de avaliar se a presença de composto antimicrobiano na superfície dos filmes poderia interferir no mecanismo de selabilidade. Os resultados obtidos mostram que com a adição dos compostos antimicrobianos (Figura 52), a temperatura de selagem aumentou em 5°C no teste de selagem a quente (Hot tack) e, além disso, ocorreu também uma diminuição na força, reduzindo a janela de selagem dos filmes. Dados da literatura mostram que a fração de polímero fundido na temperatura de teste, influência fortemente na força da selagem¹⁰⁰. Considerando que as amostras foram produzidas com o mesmo polietileno, e que as mesmas não apresentaram alteração nas suas propriedades térmicas, como observado nas análises de DSC, este efeito pode ser explicado pela presença dos compostos antimicrobianos na superfície do filme, atuando como impurezas durante a selagem. No teste da selagem a frio (Figura 53) foi observado que a temperatura de selagem se mantém sem alteração, comparada com filme sem antimicrobiano, porém, ocorreu uma leve queda na força de selagem. Visto que nesta temperatura, a área selada não abre e a força medida está correlacionada com as propriedades mecânicas do filme, este efeito pode ser devido, principalmente, a presença de pontos esbranquiçados que podem fragilizar o corpo de prova.

O maior efeito da presença do composto antimicrobiano na selagem a quente pode ser explicado pelo tempo de teste quando comparado a avaliação da selagem a frio, visto que, no menor tempo envolvido no teste de Hot Tack, a presença de compostos de baixa massa molecular ou impurezas na superfície do filme podem ter maior efeito de inibir a migração das cadeias poliméricas¹⁰¹.

Os resultados obtidos nestas avaliações indicam que é possível selar os filmes, porém, em casos de aplicações de empacotamento automático, onde a região da solda é solicitada mecanicamente quando ainda está quente, pode ser necessário utilizar temperaturas mais elevadas, indicando que se deve trabalhar em condições diferenciadas de processamento e envase do produto na indústria de embalagem e alimento (Figura 52 e Figura 53).

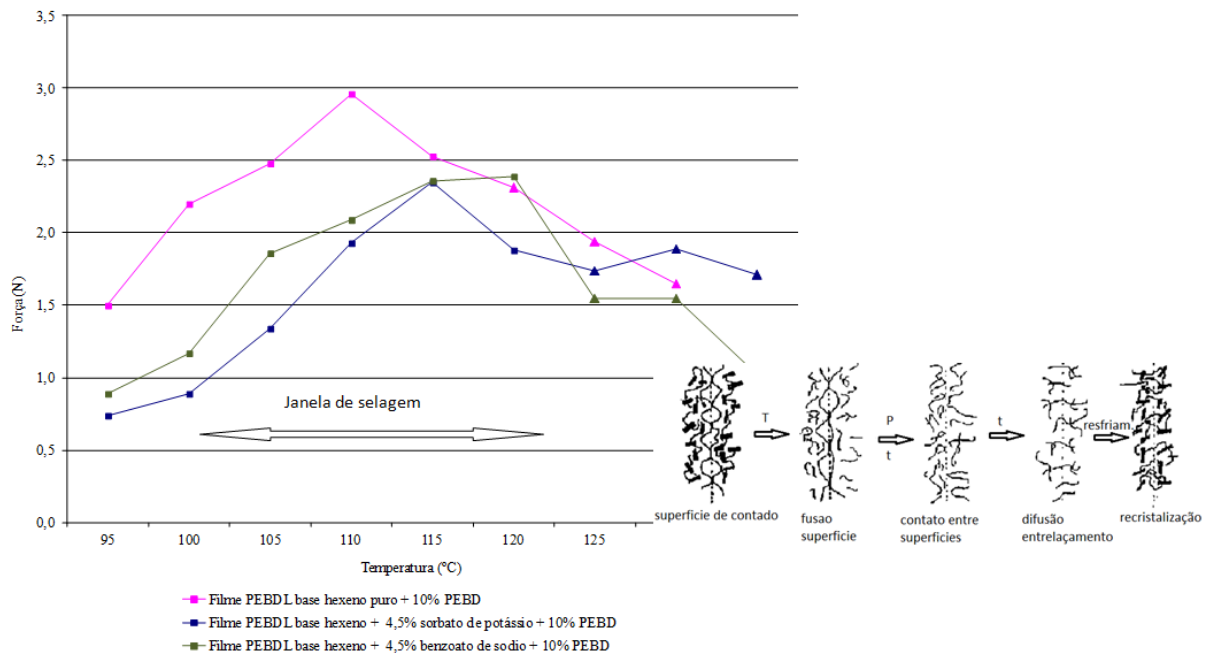


Figura 52: Curva de selagem a quente dos filmes estudados: -■- Filme PELBD base hexeno puro; -■- Filme PELBD base hexeno + 4,5% sorbato de potássio + 10% PEBD; -■- Filme PELBD base hexeno + 4,5% benzoato de sódio + 10% PEBD (-▲- temperatura de selagem do filme)

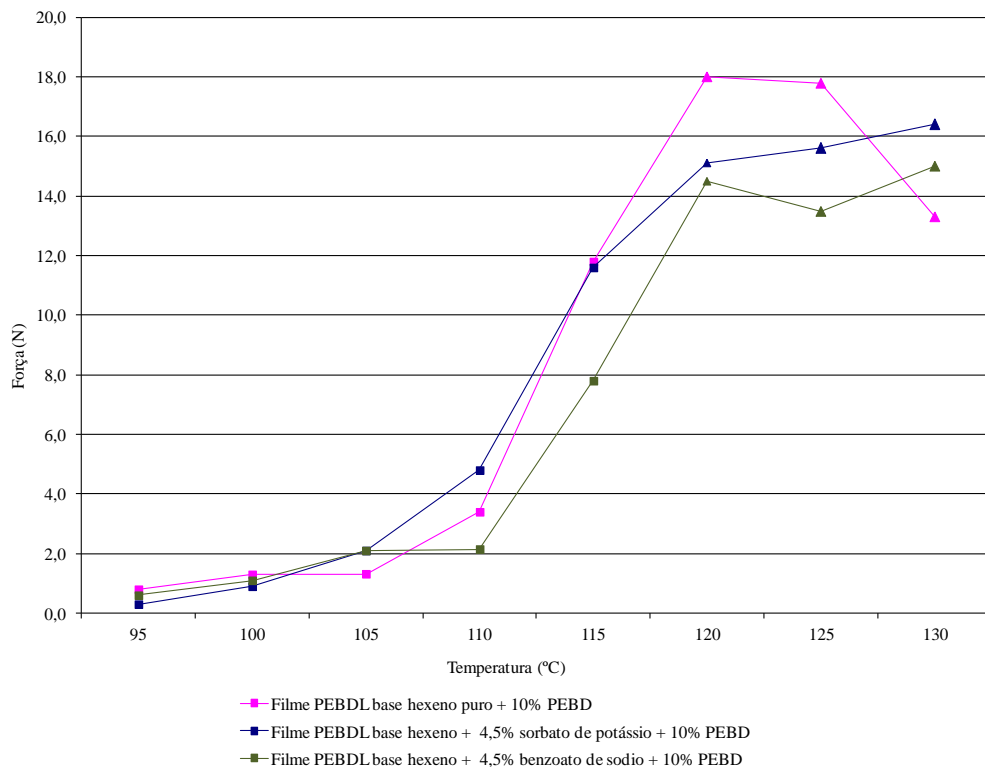


Figura 53: Curva de selagem a frio dos filmes estudados: -■- Filme PELBD base hexeno puro; -■- Filme PELBD base hexeno + 4,5% sorbato de potássio + 10% PEBD; -■- Filme PELBD base hexeno + 4,5% benzoato de sódio + 10% PEBD (-▲- temperatura de selagem do filme)

Assim como avaliado no filme produzido na extrusora de bancada tipo balão, as propriedades de selagem também foram determinadas para o filme produzido na extrusora plana. Neste teste, a análise foi realizada logo após a produção do filme e também, 15 dias após a extrusão, com o objetivo de avaliar o desempenho da selagem a quente com o tempo e observar o efeito da migração do aditivo nesta propriedade. Os resultados mostraram que a migração do composto antimicrobiano promove mudanças nas propriedades de selagem, os dados obtidos mostram ainda que, quanto maior o tempo após a extrusão do filme, maior é o efeito da migração do aditivo, gerando queda na força e maior temperatura de selagem, o que pode ser visto nos resultados do filme analisado após 15 dias de sua extrusão (Figura 54).

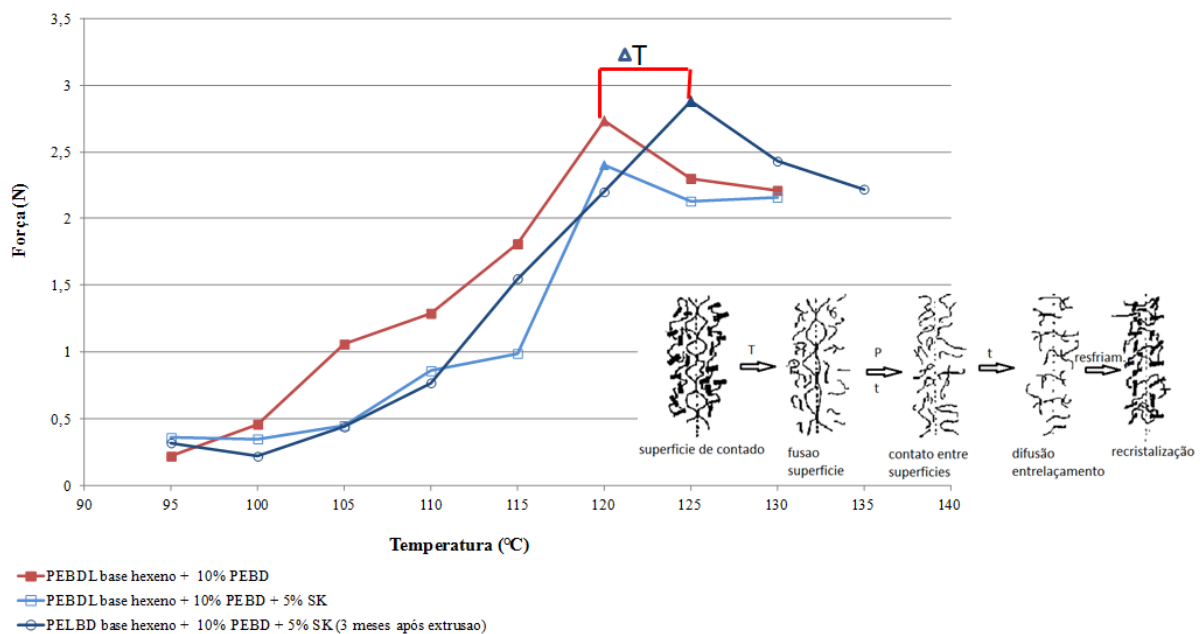


Figura 54: Curva de selagem a quente dos filmes estudados: -■- Filme PELBD base hexeno + 10% PEBD puro; -□- Filme PELBD base hexeno + 10% PEBD + 5% SK; -○- Filme PELBD base hexeno + 10% PEBD + 5% SK (-▲- temperatura de selagem do filme)

5.4 CARACTERIZAÇÃO DOS GRÃOS TESTE 2

Após avaliação de filmes de PELBD base hexeno com sorbato de potássio, benzoato de sódio e acetato de sódio em extrusora de laboratório tipo balão e filme plano, um novo teste foi realizado utilizando PELBD base buteno. O polietileno base foi alterado a fim de realizar um comparativo entre os diferentes grades de polietileno linear de baixa densidade. Visto a variação de espessura do filme obtido em extrusora tubular no primeiro teste, optou-se por processar as amostras do Teste 2 somente em extrusora plana. Além disso, também baseado nos resultados obtidos no Teste 1, optou-se por realizar o Teste 2, somente com sorbato de potássio.

As mesmas análises feitas para o Teste 1 foram realizadas na amostra de PELBD base buteno puro. Considerando que ocorreram perdas dos compostos antimicrobianos durante algumas etapas do processamento, neste teste, foi utilizado 5,5% de sorbato de potássio para produção dos grãos, com posterior diluição em 10% PEBD para processamento dos filmes.

Para a amostra de PELBD base buteno, granulado, não foram observadas mudanças significativas nas temperaturas de cristalização e segunda fusão após adicionar 5,5% de sorbato de potássio. Comportamento semelhante ao observado para as amostras produzidas com PELBD base hexeno (Teste 1) (Tabela 17) e termogramas no ANEXO C.

Tabela 17- Resultados de DSC dos grãos obtidos no Teste 2

Amostra	Tc (°C)	Tm2 (°C)	Entalpia de fusão (J/g)	Cristalinidade (%)
PELBD base buteno puro	112	124	103	36
PELBD base buteno + 5,5% de sorbato de potássio	112	124	107	37

A análise de IF mostrou novamente que o teor de sorbato de potássio utilizado não alterou o comportamento reológico da amostra, o que indica que é possível utilizar as condições de processamento comumente utilizadas para o PELBD base buteno puro (Tabela 18).

Através da análise de FRX foi observado que houve menor perda do sorbato de potássio durante a granulação, quando comparado com os resultados obtidos no Teste 1. Este

efeito pode ser observado pelo teor de sorbato detectado pela técnica (5,2%) comparado ao teor adicionado na granulação (5,5%). Estes resultados se diferenciam de testes publicados na literatura, onde foi adicionando sorbato de potássio em filmes comestíveis também pelo processo de extrusão, utilizando temperaturas de processamento em torno de 125°C. Neste trabalho da literatura, não foi observada perda significativa do composto antimicrobiano durante o processamento, assim como , a sua atividade antimicrobiana^{85,86}.

Tabela 18 - Resultados de IF, densidade e Fluorescência de Raios X das amostras em grãos obtidas no Teste 2

Análises	PELBD base buteno Puro	PELBD base buteno + 5,5% SK*
Índice de Fluidez (190°C/160Kg) (g/10 min)	2,48 ± 0	2,42 ± 0,01
Densidade (g/cm ³)	0,9205 ± 0,0001	0,9338 ± 0,0002
Fluorescência de RX (ppm e % peso)	0ppm de potássio	5,2% SK

*SK = sorbato de potássio

Após granulação da amostra gerada no Teste 2, foi realizada uma avaliação da migração do sorbato de potássio nos grãos, visto a possibilidade de perda do composto antimicrobiano durante a armazenagem. O teste foi realizado em água, devido a boa solubilidade do sorbato de potássio neste solvente. Desta forma, todo o composto migrado para a superfície do grão, pôde ser solubilizado na água e a concentração medida por análise de UV-Vis. Os resultados obtidos mostraram que não ocorre migração do sorbato de potássio para a superfície do grão durante o período analisado (29 dias após extrusão), dessa forma, pode-se garantir que durante a logística de produção das amostras, até o período de extrusão dos filmes, o composto antimicrobiano não será perdido.

5.5 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES TESTE 2

Os filmes obtidos no Teste 2 foram caracterizados quanto às propriedades térmicas, migração do composto antimicrobiano e propriedades físicas e mecânicas.

Os resultados apresentados na Tabela 19 e termogramas a seguir (Figura 55 a Figura 58) mostraram que tanto a amostra controle (sem AM), quanto a amostra com SK, apresentou um pico a 111°C, característico da cristalização do polietileno e um pico a 124°C, característico da fusão do PELBD. Também foi observada a presença de um ombro em aproximadamente 110°C, característico da fusão do PEBD adicionado no processamento dos filmes. Estes resultados mostram que a adição de sorbato de potássio não interferiu nas temperaturas de fusão e cristalização do polietileno, no entanto, a cristalinidade foi levemente diminuída, assim como observado com o PELBD base hexeno utilizado no Teste 1.

