



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS



**FILMES DE QUITOSANA ADITIVADOS COM EXTRATO DE HORTELÃ-
PIMENTA (*Mentha Piperita* L.) PARA APLICAÇÃO EM MASSA *BRISÉÉ***

ANDERSON CAMPOS BEZERRA

Recife

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

ANDERSON CAMPOS BEZERRA

**FILMES DE QUITOSANA ADITIVADOS COM EXTRATO DE HORTELÃ-
PIMENTA (*Mentha Piperita* L.) PARA APLICAÇÃO EM MASSA *BRISÉE***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do Grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ORIENTADOR/A: Andreлина Maria Pinheiro Santos

CO-ORIENTADOR/A: Enayde de Almeida Melo

Recife
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

B574f Bezerra, Anderson Campos.
Filmes de quitosana aditivados com extrato de hortelã-pimenta (*Mentha Piperita L.*) para aplicação em massa *brisseé* / Anderson Campos Bezerra. – Recife, 2018.
141 f. : il.

Orientadora: Andreлина Maria Pinheiro Santos.
Coorientadora: Enayde de Almeida Melo.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Recife, BR-PE, 2018.
Inclui referências.

1. Composto bioativo 2. Extrato 3. Filmes 4. Oxidação lipídica 5. massa
I. Santos, Andreлина Maria pinheiro, orient. II. Melo, Enayde de Almeida, coorient.
III. Título

CDD 664

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DOS ALIMENTOS

**FILMES DE QUITOSANA ADITIVADOS COM EXTRATO DE
HORTELÃ-PIMENTA (*Mentha Piperita* L.) PARA APLICAÇÃO EM MASSA
BRISÉE.**

Por Anderson Campos Bezerra

Esta dissertação foi julgada para obtenção do título de Mestre em
Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em __/__/__ pelo Programa de
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimento em sua forma final.

Banca Examinadora:

Dra. Samara Alvachian Cardoso Andrade
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Karina Correia da Silveira
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Eliana Setsuko Kamimura
Universidade de São Paulo

Dedico a Deus, a meus pais, Edmundo e Cristina, a Bianca, minha esposa, a Alan e Keite meus irmãos, e a Ronaldo e Edinalva, meus sogros!

AGRADECIMENTOS

Esse árduo trabalho foi um conseguimento muito importante para a minha vida profissional. Contudo, a caminhada foi tortuosa e espinhenta! Requereu muito trabalho, esforço, empenho e dedicação. E no decorrer desses longos dois anos, pude contar com o achego, auxílio, proteção e amparo de algumas pessoas que estiveram comigo.

Primeiramente! Agradeço a Deus por estar sempre ao meu lado abrindo e iluminando meus caminhos;

A meus pais Edmundo e Cristina, por serem meus exemplos, por sempre me apoiarem e pelo amor incondicional que me oferecem;

À minha esposa Bianca, pelo amor, cumplicidade, compreensão e apoio;

Às minhas orientadoras Lia Pinheiro e Enayde Melo, pelos exemplos que demonstraram como pesquisadoras, pela dedicação, paciência, incentivo no momento certo e confiança.

Agradeço a toda minha família, em especial meus irmãos Alan e Keite pela preocupação, incentivo e apoio!

Aos queridos amigos e colegas do Laboratório de Físico-química - PGCTA, que juntos dividimos angustias e alegrias.

Agradeço a Lara Lins, amiga querida, que esteve sempre ao meu lado. Pela sua imensa bondade, paciência e compreensão com minha lentidão mental!

A Betty por toda a ajuda, conhecimento passado e pela amizade demonstrada;

Aos meus colegas de turma do mestrado, que de alguma forma me estimularam a seguir adiante.

Agradeço a Cris, por todas as conversas produtivas e improdutivas. Pela ajuda nas disciplinas mais sofridas. Que bom saber que posso contar com a sua amizade!

Também agradeço a Ronaldo e Nalva, meus sogros, que abriram as portas da sua casa para que eu pudesse realizar esse sonho. Demonstrando apoio nos momentos que mais precisei;

Deixo meu muito obrigado também a Isa, que viveu um momento muito difícil ano passado;

Obrigado a Amanda, Técnica de laboratório do DTR, por todo apoio e ensinamentos;

Quero agradecer também a Jaqueline pelo incentivo e amparo;

À banca examinadora, pela disponibilidade e contribuição para esse trabalho;

Dessa forma agradeço a todos que de alguma forma contribuíram com este trabalho.

“A curiosidade e a produção do conhecimento no homem muitas vezes supera qualquer prazer carnal, distinguindo-o dessa forma de qualquer animal”

Thomas Hobbes

RESUMO

Aliado à necessidade de produtos práticos e convenientes, o consumidor demanda alimentos cada vez mais seguros, saborosos, despertando o interesse pelo uso de aditivos naturais. Assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um filme de quitosana adicionado com extrato de hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.), visando à conservação de massa *Briseé*. Os filmes foram elaborados com quitosana (1% m/v) aditivados com quatro concentrações de extrato de hidroetanólico de hortelã-pimenta (EHH): 2,5% (EH2,5), 5% (EH5), 10% (EH10) e 25% (EH25). O extrato incorporou compostos fenólicos aos filmes que passaram a exibir ação antioxidante frente ao radical DPPH, entretanto, a adição de 5 e 10% de extrato (filmes EH5 e EH10) exibiram melhor retenção dos compostos bioativos. Porém, não apresentaram ação antimicrobiana para as duas concentrações de EHH. Os filmes EH5 e EH10 foram caracterizados quanto à análise visual, à espessura, à cor, às propriedades mecânicas, à opacidade, à umidade, à densidade, à permeabilidade ao vapor de água (PVA), intumescimento, solubilidade e a ação antimicrobiana para as bactérias *S. aureus* e *Escherichia coli*. Nos filmes selecionados, a adição do extrato promoveu melhoria das propriedades mecânicas, principalmente as relacionadas à resistência a tração e resistência ao alongamento, bem como nas propriedades de barreira e ópticas. Os filmes, nas concentrações estudadas (EH5 e EH10) não apresentaram ação antimicrobiana. Após a caracterização, os filmes EH5 e EH10 foram utilizados para embalar pedaços de massa *briseé*. A cada dois dias por dez dias, a massa foi avaliada quanto à oxidação lipídica (TBARS). A partir dos resultados de sequestro do radical livre DPPH e de TBARS obtidos, observou-se que os biofilmes de quitosana com EHH foram eficazes em retardar a oxidação lipídica nas massas, ou seja, após dez dias de armazenamento, a massa conservou-se com valores menores de TBARS (mg de MDA/kg) em relação ao controle C e *Ziploc*[®].

Palavras-chave: Composto bioativo. Extrato. Filmes. Oxidação lipídica. Massa

ABSTRACT

Combined with the need for practical and convenient products, the consumer demands increasingly safe, tasty foods, arousing interest in the use of natural additives. Thus, the objective of this work was to develop a film of chitosan added with peppermint extract (*Mentha piperita* L.), aiming at the conservation of Briseé mass. The films were prepared with chitosan (1% w / v) added with four concentrations of peppermint hydroethanolic extract (EHH): 2.5% (EH2.5), 5% (EH5), 10% (EH10) and 25% (EH25). However, the addition of 5 and 10% of the extract (films EH5 and EH10) showed a better retention of the bioactive compounds. However, they did not present antimicrobial action for the two concentrations of EHH. EH5 and EH10 films were characterized for visual analysis, thickness, color, mechanical properties, opacity, humidity, density, water vapor permeability (PVA), swelling, solubility and antimicrobial action for bacteria *S. aureus* and *Escherichia coli*. In the selected films, the addition of the extract promoted improved mechanical properties, especially those related to tensile strength and resistance to elongation, as well as barrier and optical properties. The films, in the studied concentrations (EH5 and EH10) did not present antimicrobial action. After characterization, the films EH5 and EH10 were used to package pieces of baking dough. Every two days for ten days, the mass was evaluated for lipid oxidation (TBARS). From the sequestration results of the DPPH free radical and TBARS obtained, it was observed that chitosan biofilms with EHH were effective in delaying lipid oxidation in the masses, ie after ten days of storage, the mass was preserved with lower values of TBARS (mg of MDA / kg) relative to control C and Ziploc®.

Keywords: Bioactive compound. Extract. Movies. Lipid oxidation. Patty

LISTAS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Obtenção de filmes pelo método de <i>casting</i> : (1) formulação de suspensão (solução filmogênica) de quitosana, (2) solução filmogênica depositada sobre um molde ou sobre uma superfície, (3) secagem, (4) remoção do filme formado (Adaptado de OTONI <i>et al.</i> , 2017).....	19
Figura 2 – Reação de desacetilação da quitina.....	24
Figura 3 - Estrutura molecular do glicerol.....	28
Figura 4 – Ressonância dos anéis aromático presentes nos compostos fenólicos	30
Figura 5 – Estrutura dos principais antioxidantes fenólicos sintéticos.....	30
Figura 6 – Estrutura dos principais compostos antioxidantes fenólicos	33
Figura 7 – Esquema geral da oxidação lipídica.....	36
Figura 8 – Fases da oxidação lipídica	37
Figura 9 – Hortelã- pimenta (<i>Mentha piperita</i> L.).....	43
Figura 10 – Massa <i>Briseé</i>	45

ARTIGO 1

Figura 1 - Fluxograma da obtenção do extrato hidroetanólico de hortelã- pimenta	73
Figura 2 – Filmes de quitosana aditivados com extrato hidroetanólico de hortelã pimenta.	80

ARTIGO 2

Figura 1 – Aplicação do filme de quitosana aditivado com extrato de hortelã- pimenta. A abertura da massa, B medição em 3 x 3 cm, C corte, D massa cortada, E embalando a massa, F primeira dobradura, G segunda dobradura, H colocação no <i>Ziploc</i>	114
Figura 2 - Filme de quitosana sem EHH (A), filme EH5 (B) e filme EH10 (C)	120
Figura 3 - Atividade antimicrobiana dos filmes quitosana com EHH.....	124

Figura 4 – Cinética da atividade de sequestro dos radicais livres do extrato contendo compostos bioativos antioxidantes retirados dos filmes à base de quitosana sem EHH (C) e com 5% e 10% de EH.....	125
Figura 5 - Resultado na cinética com valores médios de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) da massa <i>Brisée</i> embalada com filmes aditivados com EHH em diferentes dias de armazenamento	127

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Exemplo de sistemas de embalagens ativas à base de polímeros e compostos naturais com propriedades antioxidantes (AO) e antimicrobianas (AM)	22
Tabela 2 – Exemplos de fontes e propriedades de compostos ativos naturais	31
Tabela 3 – Exemplo de filmes a base de macromoléculas naturais aditivadas com agentes antimicrobianas.....	39

ARTIGO 1

Tabela 1 - Formulação dos filmes de quitosana com diferentes concentrações de extrato de hortelã-pimenta.....	75
Tabela 2 - Teor de fenólicos totais (TFT) e capacidade antioxidante de sequestro do radical DPPH do extrato de hortelã-pimenta	81
Tabela 3 - Teor de fenólicos totais, capacidade antioxidante (DDPH) e retenção dos biofilmes de quitosana produzidos com quatro concentrações de extrato de hortelã e seu respectivo percentual de retenção.....	82
Tabela 4 - Espessura dos filmes à base de quitosana com extrato de hortelã-pimenta	86
Tabela 5 - Efeito da incorporação do extrato hidroetanólico de hortelã-pimenta (EH) na resistência à tração (RT), no alongamento na ruptura (AR) e no módulo de Young (E) dos filmes à base de quitosana	87
Tabela 6 - Umidade e solubilidade de filmes de quitosana com diferentes concentrações de extrato de hortelã-pimenta	90
Tabela 7 - Permeabilidade ao vapor de água (PVA) e intumescimento dos filmes de quitosana com EH.....	92

Tabela 8 - Efeito da adição do extrato de hortelã-pimenta na luminosidade (L^*), no croma a^* , no croma b^* e na diferença de cor (ΔE^*) nos filmes à base de quitosana.....	95
Tabela 9 - Interferência na transmissão da luz visível (%T) pela adição do extrato hidroetanólico de hortelã-pimenta (EHH) nos filmes de quitosana.....	97
Tabela 10 - Interferência na transmissão da luz UV (%T) pela adição do extrato hidroetanólico de hortelã-pimenta (EHH) nos filmes de quitosana.....	97

ARTIGO 2

Tabela 1- Formulação da massa Briseé.....	114
Tabela 2 - Formulação dos filmes de quitosana com diferentes concentrações de extrato de hortelã-pimenta.....	116
Tabela 3 - Teor de fenólicos totais e atividade antioxidante dos biofilmes de quitosana produzidos com três concentrações de extrato	122

LISTA DE ABREVIações

ABS - Absorbância
ABTS - 2,20-azino-bis ácido 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfônico
ASTM - American Society for Testing and Materials
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BHA- Butilhidroxianisol
BHT- Butilhidroxitolueno
C- Filme sem extrato
CNNPA - Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos
DPD - Dietil-p-fenilenediamina
DPPH- 2,2-diphenyl-1-picrilhydrazyl
E- Módulo de Young
EAG - Equivalente de Acido Gálico
EC₅₀ - Effective Concentration
EH10- Filme com 10% de extrato
EH2,5- Filme com 2,5% de extrato
EH25- Filme com 25% de extrato
EH5- Filme com 5% de extrato
EHH - Extrato Hidroetanólico de Hortelã
AR- Alongação na ruptura
EROs - Espécies Reativas de Oxigênio
FRAP - Ferric Reducing Antioxidant Power
IUPAC- União Internacional de Química Pura e Aplicada
L- Luminosidade
MDA - Malonaldeido
OP- Opacidade
PBS- Polibutileno Succinato
PCL- Policaprolactona
PG- Propil galato
PGA- Ácido Poliglicólico
PHA- Poli-Hidroxi-Alcanoato
PLA- Ácido polilático
POLI- Álcool Vinílico
PVA - Permeabilidade ao Vapor de Água
PUFA- Ácidos graxos poliinsaturados
PVA - Polivinil Álcool
TBARS - Thiobarbituric Acid Reactive Substances
TBHQ - Hidroquinona
TFT- Teor de Fenólicos Totais
TR - Tração na ruptura
UR -Umidade Relativa
UV- Ultravioleta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. PROBLEMA DE PESQUISA E HIPÓTESE.....	17
3. REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1 EMBALAGENS BIOPOLIMÉRICAS EM ALIMENTOS	18
3.1.2 Embalagens ativas: tendência para as embalagens alimentícias	20
3.1.3 Quitosana no desenvolvimento de embalagens.....	24
3.1.2 Uso do plastificante glicerol.....	27
3.2 COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM FILMES	29
3.2.1 Compostos fenólicos	29
3.2.2 Propriedade antioxidante dos filmes biodegradáveis	34
3.2.3 Oxidação lipídica	35
3.3 PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS	38
3.4 USO DE EXTRATOS EM FILMES	41
3.5 HORTELÃ-PIMENTA (<i>Mentha piperita</i> L.)	42
3.6 MASSA <i>BRISÉÉ</i>	44
Artigo 1	67
RESUMO.....	68
ABSTRACT	69
1. INTRODUÇÃO	70
2. MATERIAIS E MÉTODOS	72
2.2 Materiais.....	72
2.4. Obtenção do extrato hidroetanólico da folha de hortelã-pimenta (EHH)	72
2.5 Determinações dos fenólicos totais do extrato de hortelã-pimenta (EHH)	73
2.6 Determinação da atividade antioxidante do extrato de hortelã-pimenta pelo método de sequestro de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH).....	74
2.7 Elaboração do filme com extrato de hortelã-pimenta	74
2.8 Extração dos compostos presentes nos filmes	75
2.8.1 Determinação de fenólicos totais dos filmes	75
2.8.2 Determinação da atividade antioxidante dos filmes.	76
2.9 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES.....	76
2.9.1 Espessura	76
2.9.2 Propriedades mecânicas	76

