

Obtenção de filmes biodegradáveis à base de proteínas do soro de leite e óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) como princípio ativo na conservação de queijos

Beatriz Lima dos Santos, Fernanda Vailati Viergutz, Izabela Cabral Goulart, João Victor Manerich, Julia Kraisch dos Santos*, Matheus Schmitt

Discentes do Curso Técnico em Química (Modalidade: Integrado) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa Catarina - Campus Jaraguá do Sul - Centro

*E-mail: juliakraischsantos@gmail.com

Débora Martins Martinez

Docente do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Santa Catarina - Campus Jaraguá do Sul - Centro

E-mail: debora.martinez@ifsc.edu.br

RESUMO - Os materiais biodegradáveis são alternativas para o controle da poluição ambiental derivada do descarte excessivo e inapropriado de embalagens plásticas convencionais. A presente pesquisa teve como objetivo sintetizar filmes biodegradáveis com o uso de proteínas do soro de leite e amido de milho. Como perspectivas para o trabalho, teve-se a avaliação da adição de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) à estrutura do biofilme. Além disso, sua ação conservante foi avaliada quando aplicado como embalagem de alimentos perecíveis (ex. queijos refrigerados) a partir de parâmetros químicos e microbiológicos dos produtos durante o armazenamento. Após a síntese dos biofilmes foi observado que aqueles sem a incorporação do óleo essencial obtiveram a formação de microrganismos, o que comprova a capacidade conservante dessas substâncias. Também foram realizadas análises sensoriais e de dienos conjugados, que se apresentaram parcialmente eficientes para averiguar a capacidade ativa de conservação dos biofilmes. Nas análises sensoriais não foi possível notar mudanças significativas, entretanto, a análise de dienos conjugados demonstrou uma diminuição na oxidação das amostras em contato com os filmes com óleo essencial de orégano em até 4 dias de armazenamento (quando comparado com a ausência de biofilme - controle). Ao final da pesquisa, foi possível comprovar a capacidade conservante do óleo essencial ao atuar como substância ativa dos biofilmes, além de possibilitar o aprimoramento dos conhecimentos em relação à síntese desses materiais.

Palavras-chave: Biofilmes. Óleo essencial. Orégano (*Origanum vulgare* L.). Proteína do soro de leite. Antimicrobiano.

ABSTRACT - *Biodegradable materials are alternatives for controlling environmental pollution resulting from the excessive and inappropriate disposal of conventional plastic packaging. This article aims to synthesize biodegradable films through the use of whey proteins and corn starch. The addition of oregano essential oil (*Origanum vulgare* L.) to the biofilm structure was evaluated. Also, its preservative action was evaluated when applied as packaging of perishable foods (eg. refrigerated cheese) from chemical and microbiological parameters of the products during storage. After the synthesis of the biofilms, it was observed that those without the incorporation of the essential oil developed the formation of microorganisms, which could prove the conservative capacity of these substances. Also, sensorial and conjugated diene analyzes were performed, which were partially efficient to investigate the active conservation capacity of biofilms, since it was not possible to notice significant changes with the sensorial analyzes. Meanwhile, the conjugated analyzes demonstrated a oxidation decrease of the samples with oregano essential oil within 4 days of storage (when compared to the absence of biofilm). At the end of the research was possible to prove the conservative capacity of the essential oil to act in biofilms as active substance. Also it was possible to improve knowledge about synthesis of those materials..*

Keywords: *Biofilms, Essential oil, Origanum vulgare L., Whey protein.. Antimicrobial.*

1 Introdução

A maior parte dos alimentos processados possui aditivos alimentares em sua composição. Na classe de compostos conservantes, as substâncias, que são de origem sintética ou natural, proporcionam um aumento de sua estabilidade. Como consequência da ação conservante, os alimentos apresentam longos períodos de armazenamento sem sofrer alterações significativas. Este efeito é explicado pela capacidade de inibir ou retardar o desenvolvimento microbiano e reações químicas indesejáveis, conferindo-lhes estabilidade microbiológicas e/ou químicas. Embora a aplicação de conservantes sintéticos seja justificada por vários aspectos, algumas evidências de casos de intoxicação e relação com o desenvolvimento de doenças crônicas, fazem com que haja o interesse e investimento em novos métodos para a conservação de produtos.

O uso de embalagens é um método indireto e viável para a finalidade de conservar alimentos. Os materiais que as constituem, geralmente polímeros sintéticos, representam uma barreira física entre o alimento e o ambiente, a qual protege o produto de contaminações cruzadas e de reações que comprometam a sua qualidade.

No entanto, grande parte dos resíduos gerados a partir do descarte de embalagens não são tratados adequadamente e direcionados a sistemas de reciclagem. O plástico (polímero sintético), depois da matéria orgânica, é o material de embalagem com maior participação no total de RSU (Resíduos Sólidos Urbanos) coletado no Brasil, com 13,5% (LANDIM et al., 2016).