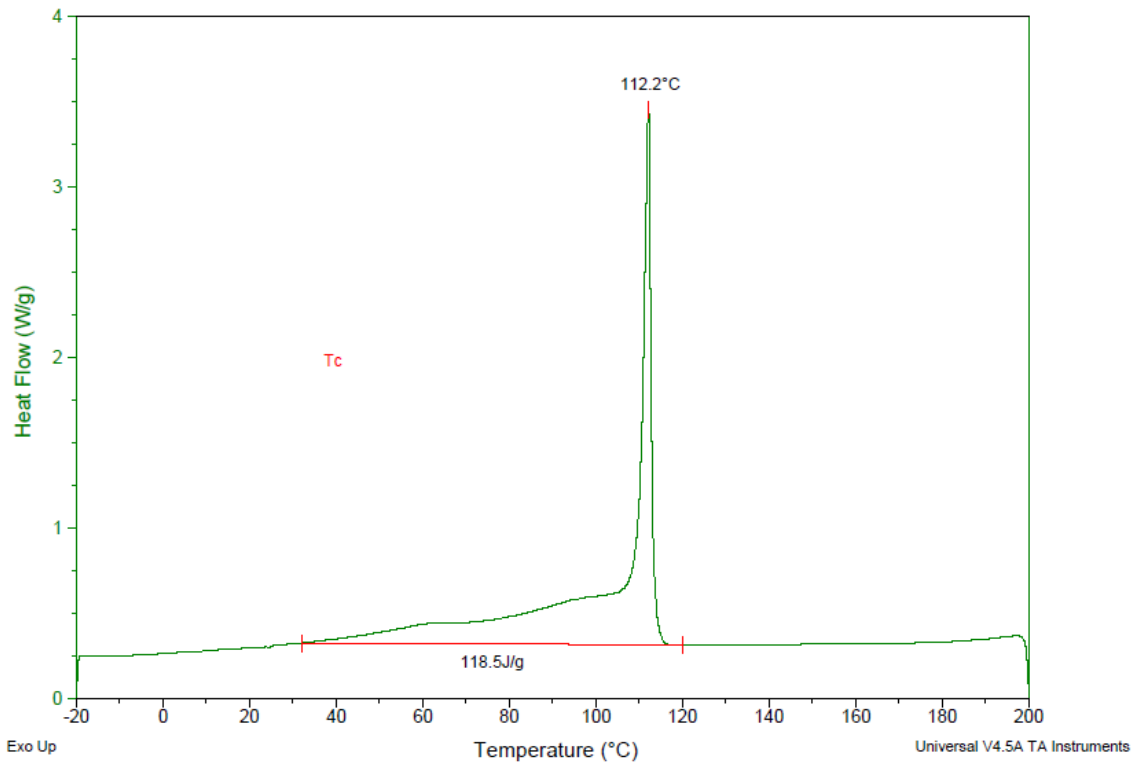


Figura 55: Termograma de cristalização da amostra filme controle – Teste 2: PELBD base buteno puro + 10% PEBD

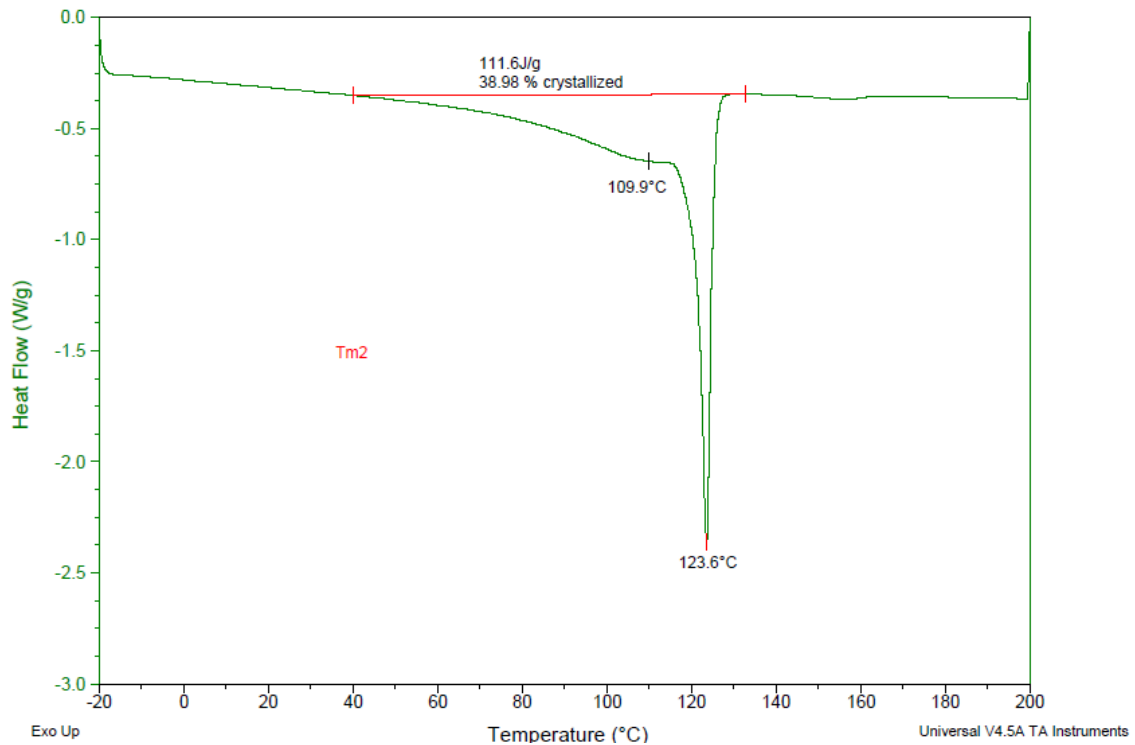


Figura 56: Termograma de fusão da amostra filme controle – Teste 2: PELBD base buteno puro + 10% PEBD

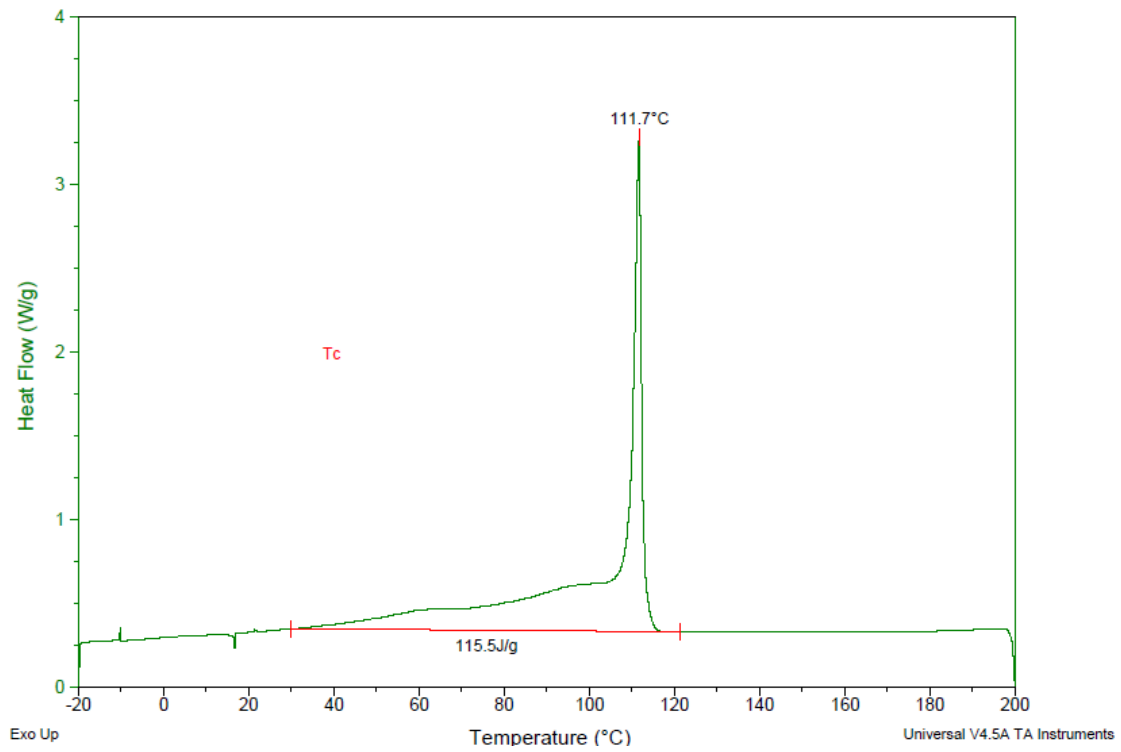


Figura 57: Termograma de cristalização da amostra em filme com sorbato de potássio – Teste 2 - PELBD base buteno + 5% de SK + 10% PEBD

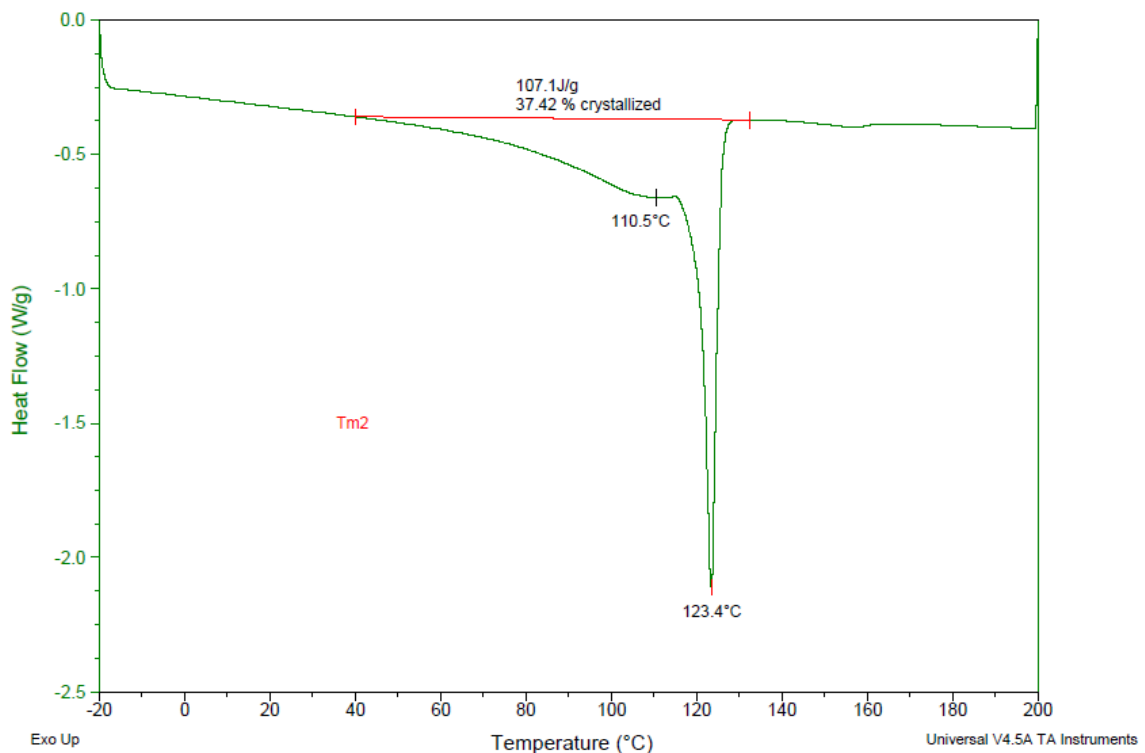
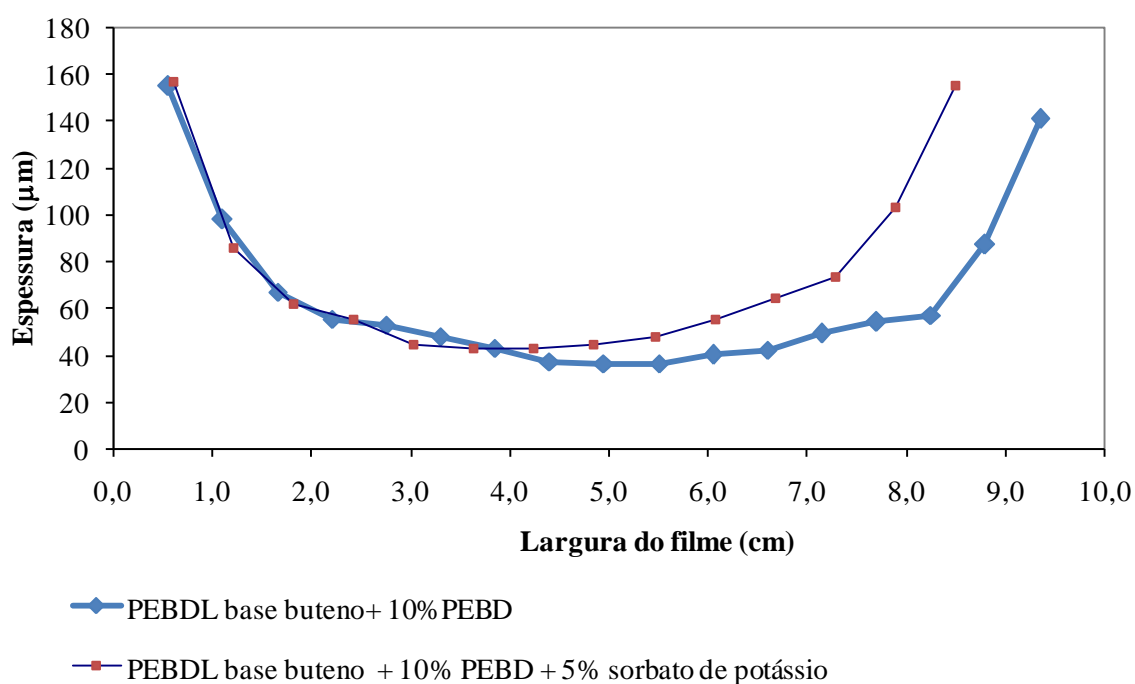


Figura 58: Termograma de fusão da amostra em filme com sorbato de potássio – Teste 2: PELBD base buteno + 5% de SK + 10% PEBD

Tabela 19 - Resultados de DSC (10°C/min em N₂)

Amostra	Tc (°C)	Tm2 (°C)	Entalpia de fusão (J/g)	Cristalinidade (%)
PELBD base buteno puro + 10% PELBD	112	110/124	112	39
PELBD base buteno + 5% de sorbato de potássio + 10% PELBD	112	110/123	107	37

Além das propriedades térmicas, outras caracterizações foram realizadas visando um estudo mais detalhado dos filmes e das variáveis envolvidas no uso de antimicrobianos. A avaliação da migração do sorbato de potássio para a superfície do filme depende de vários fatores, dentre eles, a espessura do filme. Por esta razão, foi determinada a variação de espessura dos filmes ao longo da sua largura (Figura 59). Esta avaliação, mostrou que o filme plano obtido no Teste 2, apresenta maior espessura nas bordas do filme, sendo menor na parte central. Sendo assim, as demais avaliações foram realizadas sempre na parte mais central do filme, onde a espessura se manteve mais homogênea.

**Figura 59: Distribuição de espessura dos filmes obtidos no Teste 2 – avaliação realizada ao longo da largura do filme**

Através da análise de FRX foi observada pequena perda do composto antimicrobiano durante a extrusão do filme produzido no teste 2, assim como observado no filme produzido com PELBD base hexeno. Este efeito pode ser confirmado comparando os resultados obtidos e o teor de sorbato de potássio adicionado, sendo observado que ocorrem perdas a cada etapa de processamento da amostra (granulação e processamento do filme) correspondente a 10% do valor adicionado na formulação (Tabela 20).

Tabela 20 - Resultados de Fluorescência de Raios X do filme produzido no teste 2

Amostra	Concentração do elemento (ppm)	Provável composto e concentração
PELBD base buteno puro + 10% PEBD	~0	---
PELBD base buteno + 10% PEBD + 5% SK	13.060	Sorbato de potássio: 5%

Assim como na amostra do Teste 1, foi observado visualmente a presença de alguns pontos esbranquiçados nos filmes obtidos. Através da análise de pontos esbranquiçados por microscopia ótica, observa-se que durante o aquecimento da amostra, o filme funde em aproximadamente 130 – 135°C e o gel permanece sem fundir até a temperatura de 300°C (Figura 60 b e Figura 60c). Também foi observado que o gel permanece inalterado mesmo após recristalização do filme (Figura 60 d e Figura 60 e), mostrando novamente, que o sorbato de potássio se apresenta disperso em forma de aglomerados.

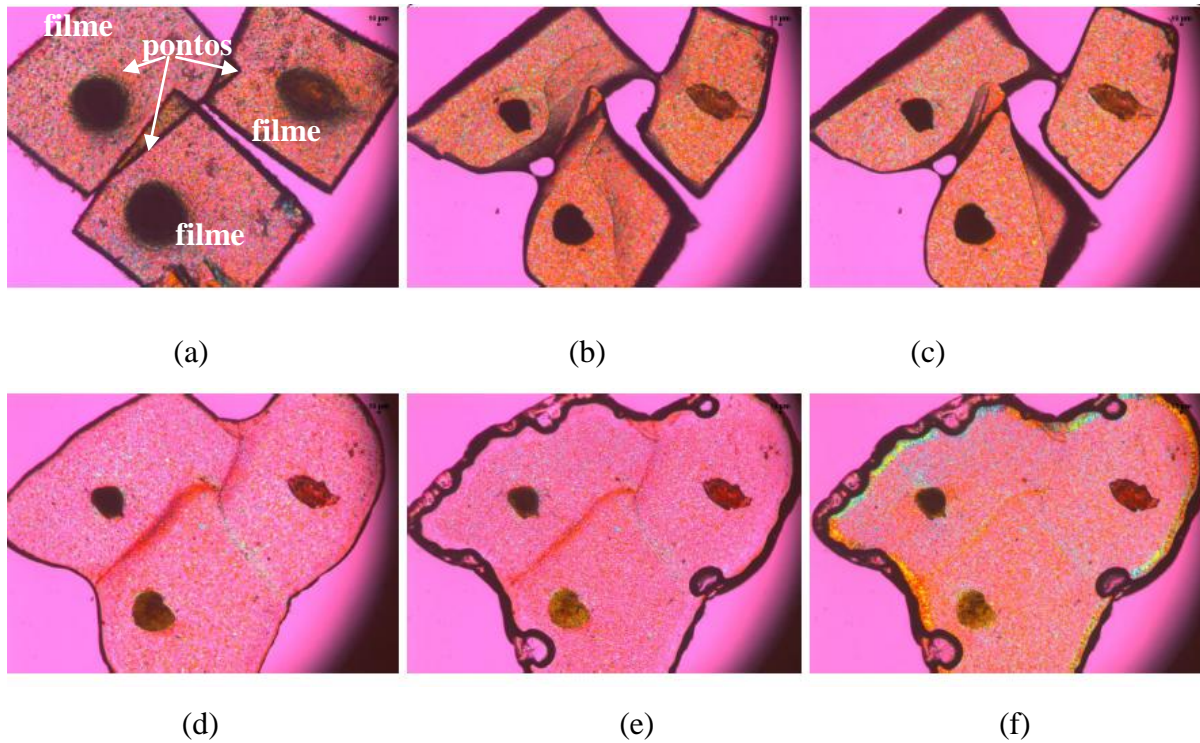


Figura 60: Micrografias óticas do gel do filme de PELBD base buteno + 5% de Sorbato de potássio +10% PEBD a diferentes temperaturas: (a) Filme contendo gel, micrografia obtida na temperatura ambiente; (b) 130 – 135°C etapa de aquecimento – filme fundido e gel permanece inalterado; (c) Filme e pontos esbranquiçados a 300°C; (d) 115°C etapa de recrsitalização; (e) temperatura ambiente após recristalização do filme – luz transmitida polarizada e lente de 100X

Os pontos esbranquiçados presentes no filme produzido no Teste 2 também foram analisados em estéreomicroscópio a fim de avaliar sua forma e possível formação de microfuros gerados pelos pontos esbranquiçados de maior tamanho. Os resultados obtidos indicaram a ausência de microfuros, mas presença de espaços vazios ao redor das partículas maiores de sorbato de potássio, comprovando que este composto se apresenta na forma de aglomerados como sugerido anteriormente (Figura 61).