2.9.3 Parâmetro de cor e de opacidade dos filmes	77
2.9.4 Transmissão de luz	77
2.9.5 Solubilidade e umidade	77
2.9.6 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	78
2.9.7 Intumescimento	79
2.10 Análise estatística.....	79
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	80
3.1 Características e aspectos visuais dos filmes de quitosana aditivado com EHH (extrato hidroetanólico de hortelã).	80
3.2. Quantificação do teor de fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato de hortelã-pimenta	81
3.3 Teor de fenólicos, Capacidade de retenção e Atividade antioxidante dos filmes de quitosana aditivados com extrato de hortelã-pimenta.....	82
3.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES.....	85
3.4.1 Espessura e propriedades mecânicas.....	86
3.4.2 Umidade e solubilidade em água	89
3.4.3 Permeabilidade ao vapor de água (PVA) e Intumescimento	92
3.4.4 Cor, opacidade e transmissão de luz UV.....	95
4. CONCLUSÃO	98
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99
Artigo 2.....	109
AVALIAÇÃO DE FILMES DE QUITOSANA ADITIVADOS COM EXTRATO DE HORTELÃ-PIMENTA (<i>Mentha piperita</i> L.) EM MASSA <i>BRISEÉ</i> (empada).....	110
RESUMO.....	110
ABSTRACT	111
1. INTRODUÇÃO.....	112
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	114
2.1 Local de desenvolvimento da pesquisa.....	114
2.2 Materiais.....	114
2.3. Produção da massa <i>Briseé</i>	114
2.4. Aplicação do filme à massa <i>Briseé</i>	114
2.5 Obtenção do extrato hidroetanólico da folha de hortelã-pimenta	115
2.6 Elaboração do filme com extrato de hortelã-pimenta	116
2.7 Extração dos compostos presentes nos filmes	116

2.7.2 Determinação da atividade antioxidante dos filmes	117
2.7.3 Determinação de fenólicos totais dos filmes	117
2.8 Determinações da atividade antimicrobiana dos filmes aditivados com extrato hidroetanólico de hortelã-pimenta (EHH)	118
2.9 Determinação da oxidação lipídica pela determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	119
2.10 Cinética da ação antioxidante, da oxidação lipídica e atividade microbiana da massa <i>Briseé</i>	120
2.11 Estatística	120
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	120
3.1. Características e aspectos visuais dos filmes de quitosana de acordo com o percentual de extrato hidroetanólico incorporado.....	120
3.2 Teor de fenólicos totais e atividade antioxidante dos filmes de quitosana com EHH.....	121
3.3 Atividade antimicrobiana dos filmes de quitosana aditivados com EHH.....	123
3.4 Cinética da atividade antioxidante.....	124
3.5 Cinética da oxidação lipídica pela determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	126
4. CONCLUSÃO	129
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	130
CONSIDERAÇÕES FINAIS	137

1. INTRODUÇÃO

A embalagem tem por função primordial acondicionar o produto de forma a permitir todas as demais operações que fazem parte do processo de distribuição física, ou seja, levar o produto finalizado até o cliente. Complementando essa função, tem-se que a embalagem serve para a promoção do produto, provendo também sua proteção, além de servir como instrumento para aumentar a eficiência da distribuição (PULIGUNDLA, 2012).

As indústrias de alimentos têm aumentado e diversificado a oferta de produtos alimentícios, buscando suprir o mercado crescente. Nos últimos anos, pesquisas em embalagens foram ampliadas e as embalagens ativas, uma nova linha tecnológica, estão em destaque. (BARBOSA-PEREIRA *et al.*, 2014).

Embalagem ativa é, atualmente, uma das tecnologias mais dinâmicas utilizadas para preservar a qualidade dos alimentos por meio da liberação de agentes ativos contidos na embalagem. Elas alteram as condições do produto, aumentando sua vida de prateleira, sua segurança e sua qualidade, aprimorando também suas características sensoriais (MORELLI *et al.*, 2015).

Um importante objetivo da embalagem, quando considerada como uma tecnologia de conservação de alimentos, é inibir a contaminação do produto, retardando sua deterioração, estendendo o prazo de validade, mantendo a qualidade e a inocuidade dos alimentos (LÓPEZ-RUBIO *et al.*, 2004). Conforme López *et al.* (2007), a incorporação de compostos bioativos que possuam função antimicrobiana e antioxidante, em embalagem, pode promover o aumento da vida útil dos alimentos nela embalados. Como exemplo de compostos bioativos naturais, têm-se extratos de folhas e de frutos, que são substâncias de origem vegetal e que têm por características serem voláteis e orgânicas (GÓMEZ-ESTACA *et al.*, 2009). Alguns extratos de folhas apresentam boa função antimicrobiana e/ou antifúngica (NORAJIT *et al.*, 2010).

Segundo Abdollahi *et al.*, (2012), biopolímeros têm sido amplamente investigados ao longo das décadas, porque eles podem ser uma alternativa à produção de embalagens de uso rápido no transporte doméstico e de descarte imediato. Ademais, são ótimos veículos para a incorporação de uma gama de aditivos tais como antioxidantes, agentes antifúngicos, agentes antimicrobianos e nutrientes (YANG *et al.*, 2014).

Os filmes obtidos a partir de biopolímeros podem compor um sistema de embalagens ou serem adicionados em formulações contendo polímeros sintéticos ou bioengenheirados para diminuir custos e para aumentar a disponibilidade dos materiais biodegradáveis para aplicações comerciais (GANIARI; CHOULITOU DI; OREOPOULOU., 2017). De acordo com Yoshida e Antunes (2009), a aplicação de filmes biopoliméricos em embalagem para vegetais frescos, como frutas e hortaliças, reduz o amadurecimento, o escurecimento, a mudança de cor e a perda de aroma, pois promove uma barreira seletiva aos gases envolvidos nos processos respiratórios, diminuindo as taxas de metabolismo e de oxidação.

Dentre os polímeros naturais, a quitosana tem despertado interesse por ser biodegradável, por ser de fontes renováveis e por possuir capacidade de formar filmes flexíveis e resistentes, com barreiras eficientes contra o oxigênio, além de deter atividade antimicrobiana (LISKOVÁ *et al.*, 2014). Esse biopolímero, um derivado desacetilado de quitina, é o segundo polissacarídeo mais abundante encontrado na natureza depois da celulose. Não é tóxico e é biodegradável, biofuncional e biocompatível. A quitosana traz algumas vantagens sobre outros polímeros ativos à base de biomoléculas usadas como materiais de embalagens devido a seu comportamento antibacteriano e a sua capacidade quelante (BITENCOURT *et al.*, 2014). Além disso, a quitosana pode agir como portadora de substâncias ativas, tais como antioxidantes, antimicrobianos, resultando em extensão da vida útil e em melhoria da qualidade sensorial e da segurança dos produtos alimentícios. No entanto, tem como característica possuir barreira mecânica deficitária e ter fraca resistência à água, o que são empecilhos na sua aplicação, especificamente na presença de água e de umidade (RUIZ-NAVAJAS *et al.*, 2015).

Filmes contendo extratos de plantas têm sido desenvolvidos para o uso em embalagens com potencial atividade antioxidante (QUILAQUEO GUTIÉRREZ *et al.*, 2012; MORADI *et al.*, 2012; KANATT *et al.*, 2012; MORADI *et al.*, 2012; CAMO *et al.*, 2011; NORAJIT; KIM; RYU,2010;) e antimicrobiana (MOLDOVAN, 2014; MEKINIC, 2014).

A hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) apresenta em sua composição muitos compostos com propriedades antioxidantes, tais como ácidos fenólicos (ácido cafeíco, ácido cumárico, ácido rosmarínico e ácido sinápico), flavonoides (flavol-3-ol; galato de galocatequina; flavonóis: rutina e quercetina; flavonas: hesperidina) (CHOUDHURY;KUMAR;GARG,2006). Frente a essas constatações, o objetivo do presente estudo foi investigar a viabilidade de filmes biopoliméricos de quitosana aditivados com extrato de hortelã-pimenta com propriedades mecânicas, propriedades de barreira, propriedades ópticas, físico-químicas e com ação antimicrobiana e antioxidante na perspectiva de empregá-los em massa *Briseé* refrigerada com a finalidade de retardar a oxidação lipídica.

2. PROBLEMA DE PESQUISA E HIPÓTESE

Um dos importantes fatores na deterioração dos alimentos, levando-os ao desperdício, é a oxidação, que acontece pela exposição dos alimentos a alguns fatores externos, como luz e oxigênio. Por essa vulnerabilidade, destaca-se a necessidade de um sistema de proteção que retarde ou que iniba esse mecanismo de deterioração, favorecendo a preservação do produto alimentício e estendendo seu período de comercialização.

Considerando as propriedades do biopolímero quitosana e do extrato de hortelã, é possível que a combinação desses materiais, em proporções adequadas, favoreça as propriedades mecânicas e que potencialize a propriedade antimicrobiana e antioxidante do filme obtido, bem como que contribua para o aumento da vida de prateleira, possibilitando empregá-la como embalagem para massas amanteigadas (*Briseé*) que podem sofrer oxidação lipídica.

No entanto, algumas questões precisam ser definidas, a saber: qual a proporção do extrato de hortelã (2,5%, 5%, 10% e 25%) que propiciará a obtenção desse filme? O filme obtido apresentará propriedades antimicrobianas e antioxidantes que possibilitem empregá-lo em embalagens para massa *Briseé*? O filme de quitosana terá propriedade mecânica e propriedade de barreira aumentada com adição do extrato de hortelã-pimenta?

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 EMBALAGENS BIOPOLIMÉRICAS EM ALIMENTOS

As embalagens de alimentos são desenvolvidas em função dos requisitos e da alteração no costume de compra e no modo de vida dos consumidores (DAINELLI *et al.*, 2008). Mudanças nas práticas de varejo e de distribuição, novas tendências (por exemplo, compra pela Internet) e internacionalização dos mercados resultam no aumento da distância de distribuição dos produtos, e isso enseja mais tempo e diferentes estratégias de armazenamento (GANIARI; CHOULITOU; OREOPOULOU, 2017).

Essas mudanças apresentam grandes desafios para o desenvolvimento de novas embalagens, que devem prolongar o tempo de vida útil, preservando e monitorando a segurança e a qualidade dos produtos. Dentro desse aspecto, embalagem ativa é uma dessas tecnologias.

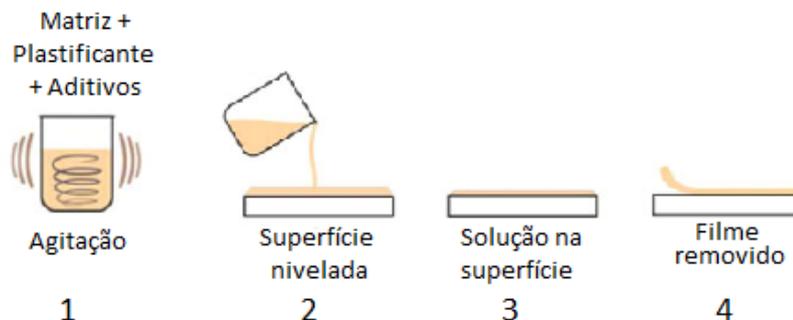
O Brasil é um dos países de maior índice de consumo mássico de plásticos convencionais. Calcula-se que o valor bruto da produção física de embalagens, em 2013, atingiu R\$ 51,8 bilhões. Esse montante deve-se, em grande parte, aos grandes volumes produtivos da indústria de alimentos que, juntamente com outros segmentos industriais, alicerçam o país (ABRE, 2014).

Na última década, tem ocorrido um aumento nos estudos associados ao desenvolvimento de polímeros biodegradáveis devido aos problemas relacionados a resíduos não degradáveis derivados dos plásticos convencionais provenientes do petróleo (MULLER; PIRES; YAMASHITA, 2012; CANCHÉ-ESCAMILLA *et al.*, 2011). A produção e a utilização de biopolímeros, de polímeros verdes e de polímeros biodegradáveis surgem como importantes alternativas devido à viabilidade técnica e econômica e por apresentarem grande potencial de expansão em substituição aos resíduos não degradáveis derivados dos plásticos convencionais (BRITO *et al.*, 2011).

O método mais utilizado para a elaboração dos filmes é o de secagem por moldagem, denominado de *casting* (Figura 1), em que a solução filmogênica é depositada sobre um molde ou sobre uma superfície não adesiva (acrílico, teflon, entre outros), levada à secagem, geralmente, em estufas ou em secadores de bandejas, para então se obter um material similar ao plástico

que pode ser utilizada como uma embalagem (ANDRADE-MAHECHA, TAPIA-BLACIDO, MENEGALLI, 2012).

Figura 1 – Obtenção de filmes pelo método de *casting*: (1) formulação de suspensão (solução filmogênica) de quitosana, (2) solução filmogênica depositada sobre um molde ou sobre uma superfície, (3) secagem, (4) remoção do filme formado.



Fonte: Adaptado de OTONI *et al.*, (2017)

Os filmes biodegradáveis ativos são camadas finas de biopolímeros que, uma vez formados, podem ser aplicados na composição do alimento ou entre ele. A maioria dos materiais comumente utilizados para a formulação de filmes biodegradáveis são polissacarídeos, proteínas e lipídios, e a combinação desses permite a produção de biopolímeros (FABRA *et al.*, 2009).

Em frutas e em vegetais, o uso de filmes vem se tornando tópico de grande interesse devido ao potencial para evitar a deterioração dos alimentos por degradação oxidativa e por reações respiratórias, melhorando, assim, a qualidade dos alimentos e aumentando sua vida de prateleira (MORADI *et al.*, 2012). Recentemente, pesquisas neste campo têm se intensificando graças a fatores como a demanda de alimentos de alta qualidade pelo consumidor, indústrias de alimentos que precisam de novas técnicas de estocagem, conceitos ambientais sobre a disposição de matérias renováveis e oportunidades para criar novos mercados por meio do uso de resíduos agrícolas (ETXABIDE *et al.*, 2016, KANMANI; RHIM, 2014). Dentre os biopolímeros naturais, destacam-se o amido, a celulose, a quitosana e o ágar, substâncias derivadas de hidratos de carbono, bem como a gelatina, o glúten, o alginato, a proteína de soro de leite e de colágeno, derivados proteicos. O advento da tecnologia possibilitou também a obtenção de biopolímeros

sintéticos, como o ácido poliláctico (PLA), a policaprolactona (PCL), o ácido poliglicólico (PGA), o poli (álcool vinílico) e o polibutileno succinato (PBS) (RHIM *et al.*, 2013).

Assim, considerando a origem, os biopolímeros podem ser classificados em naturais e em sintéticos. Os biopolímeros naturais, derivados de carboidratos e de proteínas, podem ser extraídos a partir da biomassa (a exemplo dos recursos agros), enquanto que os sintéticos podem ser obtidos por produção microbiana ou por fermentação, como o poli-hidroxi-alcanoato (PHA), ou por síntese química convencional, empregando biomassa, a exemplo do PLA e do petróleo (como o PCL) (OTHMAN, 2014).

Os polímeros naturais, quando utilizados para o desenvolvimento de filmes comestíveis, aditivados com algum composto que possa agregar valores a sua funcionalidade, podem ser classificados com potencial ativo e, conseqüentemente, de substituição às embalagens ativas produzidas com materiais sintéticos (SIRIPATRAWAN; HARTE, 2010).

Alguns biopolímeros apresentam por si só propriedades antimicrobiana e antioxidante, mas que podem ser intensificadas com a adição de outras fontes naturais (NORAJIT *et al.*, 2010; SIRIPATRAWAN; HARTE, 2010). Cao *et al.* (2013), investigando o efeito da quitosana pura e aditivadas com extratos de alho, cebola e gengibre na conservação de carnes de porco, perceberam melhor potencial antioxidante e antimicrobiano na mistura. Outras pesquisas corroboraram esse resultado uma vez que também mostraram melhor funcionalidade de filmes à base de polímeros naturais incorporados com algum aditivo natural (FERREIRA *et al.*, 2014; BITENCOURT *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2013; WU *et al.*, 2013; SIRIPATRAWAN e HARTE, 2010).

3.1.2 Embalagens ativas: tendência para as embalagens alimentícias

Embalagens ativas podem ser estabelecidas como um exemplo de material que se relaciona com o alimento para aumentar sua vida de prateleira e para sustentar suas propriedades de segurança e/ou sensórias (VERMEIREN *et al.*, 1999). Esse sistema é utilizado com sucesso em países como Estados Unidos e Japão, com embalagens que absorvem oxigênio e umidade do ambiente interno, por exemplo (KHWALDIA; ARAB-TEHRANY; DESOBRY, 2010). Outros exemplos de embalagens ativas são as que apresentam

catalisadores e emissores de CO₂, propriedades antimicrobiana e antioxidante e que liberam ou absorvem sabores e odores (VERMEIREN *et al.*, 1999).