Neste sentido, um investimento em projetos e pesquisas para a obtenção de filmes biodegradáveis e embalagens ativas, recebem atenção para fins industriais, especialmente na indústria de alimentos e bebidas. Neste contexto, também são descobertas as propriedades de produtos naturais no que se refere ao uso de fontes renováveis de matéria prima tanto para a síntese de materiais (polímeros) quando para aditivos com propriedades antimicrobiana e antioxidante, como por exemplo, os óleos essenciais.

Neste contexto, a formulação de filmes biodegradáveis, em sua maior parte, compreende o uso de polímeros naturais, de origem animal ou vegetal.. Um dos polímeros que apresentam características gerais interessantes são as proteínas derivadas do soro do leite bovino. Este subproduto gerado principalmente no processamento de queijos, foi por décadas dispensado como efluente industrial, o qual necessitava de tratamento (HARAGUCHI; DE ABREU; DE PAULA, 2006).

Em relação aos óleos essenciais, o de *Origanum vulgare L.* (orégano) ganha destaque, tanto por ser amplamente utilizado como condimento em diversas culturas, como por sua capacidade antimicrobiana. Mais especificamente, o óleo essencial de orégano possui compostos orgânicos antimicrobianos como o carvacrol e seu isômero, o timol (Figura 1), os quais são os responsáveis também por seu efeito antioxidante (BOTRE et al., 2010).

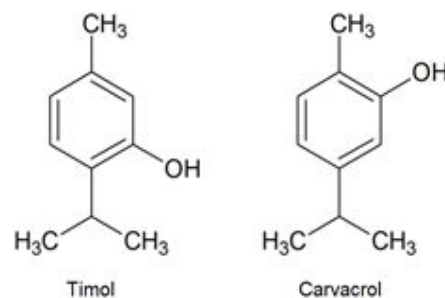


Figura 1 - Estrutura molecular do timol e do carvacrol.
Fonte: Elaborado pelos autores (BOTRE et al., 2010).

A incorporação de um óleo essencial à estrutura de biofilmes permite uma interação indireta de sua ação conservante, pois os princípios ativos não se encontram na formulação do alimento, ao contrário dos conservantes convencionais. Esses biofilmes podem ser utilizados para a conservação de diversos tipos de alimentos que necessitem de uma embalagem primária (que esteja em contato com o produto), como por exemplo, os queijos.

Os queijos, de uma forma geral, possuem uma elevada atividade de água, um fator intrínseco diretamente relacionado à estabilidade dos alimentos. A atividade de água é um parâmetro que norteia a estabilidade de produtos, pois reflete a tendência da ocorrência da

maioria das reações químicas e microbiológicas (pela ação de bactérias, leveduras e bolores) (GARCIA, 2004). A conservação dos produtos relaciona-se diretamente com estes e outros fatores, dentre os quais está a composição dos alimentos (proteínas, lipídeos e carboidratos).

O queijo minas frescal, obtido a partir do leite de vaca pasteurizado, é classificado, de acordo com o MAPA, como um queijo macio, semi-gordo e de alta umidade (PERRY, 2004), fatores que fazem deste produto um referencial para o estudo e análise de sua conservação em pesquisas.

A conservação deste tipo de produto pode ser atribuída às características físicas, químicas e sensoriais. O efeito conservante dos biofilmes, como embalagens, pode ser observado tanto através de uma análise sensorial, especialmente aspectos visuais da amostra, quanto uma análise de seus parâmetros químicos, como a oxidação lipídica.

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (1993), as análises sensoriais são empregadas com finalidade de medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais por meio da visão, olfato, gosto, tato ou audição. Na indústria alimentícia, esse é um dos métodos mais utilizados, pois trata-se de uma determinação que compreende a percepção do consumidor em relação ao produto em questão, o que pode indicar a aceitação ou rejeição dos mesmos em relação ao produto, e para o queijo, por se tratar de um alimento de fácil deterioração, estes aspectos são fundamentais.

Outra grande causa da degradação dos alimentos, principalmente nos queijos, é o processo de oxidação de lipídeos, tal qual provoca o aparecimento de odores desagradáveis, destrói vitaminas e pode gerar compostos tóxicos (GUTERRES, 2013). A oxidação lipídica pode ser determinada através da quantificação de compostos intermediários ou finais do processo de oxidação de ácidos graxos insaturados. A reação gera a formação de radicais livres lipídicos, hidroperóxidos e o deslocamento da ligação dupla entre átomos de carbono, com consequente formação de dienos conjugados (Figura 2) (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

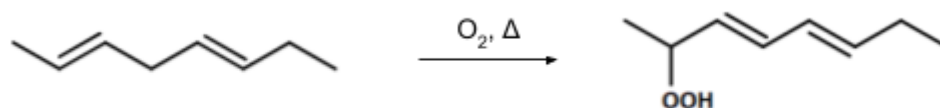


Figura 2 - Deslocamento da dupla ligação, formando dienos conjugados.
Fonte: (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

Os dienos conjugados são produtos intermediários da oxidação dos ácidos graxos, os quais indicam o grau de deterioração e instabilidade química do produto. Estes produtos podem ser quantificados por análise espectrofotométrica.