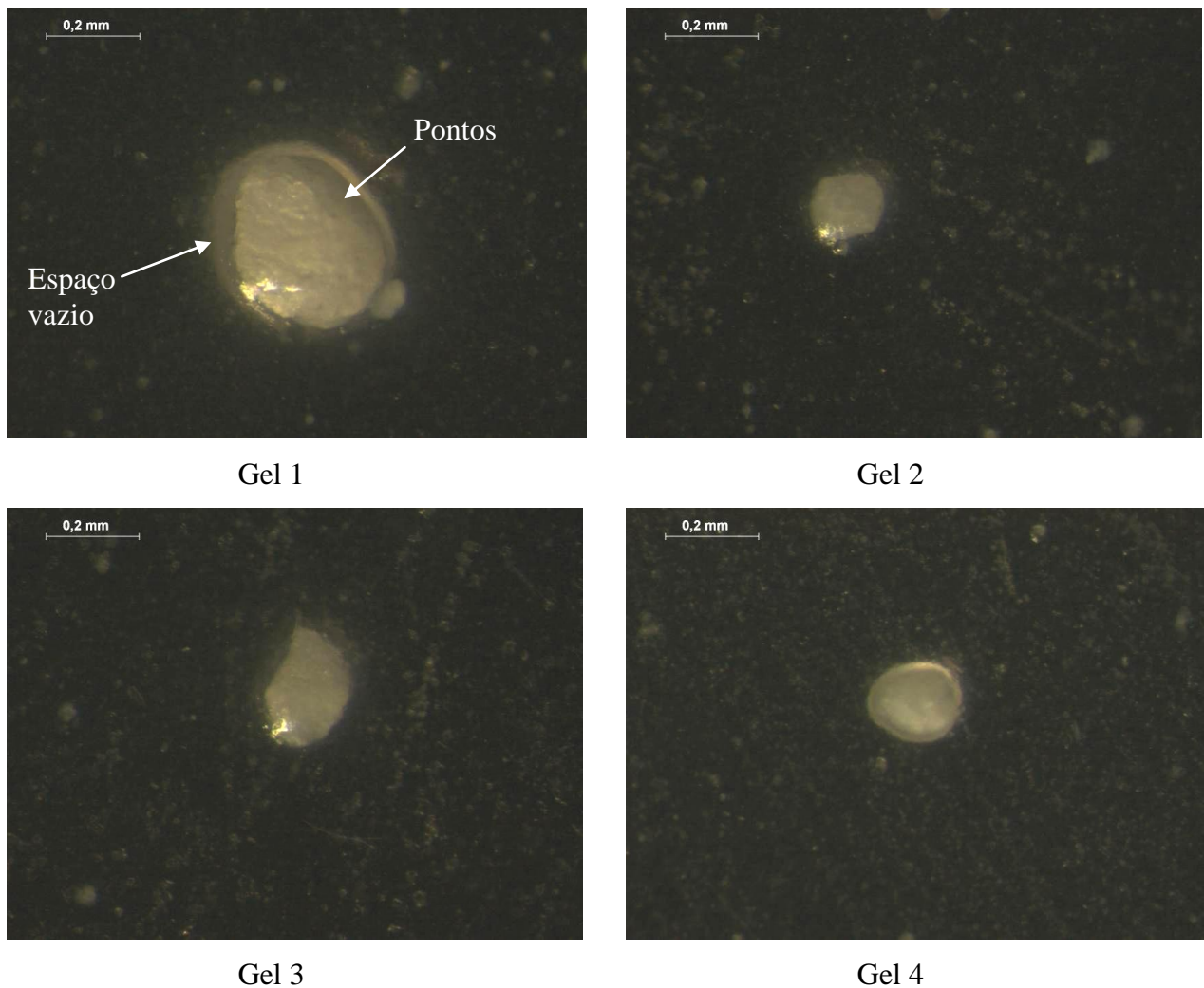


Figura 61: Micrografias obtidas via estéreomicroscópio do filme produzido no Teste 2 - PELBD base buteno + 5% SK + 10% PEBD (análise de 4 pontos esbranquiçados)

Com o objetivo de diminuir e/ou eliminar a formação de pontos esbranquiçados observados acima, as amostras foram reprocessadas em um segundo passo de granulação, antes da etapa de produção de novos filmes. Neste teste foram gerados 2 filmes: um, a partir de amostra granulada e outro, a partir de amostra regranulada, sendo que a amostra regranulada trata-se de grãos que passaram 2 vezes pelo processo de granulação na extrusora dupla rosca. Durante a produção dos filmes na extrusora plana, foi realizada uma contagem do número pontos esbranquiçados presentes e também foi avaliada a qualidade destes pontos esbranquiçados. Os resultados obtidos mostraram que o número e o tamanho dos pontos esbranquiçados formados foram minimizados com o processo de regranulação, porém não foi possível a sua eliminação total. Também foi observado que apesar de realizada a regranulação das amostras, os filmes com sorbato de potássio apresentam um teor muito elevado de pontos

esbranquiçados quando comparado com o filme controle. A Tabela 21 mostra que no filme obtido a partir da amostra regranulada, onde se espera melhor mistura dos componentes (polímero e composto antimicrobiano), o número de pontos esbranquiçados, tipo A (ponta de flecha) foi menor. Além disso, também foi possível diminuir o número de pontos esbranquiçados tipo B (ponta de alfinete), os quais se caracterizam por serem imperfeições arredondadas, uniformemente dispersas e numerosas, causando uma aparência granulosa ao filme. Os aglomerados de sorbato de potássio, observados pela análise de microscopia ótica, poderiam causar este tipo de gel.

Tabela 21 - 2 Resultados de análise de pontos esbranquiçados nos filmes obtidos com amostras granuladas e regranuladas. Avaliação realizada durante processamento do filme com leitor ótico OCS

Amostra	Gel tipo A*	Gel tipo B*	Gel tipo C*	Gel tipo D*
PELBD base buteno + 5% SK + 10% PEBD - (granulado)	31141	1204	1	0
PELBD base buteno + 5% SK + 10% PEBD - (regranulado)	7540	280	0	0

Amostra considerada referência: 150 / 5 / 0 / 0 (dados internos do laboratório de controle de qualidade Braskem)

*ver seção experimental

Após esta caracterização, a migração do sorbato de potássio do filme obtido no Teste 2 foi acompanhada por análise FTIR/ATR (Figura 62). Os resultados mostraram comportamento semelhante ao observado para o filme de PE base hexeno, onde a migração do sorbato ocorre, chegando atingir um nível máximo; diminuindo sua migração depois de certo intervalo de tempo. Esta diminuição pode ser devido a perda do SK pelo manuseio da amostra durante o experimento. No caso do filme produzido no Teste 2, foi observado que o máximo de migração em 15 dias após a extrusão, ocorrendo uma diminuição na migração após este período, o que pode ser observado pela diminuição na área do pico referente ao sorbato de potássio (Figura 63).

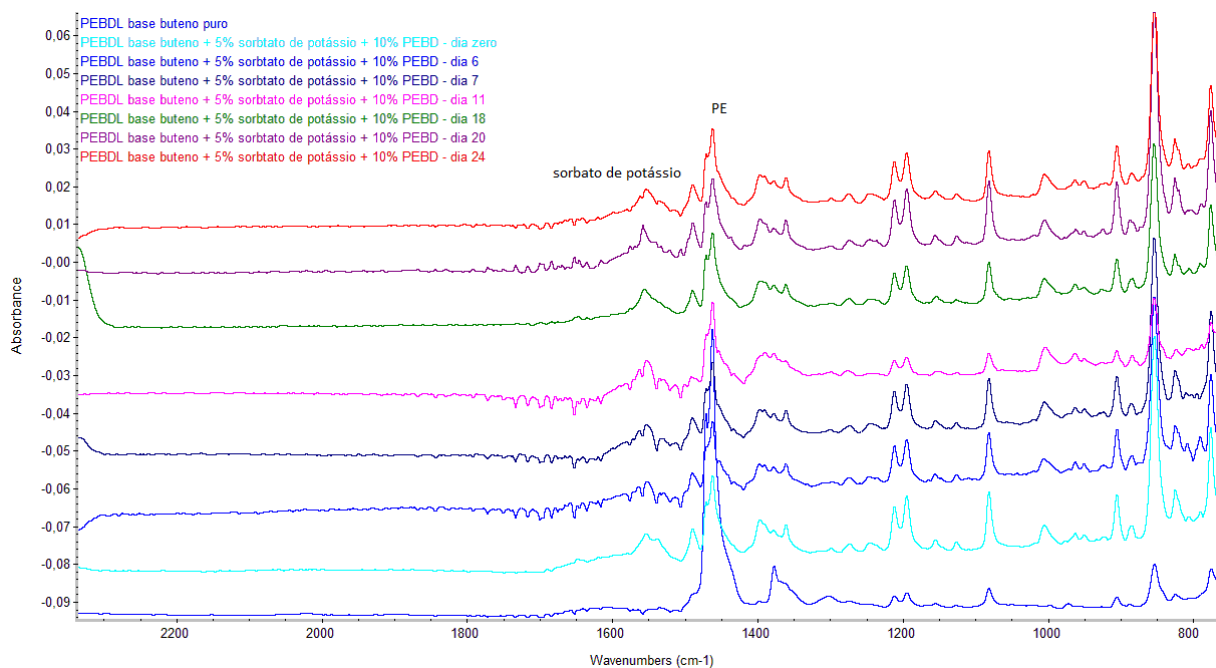


Figura 62: Sobreposição dos espectros de FTIR/ATR do filme de PELBD base buteno + 5% sorbato de potássio + 10% PEBD – variação com o tempo após extrusão do filme

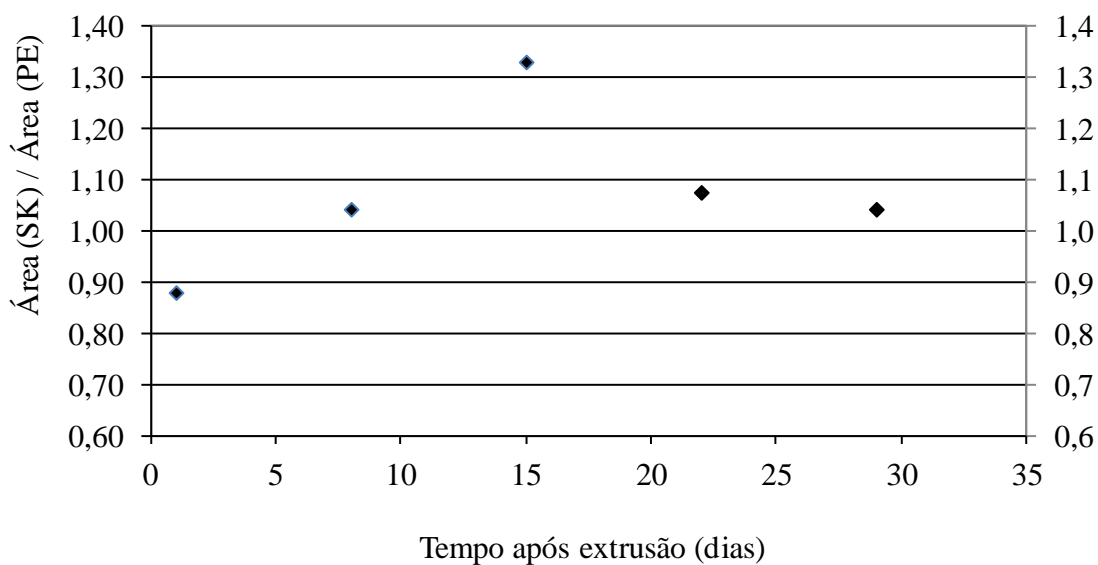


Figura 63: Migração do sorbato de potássio no filme PELBD base buteno + 5% sorbato de potássio + 10% PEBD – dia zero até 35 dias após a extrusão.

Para avaliar a possibilidade de perda do composto antimicrobiano da superfície do filme, testes de migração em água foram realizados a fim de complementar os resultados obtidos por FTIR/ATR.

Após processamento do filme foi realizada uma avaliação da migração do sorbato de potássio em água, contida dentro dos saquinhos de PELBD base buteno, através do espectrofotômetro UV-Vis para quantificação do teor de sorbato de potássio migrado para o simulante conforme estudos da literatura ⁶⁶. Desta forma, o composto que migrou para superfície interna da embalagem, é solubilizado na água e sua concentração medida pela técnica de UV-Vis. Assim como realizado no filme de PELBD base hexeno, o efeito do tratamento superficial do filme também foi avaliado. Este trabalho foi realizado, visto que muitos estudos são publicados na literatura ^{66,70} mostrando a migração do composto antimicrobiano para a superfície do filme, atingindo um máximo, próximo ao valor total de composto adicionado, porém, estes trabalhos utilizam filmes base biopolímeros e poucos estudos mostram avaliação da migração, em filmes de polietileno, sendo este o material mais comumente utilizado na indústria de embalagens. Além disso, não foram encontrados na literatura, trabalhos com filmes de polietileno com esta avaliação feita em tal profundidade.

A Figura 64 mostra o perfil de migração do composto antimicrobiano em água, para ambos os filmes (base hexeno e base buteno). Os resultados obtidos com os filmes em estudo mostraram que ocorre migração do sorbato de potássio durante o período analisado (60 dias após extrusão), apresentando um máximo entre 15 e 20 dias após o processamento do filme, assim como observado pela técnica de FTIR/ATR. Após este período, a migração atinge um patamar, apresentando um máximo de migração de 0,026mg de SK/ mL.

Comparativamente, o filme de PELBD base buteno (teste 2), apresentou perfil de migração do sorbato de potássio, no que se refere a atingir um valor constante após determinado tempo, semelhante ao observado para o filme PELBD base hexeno (teste 1). No entanto, a migração inicial do SK indica ser maior no filme base buteno comparado ao filme base hexeno. Este comportamento pode ser explicado pelo maior volume da região amorfa do filme de polietileno base hexeno, visto o maior comonomero presente (hexeno x buteno).

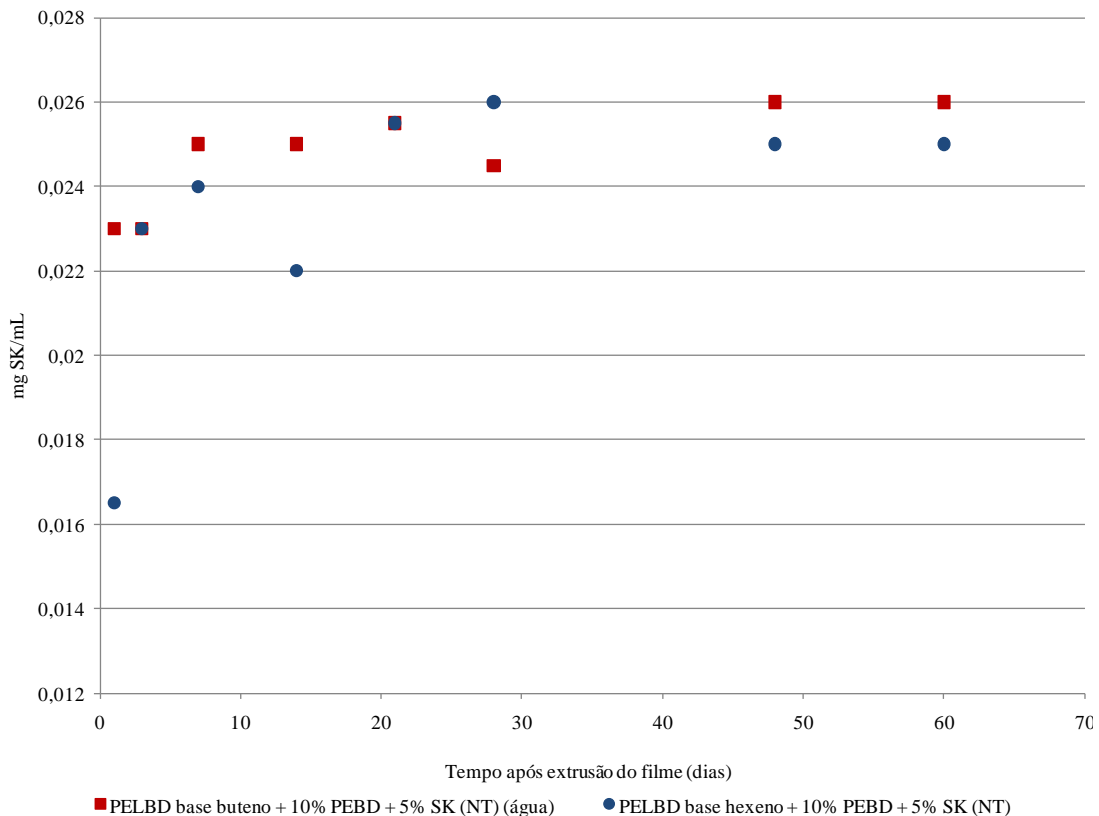


Figura 64: Migração do sorbato de potássio em água a temperatura ambiente – embalagem: saquinhos de 8 cm² contendo 50 mL de água. Comparativo entre o filme de PELBD base buteno + 10% PEBD + 5% SK e PELBD base hexeno + 10% PEBD + 5% SK

Considerando-se os resultados obtidos no teste de migração, com filme base buteno, e comparando-se aos grãos desta mesma amostra, a diferença no comportamento de migração dos filmes, em relação ao observado para os grãos (em que não houve migração), pode ser explicado, provavelmente, pela diferença de área superficial em contato com o simulante. Esta avaliação foi feita, considerando-se que os grãos apresentam uma forma cilíndrica, sendo sua área superficial calculada em aproximadamente 16 cm² e comparada à área superficial dos sacos, calculada em aproximadamente 200 cm², sendo que ambas as amostras (grão e saquinho) apresentam massa aproximada de 1g.

O teste de migração no filme base buteno, com e sem tratamento superficial, mostrou que a presença de grupos polares na superfície do filme, não influencia na migração inicial do SK no caso do filme base buteno (Figura 65).