As embalagens antioxidantes e antimicrobianas mostram uma opção atrativa para proteger os alimentos e para prolongar a vida de prateleira dos produtos, atuando contra a oxidação lipídica e contra a ação de microrganismos. De acordo com Gómez-Estaca *et al.* (2014), os sistemas de embalagens ativas antioxidantes permitem aumentar a estabilidade de produtos susceptíveis à oxidação lipídica. Existem dois principais modos de ação do antioxidante para a produção desse sistema: a difusão do agente para o alimento ou a eliminação de compostos indesejáveis (tais como oxigênio, radicais livres e íons de metal) que ficam entre a *headspace* ou no produto, por meio da reação do composto ativo com os compostos indesejáveis modificando sua estrutura ou aprisionando-o (SANTOS *et al.*, 2017; GÓMEZ-ESTACA *et al.*, 2014).

Existem basicamente duas metodologias para a produção de sistemas de embalagem antioxidante: (a) dispositivos independentes em que o composto ativo é incorporado na forma de um sachê, de uma almofada ou de uma etiqueta e (b) materiais de embalagem antioxidante em que o agente é incorporado nas paredes da embalagem (BITENCOURT, 2016; GÓMEZ-ESTACA *et al.*, 2014). As embalagens antimicrobianas são produzidas a partir da adição de compostos ativos na forma de sachês e de almofadas absorventes (OTONI *et al.*, 2016) ou também pela incorporação de compostos ativos no material da embalagem, tais como filmes e revestimentos, sendo que este método proporciona altas quantidades do composto ativo na superfície do alimento (onde se inicia o crescimento microbiano), e dessa maneira, ocorre a migração gradual das substâncias para o produto (GANIARI *et al.*, 2015).

Embalagens à base de polímeros naturais, tais como filmes e revestimentos com incorporação de compostos ativos são maciçamente relatadas na literatura. Na Tabela 1, pode-se observar exemplos desses tipos de matérias com funções antioxidante e antimicrobiana.

Tabela 1 – Exemplo de sistemas de embalagens ativas à base de polímeros e compostos naturais com propriedades antioxidantes (PO) e antimicrobianas (PAM)

Sistema de embalagem ativa	Polímeros naturais	Composto natural	Propriedades	Referência
Filme	Gelatina	Extrato etanólico de cúrcuma	PO	Bitencourt et al. (2014)
	Galatina e quitosana	Óleo essencial de orégano	PAM	WU <i>et al.</i> (2014)
	Quitosana	Óleo essencial de <i>Eucalyptus globulus</i>	PAM e PO	Hafsa <i>et al.</i> (2016)
	Proteína isolada de soja	Extrato de castanha	PO	Wang, HU e Wang. (2016)
	Gelatina e quitosana	Extrato etanólico de canela, guaraná, alecrim e boldo-do-chile	PAM e PO	Bonilla e Sobral (2016)
	Proteína isolada de soja e amido modificado	Cinamaldeído e carvacrol	PAM	Arfa <i>et al.</i> (2007)
Revestimento	Proteína isolada de soja	Carvacrol	PAM	Chalier <i>et al.</i> (2009)
	Glúten de trigo e montmorilonite	Carvacrol	PAM	Mascheroni <i>et al.</i> (2011)
	Quitosana modificada quimicamente	Quitosana modificada quimicamente	PAM	Nechita <i>et al.</i> (2015)

Fonte: Adaptado de Oliveira, (2017)

Ao longo das últimas quatro décadas, pesquisas sobre filmes e sobre revestimentos à base de fontes renováveis, para a área alimentícia, tem sido explorada como barreiras à umidade, ao gás ou ao soluto em embalagens com a finalidade de prolongar a vida de prateleira e de manter a qualidade dos alimentos, ganhando destaque devido a alguns de seus benefícios, como a incorporação de compostos ativos (SUPPAKUL *et al.*, 2016)

Ciannamea, Stefanie e Reseckaitė (2016) avaliaram a atividade de extrato de uva produzido por dois métodos (*casting* e moldagem por compressão) e observaram que ambos os filmes produzidos apresentaram atividade antioxidante em função do aumento da concentração de uva que, incorporada, provocou aumento da atividade antioxidante em relação aos filmes produzidos por *casting*.

Suppakul *et al.* (2016) produziram filmes à base de metilcelulose, de polpa e de extrato de groselha indiana, sendo observada atividade antioxidante pelos métodos do sequestro do radical livre DPPH. Eles também verificaram o efeito da utilização desses filmes como revestimento em castanha de caju torrada, embaladas a vácuo (utilizando-se como polímero a poliamida) e armazenadas a 27°C e 37°C. O índice de peróxido da castanha de caju aumentou em função do tempo de armazenamento, no entanto, as amostras com o revestimento apresentaram redução da taxa de formação de peróxido mesmo sob condições de armazenamento acelerada.

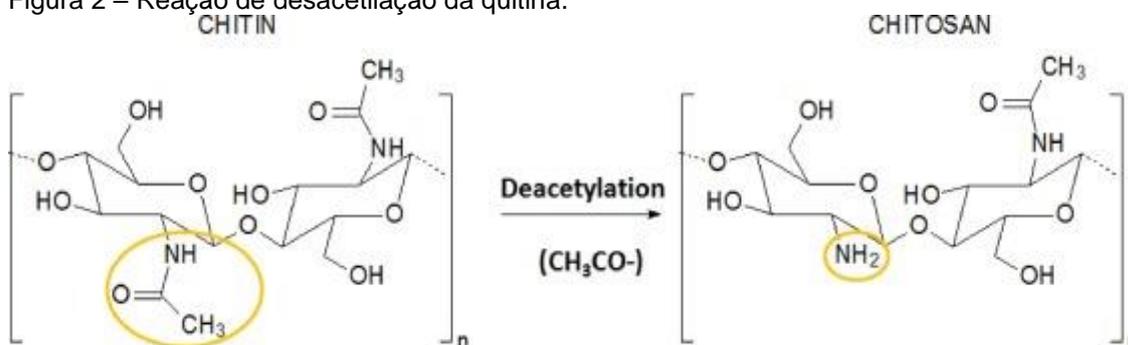
A escolha dos materiais de revestimento é dependente da função final do material. A eficácia de revestimento à base de polímeros naturais como veículo de compostos ativos está relacionada principalmente às suas boas propriedades de formação de filme, a sua alta capacidade de conservar e de liberar o composto (KHWALDIA; ARAB-TEHRANY; DESORY, 2010).

Yang *et al.* (2014) inseriram extrato de folha de mirtilo no filme de quitosana. Os biofilmes foram usados para embalar o mirtilo e para prolongar seu prazo de validade. Eles constataram que os filmes de quitosana com variadas concentrações de extrato da folha de mirtilo serviram como agente antioxidante e antimicrobiano.

3.1.3 Quitosana no desenvolvimento de embalagens.

Quitosana é um polissacarídeo linear catiônico derivado da quitina, um componente presente em cascas de camarão, de caranguejo e de insetos, insolúvel em água e o segundo polímero natural mais abundante depois de celulose (AIDER, 2010) (Figura 2). É obtida pela desacetilação da quitina, com a substituição de grupos acetilas (COCH_3) por grupos aminos livres ($-\text{NH}_2$) que podem ser protonados em meio ácido ($-\text{NH}^{+3}$) fazendo com que a quitosana seja solúvel em soluções ácidas de ácidos, como acético, cítrico, ascórbico, láctico, málico, oxálico, ácido succínico, adípico e propiónicos (ZHONG, SONG e LI, 2011).

Figura 2 – Reação de desacetilação da quitina.



Fonte: MUXIKA *et al.* (2017)

O biopolímero quitosana pode ser modificado fisicamente e tem como vantagem sua grande versatilidade, podendo ser preparado em diferentes formas, tais como: pós, flocos, microesferas, nanopartículas, membranas, esponjas, colmeias, fibras e fibras ocas (BERNKOP-SCHNÜRCH; DÜNNHAUPT, 2012). Os filmes de quitosana são quebradiços, com baixa resistência mecânica. A adição de plastificante torna-se importante por melhorar as propriedades mecânicas do filme, permitindo empregá-lo (FIORI *et al.*, 2014). Sendo assim, a quitosana, polímero biodegradável, forma filmes flexíveis com eficiente barreira ao oxigênio, podendo ser usada como alternativa ao uso de polímeros sintéticos.

A quitosana apresenta características de ser não tóxica, biodegradável, e biocompatível, bem como de possuir ação antimicrobiana, inibindo o crescimento de uma grande variedade de bactérias (TRIPATHI *et al.*, 2009).

Sua atividade antimicrobiana aumenta com a diminuição do pH, mas também depende da força iônica e de alguns fatores intrínsecos, tais como seu peso molecular e seu grau de desacetilação. Quitosana de baixo peso molecular é mais solúvel, sendo mais reativa com as membranas celulares microbianas (CORRALES, FERNÁNDEZ e HAN, 2014).

A propriedade catiônica da quitosana oferece uma oportunidade para estabelecer interações eletrostáticas com outros compostos. Devido a essas características, a quitosana tem sido amplamente utilizada para a produção de filmes comestíveis (MARTINS *et al.*, 2012). Ademais, a quitosana é um substrato para filmes comestíveis devido a suas propriedades mecânicas e a sua alta translucidez, aplicável em uma grande variedade de produtos alimentícios (BOURBON *et al.*, 2011).

Os filmes de quitosana são boas barreiras aos gases CO₂ e O₂ (RUBILAR *et al.*, 2013), porém apresentam permeabilidade alta ao vapor de água. Para melhorar as propriedades de barreira de água dos filmes de quitosana, vários compostos são frequentemente incorporados à formulação do biofilme, tais como ácido oleico e α -tocoferol (PERDONES *et al.*, 2014; VARGAS *et al.*, 2009; PARK *et al.*, 2004)

Na maioria dos casos a eficiência da barreira ao vapor de água é uma propriedade desejada para filmes, para torná-lo apropriado no retardo da desidratação de produtos frescos (carne, frutas e legumes) e absorção de umidade em produtos secos (pós, massas secas e outros). E a barreira ao oxigênio permite o controle do amadurecimento de frutas ou auxilia significativamente na redução da oxidação de alimentos sensíveis a esse gás e na rancidez de gorduras poli-insaturados (DUTTA *et al.*, 2009). Leceta, Guerrero e Caba (2013) perceberam que com a adição do plastificante houve uma maior mobilidade entre as moléculas do filme de quitosana, conduzindo a uma maior difusividade do oxigênio. Porém, quando comparado a embalagens utilizadas comercialmente, os resultados de barreira foram ainda melhores. Em relação à interferência da luz, esta pode ser consideravelmente reduzida com a incorporação de pigmentos ao filme (DUTTA *et al.*, 2009).

A quitosana na forma de filme tem revelado eficiência no âmbito laboratorial para conservar vários tipos de alimentos, como ovos, frutas, vegetais, carnes (MARTÍNEZ-CAMACHO *et al.*, 2010) e queijos (DI PIERRO *et*

al., 2011; MARTÍNEZ-CAMACHO *et al.*, 2010). De um modo geral, os filmes de quitosana são biodegradáveis, biocompatíveis, flexíveis, duráveis, difíceis de quebrar e também inibem o crescimento microbiano (MARTÍNEZ-CAMACHO *et al.*, 2010).

Pelas suas propriedades de biodegradabilidade, não toxicidade, biocompatibilidade, propriedade antimicrobiana, a quitosana tem despertado bastante interesse em diversos ramos industriais (AIDER *et al.*, 2010; ARANAZ *et al.*, 2009). Além dessas características, também são referidas outras, tais como efeito hipocolesterolêmico (ARANKU *et al.*, 2011; ARANAZ *et al.*, 2009; KASSAI, 2009; PARK *et al.*, 2004; SURGANO *et al.*, 1988), hemostático, analgésico (ARANAZ *et al.*, 2009), antitumoral (ARANAZ *et al.*, 2009; CHIEN *et al.*, 2007; PARK *et al.*, 2004) e atividade antioxidante (ARANKU *et al.*, 2014; ARANKU *et al.*, 2011; ARANAZ *et al.*, 2009; CHIEN *et al.*, 2007) e que a maioria dessas propriedades biológicas estão relacionadas com a estrutura catiônica do polímero (ARANAZ *et al.*, 2009).

Talón *et al.* (2017) produziram filmes de quitosana e filmes de amido de ervilha enriquecidos com extrato de tomilho e com ácido tânico. Os resultados mostraram que a atividade antioxidante dos filmes de quitosana/ácido tânico foi maior do que a dos filmes de quitosana mais extrato de tomilho. No entanto, a melhor resposta à tração foi obtida quando o extrato de tomilho foi adicionado ao filme de quitosana.

Liang *et al.* (2017) também prepararam filmes de quitosana incorporando o composto antioxidante de epigallocatequina nanocapsulado com zeína. A incorporação de níveis crescentes do composto antioxidante resultou em interações com a quitosana durante a formação do filme, que promoveu a formação de superfícies mais ásperas e filmes mais elásticos e mais duros com propriedades ópticas aprimoradas. De fato, um maior conteúdo de nanocápsulas em filmes de quitosana promoveu uma excelente barreira contra a luz visível, e, portanto, esses filmes poderiam ser considerados materiais adequados para proteger os alimentos da foto-oxidação. Além disso, os filmes carregados com nanocapsulas apresentaram potencial atividade antioxidante. Os estudos de liberação realizados em dois simuladores de alimentos (95% de etanol e 50% de soluções de etanol) mostraram que a liberação do antioxidante aumentou com o aumento da quantidade de nanocápsulas em filmes.

Souza *et al.* (2017), fizeram filmes de quitosana com diferentes tipos de extratos vegetais (chá preto, chá verde, gengibre e alecrim) e constataram que os filmes tiveram um acréscimo na atividade antioxidante e microbiana e uma melhoria nas propriedades mecânicas. Sharafati *et al.* (2016) desenvolveram um novo material para embalagem com a incorporação do óleo essencial de cominho e de eucalipto à matriz de filmes de quitosana, visando a obter sistemas inteligentes para prolongar a vida de prateleira de frangos refrigerados. Crizel *et al.* (2018) incorporaram farinha e pó de azeitona a filmes de quitosana, melhorando a sensibilidade dos filmes à água. Testes realizados confirmaram que essa melhoria está relacionada com a interação entre os grupos hidrofílicos da quitosana com a azeitona (farinha e pó).

Matet *et al.* (2015) produziram blendas de polietileno/quitosana (2, 5 e 10%) e de polietileno/EVA/quitosana (2, 5 e 10%) por processo de extrusão. Suas principais conclusões foram de que as temperaturas de cristalização e de fusão permaneceram constantes independentemente da quantidade de quitosana. As propriedades mecânicas foram afetadas com a presença de quitosana, porém pequenas quantidades de quitosana (2%) não tiveram muito efeito sobre o módulo de elasticidade e deformação específica. A permeabilidade ao vapor d'água das blendas aumentou enquanto a permeabilidade ao oxigênio permaneceu constante.

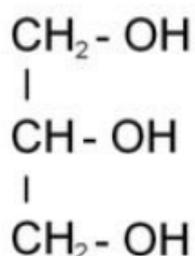
Filmes à base de quitosana com ação antioxidante e antimicrobiana aditivados com extratos foram largamente estudados por Souza *et al.* (2017), Siripatrawan e Vitchayakitti (2016), Siripatrawan e Noipha (2012), Siripatrawan e Harte (2010).

3.1.2 Uso do plastificante glicerol

O glicerol é um dos plastificantes mais utilizados em filmes biodegradáveis. Ele é um monoglicérido acetilado, polietileno glicol e sacarose que exerce função plastificante, corriqueiramente usado para alterar a propriedade mecânica do filme. Contudo, a incorporação desses aditivos pode promover mudanças significativas nas propriedades de barreira dos filmes (ESPITIA *et al.*, 2014). Quimicamente, o glicerol é um tri-álcool com três carbonos, tendo como nome sistemático (IUPAC) 1,2,3-propanotriol (Figura 3). É um líquido incolor, com gosto adocicado, sem cheiro e muito viscoso,

derivado de fontes naturais ou petroquímicas. A presença de três grupos hidroxila na estrutura do glicerol é responsável por sua solubilidade em água e por sua natureza higroscópica. A molécula é altamente flexível, possibilitando a existência de ligações de hidrogênio tanto intra como intermoleculares. O termo glicerina aplica-se à purificação de compostos comerciais que contêm, normalmente, quantidades maiores ou iguais a 95% de glicerol (BEATRIZ; ARAÚJO; LIMA, 2011).