Diante do exposto, o principal objetivo da pesquisa foi a síntese de biofilmes ativos a base de proteínas do soro de leite com adição de óleo essencial de orégano, bem como a avaliação da capacidade destes como conservantes de queijos.

2 Metodologia

A metodologia da presente pesquisa está dividida em quatro etapas: 1) produção dos biofilmes; 2) caracterização desses filmes; 3) aplicação dos mesmos em queijos para análise de sua conservação; 4) e tratamento de dados.

2.1 Síntese e aplicação dos biofilmes

Os biofilmes foram produzidos a partir de uma adaptação da metodologia descrita por Yoshida e Antunes (2009), na qual se faz uso da técnica de *casting*, que consiste na desidratação da solução filmogênica. Para esses se fez uso de isolado protéico de soro de leite¹ - com alto grau de pureza (> 95%) -, amido de milho² e óleo essencial de orégano³, adquiridos comercialmente.

Para a produção dos filmes, inicialmente, 4,5% (m/v) de amido de milho e 2,0% (m/v) do isolado protéico foram adicionados em 90,5% (v/v) de água deionizada, sendo homogeneizados até atingir a solubilidade total. Após a homogeneização adicionou-se 3,0% (m/v) de glicerol, que atuou na solução como agente plastificante. Em seguida, a mistura filmogênica foi aquecida à temperatura de aproximadamente 85 °C por 35 minutos em banho de água, com o objetivo de promover a desnaturação das proteínas. Com o término do período de aquecimento, a solução foi resfriada lentamente à temperatura ambiente. Para a síntese dos biofilmes com óleo essencial, o processo seguiu o mesmo método utilizado para o biofilme padrão, diferindo apenas pela etapa de adição do óleo essencial, adicionado à solução filmogênica após seu resfriamento.

Ao final, aproximadamente 15 g da mistura filmogênica foi disposta em cada placa de Petri, de 9 cm de diâmetro, que foram submetidas a um processo de desidratação nas condições ambientais de temperatura e pressão (CATP), por um período de 3 dias. Este período foi suficiente para promover uma desidratação lenta e uniforme dos filmes. Com

¹ Fabricante PSL: *My Protein*.

² Fabricante amido de milho: Dr. Oetker.

³ Fabricante OE: Ferquima, Ind. e Com. Ltda.

esse método foram produzidos três biofilmes: o biofilme padrão ou controle (sem adição de óleo essencial); e os biofilmes ativos, com adição de 0,5% (m/m) e 1,0% (m/m) de óleo essencial de orégano.

Os filmes foram removidos das placas e aplicados em amostras de queijos, com aproximadamente 5 g, de modo a cobrir integralmente o produto durante o armazenamento sob condições de refrigeração ($\approx 2^{\circ}\text{C}$) e ambiente.

2.2 Caracterização dos filmes

Os filmes foram caracterizados de acordo com sua absorção e perda de água, espessura, e análise visual de suas características, considerando homogeneidade, coloração uniforme, possível presença de bolhas, rupturas ou zonas quebradiças (AMPESSAN; GIAROLA, 2016), por um período de 11 dias. A absorção se deu através da pesagem dos mesmos antes e após serem submersos em água, por 10 minutos, no qual, a diferença entre as massas representaria a absorção do filme. Já a perda de água foi analisada pela pesagem dos mesmos, durante um período de tempo, na qual a diferença de massa corresponderia ao material evaporado. A espessura dos filmes foi medida com o auxílio de um paquímetro digital, com resolução de 0,01 mm, sendo calculada através da média aritmética de dez medidas realizadas sobre a área do filme (OLIVEIRA, 2013).

2.3 Análise da conservação de queijos

Para análise da conservação dos queijos, foram realizadas as análises sensorial e de estabilidade oxidativa pela determinação da concentração de dienos conjugados nas amostras durante o período de armazenamento. A aplicação dos filmes foi realizada em queijos do tipo minas frescal, obtido comercialmente, devido a sua elevada umidade e tempo de armazenamento relativamente curto. Como previamente mencionado, nessa etapa, aproximadamente 5,0 g do alimento foi envolto com o biofilme. Após aplicação as amostras de queijo foram armazenadas sob refrigeração ($\sim 2^{\circ}\text{C}$) e em condições de temperatura ambiente.

2.3.1 Análise sensorial

Para realizar essa análise, aspectos visuais foram observados após a aplicação dos biofilmes nos queijos, durante um período de armazenamento de 8 dias em ambas condições de armazenamento. Os resultados foram comparados entre os três tipos de biofilmes: controle, 0,5% (m/m) e 1,0% (m/m) de óleo essencial de orégano. Sendo realizado registro de imagens para avaliar as alterações no tempo de armazenameto.