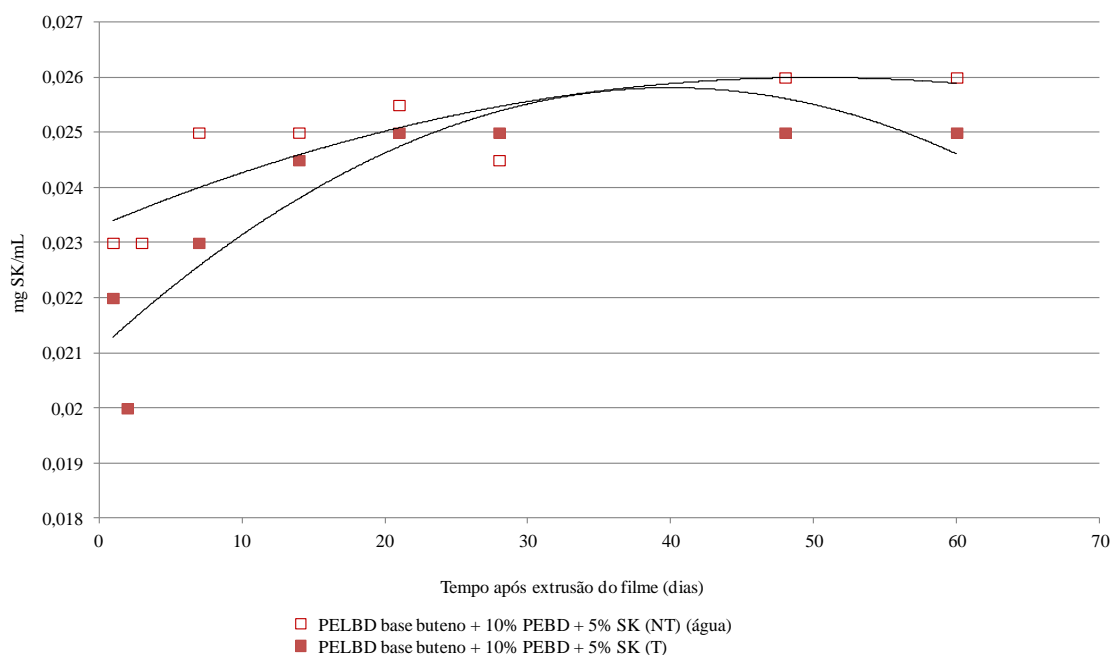


Figura 65: Migração do sorbato de potássio em água a temperatura ambiente – embalagem: saquinhos de 8 cm² contendo 50 mL de água – lado tratado externo à embalagem. Comparativo entre o filme de PELBD base buteno + 10% PEBD + 5% SK com e sem tratamento.

Além do perfil de migração do sorbato de potássio em água, a influência do simulante também deve ser considerada, visto que, dependendo do produto embalado, é necessário avaliar a migração em simulantes diferentes^{102,103}. Sendo assim, foi realizada análise de migração do composto antimicrobiano em uma mistura de 95% v/v de etanol e 5% de água. Esta mistura foi escolhida pela disponibilidade no laboratório. Os resultados obtidos mostraram que para o simulante etanol/água, a migração é mais lenta nos primeiros 10 dias de teste, porém o perfil de migração não foi influenciado pelo tipo de simulante nas condições testadas (Figura 66). Estes resultados mostram que dependendo do tipo de alimento a ser embalado, a velocidade de migração inicial no filme pode ser alterada e refletir num desempenho inferior quanto a conservação do alimento durante a aplicação.

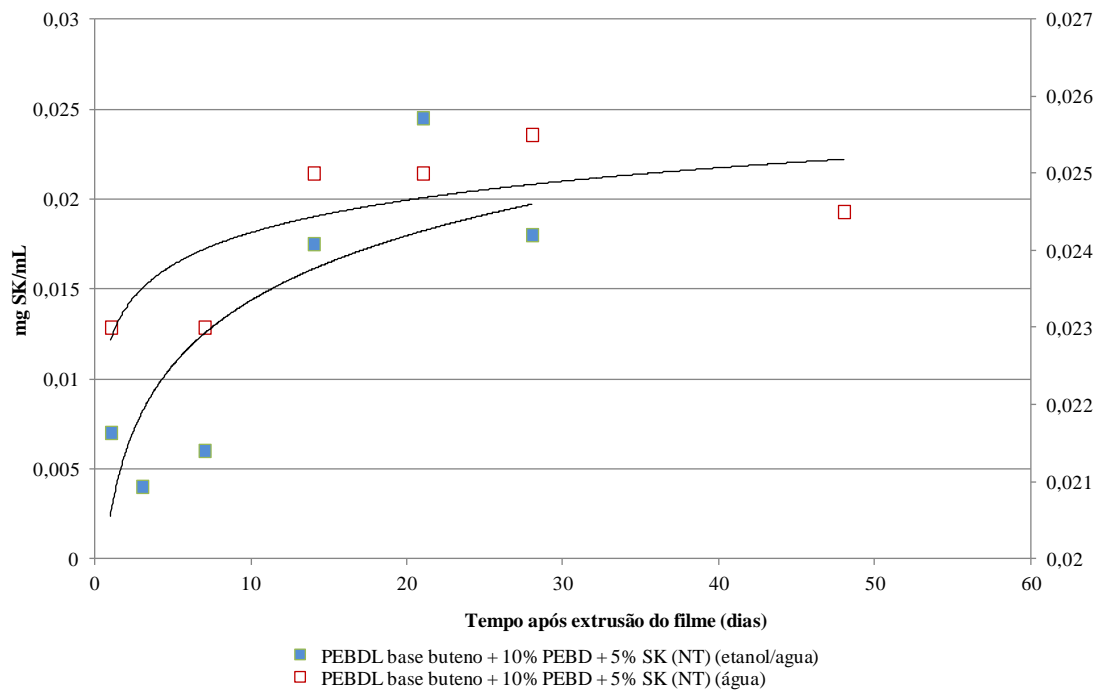
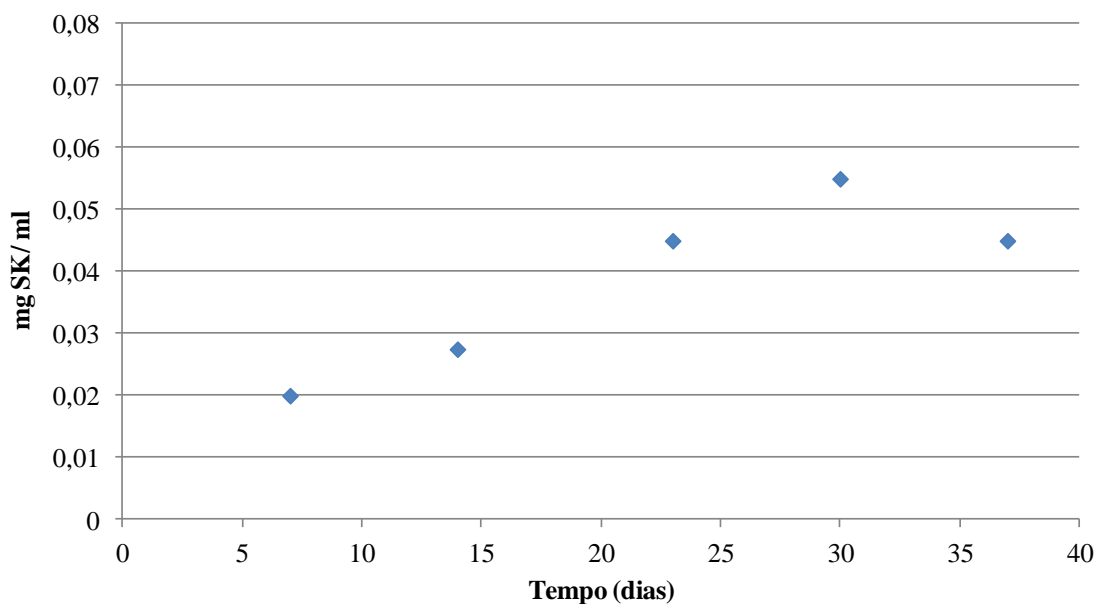


Figura 66: Migração do sorbato de potássio em água e etanol/água a temperatura ambiente – embalagem: saquinhos de 8 cm² contendo 50 mL de água. Comparativo entre o filme de PELBD base buteno + 10% PEBD + 5% SK com e sem tratamento.

Os ensaios de migração realizados mostraram que as amostras apresentam um aumento da migração do sorbato de potássio com o tempo, atingindo um patamar, no limite da curva de calibração. Para uma avaliação mais detalhada destes resultados, a forma do pico de absorção no UV-Vis foi avaliada em função do aumento de concentração da solução. No estudo com os saquinhos, foi observada uma absorção única em 252 nm, conforme determinado no início do trabalho, porém a partir de uma determinada concentração, o formato da banda se torna mais larga, sem mudança significativa na absorbância máxima, comportamento que poderia explicar o patamar observado na Figura 64 e Figura 65. Estes resultados indicam que por limitação da curva de calibração construída não foi possível detectar o máximo de migração do sorbato de potássio nos testes anteriores. Dessa forma, novo teste de migração em sacos foi realizado, a fim de determinar o teor máximo de SK migrado dos filmes. Esta avaliação foi feita através da diluição da solução do teste de migração antes da leitura no UV-Vis (diluição 1:5). Assim o efeito de alargamento da banda de absorção, em função do aumento da concentração do SK na solução, pôde ser eliminado. Considerando que a curva de calibração construída para o SK apresenta limitação em concentrações mais altas, ou seja, a partir da segunda semana de contato filme/água, os

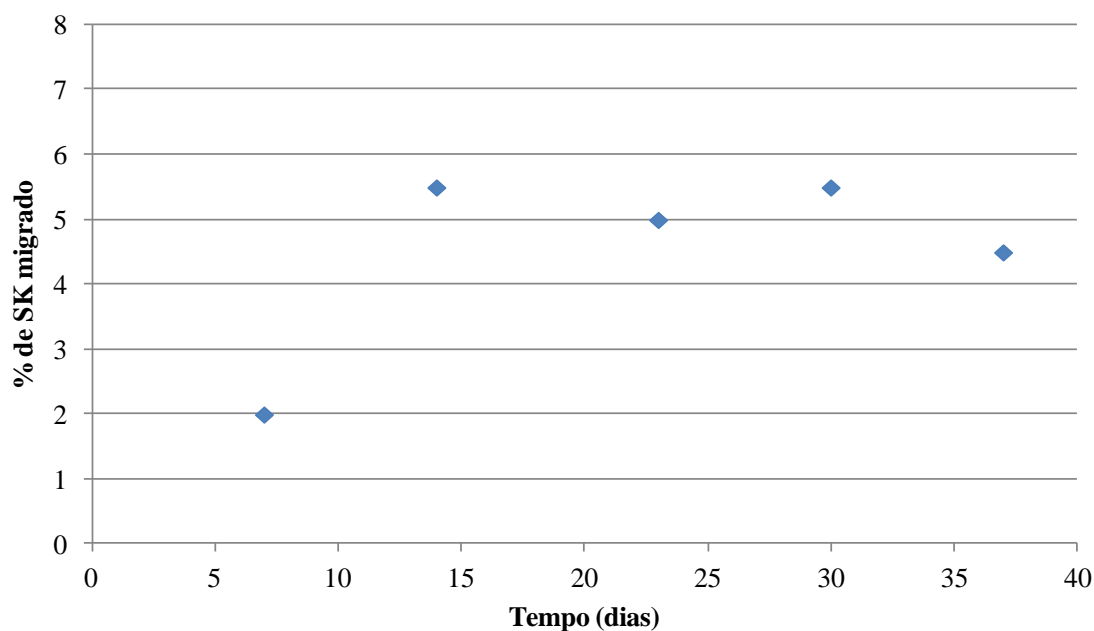
resultados e conclusões obtidas nas avaliações anteriores são válidos, visto que as diferenças mencionadas anteriormente foram observadas nos primeiros dias de teste.

A Figura 67 apresenta o percentual de SK migrado em relação ao teor presente no filme mostra os resultados obtidos para o filme PELBD base buteno + 10% PEBD + 5% SK. Observa-se o aumento da migração do SK com o tempo, atingindo-se o valor de aproximadamente 0,06 mg/mL após 30 dias de teste, o que corresponde a 5-6% do SK disponível para migrar do filme. Estes resultados diferem de dados da literatura, onde compostos antimicrobianos são liberados rapidamente da matriz de polímeros como quitosana, alginatos e acetato de celulose, além de apresentar uma liberação quase completa, este efeito pode ser explicado pela hidrofobicidade destas matrizes facilitando a migração do para água^{66,70}. O comportamento observado para os filmes em estudo neste trabalho podem explicar a baixa atividade microbiológica observada nos testes com bactérias e fungos. Contudo, este resultado é similar ao observado no estudo realizado por outros autores⁷⁸.



◆ PEBDL base buteno + 5% SK + 10% PEBD

(a)



◆ PEBDL base buteno + 5%SK = PEBD

(b)

Figura 67: Migração do sorbato de potássio em água a temperatura ambiente – embalagem: saquinhos de 8 cm² contendo 50 mL de água. Perfil de migração do filme de PELBD base buteno + 10% PEBD + 5% SK (a) mg de SK/mL de água e (b) % de SK que migra do teor total SK disponível para migrar na amostra analisada.

Considerando que a avaliação do filme em contato com queijo foi conduzida por 21 dias, os resultados de migração mostram que menos de 6% do sorbato disponível para migrar, poderia chegar a superfície do alimento, ou seja, menos de 0,06mg/mL. Dados da literatura mostram que o SK possui atividade antimicrobiana contra fungos na faixa de 0,5mg/mL, e podem, então, confirmar o motivo da baixa atividade microbiológica observada nos testes realizados, somado ao fato de que o composto antimicrobiano não ficou completamente e homogeneamente disperso, conforme observado pela presença dos pontos nos filmes.

Assim como realizado nos filmes obtidos no Teste 1 (base hexeno), as propriedades mecânicas dos filmes de PELBD base buteno com e sem SK foram determinadas a partir de corpos de prova obtidos da parte central do filme, a fim de evitar a maior variação de espessura.

Os resultados obtidos na avaliação das propriedades de tensão e deformação dos filmes mostraram que, considerando o desvio obtido para cada medida, a adição do SK no polietileno base buteno não influenciou nas medidas de tensão de escoamento e ruptura assim como no alongamento no escoamento e na ruptura dos corpos de prova avaliados na direção de processamento dos filmes (DM – direção de máquina) (Figura 68 a Figura 71). Os resultados obtidos mostraram que a resistência a tração do filme, não foi influenciada com a adição do composto antimicrobiano, assim como observado nos filmes produzidos com PELBD base hexeno. Estes resultados indicam que o sorbato de potássio permanece possivelmente nas regiões amorfas do polímero, não interferindo nos cristais de polietileno⁴², o que também foi verificado pelos resultados de DSC, onde não foram observadas diferenças significativas nos termogramas de fusão pela adição do sorbato de potássio.

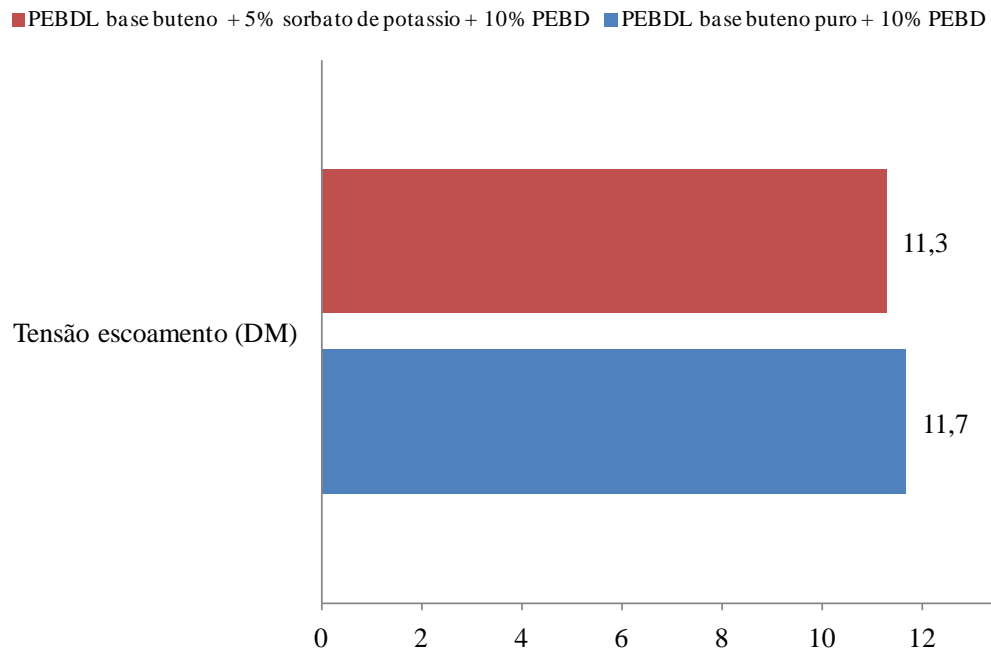


Figura 68: Resultados do teste de tração dos filmes estudados – Tensão no escoamento – espessura média do filme sem composto antimicrobiano ~50 micra; com composto antimicrobiano ~60 micra

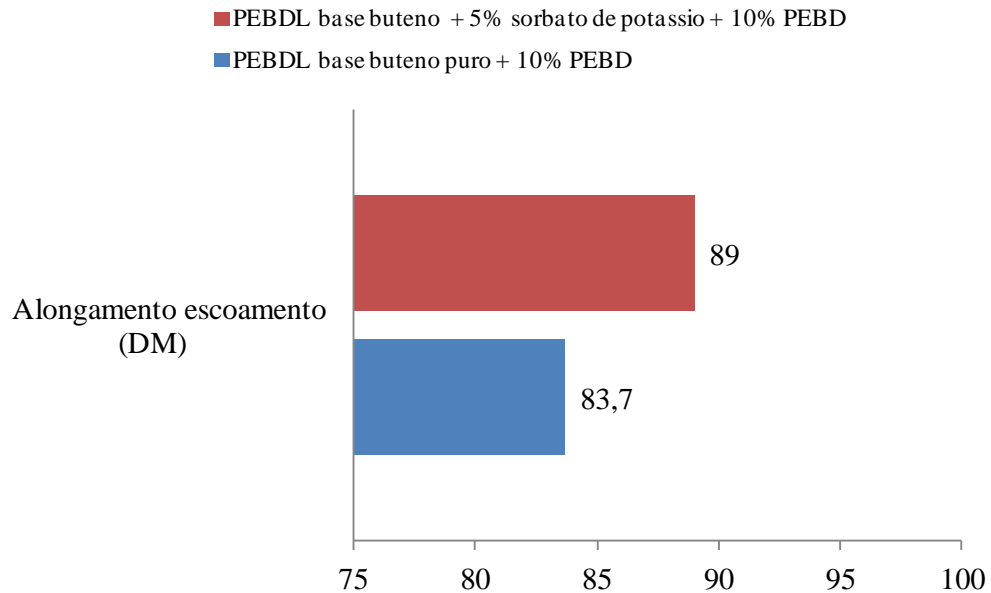


Figura 69: Resultados do teste de tração dos filmes estudados – Alongamento no escoamento – espessura média do filme sem composto antimicrobiano ~50 micra; com composto antimicrobiano ~60 micra