Figura 3 - Estrutura molecular do glicerol



Fonte: Adaptado de Beatriz; Araújo; Lima, (2011).

Plastificantes, como glicerol, podem aumentar a flexibilidade, a extensibilidade e a distensibilidade do filme, seguido por diminuição na resistência mecânica, na temperatura de transição vítrea e na barreira a gases e a vapor de água, em decorrência de sua higroscopicidade. O plastificante é uma molécula pequena, de baixa volatilidade e de natureza química similar à do polímero usado na constituição do filme (GROSSMAN, 2007).

Machado *et al.* (2014) averiguaram que nanocelulose da fibra do coco, amido de mandioca e glicerol são materiais promissores para o desenvolvimento de compósitos biodegradáveis. A nanocelulose da fibra do coco obtida por hidrólise ácida, constituída por nanocristais, atua como reforço de matrizes poliméricas biodegradáveis devido ao seu tamanho nanométrico e ao seu alto grau de cristalinidade. A aplicação dessas nanocargas em filmes de amido plastificados com glicerol resultou na obtenção de um material homogêneo, com características mecânicas, de barreira e térmicas apropriadas. Vale ressaltar que a concentração de nanocelulose foi a responsável por alterar significativamente as propriedades mecânicas, de atividade de água e de solubilidade.

Ribeiro *et al.* (2011) avaliaram o efeito do glicerol sobre a permeabilidade ao vapor de água e sobre a estabilidade dos filmes biodegradáveis de amido extraído de caroços de jaca, bem como a funcionalidade como embalagem contendo 20% de glicerol que se aplicou no estudo da estabilidade da vitamina C em função da temperatura e do tempo de armazenamento. Observou-se que a hidrofiliidade e a permeabilidade dos filmes biodegradáveis elaborados com amido de caroço de jaca dependem da porcentagem de glicerol e da atividade de água contidos nos filmes. Maior estabilidade do filme biodegradável se mostra em atividades de água entre 0,33 e 0,58 em menores porcentagens de glicerol. A permeabilidade é diretamente proporcional à porcentagem de glicerol. Quanto menor a porcentagem de glicerol utilizado na elaboração dos filmes biodegradáveis de amido extraído do caroço de jaca, menor é a perda de massa do produto embalado. O filme biodegradável de amido de caroço de jaca acondicionado a 25°C possui maior estabilidade e maior permeabilidade durante o armazenamento da vitamina C, perdendo 1% da massa em cinco dias de armazenamento.

Em filmes comestíveis produzidos com amido de trigo e com diferentes concentrações de glicerol, obteve-se aumento da solubilidade e redução de permeabilidade de vapor de água, que estavam diretamente relacionadas à concentração de glicerol. Além disso, o glicerol não alterou o padrão dos raios-X dos filmes, no entanto, o grau de cristalinidade foi reduzido. Essas alterações provocadas pelo glicerol promoveram a melhora de algumas propriedades mecânicas das películas de amido (FARAHNAKY; SABERI; MAJZOBI, 2013).

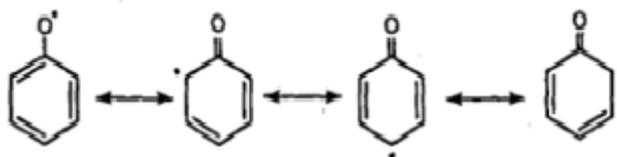
3.2 COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM FILMES

3.2.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são estruturas químicas que apresentam hidroxilas e anéis aromáticos nas formas simples ou de polímeros, podendo ter origem natural ou sintética (TOSCANO, 2011; LEOPOLDINI, RUSSO e; DAI e RUSSELL, 2010; ANGELO; JORGE, 2007). As substâncias com núcleo fenólico apresentam destaque especial como antioxidante por atuarem como eficientes captadores de espécies reativas de oxigênio (EROs), além de reduzirem e quelarem íons férricos que catalisam a peroxidação lipídica

(ANDRADE *et al.*, 2007). O radical fenoxi formado pela reação de um fenol com um radical lipídico é estabilizado por elétrons desemparelhados em torno do anel aromático (Figura 4) (SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDRA, 1992).

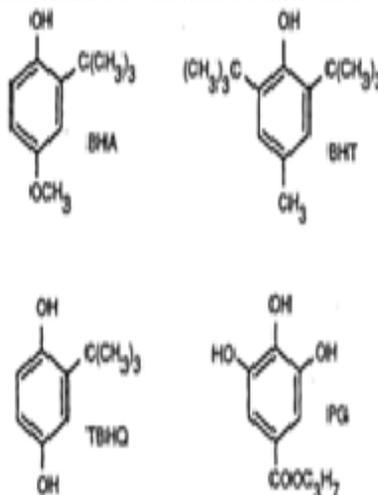
Figura 4 – Ressonância dos anéis aromático presentes nos compostos fenólicos



Fonte: Adaptado de SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDRA, (1992).

Antioxidantes fenólicos sintéticos, como o hidroxiníol de butila (BHA) hidroxitolueno butilado (BHT), propilgalato (PG) e terc-butil hidroquinona (TBHQ) (Figura 5), são comumente utilizados. Entretanto, um recente receio do público consumidor em relação à salubridade dos alimentos aditivados com esses compostos antioxidantes sintéticos, optam por uma alimentação que não faça uso desses aditivos (SHAHIDI;ZHONG, 2015). Isso fez com que as pesquisas direcionassem seus estudos à busca de produtos naturais com atividade antioxidante (SOARES., 2002).

Figura 5 – Estrutura dos principais antioxidantes fenólicos sintéticos



Fonte: Adaptado de SHAHIDI, JANITHA, WANASUNDARA,(1992).

O grande interesse em relação a antioxidantes naturais (Tabela 2) iniciou-se nos últimos anos, principalmente devido à evidência epidemiológica e clínica sugerindo uma relação inversa entre consumo de legumes e frutas e o

risco de desenvolver doenças crônicas e à crença pública de que fotoquímicos são inerentemente mais seguros do que produtos químicos sintéticos e que podem ser assimilados facilmente pelo corpo (URIBE *et al.*, 2016; EMBUSCADO, 2015;). Inúmeras ervas, cereais, frutas, legumes, óleos, especiarias e materiais vegetais possuem características antioxidantes, sobretudo por causa do teor de compostos fenólicos (RADOJKOVIC *et al.*, 2012).

Tabela 2 – Exemplos de fontes e propriedades de compostos ativos naturais

Fonte	Compostos ativos	Propriedades	Referência
Chá verde	Compostos fenólicos e flavonoides	Antioxidante	Komes <i>et al.</i> (2010)
Uva	Compostos fenólicos (resveratrol, quercetina, catequinas, procianidinas e antocianinas)	Antioxidante, antitumoral, antiinflamatório, antimicrobiana	Xia <i>et al.</i> (2010)
Chá e extrato de sementes de uva	Catequinas, epicatequinas, ácidos fenólicos, proantocianidinas, resveratrol.	Antioxidante	Brewer (2011)
Cogumelos	Terpenos, esteroides, antraquinonas, derivados do ácido benzoico, e quinonas, ácido oxálico.	Antioxidante	Kumarappan, Thialagam e Mandal (2012)
<i>Ichnocarpus frutescens</i>	Compostos fenólicos e flavonoides	Antioxidantes	Kumarappan, Thialagam e Mandal (2012)
Tomate	Ácido ascórbico, licopeno, β -caroteno, compostos fenólicos tais	Antioxidantes	Tinyane, Sivakumar e Soundy (2013)

Própolis vermelha	Compostos fenólicos	Atividade antioxidante e antitumoral	Frozza <i>et al.</i> (2013)
Suco de uva	Compostos fenólicos	Antioxidante	Lima <i>et al.</i> (2014)
Barbatimão	Ácido gálico, galhocatequina, epigalocatequina, catequina, galato de epigalacatequina	Antioxidante	Ribeiro <i>et al.</i> (2015)
Mel	Compostos fenólicos e flavonoides	Antioxidante e antimicrobiana	Sousa <i>et al.</i> , (2016)

Fonte: Adaptado de JONGJAREONRAK *et al.*, 2012.

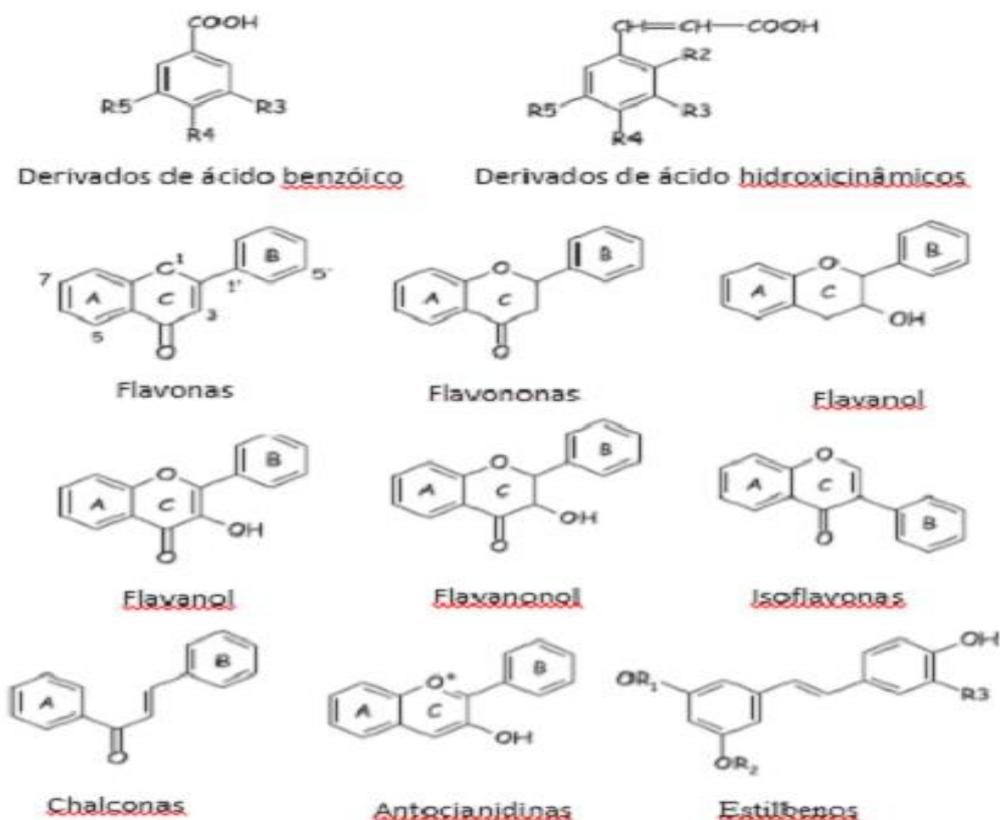
Várias fontes de antioxidantes naturais são conhecidas e algumas são amplamente encontradas no reino vegetal (ANGELO; JORGE, 2007). Entre os antioxidantes naturais mais utilizados oriundos dos produtos vegetais, podem ser destacados os tocoferóis (JONGJAREONRAK *et al.*, 2012), a canela (BONILIA; SOBRAL, 2016; HOQUE; BENJAKUL; PRODPRAN, 20110), os extratos de plantas com alecrim (PIÑEROS-HERNANDEZ *et al.*, 2016; VARGAS *et al.*, 2016; ÖZCAN *et al.*; 2011; GÓMEZ-ESTACA *et al.*, 2009;) e a hortelã (PADMINI *et al.*, 2008; CHAUHAN, R.S *et al.*, 2009).

Entre as estruturas químicas presentes nos extratos naturais às quais se atribui atividade antioxidante e, conseqüentemente, sua função fisiológica, destacam-se os compostos fenólicos como os ácidos fenólicos derivados do ácido hidroxicinâmico e flavonoides (Figura 6) (FURLONG *et al.*, 2003).

Os compostos fenólicos são procedentes do metabolismo secundário das plantas, sendo fundamentais para seu crescimento e para sua reprodução, além disso, forma-se em condições de estresse, com infecções, ferimentos, radiações UV, dentre outras (ANGELO; JORGE, 2007). Os fenólicos, em plantas, são essenciais no crescimento e na reprodução dos vegetais, além de atuarem como agentes antipatogênicos e contribuírem na pigmentação oxidativa (ANGELO; JORGE, 2007). Os antioxidantes fenólicos funcionam como sequestradores de radicais e, algumas vezes, como quelantes de metais,

agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (RAMALHO; JORGE, 2006).

Figura 6 – Estrutura dos principais compostos antioxidantes fenólicos



Fonte: LEOPOLDINI, RUSSO e TOSCANO, 2011

Extratos vegetais têm sido utilizados como alternativa ao uso de antioxidantes sintéticos, de diversas fontes: alecrim do campo (MARTINEZ-CORREA *et al.*, 2012), sementes de uvas (DELGADO-ADÁMEZ *et al.*, 2012a), folhas de ameixeiras-japonesas (DELGADO-ADÁMEZ *et al.*, 2012b).

Doménech-Asense *et al.* (2013) utilizaram pasta de tomate na produção de mortadela e verificaram aumento do teor de licopeno nas amostras e redução da oxidação lipídica no produto em função da concentração de pasta de tomate adicionada. Barbosa-Pereira *et al.* (2014) desenvolveram filmes com adição de extrato de alecrim (rico em diterpenos e ácidos fenólicos) para embalar carne e verificaram que os filmes ativos em contato com as amostras de carne reduziram (aproximadamente 60%) dos valores de TBARS (*Thiobarbituric acid reactive substances*, método utilizado para determinar a

oxidação lipídica das amostras) após nove dias de armazenamento em relação ao controle.

Vargas (2015) utilizou extrato de plantas nativas brasileiras (guaraná, pitanga e alecrim) para retardar a oxidação e a deterioração de carne moída refrigerada, verificando que a utilização de extrato de pitanga aumentou a estabilidade em relação à oxidação lipídica do produto e apresentou ação antimicrobiana por seis dias contra bactérias psicotróficas.

Alguns autores sugeriram o uso de extratos de folhas de hortelã e de curry como alternativa de antioxidantes em cortes de suínos (BISWAS; CHATLI, SAHOO, 2012), de carqueja em ovos (LÁZARO *et al.*, 2013), de extratos de cravo, alecrim, casca de cássia, alcaçuz, noz-moscada, e cardamomo em carne de suínos (KONG; ZHANG, XIONG, 2010), dentre outros. Dentre essas fontes de extratos naturais, a folha de hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) foi escolhida para este estudo.

3.2.2 Propriedade antioxidante dos filmes biodegradáveis

Dentre os diversos tipos de embalagens ativas, as que exercem efeito antioxidante estão entre as que são importantes para a indústria, principalmente a alimentícia. A oxidação é uma das principais reações de degradação que ocorrem nos alimentos, limitando a sua conservação (DANTAS *et al.*, 2015)

A propriedade antioxidante da quitosana pode ser melhorada com a adição de substâncias que tenham essa propriedade (WANG *et al.*, 2013; MACHADO, 2015),

O oxigênio tem efeito degradador na qualidade de grande variedade de produtos alimentícios. Alimentos ricos em ácidos graxos poli-insaturados, como os óleos vegetais, tendem a sofrer o processo de oxidação. A aplicação nesses produtos de filmes e de coberturas incorporados de agentes antioxidantes em sua formulação representa uma oportunidade para solucionar esse problema (BERTON-CARABIN *et al.*, 2013; BONILLA *et al.*, 2012).

A incorporação de agentes antioxidantes na matriz polimérica de filmes é um dos principais focos do desenvolvimento de embalagens. A eficácia da ação antioxidante dos filmes biodegradáveis tem sido testada por meio de diferentes métodos, como: radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e

compostos fenólicos totais. Métodos de captura de radical são comumente empregados, como DPPH, DPD, FRAP e ABTS, e determinam a capacidade de um agente antioxidante presente na matriz biopolimérica do filme aditivado de interceptar radicais livres. Outros métodos envolvem a quantificação de compostos específicos com atividade antioxidante reconhecida, como no caso de determinação dos compostos fenólicos (BONILLA *et al.*, 2012).