2.3.2 Análise de dienos conjugados

Para determinar a oxidação dos lipídeos dos queijos, foi utilizado o método de quantificação de dienos conjugados, conforme a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). No preparo das amostras, cerca de 0,03 g de queijo foram pesadas e, em seguida, dispersas em ciclohexano, resultando em uma concentração de 1,19 mg/mL. A coleta das amostras foi realizada nos intervalos de tempo: 1 (primeiro dia), 2, 4 e 8 dias de armazenamento, respectivamente. Realizaram-se as medidas de absorvância no comprimento de onda de 232 nm, utilizando o espectrofotômetro UV - 1100 UV/VIS. Os resultados foram interpretados, valendo-se de que quanto maior o valor de absorvância obtido, mais elevada é a concentração de dienos conjugados, os quais são também indicadores da presença de peróxidos (produtos primários da oxidação) das amostras, coerente com a reação em cadeia de oxidação de lipídeos. Um menor valor em dienos ou peróxidos caracteriza uma maior conservação do produto.

3 Resultados e discussões

3.1 Síntese dos biofilmes

Durante a síntese dos biofilmes, a proteína do soro do leite, utilizada inicialmente como matriz polimérica principal, deveria sofrer desnaturação térmica, fazendo com que sua estrutura tridimensional sofresse alterações, evidenciando grupos hidrofóbicos e ligações dissulfeto, e posteriormente, voltasse a estabelecer ligações durante a secagem (DIANIN, 2016); porém, ao fim do processo, a solução filmogênica não apresentou o aspecto desejado, mantendo uma aparência pastosa de difícil secagem. Sendo assim se fez necessário a adição de um polissacarídeo, como o amido de milho, para que esse pudesse aprimorar a estrutura do filme protéico.

Foram realizados diversos testes, com intuito de encontrar a melhor solução filmogênica padrão, alterando variáveis como a temperatura, a proporção entre as matérias-primas (proteína e amido), a concentração do agente plastificante (glicerol) e a concentração do óleo essencial de orégano. Os resultados desses testes podem ser observados no Quadro 1.

Quadro 1 - Testes para formulação dos biofilmes.

PSL (%)	Amido (%)	Glicerol (%)	Temperatura (°C)	Óleo essencial (%)	Resultado
6,5	-	3	90	-	ruim
6,5	-	3	70	-	ruim
3,25	-	3	90	-	ruim
3,25	-	3	70	-	ruim
5	-	3,75	90	-	ruim
5	-	3,75	70	-	ruim
-	6,5	3	90	-	mediano
3,25	3,25	3	80	-	mediano
2	4,5	3	70	-	mediano
2	4,5	3	90	-	bom
2	4,5	3	80	-	bom
-	6,5	3	80	2,5	ruim
-	6,5	4	80	2,5	ruim
2	4,5	3	80	2,5	ruim
2	4,5	4	80	2,5	ruim
3,25	3,25	3,5	80	1,0	ruim
3,25	3,25	3,5	80	0,5	ruim
2	4,5	3,5	80	1,0	bom
2	4,5	3,5	80	0,5	bom

Fonte: Elaborado pelos autores.

Com isso, percebe-se que a temperatura não foi um fator determinante para a melhoria dos filmes, bem como o aumento da concentração de glicerol, que apesar de aumentar a flexibilidade, tornou os filmes mais oleosos, dificultando o seu processo de secagem. No teste contendo somente o amido, a solução apresentou um aspecto altamente viscoso, impossibilitando a sua completa homogeneização e disposição uniforme nas placas de Petri, obtendo um material com superfície não uniforme e quebradiça. Ao final, foi estabelecido como melhor formulação a proporção de 30% proteína e 70% amido, do total de 6,5%, obtendo um filme homogêneo, maleável e resistente.

A adição do óleo essencial de *Origanum vulgare L.* em uma alta concentração (2,5%) causou mudanças na estrutura dos filmes, obtendo uma superfície descontínua, sem formar e fragmentada (Figura 3). Dessa forma, optou-se pela diminuição das concentrações para 0,5 e 1,0% (m/m), obtendo assim melhores resultados.



Figura 3 - Biofilmes com: 6,5% de amido (à esquerda) e 2,0% proteína/ 4,5% amido (à direita) com óleo essencial de orégano na concentração de 2,5% (m/m).

Fonte: Acervo pessoal.

Os biofilmes sem a incorporação do óleo apresentaram desenvolvimento de microrganismos (Figura 4), impossibilitando que esse tipo de filme tivesse todos os seus aspectos analisados e fosse utilizado como embalagem.



Figura 4 - Biofilmes a base de proteínas do soro do leite (30%) e amido (70%), sem óleo essencial de orégano, após período de desidratação de 5 dias à temperatura ambiente.