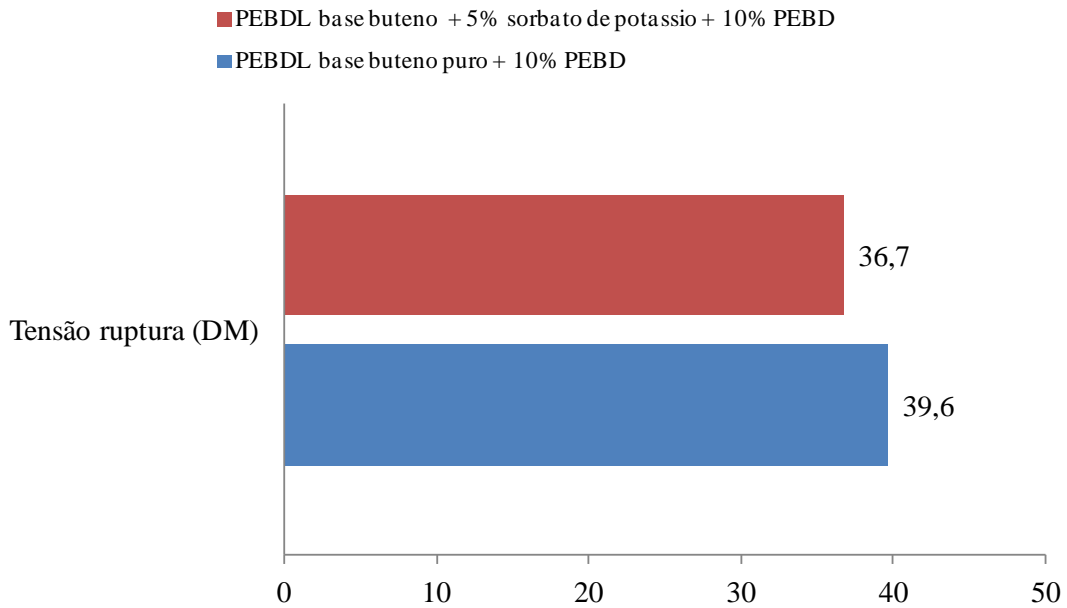


Figura 70: Resultados do teste de tração dos filmes estudados – Tensão de ruptura – espessura média do filme sem composto antimicrobiano ~50 micra; com composto antimicrobiano ~60 micra

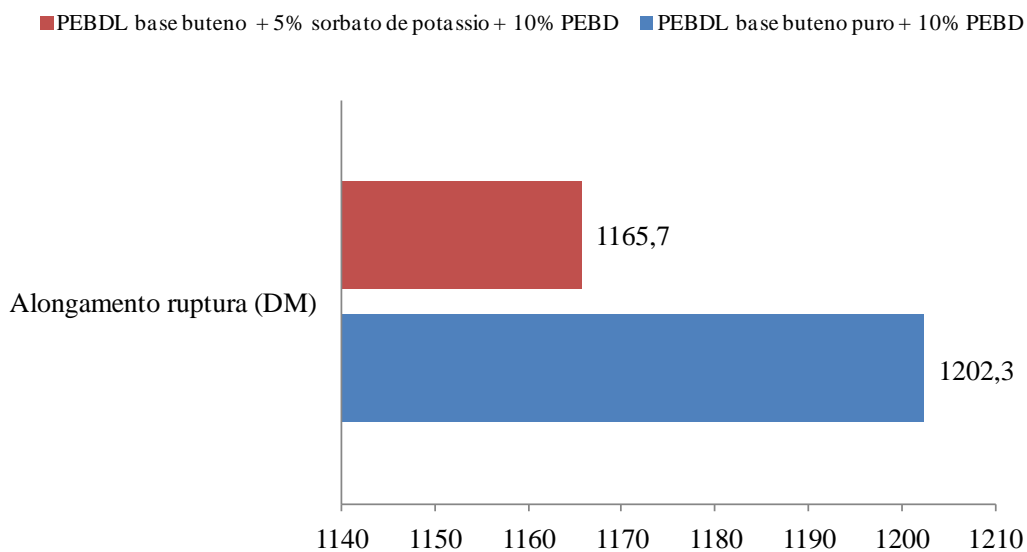


Figura 71: Resultados do teste de tração dos filmes estudados – Alongamento na ruptura – espessura média do filme sem composto antimicrobiano ~50 micra; com composto antimicrobiano ~60 micra

Os resultados obtidos no teste de Resistência a Perfuração mostraram que a adição do sorbato de potássio ocasionou uma queda no valor de energia total, que mede a energia absorvida pelo material até a ruptura do filme (Figura 72 a Figura 74).

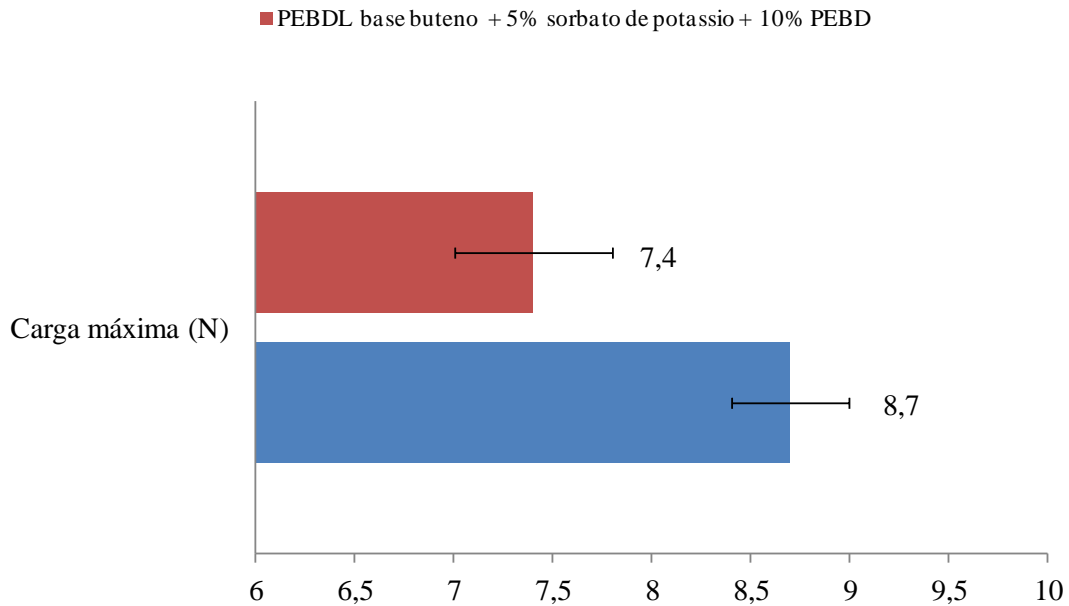


Figura 72: Resultados do teste de Resistência a perfuração do filme – Carga máxima – espessura média do filme sem composto antimicrobiano ~50 micra; com composto antimicrobiano ~60 micra

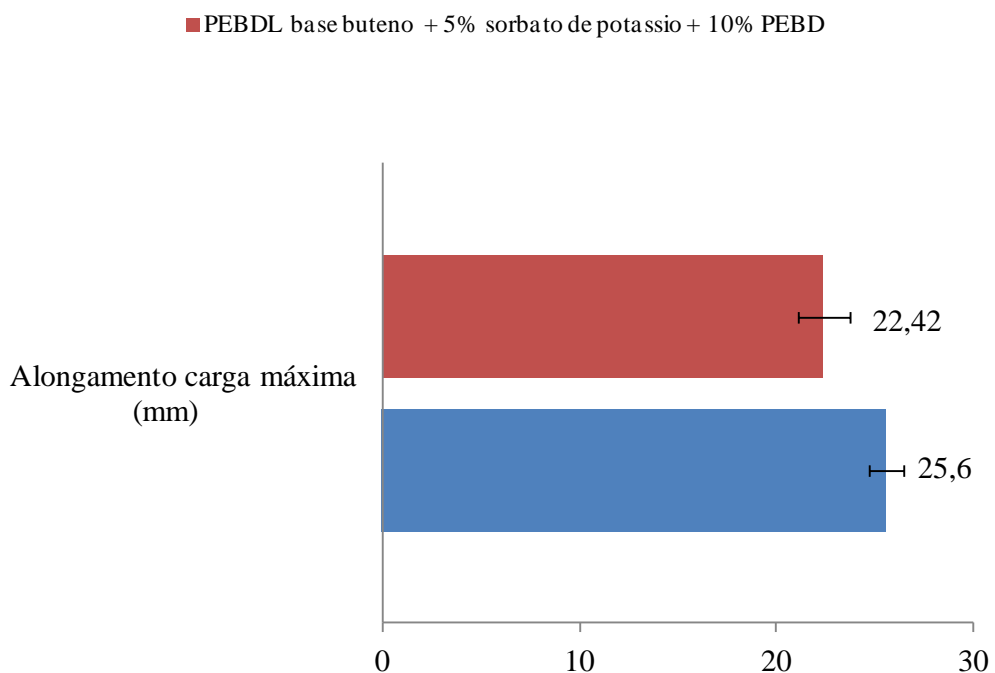


Figura 73: Resultados do teste de resistência a perfuração do filme – Alongamento na carga máxima – espessura média do filme sem composto antimicrobiano ~50 micra; com composto antimicrobiano ~60 micra

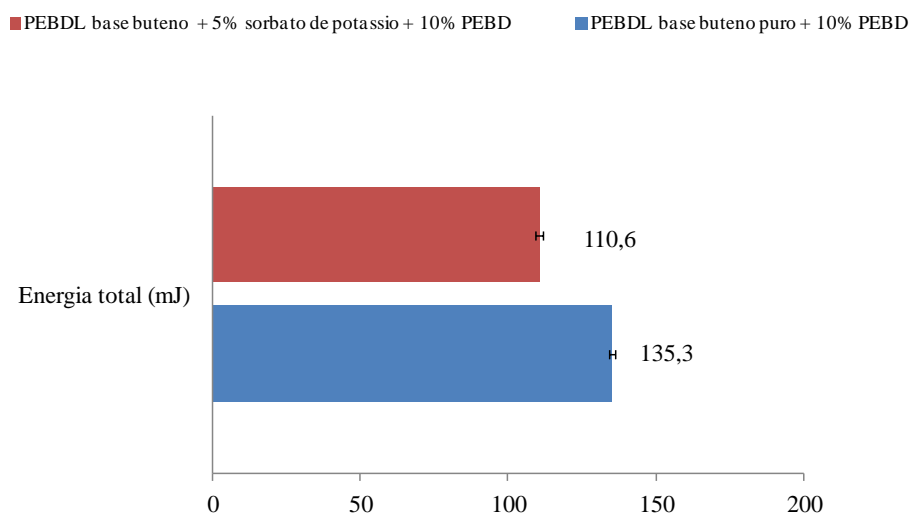


Figura 74: Resultados do teste de Resistência a perfuração do filme – Energia total – espessura média do filme sem composto antimicrobiano ~50 micra; com composto antimicrobiano ~60 micra.

A resistência da solda dos filmes produzidos no teste 2 foi analisada a fim de avaliar a influência do sorbato presente na superfície durante a selagem. Os resultados obtidos para o filme base hexeno (Teste 1) mostraram maior variação na resistência da selagem quando avaliada a quente do que na solda a frio, por esta razão, o filme obtido no Teste 2, base buteno, foi avaliado somente com relação a esta propriedade (selagem a quente). A Figura 75 apresenta a curva de selagem para os filmes PELBD base buteno puro e base buteno contendo sorbato de potássio. Assim como observado no Teste 1, a amostra contendo sorbato de potássio apresentou menor força de selagem, conseqüentemente menor janela de selagem. Além disso, quanto maior o tempo após o processamento do filme maior a influência da migração do sorbato de potássio na força de solda, sendo verificado também, maior temperatura de selagem para o filme avaliado após 3 meses do seu processamento. Este comportamento mostra que o sorbato de potássio presente na superfície do filme, atua como uma impureza na área a ser selada, conforme observado nas amostras do Teste 1.

O maior efeito da presença do sorbato de potássio na selagem, observado para o PELBD base buteno (teste 2) quando comparado ao PELBD base hexeno (teste 1), pode ser atribuído ao tipo de comonômero presente nestes polímeros, visto que, quanto maior o comonômero, melhor são suas propriedades de selagem¹⁰⁴.

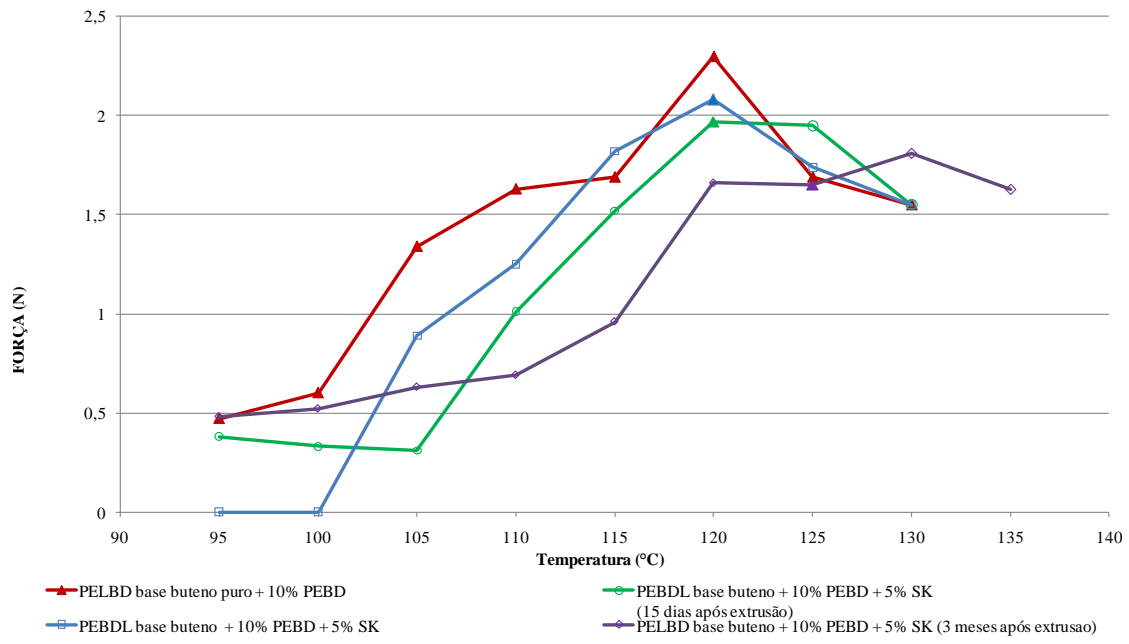


Figura 75: Curva de selagem a quente dos filmes estudados

6 CONCLUSÕES

Neste trabalho foram produzidos filmes ativos base polietileno linear de baixa densidade com diferentes comonômeros (buteno ou hexeno). Os compostos antimicrobianos estudados, benzoato de sódio e sorbato de potássio, foram escolhidos com base nas suas propriedades térmicas e possibilidade de mistura e produção de filmes, sendo descartados o uso de timol e citrato de sódio por não apresentarem estabilidade térmica e o acetato de sódio devido a dificuldade de processamento dos filmes. As amostras produzidas foram caracterizadas e avaliadas quanto sua ação antimicrobiana. Os filmes contendo 4,5% p/p de sorbato de potássio ou benzoato de sódio apresentaram baixa atividade antimicrobiana contra fungos e bactérias de pão e queijo, nas condições avaliadas. Testes de migração dos filmes em água mostraram baixa migração do sorbato de potássio, sendo que o máximo de migração foi atingido apenas após 21 dias de avaliação, alcançando 5% do teor total presente no filme. Este comportamento pode explicar a baixa eficiência dos filmes como antimicrobianos.

Este trabalho investigou a influência da adição de compostos, como sorbato de potássio e benzoato de sódio, que atuam pelo processo de migração, nas propriedades finais do filme. Nenhuma variação expressiva foi observada, entretanto a selabilidade das embalagens diminui devido a migração dos filmes para a superfície.

Foi constatado que para o desenvolvimento de uma embalagem ativa devem ser considerados fatores como velocidade de migração, tipo de composto antimicrobiano *versus* alimento, possibilidade de degradação e/ou perda do composto antimicrobiano durante o processamento, como mencionado em vários trabalhos da literatura, porém, outros fatores como os listados abaixo, também devem ser mapeados e apresentam crucial importância:

- dispersão do composto antimicrobiano no filme, gerando pontos esbranquiçados (aglomerados), que podem afetar a avaliação visual do filme, assim como suas propriedades mecânicas (resistência a punctura) e também a migração deste composto, influenciando diretamente na atividade antimicrobiana dos filmes;
- efeito do tratamento superficial do filme na migração do composto antimicrobiano;
- efeito da presença de composto antimicrobiano na superfície do filme nas propriedades de selagem, o quê pode interferir na integridade de embalagem.