Diversos estudos têm investigado o efeito da adição de agentes antioxidantes em filmes biodegradáveis. Ramos *et al.* (2014) investigaram o efeito da adição de timol em filmes de ácido polilático modificado com argila por DPPH e constataram que os biocompósitos desenvolvidos têm potencial de aplicação como filmes antioxidantes. Filmes de quitosana aditivados com extratos naturais, como de bagaço de uva, resultou em filmes com atividade antioxidante constatada por diferentes métodos, como ABTS e DPPH (FERREIRA *et al.* 2014).

Alguns estudos têm investigado a estabilidade oxidativa de óleos vegetais embalados em filmes biodegradáveis ativos. Reis *et al.* (2015) desenvolveram filmes de amidos com extrato de erva-mate e de polpa de manga que agiram contra a oxidação de óleo de palma, efeito atribuído ao conteúdo de compostos fenólicos ou flavonoides na formulação do filme. A incorporação de extrato de crisântemo rico em astaxantina foi estudada em filmes de ácido polilático (SAMDUN *et al.*, 2014) e de polietileno (COLÍN-CHÁVEZ *et al.*, 2013), em que ambos retardaram a oxidação de óleo de soja.

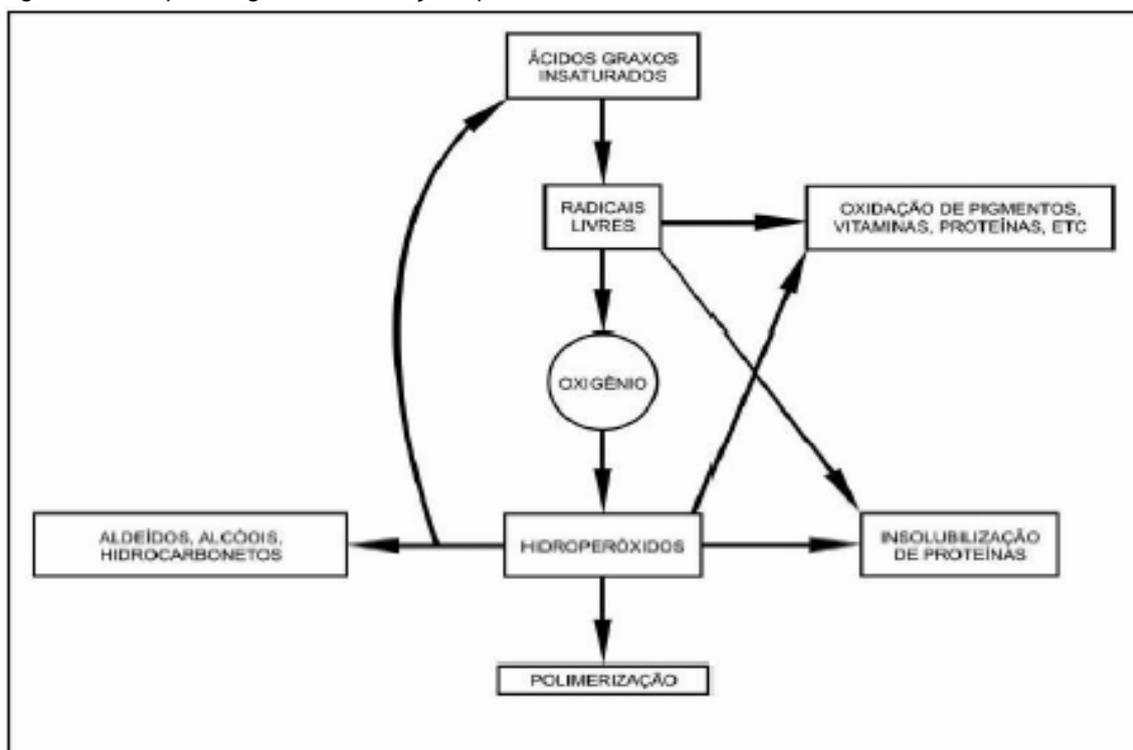
Os métodos descritos avaliam a atividade antioxidante dos filmes *in vitro*. Porém, outras metodologias podem ser empregadas em conjunto a fim de aprofundar o entendimento da ação dos filmes ativos em proteger o alimento de interesse, em que o filme é aplicado e fica em contato com alimentos que tendem a sofrer o processo de oxidação, como é o caso da massa Briseé. Nesse caso, a ação antioxidante dos filmes é averiguada em testes executados no próprio alimento a fim de avaliar sua qualidade, sua vida de prateleira e se a embalagem teve efeito em proteger o alimento da oxidação.

3.2.3 Oxidação lipídica

A oxidação lipídica é uma das principais causas de degradação dos alimentos, causando alterações nas proteínas das carnes, na sua coloração,

nos lipídios, principalmente em alimentos que tenham sua estrutura insaturada, e isso pode levar a alterações desagradáveis nas características organolépticas e nutricionais dos alimentos (DA SILVA *et al.*, 2014; NORONHA *et al.*, 2014; SHAH, BOSCO e MIR, 2014; SAMPAIO *et al.*, 2012; BABBAR *et al.*, 2011). Além de possibilitar a liberação de produtos tóxicos, nocivos ao homem, originados do seu metabolismo, alterando a segurança no consumo do produto alimentício (DA SILVA *et al.*, 2014; NORONHA *et al.*, 2014; SAMPAIO *et al.*, 2012). Atoui *et al.* (2005) relataram a ação dos radicais livres como precursores de catarata, disfunção cerebral, declínio do sistema imunológico, doenças degenerativas e envelhecimento precoce. A Figura 7 retrata o esquema geral da oxidação lipídica.

Figura 7 – Esquema geral da oxidação lipídica

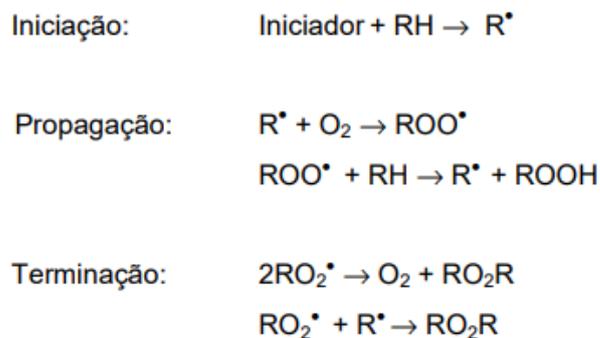


Fonte: JADHAV *et al.*, 1996

Os dois grandes componentes envolvidos na oxidação lipídica são os ácidos graxos insaturados e o oxigênio (GUILLEN; GOICOECHEA, 2008). No processo de oxidação, o oxigênio presente na atmosfera é adicionado aos ácidos graxos, criando intermediários instáveis que eventualmente sofrem clivagem e formam aromas indesejáveis. Embora a oxidação enzimática, por

meio das enzimas peroxidase, lipoxigenases, cicloxigenases e enzimas do microsomo, possa ocorrer, o mais comum e importante processo pelo qual ácidos graxos insaturados e oxigênio interagem é pelo mecanismo de radical livre, caracterizado por três fases principais (Figura 8) (PERUMALLA e HETTIARACHCHY, 2011).

Figura 8 – Fases da oxidação lipídica



Fonte: MACHADO, 2015

A etapa da iniciação ocorre com a abstração do hidrogênio dos ácidos graxos insaturados (RH) por um iniciador, como o calor, resultando em um lípidio radical livre (R•). Na etapa de propagação, os radicais livres reagem com o oxigênio molecular para formar um radical peróxido lipídico (ROO•), os quais reagem posteriormente com outras moléculas de lípidios formando os hidroperóxidos (ROOH) (PERUMALLA e HETTIARACHCHY, 2011).

Os peróxidos lipídicos são chamados de produtos de primeira oxidação e podem ser usados como indicadores da qualidade e da estabilidade dos óleos e das gorduras. Os peróxidos são instáveis e se decompõem, resultando no acúmulo de produtos de oxidação secundária, como aldeídos, cetonas e dienos conjugados (THOMAIDIS *et al.*, 1999), e muitos desses compostos são responsáveis pelo aroma indesejável. Na etapa de terminação ocorre a reação em cadeia entre os próprios radicais (R•), produzindo dímeros e polímeros.

O processo de combinação de dois radicais requer baixa energia de ativação e é limitado pela concentração de radicais quando esses são requeridos para interagir num centro ativo específico das moléculas (WHEATLEY, 2000).

A utilização dos antioxidantes nos alimentos ou nas embalagens mostra ser uma forma de prevenir a degradação dos produtos alimentícios, existindo

atualmente uma tendência de utilização dos antioxidantes naturais, visto que os de origem sintética estão sendo preteridos devido a sua toxicidade e a seu potencial carcinogênico (HUGO e HUGO, 2015; LI *et al.*, 2014; WU *et al.*, 2013; LÓPEZ-DE-DICASTILLO *et al.*, 2012; SAMPAIO *et al.*, 2012; SOUZA *et al.*, 2011), além dos benefícios que os componentes naturais podem oferecer à saúde (LÓPEZ-DE-DICASTILLO *et al.*, 2012). Consequentemente, vem aumentando o interesse da indústria de alimentos na utilização desses compostos provenientes de produtos naturais (SOUZA *et al.*, 2011), bem como de outros setores industriais, como o farmacêutico, o cosmético (MOO-HUCHIN *et al.*, 2014; PESCHEL *et al.*, 2006), o têxtil (ISLAM, SHAHID e MOHAMMAD, 2013), entre outros.

3.3 PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

A atividade antimicrobiana de filmes pode ser testada ao avaliar a zona de inibição do crescimento de bactérias usando meios sólidos inoculados com as bactérias de interesse (AGUIRRE *et al.*, 2016; KONG *et al.*, 2010; SIRIPATRAWAN; HARTE, 2010). Outra forma é usando meios líquidos, em que o filme é colocado nos tubos juntamente com os meios que foram preparados com inoculação de bactérias a serem avaliadas. Posteriormente, são feitas diluições e plaqueadas em placas de petri. Após o período de incubação, é realizada a contagem de colônias (VAN DEN BROEK *et al.*, 2015; JOUKI *et al.*, 2014). Pode-se também avaliar atividade antimicrobiana dos filmes, usando-os para embalar alimentos; nesse caso, o microrganismo é inoculado e verifica-se o quanto o filme inibiu o crescimento microbiano (CAO *et al.*, 2013).

A confecção e a caracterização de filmes biodegradáveis utilizando polímeros naturais vêm sendo largamente estudadas nos últimos anos. Contudo, recentemente a incorporação de diversos compostos ativos nesses materiais tem despertado interesse devido à possibilidade de desempenhar função antimicrobiana (Tabela 3).

Tabela 3 – Exemplo de filmes a base de macromoléculas naturais aditivadas com agentes antimicrobianas.

Biopolímero	Agente antimicrobiano	Referência
Carboximetilcelulose	Óleo essencial de Zataria multiflora	Dashipour <i>et al.</i> (2015)
Amido de milho	Multiflora e Mentha	Ghasemlou <i>et al.</i> (2013)
Amido de batata doce	Óleo essencial de orégano	Ehivet <i>et al.</i> (2011)
Quitosana	Óleo essencial de canela	Ojagh <i>et al.</i> (2010)
Gelatina	Óleo de cânhami e sálvia	Cozmuta <i>et al.</i> (2015)
Proteína do soro	Óleo essencial de canela	Bahram <i>et al.</i> (2014)
Gelatina de peixe e quitosana	Óleo essencial de orégano	Hosseini <i>et al.</i> (2016)
Proteína de soja	Óleos essenciais (orégano e tomilho)	Emiroglu <i>et al.</i> (2010)

Fonte: Autor, 2018.

De maneira geral, grande parte dos estudos aborda e avalia o efeito de diferentes concentrações na capacidade inibitória de diversos microrganismos, tais como: *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (PAGNO *et al.*, 2016); *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli* O157:H7 (EHIVET *et al.*, 2011); *Listeria monocytogenes* (JOVANOVIC *et al.*, 2016; JUCK *et al.*, 2010; PONCE *et al.*, 2008).

Vários autores estudaram o efeito da concentração de agente natural nos filmes e concluíram que seu aumento causa uma elevação no efeito

inibitório antimicrobiano (PAGNO *et al.*, 2016; HOSSEINI *et al.*, 2016; BAHRAM *et al.*, 2014; DASHIPOUR *et al.*, 2013; GHASEMLOU *et al.*, 2013; EHIVET *et al.*, 2011; EMIROGLU *et al.*, 2010; OJAGH *et al.*, 2010).

Por outro lado, estudos estão sendo realizados envolvendo a aplicação efetiva desses materiais em embalagens de alimentos. Na Tabela 3, pode-se observar alguns exemplos dos estudos realizados na área.

Os benefícios das embalagens aditivadas com agentes antimicrobianos naturais podem se estender para a qualidade e para a segurança de alimentos, bebidas, cosméticos e produtos farmacêuticos, baseando-se na adição de componentes ativos em uma matriz de embalagem. Ademais, sua incorporação nas embalagens dos alimentos é considerada uma tecnologia emergente promissora, sendo chamada de embalagem antimicrobiana (YOSHIDA *et al.*, 2009).

Um sistema de embalagem antimicrobiana pode ser obtido a partir da incorporação direta de agentes antimicrobianos naturais em filmes de revestimento ou em embalagens poliméricas e de alimentos, sendo sua eficiência já demonstrada por diversos autores ao longo da última década, como pode ser observado no trabalho de Irkin e Esmer (2015).

Segundo Cooksey (2005), o conceito por trás de embalagem ativa não é servir como substituto para as práticas de fabricação e de manuseio de alimentos sólidos, mas sim melhorar as medidas de segurança e de qualidade já utilizadas pela indústria de alimentos, destinando-se a servir como uma barreira adicional.

Agentes antimicrobianos incorporados às embalagens proporcionam vantagens, são elas:

- Liberação controlada de agente antimicrobiano, em que somente a quantidade necessária de agente microbiano é liberada, não sendo necessário sua adição diretamente no produto alimentício (IRKIN; ESMER, 2015);

- Eficiência, promovendo funções inexistentes em embalagens comuns, devido à migração dosada do composto no alimento, permitindo não somente uma inibição inicial de microrganismos indesejáveis, mas também uma atividade residual ao longo do tempo de prateleira, seu transporte, armazenamento e distribuição (QUINTAVALLA; VICINI, 2002);

- Fácil aplicação em produtos, em que os processos tradicionais de preservação, tais como processos térmicos, secagem e irradiação, não podem ser aplicados, como no caso de produtos cárneos frescos (QUINTAVALLA; VICINI, 2002);

Ademais, de acordo com Genskowsky *et al.* (2015), a adição de agentes antimicrobianos diretamente nos alimentos pode resultar em uma perda de atividade devido a reações cruzadas com outros componentes alimentares, como lipídeos e proteínas, diminuindo sua eficácia.

3.4 USO DE EXTRATOS EM FILMES

Os filmes com adição de compostos naturais são vistos hoje como uma das tecnologias mais interessantes no âmbito das embalagens ativas. Esses filmes podem proteger os alimentos tanto contra danos físicos como contra danos químicos e microbiológicos, além de possibilitar uma redução no teor de conservantes nos alimentos (SIRIPATRAWAN; NOIPHA., 2012).

Existem trabalhos envolvendo filmes à base de biopolímeros adicionados de extratos vegetais. Gómez-Guillén *et al.* (2007) estudaram a adição de extrato aquoso de murta (*Ugni molinae*) em filmes de gelatina de peixe. Os autores obtiveram filmes transparentes com discreto decréscimo nas propriedades mecânicas. Por outro lado, os filmes apresentaram boas propriedades de barreira ao vapor de água e proteção UV. Além disso, os filmes apresentaram atividade antioxidante proporcional à adição do extrato.

Moradi *et al.* (2012) trabalharam com filmes de quitosana adicionados de extrato comercial de sementes de uva. Esses autores observaram que a adição do extrato de semente de uva diminuiu as propriedades mecânicas dos filmes, que ficaram mais hidrofílicos. No entanto, a permeabilidade ao vapor de água permaneceu inalterada, e, além disso, os filmes apresentaram poder antioxidante.