Fonte: Acervo pessoal.

3.2 Caracterização dos filmes

A caracterização dos filmes foi realizada após a secagem dos mesmos durante o período de 3 dias, utilizando como parâmetro a absorção e a perda de água, a espessura, e os aspectos visuais apresentados por eles, em temperatura ambiente e refrigerada.

Os dados obtidos nessa caracterização podem ser observados no Quadro 2.

Quadro 2 - Caracterização física dos biofilmes.

Placa		Massa (em g de mistura filmogênica)				Absorção de Água (em g de água)	Espessura
		26/10	29/10	31/10	06/11	31/10	06/11
0,5 % óleo essência I	1*	15,13	2,86	-	-	0,49	-
	2	15,14	3,46	1,88	1,75	-	0,31 mm ± 0,07
	3**	15,05	3,27	1,64	1,58	-	0,31 mm ± 0,09
1,0 % óleo essência I	4	15,06	2,62	1,91	1,76	-	0,26 mm ± 0,03
	5*	19,08	6,05	-	-	0,74	-
	6**	16,31	4,00	1,93	1,91	-	0,29 mm ± 0,07

* Usado para teste de absorção.

** Armazenado sob refrigeração ($\approx 2^{\circ}\text{C}$).

Fonte: Elaborado pelos autores.

Após um período de 11 dias, percebe-se que os biofilmes obtiveram uma perda de massa média de 89% atribuída à desidratação. O teor de água inicial dos filmes correspondia a aproximadamente 90% da solução filmogênica. Com esse controle, nota-se que o período de 3 dias não foi suficiente para a secagem completa dos filmes, já que se comparado ao 5º dia, a massa ainda se reduziu pela metade. Contudo, após 3 dias de desidratação, os biofilmes apresentaram características ideais para a remoção das placas e sua aplicação como embalagem das amostras de queijos.

Em relação a absorção de água, realizada com um fragmento do filme, observou-se uma maior absorção naquele com uma maior quantidade inicial de massa (placa 5), pois assim ele possuiria uma maior espessura e, conseqüentemente, uma maior capacidade de absorver água. Inicialmente, as massas dos filmes eram de 0,57 e 0,81 g (placas 1 e 5, respectivamente). Após serem imersos na água, essa massa aumentou para 1,06 e 1,55 g, ou seja, 0,49 e 0,74 g a mais do que o valor inicial, resultando em um percentual de 89% e 91%. Desse modo, conclui-se que os biofilmes são hidrofílicos, justificada pela presença de polímeros como o amido e as proteínas solúveis do soro de leite. Este aspecto pode ser uma desvantagem de seu uso como embalagem com alto teor de umidade.

Nota-se que a espessura do biofilme apresentou leves variações, já que a mesma foi controlada através do volume de solução filmogênica aplicado em cada placa (9 cm de diâmetro). O volume determinado como padrão, para ser disposto nas placas, foi de aproximadamente 15 mL de solução, ocasionando em uma espessura média de $0,29 \text{ mm} \pm 0,02$. Em um mesmo filme, também houveram diferenças de espessura conforme a área medida, sendo as bordas mais espessas que no centro de sua superfície.

Em relação a seus aspectos visuais, os biofilmes apresentaram aparência opaca, flexíveis e moderadamente resistentes (Figura 5). Os mantidos sob refrigeração apresentaram uma estrutura mais rígida, tornando-se quebradiça ao longo do tempo. Já os mantidos à temperatura ambiente permaneceram estáveis durante todo seu período de armazenamento. Os filmes, depois de secos por completo, apresentaram rachaduras, que não puderam ser revertidas devido ao tempo hábil de pesquisa. Entretanto, as análises de conservação dos queijos não foram comprometidas.



Figura 5 - Aparência dos biofilmes sintetizados.
Fonte: Acervo pessoal.

3.3 Análise das amostras de queijo

Para comprovar a capacidade conservante dos biofilmes ativos sintetizados como embalagem de queijos do tipo minas frescal, as análises sensorial de de dienos conjugados foram realizadas durante um período de 8 dias de armazenamento.

3.3.1 Análise sensorial

Após recobertos, a análise sensorial dos queijos se deu de duas formas. A primeira sob refrigeração ($\approx 2^{\circ}\text{C}$), na tentativa de reproduzir a condição padrão com que esse alimento é armazenado, e a segunda à temperatura ambiente - CATP, com o intuito de acelerar o processo de degradação do produto. Entretanto, em ambas as condições não foi possível observar o desenvolvimento aparente de microrganismos.

Segundo Perry (2004), o queijo minas frescal possui curto tempo de prateleira, cerca de 9 dias sob refrigeração, aproximadamente, o que poderia justificar a estabilidade dos queijos refrigerados. Enquanto que nas condições ambiente, espera-se alterações mais evidentes por ter a influência de fatores que induzem as alterações químicas e microbiológicas. Os queijos sem recobrimento não apresentaram essa aparência, que daria indícios do processo de decomposição sofrido por esses produtos.