REFERÊNCIAS

-
- ¹ Yam, K.L.; Takahistov, P.T; Miltz,J.; *Concise Review in Food Science*, 2004
- ² Kruijf , N.; van Beest, M.D; *Encyclopedia of Agricultural, Food and Biological Engineering*; Marcel Dekker Inc, NY, 2003, p 5.
- ³ Bonilla, A.M; Fernandez, M.; *Progress in Polymer Science*, 2012, 37, 281.
- ⁴ Ozdemir, M.; Flooros, J.D; *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 2004, 44, 185.
- ⁵ Rooney, M.L; *Active food packaging, "Overview of Active Food Packaging"*; Blackie Glasgow, UK, 1995, p-1
- ⁶ Restuccia, D., et al, *Food Control*, 21, 2010, 1425.
- ⁷ Jong A.R; Boumans H., Slaghek T.; Van Veen J.; Rijk R.; Van Zandvoort M.; *Food Additives and Contaminants*,2005, 22(10), 975
- ⁸ Coma, V.; *Meat Science*, 2008, 78, 90
- ⁹ Floros, J.D; Lise L. D.; Han J.H; *Food, Cosmetic and drug Packaging*; 1997, 10
- ¹⁰ Longowski, H.C; Goldan, G.; *Kunststoffe Plast Europe* 5, 2003
- ¹¹ Poças, M.F; *Novel Processes and Control Technologies in the Food Industry*, 2001, 338, 197
- ¹² Ahvenainen R., Hurme, E.; *Food Additives and Contaminants*, 1997, 14, 753
- ¹³ Dicastillo,C>L; Estaca, J.G; Gavara, R.C.R; Muñoz,P>H; *Food Chemistry*, 2012, 131, 1376
- ¹⁴ Hodgson,S.C; R. J. Casey; Bigger,S.; *Polymer – Plastics Technology and Engeneering*, 2002, 41, 5, 795
- ¹⁵ Thorbjorn A.; Nielsen, T; Wesslén,B. *Journal of Applied Polymer Science*, 2005, 95, 847
- ¹⁶ Coles R.; McDowell, D.; Kirwan, M.J; *Food Packaging Technology*, Blackwell Publishing CRC Press, Oxford, 2003, p 41
- ¹⁷ Rocha, A.M.P; *Controle de fungos durante a maturação de queijo minas padrão*, Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil (2004)
- ¹⁸ Legan, J.D. ; Voysey, P.A.; *Journal of Applied Bacteriology*, 1991, 70, 361
- ¹⁹ Quintavala,S.; Vicini,L.; *Meat Science*, 2003, 62, 3, 373
- ²⁰ *Food Additives and Contaminants*, 2002, 19 , 163
- ²¹ Appendinia,P.; Hotchkiss, J.H; *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2002, 3,113
- ²² Ahvenainen, R.; *Novel food packaging techniques*, Ed CRC Press, New York , 2003, p 5

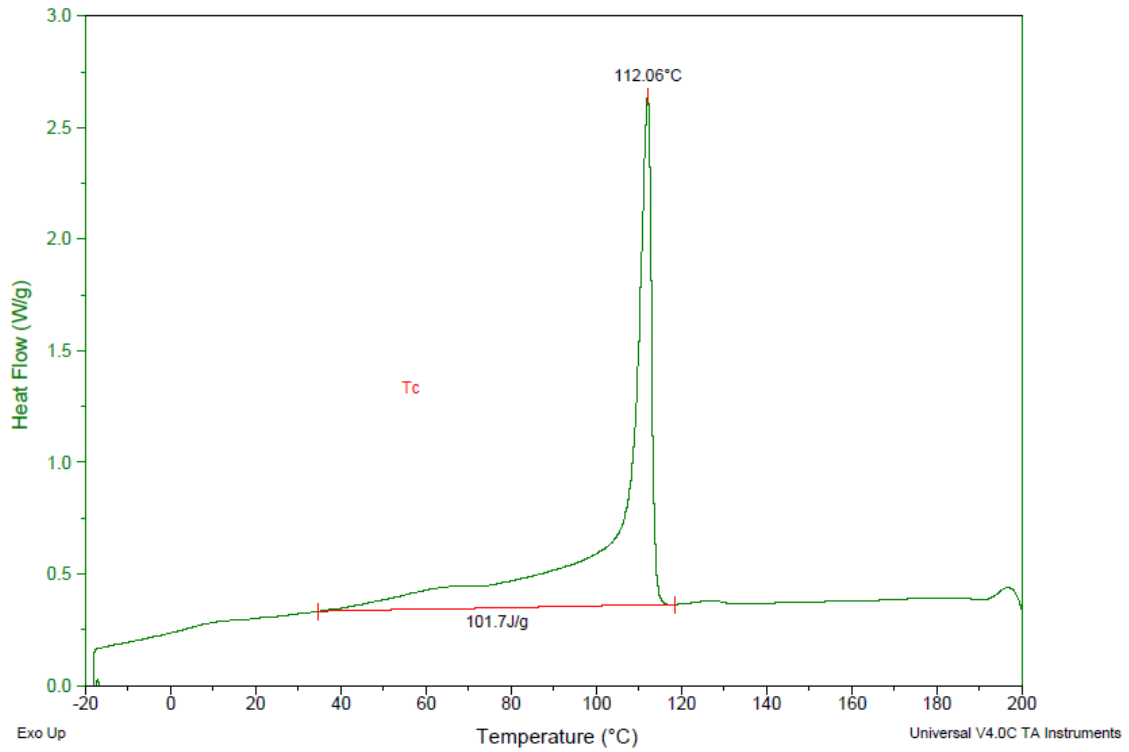
-
- ²³ Goddard J.M; Hotchkiss J.H; *Progress in Polymer Science*, 2007, 32, 698.
- ²⁴ Goddard J.M; Hotchkiss J.H; *Journal of Applied Polymer Science*, 2008, 108, 2940
- ²⁵ Conte, A.; Buonocore, G.G; Sinigaglia, M.; Del.Nobile, M.A; *Journal of Food Engeneeing*, 2007, 78, 741
- ²⁶ Buonocore,G.G; Conte, A.; Corbo, M.R; Sinigaglia, S.; Del Nobile, M.A; *Innovative Food Science and Emerging Technologies*,2005, 6, 459
- ²⁷ Mohammad, R.B; Gang, S.; *Macromolecules*, 2009, 42, 1948
- ²⁸ Mohammad, R.B; Gang, S.; *European Polymer Journal*, 2008, 44, 733
- ²⁹ Lee, J.W; Seok, M.S; Seok-In, H.; *Journal of Food Engineering*, 2008, 86, 484
- ³⁰ Pérez, P.; Regalado, G.; Rodríguez, R.; Barbosa, R.J. R.; Ortega, F.; *Advances in Agricultural and Food Biotechnology*, 2006, 193
- ³¹ Kyung, W. K; Min, J.B; Young-Tec, K.; Kimmel, R.M;Cooksey, K.; Park, S.I; *LWT - Food Science and Technology*, 2011, 44, 565
- ³² Kechichian, V.; Ditchfield, C.; Santos, P.V.; Tadini, C.C; *LWT - Food Science and Technology*, 2010, 43, 1088
- ³³ Begonya, M.; Aymerich, T.; Garriga, M.; Arnau, J.; *Food Control*, 2012
- ³⁴ Conte, A.; Sinigaglia, M.; Del Nobile, M.A; *Journal of Food Protection*,2006, 69, 861
- ³⁵ Goddard, J.M.; Talbert, J.N.; Hotchkiss, J.H.; *Journal of food science*, 2007, 72, E36
- ³⁶ Barbiroli, A.; Bonomi, F.; Capretti, G.; Iametti, S.; Manzoni, M.; Piergiovanni, L.; Rollini, M.; *Food Control*, 2012, 26, 387
- ³⁷ Bonilla, A.M; Garcia,M.F; *Progress in Polymer Science*, 2012, 37, 281
- ³⁸ Anthierens, T.; Billiet, L.; Devlieghere, F.; Du Prez, F.; *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2012, 15, 81
- ³⁹ Cooksey,K.; *Additives for Polymers*, 2001, 6
- ⁴⁰ Higazy, A.; Hashem,M.; ElShafei, A.; Shaker, N.; Hady, M.A.; *Polymers*, 2010, 79, 867
- ⁴¹ Kanatt, S.R.; Chander, R.; Sharma, A.; *Food Chemistry*, 2008, 106, 521
- ⁴² Han, J.H.; *Innovation in Food Packaging*, Elsevier Academic Press, Canadá, 2005, p 10
- ⁴³ Brody, A.L; Strupinsky, E.R; Kline, L.R; *Active Packaging for Food Applications*, CRC Press, Nova York, 2001, p 138
- ⁴⁴ Kubacka, A.; Cerrada, M.L; Serrrano, C.; Garcia, M.F.; Ferrer, M.; Garcia, M.F.; *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2008, 1
- ⁴⁵ Kubacka, A.; Cerrada, M.L.; Serrano, C.; Ferrer,M.; Lunsdorf,H.; Bielecki, P.; Cerrada, M.L; Garcia, M.F; Garcia, M.F; *Nano Letters*, 2007, 7, 2529

-
- ⁴⁶ Deshmukh, R.D.; Composto, R.J; *Chem. Mater.*, 2007, 19, 745
- ⁴⁷ Del Nobile, M.A.; Cannarsi, M.; Altieri, C; Sinigaglia, M.; Flavia, P.; Iacoviello, G.; D'Agostino, R.; *Journal of Food Science*, 2004, 69, E 379
- ⁴⁸ Moura, M.R.; Mattoso, L.H.C.; Zucolotto, V.; *Journal of Food Engineering*, 2012, 109 520
- ⁴⁹ Ramos, R.; Jimenez, A.; Peltzer, M.; Garrigos, M.C.; *Journal of Food Engineering*, 2012, 109, 513
- ⁵⁰ Fandos, E.G.; Dominguez, J.L.; *Food Control*, 2007, 18, 842
- ⁵¹ Lianoua, A.; Geornarasa, I.; Kendallb, P.A.; Scangaa, J.A.; Sofos, J.N.; *Food Microbiology*, 2007, 24, 433
- ⁵² Buonocore, G.G.; Sinigaglia, M.; Corbo, M.R.; Bevilacqua, A.; Del Nobile, M.A.; *Journal of food protection*, 2004, 67, 1190
- ⁵³ Castañón, X.; Argai, A.; Mhalo, A.L.; *Food Science and Technology International*, 1999, 5, 51
- ⁵⁴ Pranoto, Y.; Rakshit, S.K; Shalokhe, V.M; *LWT – Food Science and Technology*, 2005, 38 859
- ⁵⁵ Silveira, M.F.A.; Soares, N.F.F. ; Geraldine, R.M.; Andrade, J.N.; Botrel, D.A.; Gonçalves, M.P.J.; *Food Control*, 2007, 18, 1063
- ⁵⁶ Uz, M.; Altinkaya, S.A.; *LWT - Food Science and Technology* , 2011, 44, 2302
- ⁵⁷ Ozdemir, M.; Floros, J.D.; *Journal of Food Engineering*, 2001, 47, 149
- ⁵⁸ Heirlings, L.; Siro, I.; Devlieghere, F.; Van Bavelx, E.; Coolx, P.; De Meulenaer, B.; Vansantx, E.F.; Debevere, J.; *Food Additives and Contaminants*, 2004, 21, No. 11, 1125
- ⁵⁹ H, H.J.; *Food technology*, 2000, 54, 56
- ⁶⁰ Soares, N.F.F.; Rutishauser, D.; Melo, N.; Cruz, R.S.; Andrade, N.J.; *Packaging Thecnology and science*, 2002, 13, 129
- ⁶¹ Hauser, C.; Wunderlich, J.; *Food Science*, 2011, 1, 197
- ⁶² Ozdemir, M.; Floros, J.D.; *Journal of Food Engineering* , 2001, 47, 149
- ⁶³ Flores, S.; Haedo, A.S. ; Campos, C.; *Eur Food Res Technol*, 2007, 225, 375
- ⁶⁴ Türe H.; Gällstedt, M.; Hedenqvist, M.S.; *Food Research International* , 2012, 45 109
- ⁶⁵ J.H. Choi, J.H. ; Choi, W.Y. ; Chaa, D.S. ; Chinnan, M.J. ; Parka, H.J. ; Lee, D.S. ; Park, J.M.; *LWT - Food Science and Technology*, 2005, 38, 41.
- ⁶⁶ Yoshida, C.M.P.; Bastos, C.E.N.; Franco; T.T; *LWT - Food Science and Technology*, 2010, 43, 584
- ⁶⁷ Shen, X.L.; Wu, J.M.; Chen, .; Zhao, G.; *Food Hydrocolloids*, 2010, 24, 285

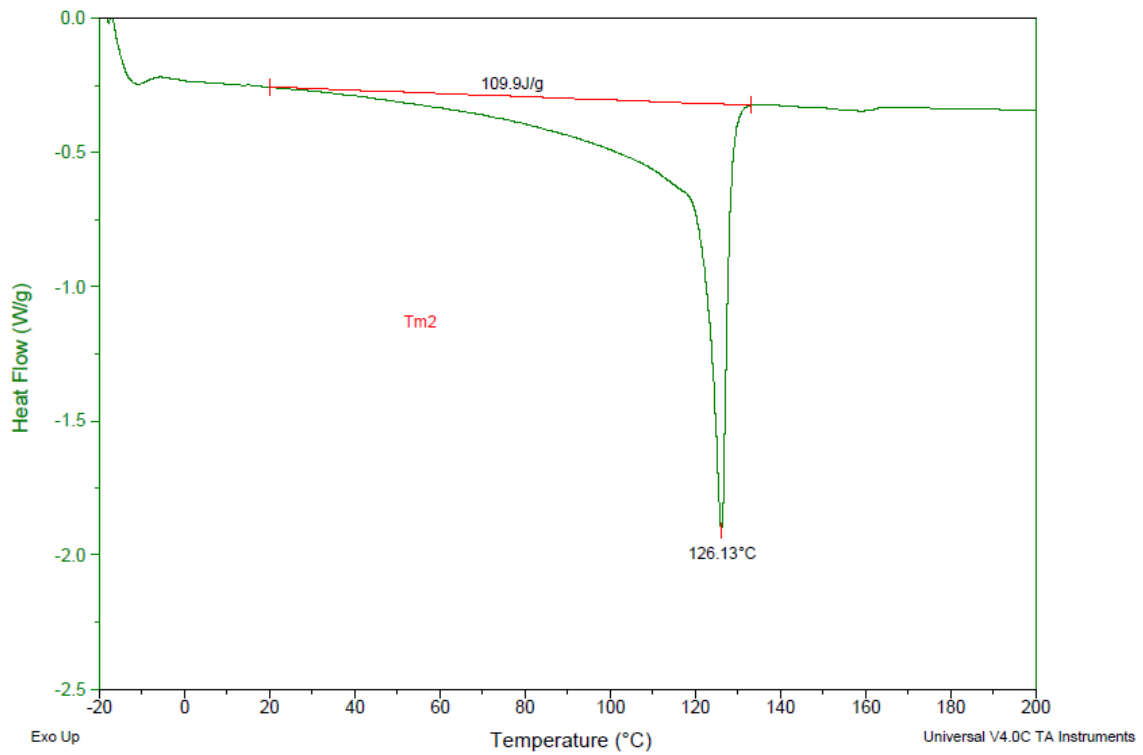
-
- ⁶⁸ Gould, G.W, *Microbial Inhibitors in foods*, almquist&wiksell, Stokholm, 1964, p 17
- ⁶⁹ Jay, J.M.; *Modern food microbiology 7 ed*, Artmed, 2005, p 280
- ⁷⁰ Turbiani, F.R.; Kieckbusch, T.; Gimenes, M.; *Polímeros Ciência e Tecnologia*, 2011, 21, 175
- ⁷¹ Narasimhan, B.; Judge, V.; Narang, R.; Ohlan, R.; Ohlan, S.; *Bioorganic and Medicinal chemistry letters*, 2007, 17, 5836
- ⁷² Drosinos, E. H. ; Mataragas, M.; Kampani, A.; Kritikos, D.; Metaxopoulos, I.; *Meat Science* , 2006, 73, 75
- ⁷³ Sallam, K.I.; *Food Control* , 2007, 18, 566
- ⁷⁴ www.codexalimentarius.net (acesso em 15 de setembro de 2011)
- ⁷⁵ Sofos, J. N., Busta, F. F. *Sorbic acid and sorbates*, In P. M. Davis, & A. L. Branen (Eds.), *Antimicrobials in foods*, New York, p 49
- ⁷⁶ Stopforth, J.D.; Sofos, J.N.; Busta, F.F.; *Antimicrobials in Food*; Taylor & Francis Group, LLC; 2005
- ⁷⁷ Floros, J.H.; Floros, J.D.; *Journal of Plastic film and sheeting*, 1997,13, 287
- ⁷⁸ Devliegherea, F.; Vermeiren, L.; Bockstal, A.; Debevere, J.; *Acta Alimentaria*, 2000, 29 (2), 137
- ⁷⁹ Conte, A.; Buonocore, G.G.; Bevilacqua, A.; Sinigaglia, M.; Del. Nobile, M.A.; *Journal of food protection* , 2006, 69, 866
- ⁸⁰ Jay, J.M; *Microbiologia de alimentos, 6 ed*, Artmed, tradução Eduardo Cesar Tondo, ET al, Porto alegre, 2005
- ⁸¹ Jofré, A.; Garriga, M.; Aymerich, T.; *Meat Science*, 2008,78, 53
- ⁸² Han, J.H.; Floros, J.D.; *Food Science Biotechnolog*, 1999, 8, 11
- ⁸³ Del Nobile, M.A.; Conte, A.; Buonocore, G.G.; Incoronato, A.L.; Massaro, A.; Panza, O.; *Journal of Food Engineering* , 2009, 93, 1
- ⁸⁴ El Kouali,M.; Shalouhi, M.; Labidi, F.; El Brouzi, M.; Vergnaud,J.M.; *Polymers & Polymer Composites*, 2003, 11, n 4, 301
- ⁸⁵ Suppakul, P.; Sonneveld, K.; Bigger, S.W.; Miltz, J.; *LWT - Food Science and Technology*, 2011, 44, 1888
- ⁸⁶ Suppakul, P.; Sonneveld, K.; Bigger, S.W.; Miltz, J. *Journal of Food Engineering*, 2011, 105, 270