Em filmes à base de blendas de ágar e de gelatina, o extrato aquoso de chá verde foi adicionado. Os filmes apresentaram atividade antioxidante, e a permeabilidade ao vapor de água diminuiu com a adição do extrato (GIMÉNEZ *et al.*, 2013). Siripatrawan e Harte (2010) trabalharam com filmes de quitosana com extrato aquoso de chá verde. Esses autores obtiveram filmes aditivados

com melhores propriedades mecânicas que a formulação controle. Ademais, foi constatada atividade antioxidante em decorrência da adição do extrato.

Norajit, Kim e Ryu (2010) desenvolveram filmes à base de alginato contendo extrato hidroetanólico de ginseng e obtiveram filmes resistentes, porém com excelentes propriedades antioxidantes.

Extratos hidroetanólicos de canela, de cravo e de anis foram adicionados em filmes de gelatina de peixe e provocaram, de maneira geral, um aumento nas propriedades mecânicas e uma diminuição na permeabilidade ao vapor de água. A adição dos extratos aumentou consideravelmente a pigmentação do filme (HOQUE; BENJAKUL; PRODPRAN, 2011). Assim como no estudo de Rattaya, Benjakul e Podpran (2009), os autores reportaram as melhorias obtidas devido a interações entre fenólicos dos extratos e das cadeias polipeptídicas de gelatina.

Li *et al.* (2014) estudaram a adição de extratos comerciais de chá verde, de semente de uva, de gengibre e de ginkgo em filmes de gelatina e reportaram que em todos os casos foram produzidos filmes ativos com propriedades mecânicas ligeiramente inferiores à formulação controle.

Bitencourt *et al.* (2014) trabalharam com filmes de gelatina e relataram melhorias nas propriedades mecânicas e nas solubilidades dos filmes quando esses foram aditivados com extrato de etanólico de cúrcuma. Também foi reportada a atividade antioxidante dos filmes, que aumentou proporcionalmente ao aumento na concentração do extrato nas formulações.

3.5 HORTELÃ-PIMENTA (*Mentha piperita* L.)

A hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) é considerada uma importante planta medicinal e pertence à família das Lamiaceae (LOPEZ *et al.*, 2010). A espécie *M. piperita* é híbrida de hortelã-verde (*Mentha spicata* L.) e hortelã-da-água (*Mentha aquática* L.), tendo seu crescimento favorável em solos com alta capacidade de retenção de água (MICKAY; BLUMBERG, 2006).

Folhas de hortelã são usadas em países de todo o mundo, especialmente nos países ocidentais e do Oriente Médio, nas formas de infusões, tinturas, chás, extratos e óleo essencial (SAMOJLIK *et al.*, 2012). Além de seu uso como compostos naturais, os usos medicinais da *Mentha*

ssp., que remontam aos tempos antigos, incluem atividade anti-inflamatória, estimulante, analgésica, anestésica e imunomoduladora (ISCAN *et al.*, 2002).

Sua composição química possui também componentes com propriedades antimicrobianas e antioxidantes (TSAI *et al.*, 2013). Segundo Gulluce *et al.* (2007), espécies do gênero *Mentha* são fontes ricas de compostos químicos e de demais compostos voláteis, o que lhes confere forte propriedade antimicrobiana. É considerada importante planta produtora de óleo essencial, contendo mentol e diversos componentes amplamente utilizados nas indústrias farmacêuticas e de produtos naturais (KUMAR E PATRA, 2012). De acordo com vários autores, o mentol é o componente majoritário do óleo extraído, seguido pela mentona (TSAI *et al.*, 2013; SAMOJLIK *et al.*, 2012; FREIRE, *et al.*, 2011, ISCAN *et al.*, 2002), o que caracteriza as propriedades citadas anteriormente.

Pesquisa utilizando a *Mentha piperita* coletada no Irã comprova a atividade antifúngica do óleo essencial da planta, demonstrando resultados positivos frente a três espécies de fungos (MOGHADDAM *et al.*, 2013).

Existem vários relatos sobre a atividade antioxidante e antibacteriana do óleo essencial e do extrato de várias espécies de *Mentha* (KANATT *et al.* 2012; MARINOVA; MOREIRA *et al.* 2005; DORMAN *et al.* 2003; YANISHLIEVA, 1997).

Esses dados corroboram os obtidos por Freire *et al.* (2011), que também constataram o potencial de inibição do óleo essencial da *M. piperita* à concentração de 0,2% frente a sete espécies de fungos. Segundo Kanatt *et al.* (2012), o extrato de hortelã possui boa ação antioxidante e pode ser aplicado em biopolímeros como aditivo para formação de uma embalagem rica em compostos bioativos.

Figura 9 – Hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.)



Fonte: Autor, 2018

3.6 MASSA BRISÉÉ

Ao longo dos últimos anos, tem-se observado uma maior oferta/disponibilidade de alimentos de conveniência, como, por exemplo, os salgados prontos para comer, estando estes acessíveis em cafés, pastelarias, bares, restaurantes, supermercados, entre outros. Os salgados são usados como um “snack” ou como um elemento da refeição principal. Também em relação ao modo de preparação, têm surgido no mercado novas alternativas e, atualmente, além de ser possível continuar a utilizar a massa fresca, também já é possível encontrar alguns salgados (tortas salgadas, empadas e pasteis de forno) que podem ser adquiridos na forma pré-assada e serem, posteriormente, preparados no forno (ALBUQUERQUE *et al.*, 2016).

Inúmeras massas utilizadas na confeitaria contêm variados ingredientes como: farinha, gorduras, líquidos e ovos. O que diferencia cada massa é a proporção de cada ingrediente em relação ao outro, como por exemplo, as massas com alto teor de gordura (massa *Briseé* e massa de empada).

Cumprе enfatizar que, em termos numéricos, o Brasil ocupa a posição de 2.º maior produtor mundial de “massas amanteigadas”, com o registro de 1.250 milhões de toneladas produzidas em 2016, o que representou 2,5% de crescimento no mesmo ano. Ainda, o consumo per capita desse produto é de 6,2 kg/ano. (PINTO *et al.*, 2016).

A massa *Briseé* (Figura 10), que pertence ao grupo da massa aerada, é definida como um produto à base de farinha de trigo que possuem altos níveis de gordura e baixos níveis de água (1-3%). Ela apresenta elevado consumo, longa vida de prateleira e boa aceitação por grande parte da população, principalmente no tocante ao público infantil, o que reforça a necessidade de se desenvolverem alternativas com a finalidade de torná-los mais seguros. A massa tem uma textura esfarelada e levemente crocante, contêm muita gordura, são quebradiças e esfarelam ao toque (CHEF PROFISSIONAL, 2009).

As massas são elaboradas incorporando gordura (manteiga ou margarina) à farinha de trigo. Esse processo faz com que a gordura penetre no grão de amido da farinha, tornando-a hidrofóbica, quebradiça e aerada. Isso faz com que cada grão fique recoberto com uma camada de gordura, proporcionando um cozimento individualizado do grão, quando assada (THIS, 2007).

Figura 10 – Massa *Briseé*



Fonte: Google Imagens, 2018

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOLLAHI, M.; REZAEI, M.; FARZI, G. Improvement of active chitosan film properties with Rosemary essential oil for food packaging. **International Journal of Food Science and Technology**, 47, 847–853, 2012.

ABRE - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMBALAGENS. Disponível em: <http://www.abre.org.br/jornal/news108/index.htm>. Acesso em: 24 de outubro de 2016.

AGUIRRE-LOREDO, R. Y.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, A. I.; MORALES-ÁNCHEZ, E.; GÓMEZ-ALPADA, C. A.; VELAZQUEZ, G. Effect of equilibrium moisture content on barrier, mechanical and thermal properties of chitosan films. **Food Chemistry**, v. 1996, p. 560-566, 2016.

AIDER, M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. **Lwt- Food Science and Technology**, v. 43, n. 6, p. 837-842, 2010.

AIDER, M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. **LWT-Food Science and Technology**, v. 43, n. 6, p. 837-842, 2010.

AKHTAR, M.J. *et al.* Fabrication and physicochemical characterization of HPMC films with commercial plant extract: Influence of light and film composition. **Food Hydrocolloids**, v. 31, p. 420-427, 2013.

ALBOOFELIHEH, M.; REZAEI, M.; HOSSEINI, H.; ABDOLLAHI, M. Antimicrobial activity of alginate/clay nanocomposite films enriched with essential oils against three common foodborne pathogens, **Food Control**, v. 36, n. 1, p. 1-7, 2014.

ALBUQUERQUE, T. G.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; SANCHES-SILVA, A.; BENTO, A. C.; COSTA, H. S. The impact of cooking methods on the nutritional quality and safety of chicken breaded nuggets. **Food & Function**, v. 7, n. 6, p. 2736-2746, 2016.

ALVES-SILVA, J. M.; DIAS DOS SANTOS, S. M.; PINTADO, M. E.; PEREZ-ÁLVAREZ, J. A.; FERNÁNDEZ-LOPEZ, J.; VIUDA-MARTOS, M. Chemical composition and in vitro antimicrobial, antifungal and antioxidant properties of essential oils obtained from some herbs widely used in Portugal. **Food Control**, v. 32, n. 2, p. 371-378, 2013.

ANDRADE, C. A. *et al.* Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2, p. 231-235, 2007.

ANDRADE-MAHECHA, M. M.; TAPIA-BLÁCIDO, D. R.; MENEGAL, F. C. Achira as a source of biodegradable materials: Isolation and characterization of nanofibers. **Carbohydrate Polymers**, v. 123, p. 406-415, 2015.

ANGELO P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **Inst. Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 01-09, 2007.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólico em alimentos – uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, p. 232-240, 2006.

ANRAKU, M., FUJII, T., KONDO, Y., KOJIMA, E., HATA, T., TABUCHI, N., TOMIDA, H. Antioxidant properties of high molecular weight dietary chitosan in vitro and in vivo. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 2, p. 501-505, 2011.

ARAÚJO, G., K., P.; SOUZA, S., J.; SILVA, M., V.; YAMASHITA, F.; GONÇALVES, O., H.; LEIMANN, F., V.; SHIRAN, M., A. Physical, antimicrobial and antioxidante properties of starch-based film containing ethanolic prppolis extract. **International Journal of Food Sciene & Technology**, v. 50, n. 9, p. 2080-2087, 2015.

ARFA, A. B. et al. Antimicrobial paper based on a soy protein isolate or modified starch coating including carvacrol and cinnamaldehyde. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 55, n. 6, p. 21555-2162, 2007.

ASTM - American Society for Testing and Materials – D882-88. Annual Book of ASTM Standards, ASTM: Philadelphia, 1995.

ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. **Food chemistry**, v. 89, n. 1, p. 27-36, 2005.

BABBAR, N.; OBEROI, H. S.; UPPAL, D. S.; PATIL, R. T. Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 391-396, 2011.

BAHRAM, S.; REZAEI, M.; SOLTANI, M.; KAMALI, A.; OJAGH, S., M.; ABDOLLAHI, M. Whey protein concentrate edible film activated with cinnamon essential oil. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, n. 3, p. 1251-1258, 2014.

BARBOSA-PEREIRA, L.; AURREKOETXEA, G.P.; ANGULO, I.; PASEIRO-LOSADA, P.; CRUZ, J.M. Development of new active packaging films coated with natural phenolic compounds to improve the oxidative stability of beef, **Meat Science**, v. 97, p. 249-254, 2014.

BEATRIZ, A.; ARAÚJO, Y. J. K.; LIMA, D. P. Glicerol: um breve histórico e aplicação em sínteses estereosseletivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 2, p. 306-319, 2011.

BENAVIDES, S.; VILLALOBOS-CARVAJAL, R.; REYES, J. E. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 2, p. 232–239, 2013.

BERNKOP-SCHNÜRCH, A.; DÜNNHAUPT, S. Chitosan-based drug delivery systems. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 81, n.3, p.463–469, 2012.

BERTON-CARABIN, C. *et al.* Design of interfacial films to control lipid oxidation in oil-in-water emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 1, p. 99-105, 2013.

BISWAS, A. K.; CHATLI, M. K.; SAHOO, J. Antioxidant potential of curry (*Murraya koenigii* L.) and mint (*Mentha spicata*) leaf extracts and their effect on colour and oxidative stability of raw ground pork meat during refrigeration storage. **Food Chemistry**, v. 133, n. 2, p. 467-472, 2012.

BITENCOURT, R. G.; POSSAS, A. M. M.; CAMILLOTO, G. P.; CRUZ, R. S.; OTONI, C. G. Antimicrobial and aromatic edible coating on fresh-cut pineapple preservation, **Ciência Rural**, 2014.

BITENCOURT, C.C.M. **Papel cartão revestido com filmes de gelatina e quitosana aditivados com Extrato etanólico de própolis e cúrcuma para embalagem de alimentos.** Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos), Universidade de São Paulo, 145p, 2016.

BONILIA, J.; SOBRAL, P. J. A. Investigation of the physicochemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-chitosan edible film mixed with plant plant ethanolic extracts. **Food Bioscience**, v. 16, p. 17-25, 2016.

BONILLA, J. *et al.* Edible films and coatings to prevent the detrimental effect of oxygen on food quality: Possibilities and limitations. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 2, p. 208-213, 2012.

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

BOTRE, D. A.; SOARES, N. F. F.; GERALDINE, R. M.; PEREIRA, R. M.; FONTES, E. A. F. Quality of minimally processed garlic (*Allium sativum*) coated with antimicrobial edible coating. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 32-38, 2007.

BOURBON, A. I., PINHEIRO, A. C., CERQUEIRA, M. A., ROCHA, C. M. R., AVIDES, M. C., QUINTAS, M. A. C., VICENTE, A. A. Physical-chemical characterization of chitosan-based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. **Journal of Food Engineering**, v. 106, p. 111–118, 2011.

BREWER, M. S. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.10, p. 221-247, 2011.

BRITO, G. F.; AGRAWAL, P.; ARAÚJO, E. M.; MÉLO, T. J. A. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 6, p. 127-139, 2011.

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

CAI, L.; CAO, A.; LI, T.; WU, X.; XU, Y.; LI, J. Effect of the Fumigating with Essential Oils on the Microbiological Characteristics and Quality Changes of Refrigerated Turbot (*Scophthalmus maximus*) Fillets, **Food and Bioprocess Technology**, 2015.

CAMO, J. et al. Display life of beef packaged with an antioxidant active film as a function of the concentration of oregano extract. **Meat Science**, v. 88, n. 1, p. 174-178, 2011.

CANCHÉ-ESCAMILLA, G.; CANCHÉ-CANCHÉ, M.; DUARTE-ARANDA, S.; CÁCERES-FARFÁN, M.; BORGES-ARGÁEZ, R. Mechanical properties and biodegradation of thermoplastic starches obtained from grafted starches with acrylics. **Carbohydrate Polymers**. N. 86, p. 1501-1508, 2011.

CAO, Y.; GU, W.; ZHANG, J.; CHU, Y.; YE, X.; HU, Y.; CHEN, J. Effects of chitosan, aqueous extract of ginger, onion and garlic on quality and shelf life of stewed-pork during refrigerated storage. **Food chemistry**, v. 141, n. 3, p. 1655-1660, 2013.

CERISUELO, J. P.; BERMÚZES, J. M.; AUCEJO, S.; CATALÁ, R.; GAVARA, R.; HERNANDEZ-MUNOZ, P. Describing and modeling the release of an antimicrobial agent from an active PP/EVOH/PP package for salmon. **Journal of Food Engineering**, v. 116, p. 352–361, 2013.

CHALIER, P. et al. Moisture and temperature triggered release of a volatile active agent from soy coated paper: effect of glass transition phenomena on carvacrol diffusion coefficient. **Jornal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p. 638-65, 2009.

CHARLIER, P. et al. Moisture and temperature triggered release of a volatile active agente from soy protein coated paper: effect of glass transition phenomena on carvacrol diffusion coeficiente. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 658-665, 2009.

CHAUHAN, R. S. *et al.* Chemical composition of essential oils in *Mentha spicata* L. accession from Nort-West Himalayam region, **India. Industrial crops and Products**, v. 29, n. 2-3, p. 654-659, 2009.

CHEF PROFISSIONAL, São Paulo: Editora Senac, 2009, p. 1235.

CHIEN, J. et al. Effect of molecular weight of chitosans on their antioxidative activities in apple juice. **Food Chemistry**, v. 102, n. 4, p. 1192-1198, 2007.