A condição refrigerada resultou em amostras relativamente estáveis, porém, em razão da passagem do tempo, os filmes que recobriam esse queijos tornaram-se quebradiços. Em temperatura ambiente, as amostras de queijo apresentaram um aspecto um pouco mais deteriorado e oleoso.

Em relação à coloração, todas as amostras (refrigeradas e à temperatura ambiente) apresentaram um tom amarelo mais intenso após aproximadamente 2 dias de armazenamento. Isto deve-se à exposição dos queijos ao oxigênio e consequente reações de oxidação. Essas análises podem ser ilustradas através da Figura 6, a qual mostra o desenvolvimento das análises visuais de acordo com parte do tempo transcorrido.

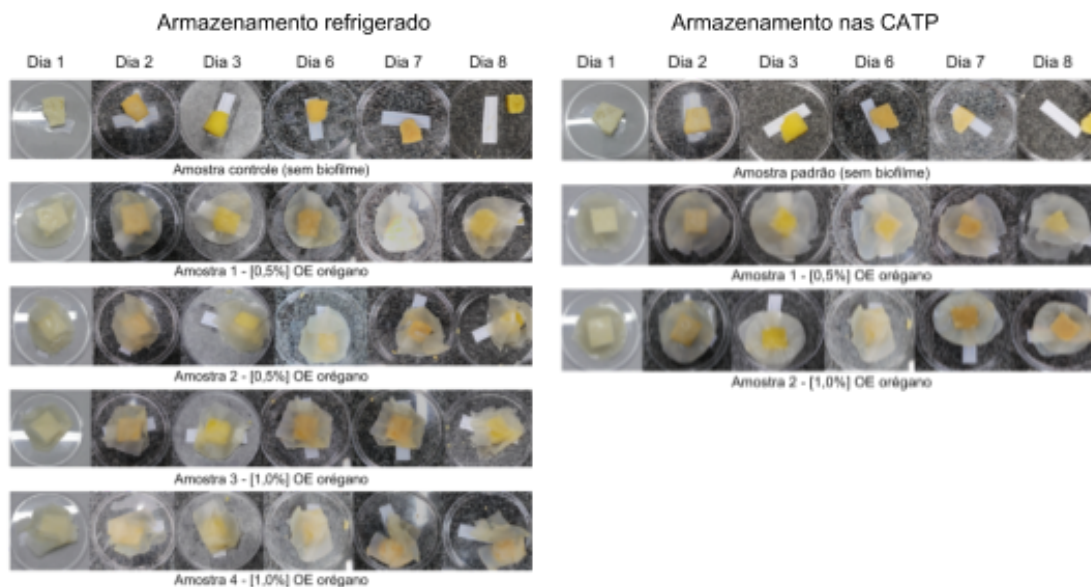


Figura 6- Amostras sob armazenamento refrigerado e nas CATP.

Fonte: Acervo pessoal.

3.3.2 Análise de dienos conjugados

As análise de dienos conjugados se deu nos mesmos moldes da análise sensorial, se sucedendo em duas condições distintas, armazenando as amostras sob condições ambientes - CATP, e também, sob refrigeração. Para tal análise, foram utilizadas amostras controle, sem adição de biofilmes com óleo essencial de orégano, e amostras com

aplicação de biofilmes com a presença de óleo essencial em duas concentrações distintas: 0,5% e 1,0% (m/m).

Os resultados obtidos podem ser expressos com a comparação entre as médias obtidas a partir das amostras com a presença dos biofilmes, realizadas em duplicatas, e a amostra controle, ambas sob armazenamento refrigerado, como ilustra o gráfico da Figura 7.