-
- ⁸⁷ Simanke, A.G.; *Influencia do tipo e teor de comonômero na estrutura e propriedades de copolimeros de etileno sintetizados com catalizador metallocenico, tese doutorado*, Universidade Federal do RS, POA 2001
- ⁸⁸ Silverstein, R.M.; *Spectrometric Identification on Organic Compounds*, John Wiley & Sons, Inc, New York, 1994, p 96
- ⁸⁹ Coates; *Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach*, R.A. Meyers Ed; John Wiley & Sons, Chichester, 2000, p 10815
- ⁹⁰ Han J.H.; Floros, J.D, *Journal of Food Science*, 1998, 63, 12
- ⁹¹ Redl, A., Gontard, N., & Guilbert, S. *Journal of Food Science*, 1996, 61, 116
- ⁹² Fu, Y.; Lim,L.T.; *Polymer Testing*, 2012, 31, 56
- ⁹³ Giacometti, J.A.; Fedosov, S.; Costa, M.M.; *Brazilian Journal of Physics*,1999, 29, no. 2,
- ⁹⁴ Galikhanov, M. F. ; Borisova, A. N. ; Deberdeev, R.Y.; *Polymer Science, Ser. A*, 2006, 48, No. 2, 133
- ⁹⁵ Ye, M.; Neetoo, H.; Chen,H.; *International Journal of Food Microbiology* 2008, 127, 235
- ⁹⁶ Neetoo,H.; Ye, M.; Chen, H.; *International Journal of Food Microbiology* 2008, 123, 220
- ⁹⁷ Wang, Y.; Easteal, A.J.; Chen, X.D.; *Packaging technology and science*, 1998, 11, 169
- ⁹⁸ Stehline, F.C. ; Meka, P.; *Journal of Applied Polymer Science*, 1994,51, 105
- ⁹⁹ Muller, C.; Capaccio, G.; Hiltner, A.;Baer, E.; *Journal of applied Polymer Science*, 1998, 70, 2021
- ¹⁰⁰ Sadeghi, F.; Ajji, A.; *Polymer Engineering and Science*, 2011, 10
- ¹⁰¹ Simpson, D.M.; Westwood. A.D.; Brown, G.M.; A study of the effect of extrusion melt temperature on the hot tack and heat seal performance of extrusion coated polyethylene” in: ANTEC 2003
- ¹⁰² Resolução 105 ANVISA (www.anvisa.gov.br) (acesso em 20 de setembro de 2011)
- ¹⁰³ Peltzer, M.; Wagner, J.; Jimenez, A.; *Food Additives and Contaminants Part A*, 2009, 26, 938
- ¹⁰⁴ Oliveira, M.; Empacotamento de alta velocidade e novos critérios na avaliação da selagem, 4ª Conferencia Internacional de Embalagens Flexiveis TAPPI/CETEA; Campinas, 2005

ANEXO A

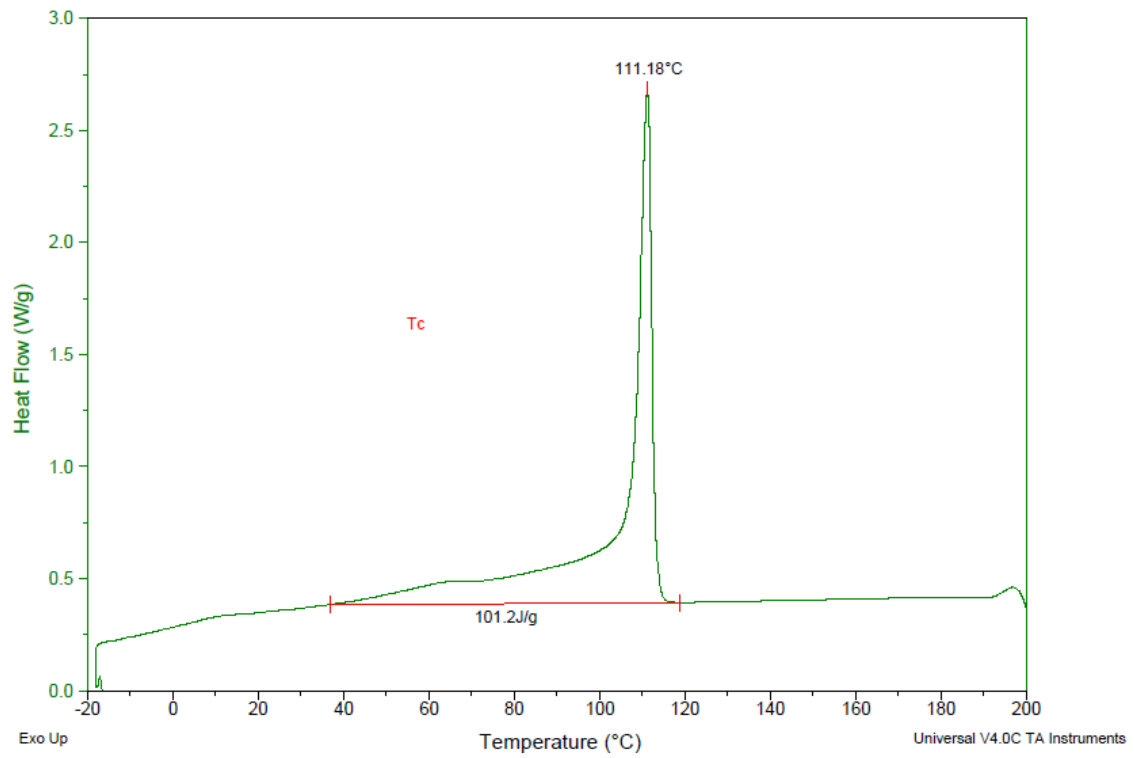


Termograma de cristalização da amostra em grão com benzoato de sódio – Teste 1
PELBD base hexeno + 5% de NaBz



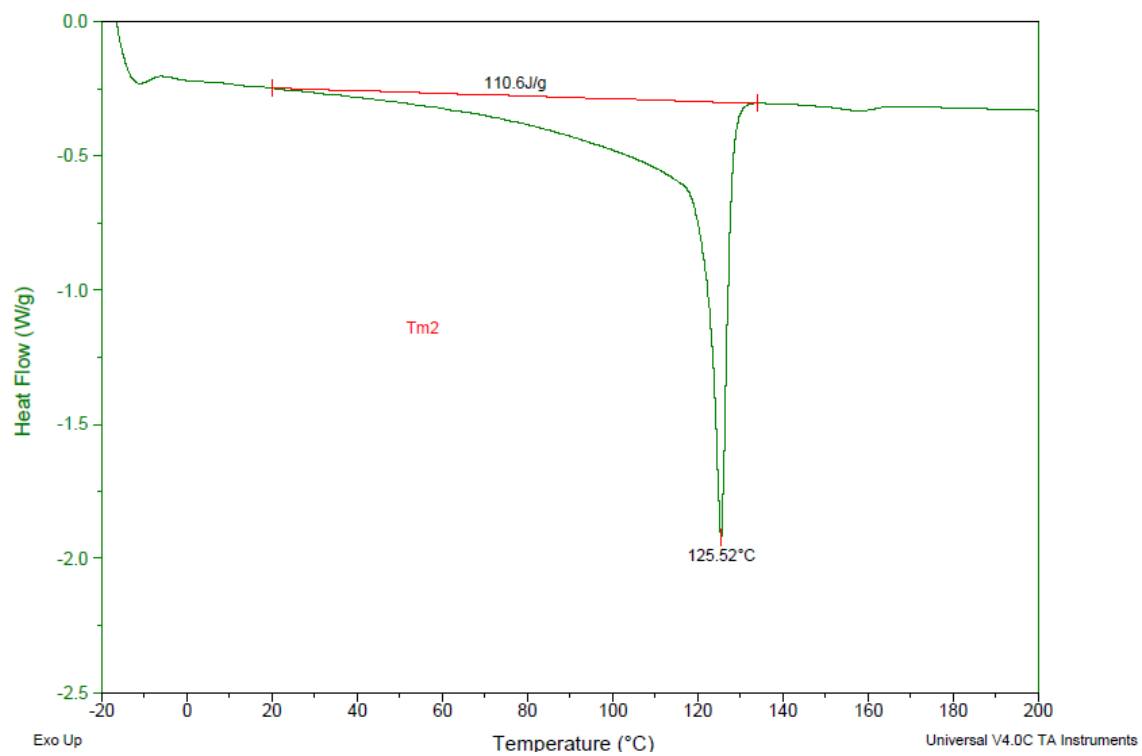
Termograma de fusão da amostra em grão com benzoato de sodio – Teste 1

PELBD base hexeno + 5% de NaBz



Termograma de cristalização da amostra em grão com acetato de sódio – Teste 1

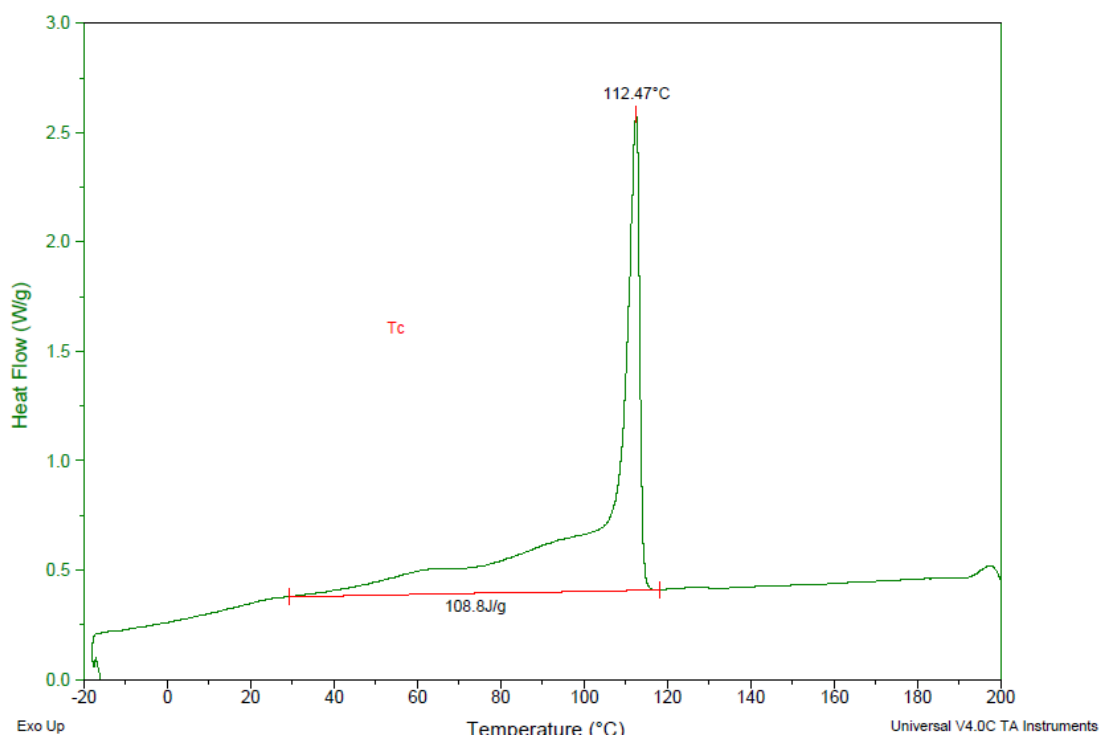
PELBD base hexeno + 5% de acetato de sódio



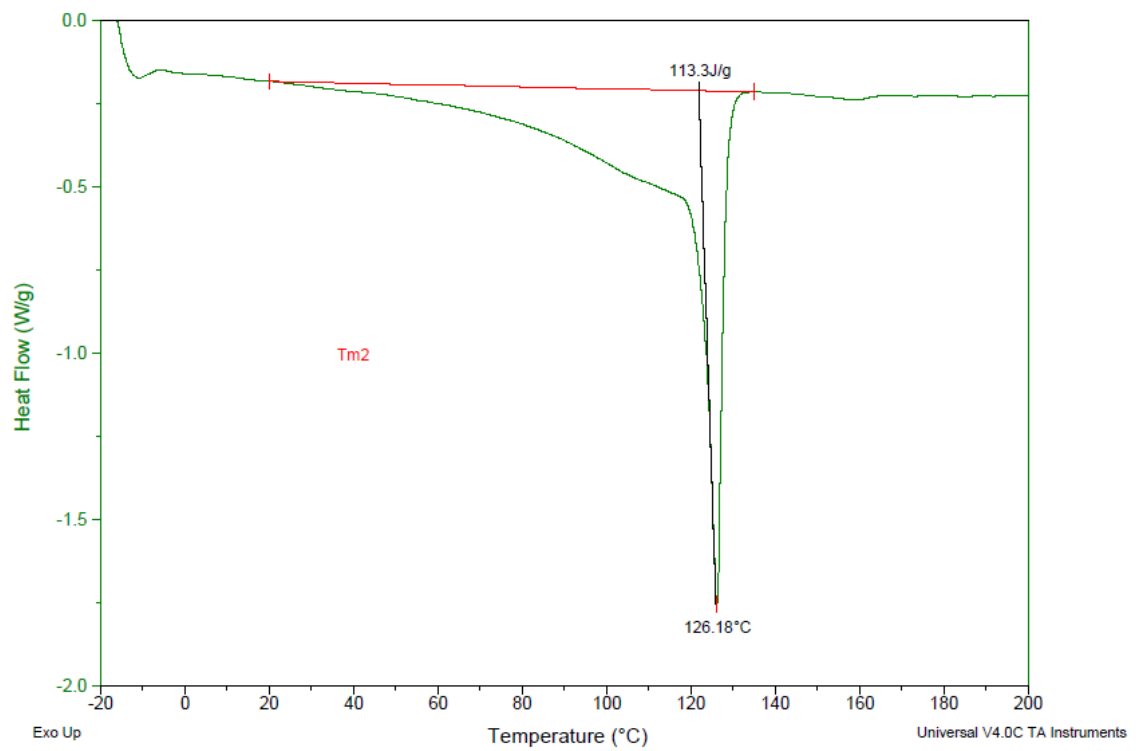
Termograma de fusão da amostra em grão com acetato de sódio – Teste 1

PELBD base hexeno + 5% de acetato de sódio

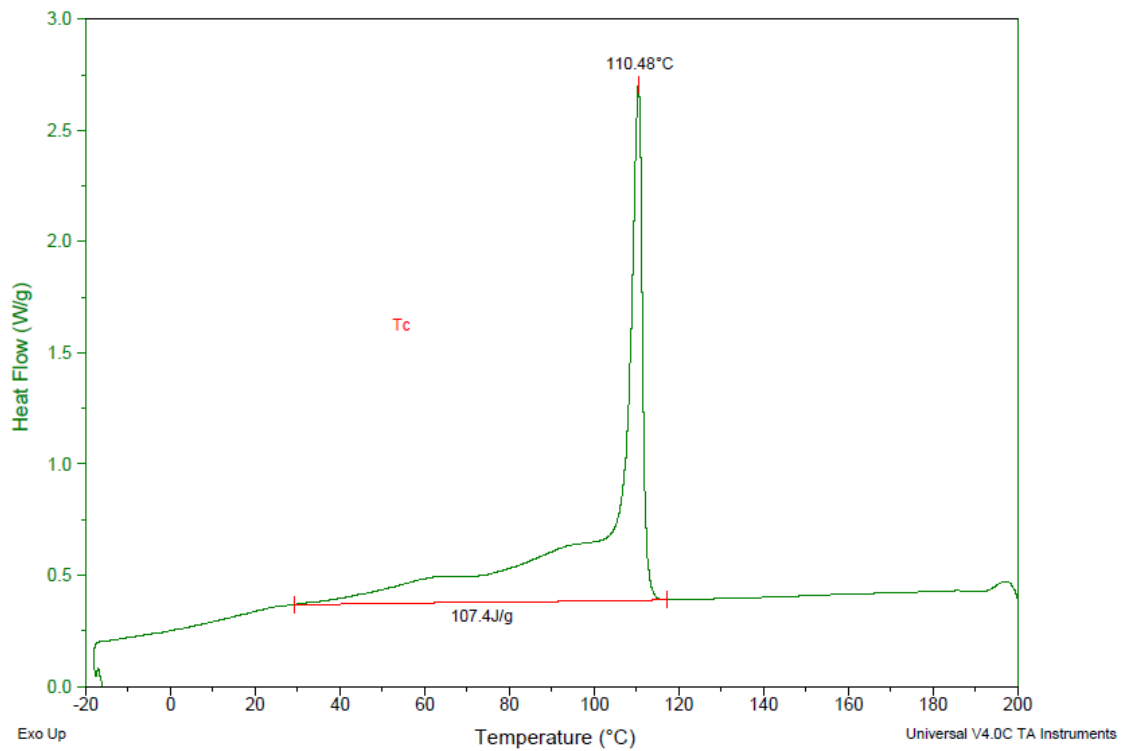
ANEXO B



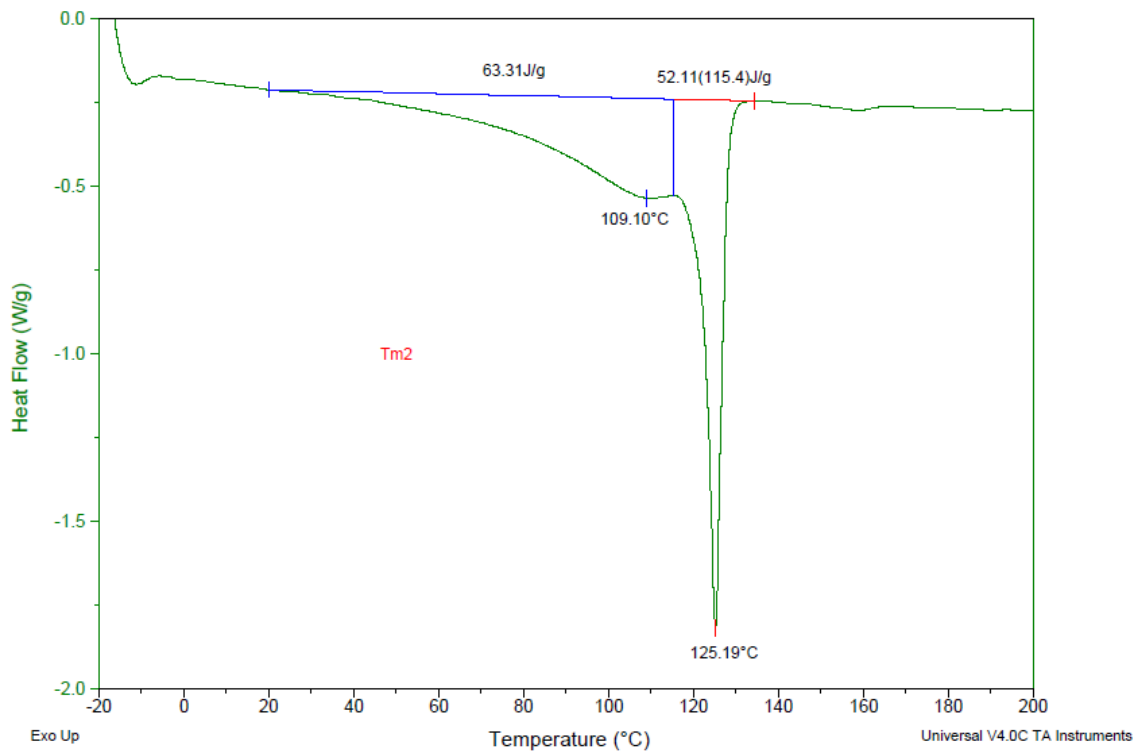
Termograma de cristalização da amostra em filme com benzoato de sodio – Teste 1
PELBD base hexeno + 4,5% de NaBz + 10% PELBD