CHOU DHURY, R. P.; KUMAP, A.; GARG, A. N. Analysis of Indian mint (*Mentha spicata*) for essential, trace and toxic elements and its antioxidant behavior. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, n. 3, p. 825-832, 2006.

CIANNAMEA, E. M.; STEFANI, P. M.; RUSECKAITE, R. A. properties and antioxidant activity of soy protein concentrate films incorporated with red grape extract processed by casting and compression molding. **LWT- Food Science and technology**, v. 74, p. 353-362, 2016.

COLÍN-CHÁVEZ, C. et al. Fabrication and Properties of Antioxidant Polyethylene-based Films Containing Marigold (*Tagetes erecta*) Extract and Application on Soybean Oil Stability. **Packaging Technology and Science**, v. 26, n. 5, p. 267-280, 2013.

COMA, V. Bioactive packaging Technologies for extended shelf life of meat-based products. **Meat Science**. v. 78, n. 1-2, p. 90-103, 2008.

COOKSEY, K. Effectiveness of antimicrobial food packaging materials. **Food Additives and Contaminants**, v. 22, n. 10, p. 980-987, 2005.

CORRALES, M.; FERNÁNDEZ, A.; HAN, J. H. Chapter 7 - Antimicrobial Packaging Systems. In: HAN, J. H. (Ed.). **Innovations in Food Packaging**, v. 2, p. 133-170, 2014.

COX, S. D.; MANN, C. M.; MARKHAM, J. L.; BELL, H. C.; GUSTAFSON, J. E.; WARMINGTON, J. R. The Mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca alternifolia* tea tree oil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, n. 1, p. 170–175, 2000.

COZMUTA, A., M.; TURILA, A.; APJOK, R.; CIOCIAN, A.; COZMUTA, L., M.; PETER, A.; NICULAS, C.; GALIC, N.; BENKOVIC, T. Preparation and characterization of improved gelatin films incorporating hemp and sage oil. **Food Hydrocolloids**, v. 49, p. 144-155, 2015.

CRIZEL, T., M.; RIOS, A., O.; ALVES, V., D.; BANDARRA, N.; MARTINS, M., M.; FLÔRES, S., H. Active food packaging prepared with chitosan and olive pomace. **Food Hydrocolloids**, v. 74, p. 139-150, 2018.

DA SILVA, L. M. R.; DE FIGUEIREDO, E. A. T.; RICARDO, N. M. P. S.; VIEIRA, I. G. P.; DE FIGUEIREDO, R. W.; BRASIL, I. M.; GOMES, C. L. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food chemistry**, v. 143, p. 398-404, 2014.

DAI, JIN; MUMPER, RUSSELL, J. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules**, v. 15, n. 10, p. 7313-7352, 2010.

DAINELLI, D. *et al.* Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, p. 103-112, 2008.

DANTAS, E. A. *et al.* Caracterização e avaliação das propriedades antioxidantes de filmes biodegradáveis incorporados com polpas de frutas tropicais. **Ciência Rural**, v. 45, p. 142-148, 2015.

DASHIPOUR, A.; RAZAVILAR, V.; HOSSEINI, H.; SHOJAEE-ALIABADI, S.; GERMAN, J. B.; GHANATI, K.; KHAKPOUR, M.; KHAKSAR, R. Antioxidant and antimicrobial carboxymethyl cellulose films containing Zataria multiflora essential oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 606-613, 2015.

DASHIPOUR, A.; RAZAVILAR, V.; HOSSEINI, H.; SHOJAEE-ALIBADI, S.; GERMAN, J. B.; GHANATI, K. Antioxidant and antimicrobial carboxymethyl cellulose films containing Zataria multiflora essential oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 606–613, 2015.

DASHIPOUR, A.; RAZAVILAR, V.; HOSSEINI, H.; SHOJAEE-ALIABADI, S.; GERMAN, J.B.; GHANA, K.; KHAKPOUR, M.; KHAKSAR, R. Antioxidant and antimicrobial carboxymethyl cellulose films containing Zataria multiflora essential oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.72, p.36, 606 -613, 2015.

DELGADO-ADÁMEZ, J. *et al.* In vitro assays of the antibacterial and antioxidant activity of aqueous leaf extracts from different *Prunus salicima Lindl.* Cultivars. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 7, p. 2481-2486, 2012.

DELGADO-ADÁMEZ, J. *et al.* In vitro estimation of the antibacterial activity and antioxidant capacity of aqueous extracts from grape-seeds (*Vitis vinífera* L.). **Food Control**, v. 24, n. 1-2, p. 136-141, 2012.

DI PIERRO, P., SORRENTINO, A., MARINIELLO, L., & GIOSAFATTO, C. V. L., Porta, R. Chitosan/whey protein film as active coating to extend Ricotta cheese shelf-life. **LWT-Food Science and Technology**, v. 44, n. 10, p. 2324-2327, 2011.

DOMÉNECH-ASENSI, G. *et al.* Effect of the addition of format paste on the nutritional and sensory properties of mortadella. **Meat Science**, v. 93, p. 213-219, 2013.

DOMIJAN, A. M. Seed borne fungi and ochratoxina: A contamination of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, n. 3, p. 427- 432, 2005.

DORMAN, H., J., D., *et al.* Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from Mentha species, hybrids, varieties, and cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 16, p. 4563-4569, 2003.

DUTTA, P. K., TRIPATHI, S., MEHROTRA, G. K., & DUTTA, J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. **Food chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1173-1182, 2009.

EHIVET, F., E.; MIN, B.; PARK, M., K.; OH, J., H. Characterization and antimicrobial activity of sweetpotato starch-based edible film containing gripanum (*Thymus capitatus*) oil. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 1, 2011.

EMBUSCADO, M.E. et al. Epices and herbs: Natural sources of antioxidants – a mini review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 811-819, 2015.

EMIROGLU, Z., K.; YEMIS, G., P.; COSKUN, B., K.; CANDOGAN, K. Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. **Meat Science**, v. 86, n. 2, p. 283-288, 2010.

ESPINA, L.; SOMOLINOS, M.; LORÁN, S.; CONCHELLO, P.; GARCÍA, D.; ANDPAGÁN, R. Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. **Food Control**, v. 22, p. 896–902, 2011.

ESPITIA, P. J. P.; DU, W. -X.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; SOARES, N. F. F.; MCHUGH, T. H. Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties - A review. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 287-296, 2014.

ETXABIDE, A.; URDANPILLETA, M.; DE LA CABA, K.; GUERRERO, P. Control of cross-linking reaction to tailor the properties of thin films based on gelatin. **Materials Letters**, v. 185, p. 366- 369, 2016.

ETXABIDE, A. et al. Development of active gelatin films by means of valorization of food processing waste: A review. **Food Hydrocolloids Polymers**, v. 60, n. 1, p. 39-42, 2005.

FABRA, M. J.; JIMENEZ, A.; ATARES, L.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Effect of fatty acids and beeswax addition on properties of sodium caseinate dispersions and films. **Biomacromolecules**, v. 10, p. 1500-1507, 2009.

FARAHNAKY, A.; SABERI, B.; MAJZOBI, M. Effect of glycerol on physical and mechanical properties of wheat starch edible films. **Journal of Texture Studies**, v. 44, p. 176–186, 2013.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L. *Química de alimentos de Fennema*. 4ª. ed., Artmed, 2010. 900 p.

FERREIRAA, A., S.; NUNES, C.; CASTRO, A.; FERREIRA, P.; COIMBRA, M., A. Influence of grape pomace extract incorporation on chitosan films properties. **Carbohydrate Polymers**, v.113, p. 490–499, 2014.

FIORI, A.P.S.M.; GABIRABA, V.P.; PRAXEDES, A.P.P.; NUNES, M.R.S.; BALLIANO, T.L.; SILVA, R.C.; TONHOLO, J.; RIBEIRO, A.S. Preparação e caracterização de nanocompósitos poliméricos baseados em quitosana e argilo minerais. **Polímeros**, v. 24, n. 5, p. 628 – 635, 2014.

FREIRE, M., M.; JHAM, G., N.; DHINGRA, O., D.; JARDIM, C., M.; BARCELOS, R., C.; VALENTE, V., M., M. Composition, antifungal activity and main fungitoxic components of the essential oil of *Mentha piperita* L. **Journal of Food Safety**, v. 32, p. 29-39, 2011.

FROZZA, C. O. S. et al. Chemical characterization, antioxidant and cytotoxic activities of Brazilian red própolis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 52, p. 137-142, 2013.

FURLONG, E., B. et al. Avaliação do potencial de compostos fenólicos em tecidos vegetais, **Vetor**, v. 13, p. 105-114, 2003.

GANIARI, S.; CHOULITOU, E.; OREOPOULOU, V. Edible and active films and coatings as carriers of natural antioxidants for lipid food. **Trends in Food Science and Technology**, v. 68, p. 70-82, 2017.

GANIARIA, S.; CHOULITOU, E.; OREOPOULOU, V. Achira as a source of biodegradable materials: Isolation and characterization of nanofibers. **Carbohydrate Polymers**, v. 123, p. 406–415, 2015.

GHASEMLOU, M.; ALIHEIDARI, N.; FAHMI, R.; SHOJAEI-ALIABADI, S.; KESHAVARZ, B.; CRAN, M., J.; KHAKSAR, R. Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 1, p. 1117-1126, 2013.

GIMÉNEZ, B. et al. Release of active compounds from agar-gelatin films with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 30, p. 264-271, 2013.

GÓMEZ-ESTACA, J.; LÓPEZ-DE-LACEY, A.; LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; GÓMEZ-GUILLÉN, M.C.; MONTERO, P. Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. **Food Microbiology**, v. 7, n. 7, p. 889-896, 2010.

GÓMEZ-ESTACA, J.; MONTERO, P.; FERNÁNDEZ-MARTÍN, F.; ALEMÁN, A.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. Physical and chemical properties of tuna-skin and bovine hide gelatin films with added aqueous oregano and rosemary extracts. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 1334-1341, 2009.

GÓMEZ-ESTACA, J.; MONTERO, P.; GÓMEZ-GUILLEN, M. Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) muscle proteins as source to develop edible films. **Food Hydrocolloids**, v. 41, p. 86–94, 2014.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Edible films made tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (*Ugni molinae* Turcz). **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 1133-1143, 2007.

GRISI, M. C. M. Avaliação de genótipos de Menta (*Mentha spp*) nas condições do Distrito Federal, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 4, p. 33-39, 2006.

GROSSMAN, M. V. E.; MALI, S.; SHIMAZU, A. A. Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. **Ciências Agrárias**, v. 28, n. 1, p. 79-88, 2007.

HOQUE, M. S.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Properties of film from cuttlefish (*Spia pharaonis*) skin gelatin incorporated with cinnamon, clove and star anise extracts. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 5, p. 1085-1097, 2011.

HOQUE, M.S.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Properties of films from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin incorporated with cinnamon, clove and star anise extracts. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1085-1097, 2011.

HOSSEINI, S., F.; REZAEI, M.; ZANDI, M.; FARAHMANDGHAHI, F. Development of bioactive fish gelatin/chitosan nanoparticles composite films with antimicrobial properties. **Food Chemistry**, v. 194, p. 1266-1274, 2016.

HOTCHKISS, J. H.; ROONEY, M. L. Safety considerations in active packaging. Active food packaging. **Glasgow: Chapman & Hall**, v. 1, p. 238-255, 1995.

HUGO, C. J.; HUGO, A. Current trends in natural preservatives for fresh sausage products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, n. 1, p. 12-23, 2015.

IRKIN, R.; ESMER, O., K. Novel food packaging systems with natural antimicrobial agents. **Journal of Food Science and technology**, v. 52, p. 6095-6111, 2015.

ISCAN, G.; KIRIMER, N.; KURKUOGLU, M.; BASER, K., H., C.; DEMIRCI, F. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3943-3946, 2002.

ISLAM, S.; SHAHID, M.; MOHAMMAD, F. Perspectives for natural product based agents derived from industrial plants in textile applications—a review. **Journal of Cleaner Production**, v. 57, p. 2-18, 2013.

JADHAV, S. J.; NIMBALKAR, S. S.; KULKARNI, A. D.; MADHARI, D. L.; RAJALAKSHMI, D.; & NARASINHAN S. Food antioxidants: technological, toxicological and health perspectives. **New York: Marcel Dekker**. 1996. 450p.

JAVIERA, F.; RUBILAR A, C.; RUI, M. S.; CRUZ, B. C.; HÉLDER, D.; SILVA, D.; ANTÓNIO, A.; VICENTE, D.; KHMELINSKII, A. C.; MARGARIDA, C. Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract Vieira. **Journal of Food Engineering**, v. 115, p. 466–474, 2013.

JONGJAREONRAK, A. et al. Antioxidative activity and properties of fish skin gelatin films incorporated with BHT and α -tocopherol. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 3, p. 449-459, 2012.

JOUKI, M.; YAZDI, F. T.; MORTAZAVI, S. A.; KOOCHEKI, A.; KHAZAEI, Z. Effect of quince seed mucilage edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension of refrigerated rainbow trout fillets, **International Journal of Food microbiology**, v. 174, p. 88–97, 2014.

JOVANOVIC, G., D.; KLAUS, A., S.; MIOMIR, P., N. Antimicrobial activity of chitosan coating and films against *Listeria monocytogenes* on black radish. **Revista Argentina de Microbiologia**, p. 1-9, 2016.

JUCK, G.; NEETOO, H.; CHEN, H. Application of na active alginate coating to control the growth of *Listeria monocytogenes* on poached and deli turkey products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 142, n. 3, p. 302-308, 2010.

KANATT, S. R. et al. Active chitosan-polyvinyl alcohol films with natural extracts. **Food Hydrocolloids**, v. 29, n. 2, p. 290-297, 2012.

KANMANI, P.; RHIM, J. W. Development and chacterization of carrageenanqgrapefruit seed extract composite films for active packging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 68, p. 258-266, 2014.

KARAGÖZLÜ, N. Determination of antimicrobial effect of mint and basil essential oils on survival of *E. coli* O157:H7 and *S. typhimurium* in fresh-cut lettuce and purslane. **Food Control**, v. 22, n. 12, p. 1851-1855, 2011.

KARUZA, L.; BLAZEVIC, N.; SOLJIC, Z. Isolation and structure of flavonoids from peppermint (*Mentha piperita*) leaves. **Acta Pharm.** v. 46, p. 315–320, 1996.

KASAAI, M. R. Various methods for determination of the degree of N-acetylation of chitin and chitosan: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 5, p. 1667-1676, 2009.

KHWALDIA, K.; ARAB-TEHRANY, E.; DESOBRY, S. Biopolymer Coating on Paper Packaging Materials. Comprehensive reviews in **food Science and foof safety**, v. 9, p. 82-91, 2010.

KLINE, R. M.; KLINE, J. J.; DI PALMA, J.; BARBERO, G. J. Entericcoated, pH dependent peppermint oil capsules for the treatment of irritable bowel syndrome in children. **J. Pediatr**, v. 138, p. 125–128, 2001.

KOMES, D. et al. Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 43, p. 167-176, 2010.

KOMG, M.; CHEN, X. G.; XING, K.; PARK, H. J. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, p. 51-63, 2010.

KONG, B.; ZHANG, H.; XIONG, Y. L. Antioxidant activity of spice extracts in a liposome system and in cooked pork patties and the possible mode of action. **Meat Science**, v. 85, n. 4, p. 772-778, 2010.

KUMAR, K., V.; PATRI, D., D. Alteration in yield and chemical composition of essential oil of *Mentha piperita* L. plant; Effect of fly ash amendments and organic wastes. **Ecological engineering**, v. 47, p. 237-241, 2012.

KUMARAPPAN, C. T.; THILAGAM, E; MANDAL, S. C. Antioxidant activity of polyphenolic extracts of *Ichmocarpus frutescens*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 19, p. 349-335, 2012.

LÁZARO, S.F. et al. Effect of aqueous extracts of *Baccharis trimera* on development and hatching of *Rhipicephalus microplus* (Acaridae) eggs. **Veterinary Parasitology**, v. 194, n. 1, p. 79-82, 2013.

LECETA, I., GUERRERO, P., & DE LA CABA, K. Functional properties of chitosan based films. **Carbohydrate Polymers**, v. 93, p. 339-346, 2013.

LEOPOLDINI, M.; RUSSO, N.; TOSCANO, M. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. **Food Chemistry**, v. 125, n. 2, p. 288-306, 2011.