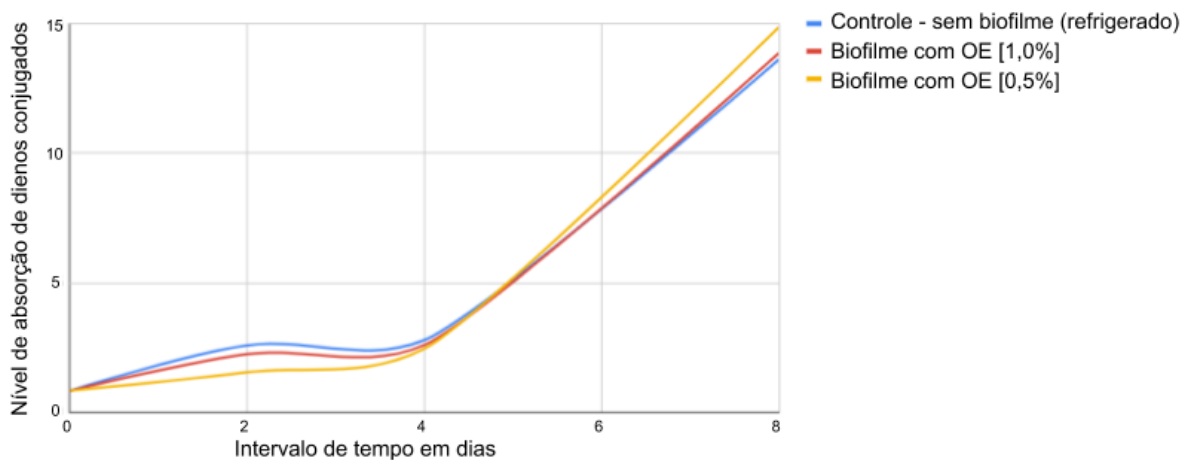


Figura 7 - Gráfico do nível de absorção de dienos conjugados nas amostras sob armazenamento refrigerado.

Fonte: Elaborado pelos autores.

Desta maneira, os resultados indicam que as amostras com presença dos filmes com óleo essencial em ambas concentrações (0,5 e 1,0%), obtiveram, do intervalo do tempo inicial ao 4º dia, uma relativa estabilidade oxidativa, uma vez que, obteve-se um baixo nível de dienos conjugados nesse intervalo em relação aos resultados obtidos a partir do controle e, dentre essas, a concentração de 0,5% se mostrou mais eficiente. Entretanto, do 4º ao 8º dia, os resultados se contrapõem, obtendo-se, um maior nível de dienos para as amostras com aplicação dos filmes, e entre esses, o que se mostrou mais eficaz foi a concentração de 1,0%, porém com nível de dienos ainda acima do controle.

Além disso, pode-se comparar os resultados obtidos armazenando as amostras sob refrigeração e em condições ambientes - CATP, como ilustra o gráfico da Figura 8.

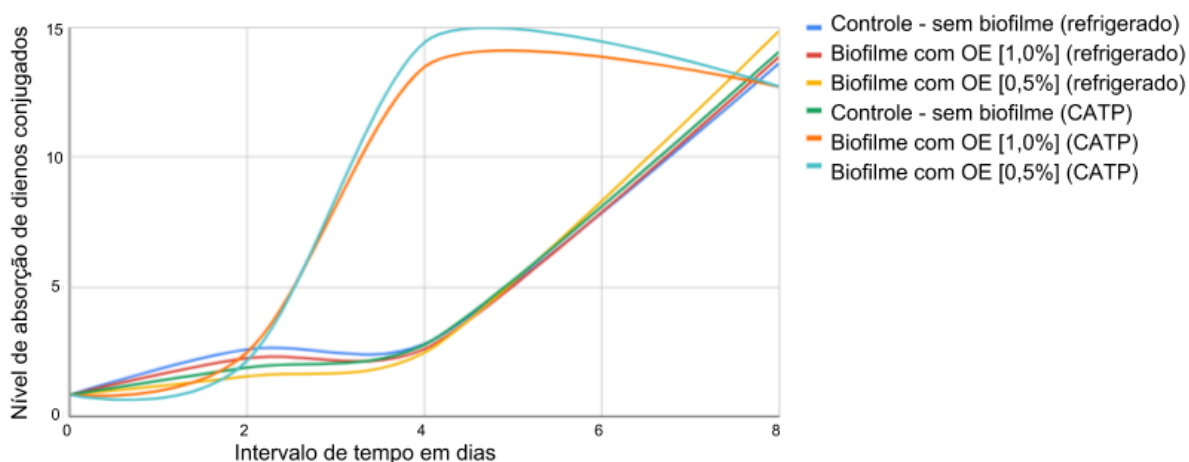


Figura 8 - Gráfico do nível de absorção de dienos conjugados nas amostras sob armazenamento refrigerado e nas CATP.

Fonte: Elaborado pela equipe.

A princípio, do tempo inicial até o 2º dia, as amostras com biofilme armazenadas nas CATP, foram as que apresentaram os menores níveis de dienos conjugados. Do 2º ao 4º dia, as amostras armazenadas nas CATP, com exceção do controle, apresentaram níveis de dienos conjugados muito superiores aos demais. Do 4º ao 8º dia, as amostras sob refrigeração e o Controle - CATP apresentam aumento no nível de dienos conjugados, já as amostras com os biofilmes armazenadas nas CATP obtiveram decréscimo em sua concentração de dienos.

Conclui-se assim que a utilização dos filmes nas CATP parece ser ineficiente, em vista de que os resultados obtidos não favorecem tal prática. Por sua vez, os filmes utilizados como embalagem dos queijos armazenados sob refrigeração apresentaram menores níveis de oxidação (dienes) nos primeiros 4 dias de armazenamento (Figura 7), não sendo concentração dependente, pois os melhores resultados foram da concentração de 0,5% de óleo essencial. De modo geral, os resultados indicam potencial uso do biofilme e a ampliação de seu estudo na prospecção de embalagens primárias e bioativas.