Termograma de fusão da amostra em filme com benzoato de sodio – Teste 1
PELBD base hexeno + 4,5% de NaBz + 10% PELBD

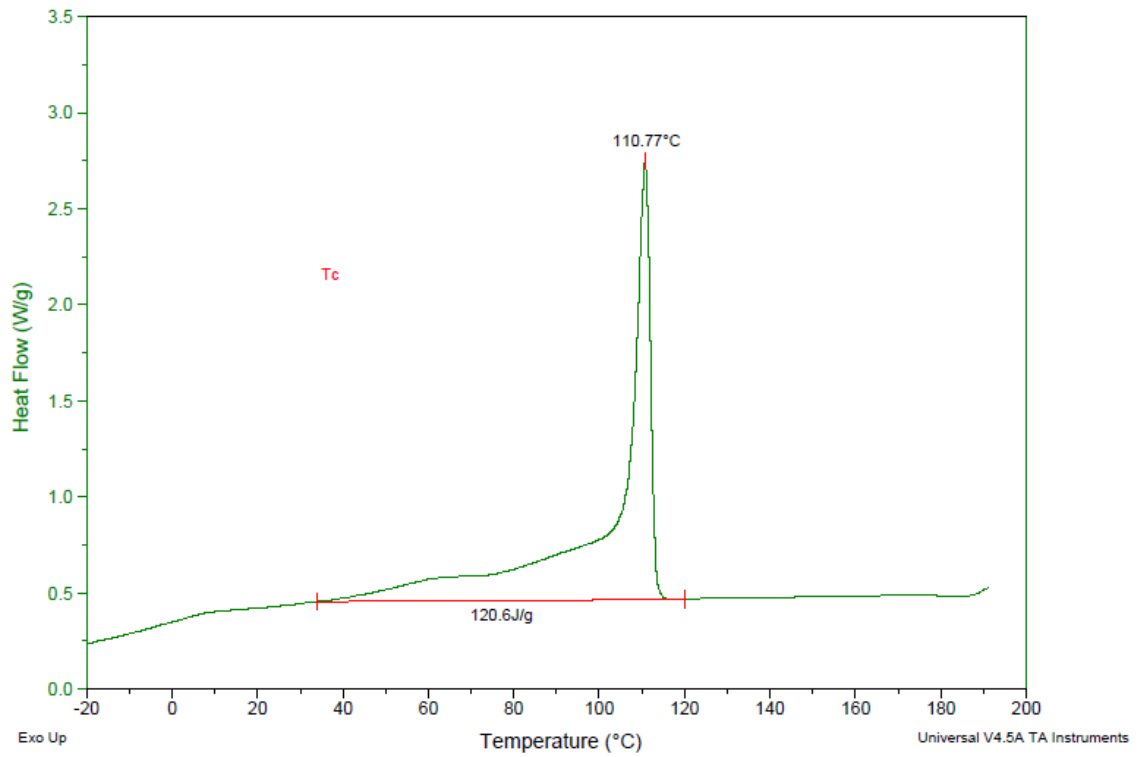


Termograma de cristalização da amostra em filme com sorbato de potássio – Teste 1
PELBD base hexeno + 4,5% de SK + 10% PELBD

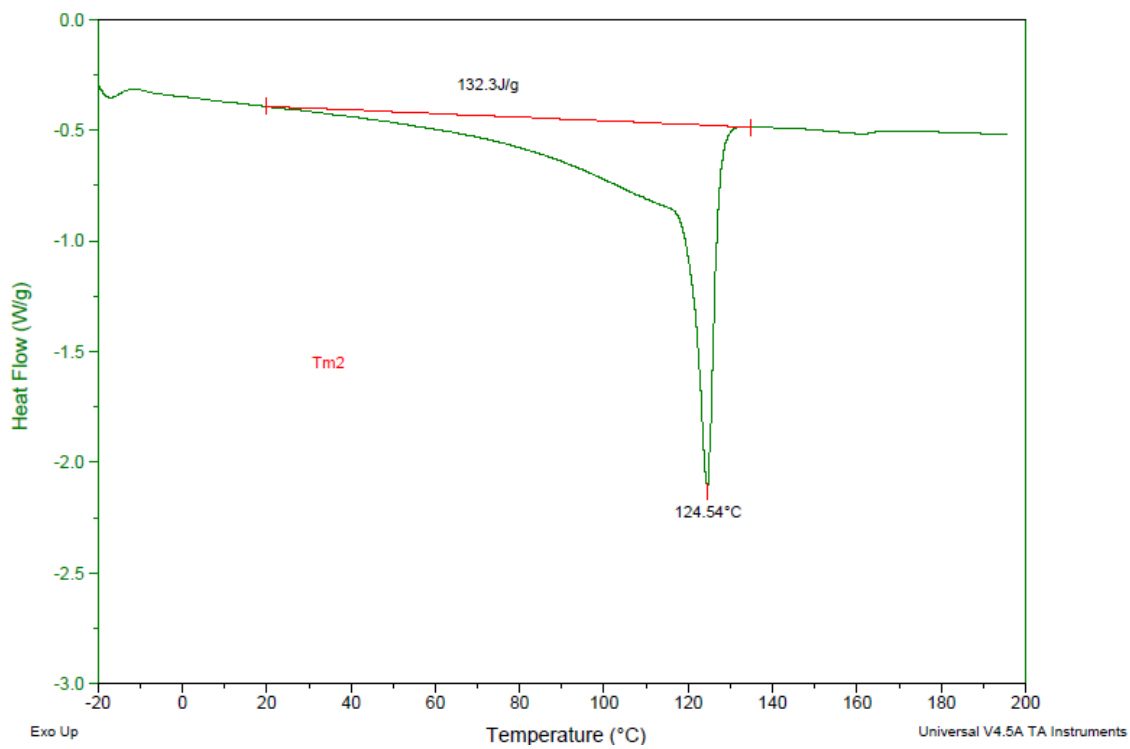


Termograma de fusão da amostra em filme com sorbato de potássio – Teste 1

PELBD base hexeno + 4,5% de SK + 10% PELBD

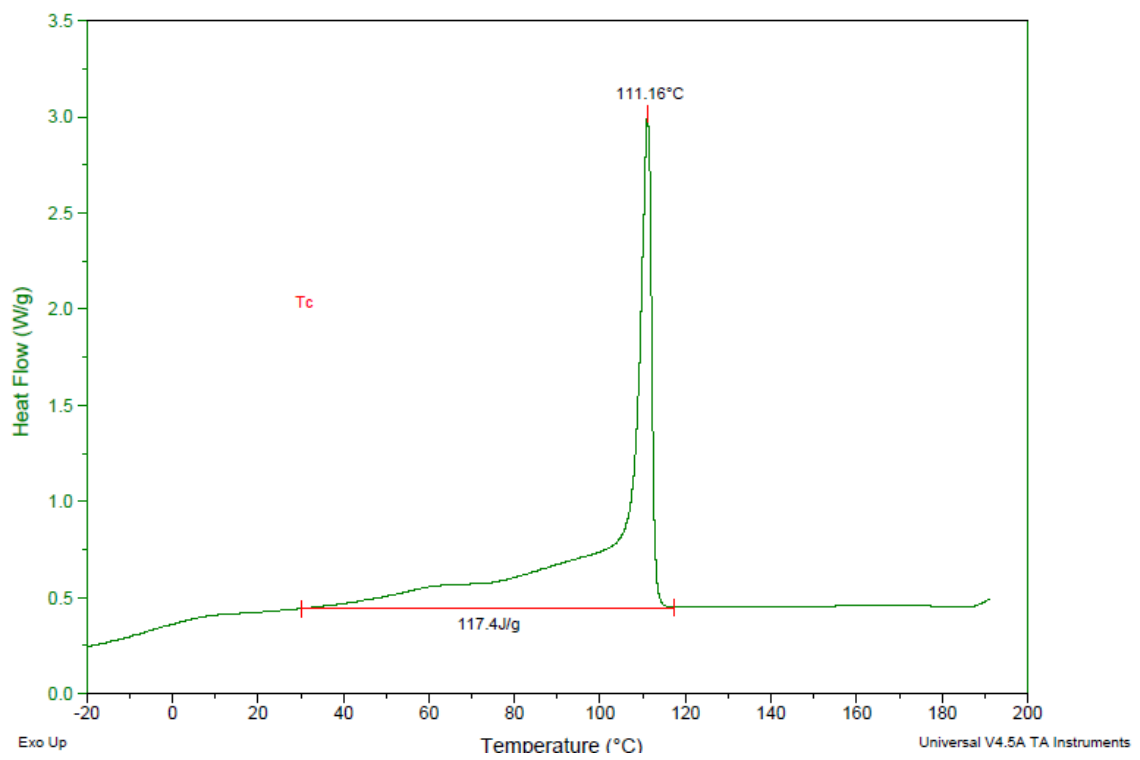


Termograma de cristalização da amostra em filme controle – Teste 1
PELBD base hexeno + 10% PELBD- extrusora plana

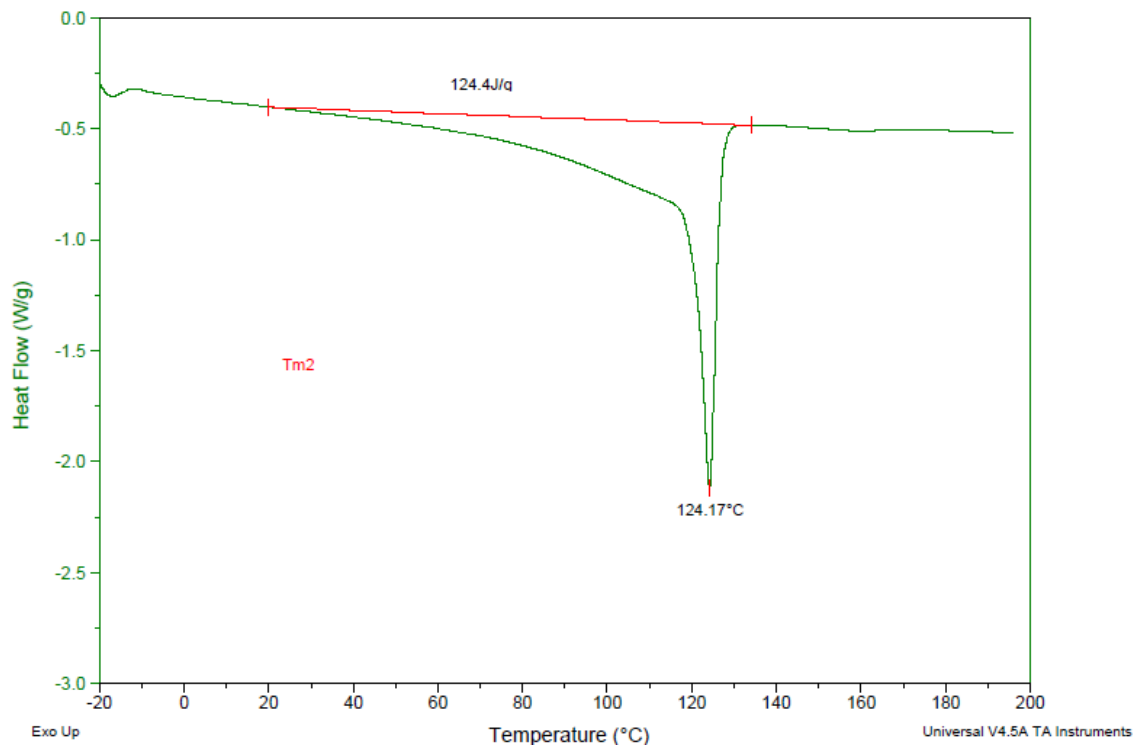


Termograma de fusão da amostra em filme controle – Teste 1

PELBD base hexeno + 10% PELBD- extrusora plana

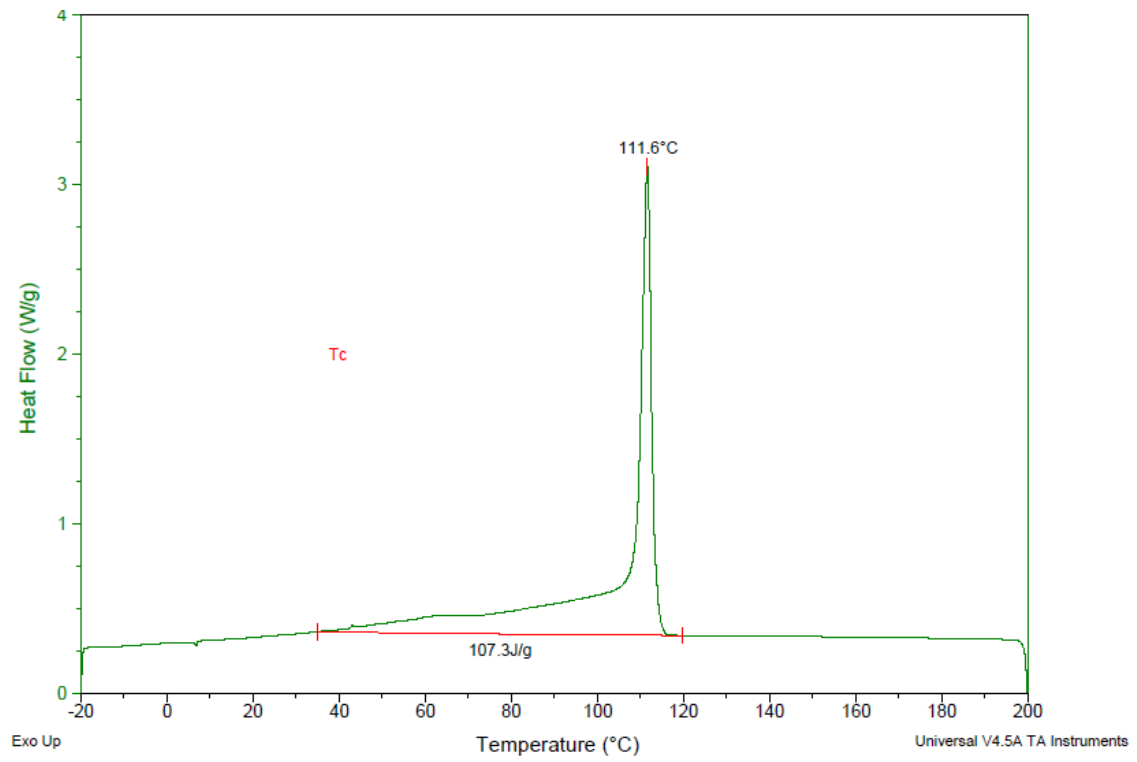


Termograma de cristalização da amostra em filme com sorbato de potássio – Teste 1
PELBD base hexeno + 5% de SK + 10% PELBD- extrusora plana



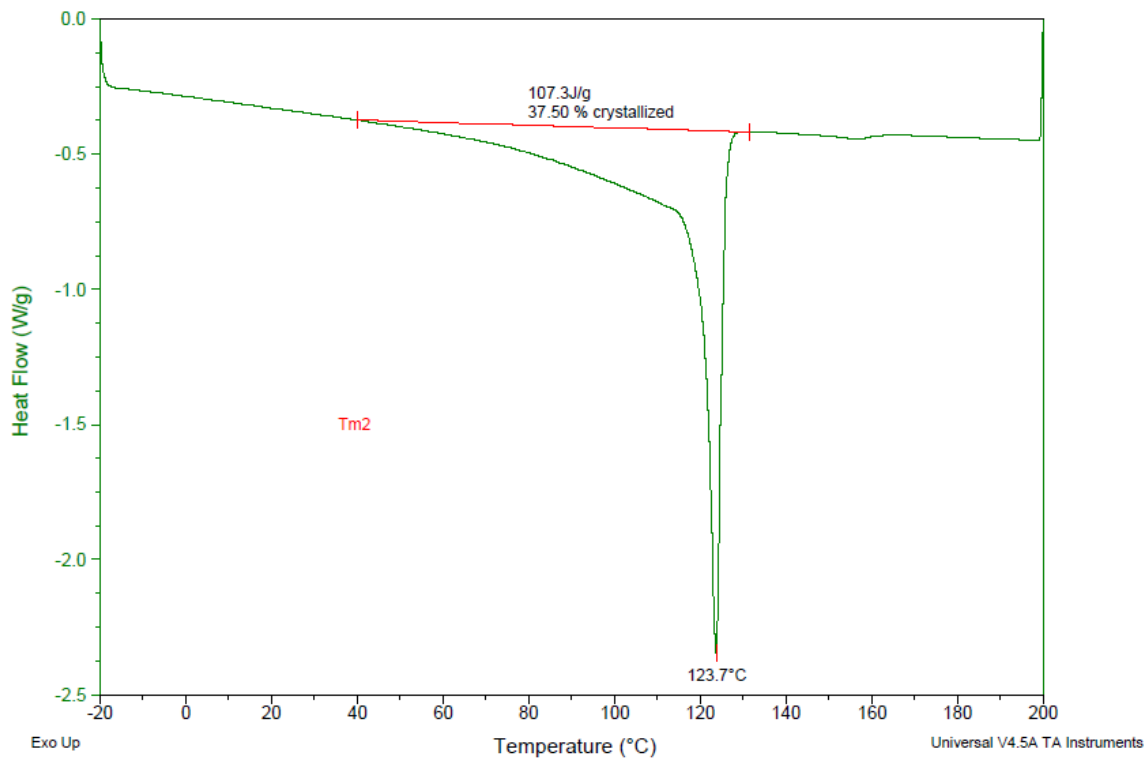
Termograma de fusão da amostra em filme com sorbato de potássio – Teste 1
PELBD base hexeno + 5% de SK + 10% PELBD - extrusora plana

ANEXO C



Termograma de cristalização da amostra grão controle – Teste 2

PELBD base buteno puro



Termograma de fusão da amostra em grão com sorbato de potássio – Teste 2
PELBD base buteno + 5,5% de SK