4 Considerações finais

Em relação a presente pesquisa, apesar de uma série de agravantes ter limitado o tempo hábil de sua execução, foram observados bons resultados, tanto relacionados à capacidade conservante do óleo essencial de orégano quanto a elaboração de biofilmes com os polímeros naturais: proteínas do soro do leite e amido de milho. Durante o processo de secagem, foi possível notar a contaminação por microrganismos nos biofilmes controle, já que o ambiente de pesquisa é um local compartilhado, além de não ser um laboratório específico da área de microbiologia. Isso impossibilitou a realização de testes relacionados

aos biofilmes sem princípios ativos antimicrobianos, porém comprovou a capacidade do óleo essencial de orégano em conservar o material biodegradável. Ao final, através das análises realizadas, foi possível obter os primeiros resultados do estudo da eficácia de biofilmes como embalagens primárias e ativas na conservação de alimentos.

Ademais, a presente pesquisa possibilitou o aprimoramento de conhecimentos sobre a síntese de biofilmes, tais como a bioatividade de óleos essenciais para formulação de filmes ativos. Além da compreensão teórica, a prática de técnicas analíticas fez-se importante no estudo das variáveis da pesquisa. Estudos posteriores permitirão a otimização do método de obtenção de biofilmes com intuito de melhorar suas características físicas e químicas, bem como ampliar a sua aplicação como embalagem ou para outros fins em segmentos correlacionados à área da Química.

5 Agradecimentos

Destina-se os agradecimentos a todas as pessoas que colaboraram com a execução da pesquisa. Aos docentes, em especial à professora Débora Martins Martinez pela orientação em ambos os semestres da realização da pesquisa, e também ao professor Juliano Ramos Carvalho pelo auxílio nas análises espectrofotométricas. Agradecemos aos estagiários e responsáveis pela manutenção do laboratório, que auxiliaram no decorrer da prática da pesquisa. Agradecemos ainda ao Instituto Federal de Santa Catarina - Campus Jaraguá do Sul Centro, por nos proporcionar a iniciação científica, a fim de ampliarmos nossos conhecimentos.

Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. **Análise sensorial dos alimentos e bebidas**: terminologia. 1993.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Portaria nº146**. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. Brasília, 07 de mar. 1996.

BOTRE, Diego Alvarenga; SOARES, Nilda de Fatima Ferreira; ESPITIA, Paula Judith Perez; DE SOUSA, Solange; RENHE, Isis Rodrigues Toledo. **Avaliação de filme incorporado com óleo essencial de orégano para conservação de pizza pronta**. Revista Ceres, Viçosa - MG, v. 57, n. 3, p. 283-291, mai./jun. 2010.

DIANIN, Izaura Maria Brzezinski. **Aplicação de proteínas do soro de leite na formulação de biofilme comestível para aplicação em frutas**. 62 p. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados)- UNOPAR, Londrina - PR, 2016.

GARCIA, Denise Marques. **Análise de atividade de água em alimentos armazenados no interior de granjas de integração avícola**. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre - RS, p. 50, 2004.

GUTERRES, Paula Cristina Matos. **Caracterização do Queijo de Mistura com Adição de Orégãos**. 2013. Dissertação (Mestrado) - Curso de Produção Alimentícia, Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, Castelo Branco, Portugal, f. 75, 2013.

HARAGUCHI, Fabiano Kenji; DE ABREU, Wilson César; DE PAULA, Heberth. **Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana**. Revista de Nutrição, v.19, n.4, p.479-488, 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo, 2008.

LANDIM, Ana Paula Miguel; BERNARDO, Cristiany Oliveira; MARTINS, Inayara Beatriz Araujo; FRANCISCO, Michele Rodrigues; SANTOS, Monique Barreto; DE MELO, Nathália Ramos. **Sustentabilidade quanto às embalagens de alimentos no Brasil**. Polímeros [online]. ISSN 0104-1428, vol.26, n.spe, p.82-92, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0104-1428.1897>>. Acesso em: 29 mai. 2018.

OLIVEIRA, Sandra Prestes Lessa Fernandes. **Avaliação da Aplicação de Óleo Essencial de Orégano em Filme de Proteína de Soro do Leite**. Dissertação - Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UNOPAR, Londrina - PR, f. 54, 2013.

PERRY, Katia S. P. **Queijos: Aspectos Químicos, Bioquímicos e Microbiológicos**. Química Nova, Belo Horizonte - MG, v. 27, n. 2, p. 293-300, mar./abr. 2004.

SILVA, Francisco A. M.; BORGES, M. Fernanda M.; FERREIRA, Margarida A. **Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante**. Química Nova, Portugal, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v22n1/1143>>. Acesso em: 03 nov. 2018.

YOSHIDA, Cristiana Maria Pedroso; ANTUNES, Aloísio José. **Aplicação de filmes proteicos à base de soro de leite**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas - SP, v. 29, n. 2, p. 420-430, abr./jun. 2009.