LI, J., H., MIAO, J.; WU, J., L.; CHEN, S., F.; ZHANG, Q., Q. Preparation and characterization of active gelatin-based films incorporated with natural antioxidants. **Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 166-173, 2014.

LIANG, J.; YAN, H.; WANG, X.; ZHOU, Y.; WAN, X. Encapsulation of epigallocatechin gallate in zein/chitosan nanoparticles for controlled applications in food systems. **Food Chemistry**, v.231, p.19-24, 2017.

LIMA, M. S. et al. Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced from new Brazilian varieties planted in the Northeast Region of Brazil. **Food Chemistry**, v. 161, p. 94-103, 2014.

LISKOVÁ, J.; TOMITHY, E. L.; BERENOVÁ J.; SKWARCZYŃKA A.; BOZIC, M.; KESSHARI.; MODRZEJEWSKA, Z.; KOKOL, G. S.; BACAKOVA, L. Chitosan hydrogels enriched with polyphenols: Antibacterial activity, cell adhesion and growth and mineralization, **Carbohydrate Polymers**, v. 129, p. 135–142, 2015.

LÓPEZ, P.; SÁNCHEZ, C.; BATLLE, R.; NERÍN, C. Vapor-phase activities of cinnamon, thyme, and oregano essential oils and key constituents against foodborne micro-organisms. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 55, n. 11, p. 4348–4356, 2007.

LOPEZ, V.; MARTIN, S.; GOMEZ-SERRANILIA, M., P.; CARETERO, M., E.; JAGER, A., K.; CALVO, M., I. Neuroprotective and neurochemical properties of mint extracts. **Phytotherapy Research**, v. 24, p. 859-874, 2010.

LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C.; GÓMEZ-ESTACA, J.; CATALÁ, R.; GAVARA, R.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P. Active antioxidant packaging films: development and effect on lipid stability of brined sardines. **Food Chemistry**, v. 131, n. 4, p. 1376-1384, 2012.

LÓPEZ-RUBIO, A. et al. Overview of Active Polymer Based Packing Technologies for Food Application. **Food Reviews International**, v. 20, p. 357-387, 2004.

MACHADO, B. A. S.; REIS, J. H. O.; SILVA, J. B.; CRUZ, L. S.; NUNES, I. L.; PEREIRA, F. V.; DRUZIAN, J. I. Obtenção de nanocelulose da fibra de coco verde e incorporação em filmes biodegradáveis de amido plastificados com glicerol. **Quimica Nova**, v. 37, n. 8, p. 1275-1282, 2014.

MACHADO, B. A. S; et al. **Desenvolvimento e caracterização de filmes bioativos à base de quitosana aditivados com extrato de resíduo de acerola**. 2015. 102 p. Tese (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de pós-graduação em ciência e tecnologia dos alimentos, Pernambuco, 2015.

MAHECHA, M. M. A.; PELISSARI, F. M.; TAPIA-BLÁCIDO, D. R.; MENEGALLI, F. C. Achira as a source of biodegradable materials: Isolation and characterization of nanofibers. **Carbohydrate Polymers**, v. 123, p. 406–415, 2015.

MARINOVA , E. M.; YANISHLIEVA, N. V. Antioxidative activity of extracts from selected species of the family Limiaceae in sunflower oil. **Food Chem**, v. 58, p. 245–248, 1997.

MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. A oxidação lipídica em carne de frango e o impacto da adição de sálvia (*Salvia officinalis*, L.) e de alho (*Allium sativum*, L.) como antioxidantes naturais. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, n. 1, p. 1-11, 2009.

MARTÍNEZ-CAMACHO, A. P.; CORTEZ-ROCHA, M.O.; EZQUERRA-BRAUER, J.M.; GRACIANO-VERDUGOM, A. Z.; PLASCENCIA-JATOMEA, M. Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 2, p. 305-315, 2010.

MARTINEZ-CORREA, H. A. et al, Extracts from the leaves of *Baccharis dracunculifolia* obtained by a combination of extraction processes with supercritical CO₂, ethanol and water. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 63, p. 31-39, 2012.

MARTINS, J. T.; CERQUEIRA, M. A.; VICENTE, A. A.; Influence of α -tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 1, p. 220–227, 2012.

MASCHERONI, E. et al. Anti-microbial effectiveness of relative humidity-controlled carvacrol release from wheat gluten/montmorillonite coated papers. **Food Control**, v. 22, p. 1582-1591, 2011.

MATET, M.; HEUZEY, M. C.; AJJI, A.; SARAZIN, P. Plasticized chitosan/polyolefin films produced by extrusion. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 177-184, 2015.

MATTOS, S. H. Perspectivas do cultivo de plantas medicinais para a fitoterapia no Estado do Ceará. **Horticultura Brasileira**, v. 18, p. 45-46, 2000.

MEKINIC, I. G. et al. In vitro antioxidant and antibacterial activity of Lamiaceae phenolic extracts: A correlation study. **Food Technology and Biotechnology**, v. 52, n. 1, p. 119-127, 2014.

MICKAY, D., L.; BLUMBERG, J., B. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.) **Phytoterapy Research**, v. 20, p. 619-633, 2006.

MOGHADDAM, M.; POURBAIGE, M.; TABAR, H., K.; FARHADI, N.; HOSSENI, S., M., A. Composition and antifungal activity of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil from Iran. **TEOP**, v. 16, p. 506-512, 2013.

MOLDOVAN, R. I. et al. LC-MS analysis, antioxidant and antimicrobial activities for five species of *Mentha* cultivated in Romania. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, v. 9, n. 2, p. 559-566, 2014.

MOO-HUCHIN, V. M.; ESTRADA-MOTA, I.; ESTRADA-LEÓN, R.; CUEVAS-GLORY, L.; ORTIZ-VÁZQUEZ, E.; Y VARGAS, M. D. L. V.; SAURI-DUCH, E. Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. **Food chemistry**, v. 152, p. 508-515, 2014.

MORADI, M.; TAJIKB, H.; ROHANIB, S. M. R.; OROMIEHIEC, A. R.; MALEKINEJADD, H., ALIAKBARLUB, J. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract. **Food Science and Technology**, v. 46, n. 2, p. 477-484, 2012.

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

MOREIRA, M.R.; PONCE, A.G.; DEL-VALLE, C.E.; ROURA, S.I. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. **Lebensmittel**, v. 38, p. 65–570, 2005.

MORELLI, C. L.; MAHROUS, M.; BELGACEMA, M. N.; BRANCIFORTI, M. C.; BRETAS, R. E. S.; BRAS, J. Natural copaiba oil as antibacterial agent for bio-based active packaging. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 134-141, 2015.

MULLER, C. M. O.; PIRES, A. T. N.; YAMASHITA, F. Characterization of thermoplastic starch/poly(lactic acid) blends obtained by extrusion and thermopressing. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 3, p. 426-434, 2012.

MURIEL-GALET, V.; CRAN, M.J.; BIGGER, S. W.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; GAVARA, R. Antioxidant and antimicrobial properties of ethylene vinyl alcohol copolymer films based on the release of oregano essential oil and green tea extract components, **Journal of Food Engineering**, v. 149, p. 9-16, 2015.

MUXIKA, A.; ETXABIDE, A.; URANGA, J.; GUERRERO, P.; DE LA CABA, K.. Review. Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.105, n. 2, p. 1358-1368, 2017.

NECHITA, P. et al. Antimicrobial coating based on chitosan derivatives and quaternary ammonium salts for packaging paper applications. **Cellulose Chemistry and Technology**, v. 49, p. 625-632, 2015.

NORAJIT, K.; KIM, K. M.; RYU, G. H. Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films containing ginseng extract. **Journal of Food Engineering**, v. 98, p. 377-384, 2010.

NORONHA, C. M.; DE CARVALHO, S. M.; LINO, R. C.; BARRETO, P. L. M. Characterization of antioxidant methylcellulose film incorporated with α -tocopherol nanocapsules. **Food chemistry**, v. 159, p. 529-535, 2014.

OJAGH, S., M.; REZAEI, M.; RAZAVI, S., H.; HOSSEINI, S., M., H. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with affinity toward water. **Food Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 161-166, 2010.

OLIVEIRA, L. M., ALVES, R. M. V., SARANTÓPOLUS, C. I. G. L., PADULA, M., GARCIA, E. E. C. Ensaios para avaliação de embalagens plásticas flexíveis. **Centro de Tecnologia de embalagem**, , p. 120 -121, 1996.

OLIVEIRA, T. GOMES. **Caracterização de filmes à base de gelatina aditivados com extrato vegetais**. Tese (Doutorado) – Faculdade de zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, p119. 2017.

OTHMAN, S. H. Bio-nanocomposite Materials for Food Packaging Applications: Types of Biopolymer and Nano-sized Filler. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 2, p. 296 – 303, 2014.

OTONI, C. G.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; AZEREDO, H. M. C.; LOREVICE, M. V.; MOURA, M. R.; MATTOSO, L. H. C.; MCHUGH, T. H. Comprehensive Reviews. **Food Science and Food Safety**, v. 16, p. 1151-1169, 2017.

OTONI, C. G.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; AZEREDP, H. M. C.; LOREVICE, M. V.; MOURA, M. R.; MATTOSO, L. H. C.; MCHUGH, T. H. Recent Advances on Edible Films Based on Fruits and Vegetables - A Review. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 16, p. 1151-1169, 2017.

ÖZCAN, M. M.; ARSLAN, D. Antioxidant effect of essential oils of Rosemary, clove and cinnamon on hazelnut and poppy oils. **Food Chemistry**, v. 129, n. 1, p. 171-174, 2011.

PADMINI, A.; PREMA, K.; VIJAVA, B.; RANI, U. M. Comparative study on composition and antioxidant properties of mint and black tea extract. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 43, p. 1887-1885, 2008.

PAGNO, C., H.; KLUG, T., V.; COSTA, T., M., H.; DE OLIVEIRA RIOS, A.; FLORES S., H. Physical and antimicrobial properties of quinoa flour-based films incorporated with essential oil. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, n. 16, p. 1-9, 2016.

PARK, S. I., ZHAO, Y. Incorporation of a high concentration of mineral or vitamin into chitosan-based films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 7, p. 1933–1939, 2004.

PAULUS, D. Teor e qualidade do óleo essencial de menta (*Mentha arvensis* L.) produzida sob cultivo hidropônico e em solo. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 2, p. 80-87, 2007.

PELTZER, P. M., LAJMANOVICH, R. C., SÁNCHEZ-HERNANDEZ, J. C., CABAGNA, M. C., ATTADEMO, A. M., BASSÓ, A. Effects of agricultural pond eutrophication on survival and health status of *Scinax nasicus* tadpoles. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 70, n. 1, p. 185-197, 2008.

PENG, YONG; LI, YUNFEI. Combined effects of two kinds of essential oils on physical, mechanical and structural properties of chitosan films. **Food Hydrocolloids**, v. 36, p. 287-293, 2014.

PERDONES, Á.; VARGAS, M.; ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan–cinnamon leaf oil films as affected by oleic acid. **Food Hydrocolloids**, v. 36, p. 256-264, 2014.

PERUMALLA, A. V. S., HETTIARACHCHY, N. S.; NAVAM S. Green tea and grape seed extracts—Potential applications in food safety and quality. **Food Research International**, v. 44, n. 4, p. 827-839, 2011.

PESCHEL, W.; SÁNCHEZ-RABANEDA, F.; DIEKMANN, W.; PLESCHER, A.; GARTZÍA, I.; JIMÉNEZ, D.; CODINA, C. An industrial approach in the search of

natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. **Food Chemistry**, v. 97, n. 1, p. 137-150, 2006.

PIÑEROS-HERNANDEZ, D. *et al.* Edible cassava starch films carrying Rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 488-495, 2016.

PINTO, A. L. D.; MIRANDA, T. L. S.; FERRAZ, V. P.; ATHAYDE, D. D. Determinação e verificação de como a gordura trans é notificada nos rótulos de alimentos, em especial naqueles expressos "0% gordura trans". Brazilian **Journal of Food Technology**, v. 9, n. e2015043, 2016.

PIRES A. C. S.; SOARES, N. F. F.; SILVA, L. H. M.; ANDRADE N. J.; SILVEIRA M. F. A.; CARVALHO, A. F. Polydiacetylene as a biosensor: Fundamentals and applications in the food industry, **Food Bioprocess and Technology**, 2009.

PONCE, A.G.; ROURA, S.I.; DEL VALLE, C.E.; MOREIRA, M.R. Antimicrobial and antioxidante activities of edible coating enriched with natural plant extracts: In vitro in vivo studies. **Postharvest Biology and Technology**, v. 49, n. 2, p. 294-300, 2008.

PULIGUNDLA, P.; JUNG, J.; KO, SANGHOON. Review: Carbon dioxide sensors for intelligent food packaging applications. **Food Control**, v. 25, p. 328-333, 2012.

QUILAQUEO GUTIÉRREZ, M. *et al.* Carboxymethylcellulose-montmorillonite nanocomposite films activated with murta (*Ugni molinae Turcz*) leaves extract. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, p. 1495-1502, 2012.

QUINTAVALLA, S.; VICINI, L. Antimicrobial food packaging in meat industry. **Meat Science**, v. 63, p. 373-380, 2002.

RADOJKOVIC, M. *et al.* Free radical scavenging activity, total phenolic and flavonoid contents of mulberry (*Morus spp. L.*, Moraceae) extracts. **Hemijiska industrija Belgrado**, v. 66, n.4, p. 547-552, 2012.

RAJINDER, S.; MUFTAH, A. M.; SHUSHNI, A. B. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita L.* **Arabian Journal of Chemistry**, v. 8, p. 322-328, 2015.

RAMOS, M. *et al.* Development of novel nano-biocomposite antioxidante films based on poly (lactic acid) and thymol for active packaging. **Food Chemistry**, v. 162, p. 149-155, 2014.

RATTAYA, S.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Properties of fish skin gelatin film incorporated with seaweed extract. **Journal of Food Engineering**, v. 95, p. 151-157, 2009.

REIS, L. C. B. *et al.* Active bio composites of cassava starch: The effect of yerba mate extract and mango pulp as antioxidant additives on the properties

and the stability of a packaged product. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, p. 382-391, 2015.

RHIM, J. W.; PARK, H. M.; HA, C. S. Bio-Nanocomposites for Food Packaging Applications. **Progress in Polymer Science**, v. 38, p. 1629-1652, 2013.

RIBEIRO, A. E. C.; BARBOSA, H. R.; ASCHERI, D. P. R.; ASCHERI, J. L. R.; DE CARVALHO, C. W. P. Permeabilidade, estabilidade e funcionalidade de filmes biodegradáveis de amido de caroço de jaca (*Artocarpus heterophyllus*). **Revista Agrotecnologia**, v. 2, n. 1, p. 73–88, 2011.

RIBEIRO, T. G. et al. Antileishmanial activity of standardized fractions of *Stryphnodendron obovatum* (Barbatimão) extract and constituent compounds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 165, p. 238-242, 2015.

RUIZ-NAVAJAS, Y.; VIUDA-MARTOS, M.; BARBER, X.; SENDRA, E.; PEREZ-ALVAREZ, J. A.; FERNANDEZ-LOPEZ, J. Effect of chitosan edible films added with *Thymus moroderi* and *Thymus piperella* essential oil on shelf-life of cooked cured ham, **Food Science and Technology**, 2015.

SAMDUNI, H.; SOTO-VALDEZ, H.; AURAS, R. Poly (lactic acid) film incorporated with marigold flower extract (*Tagetes erecta*) intended for fatty-food application. **Food Control**, v. 46, p. 55-66, 2014.

SAMOJLIK, I.; PETKOVIC, S.; MIMICA-DUKIĆ, N.; BOZIN, B. Acute and chronic pretreatment with essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.) influence drug effects. **Phyto Res**, n. 26, p. 820-825, 2012.

SAMPAIO, G. R.; SALDANHA, T.; SOARES, R. A. M.; TORRES, E. A. F. S. Effect of natural antioxidant combinations on lipid oxidation in cooked chicken meat during refrigerated storage. **Food Chemistry**, v. 135, p. 1383–1390, 2012.

SÁNCHEZ, A. A.; ESPINOSA, M. E.; VÁSQUEZ, E. N. O.; CAMBEROS, E. P.; VÁSQUEZ, R. S.; CARVANTES, E. L. Antimicrobial and antioxidant activities of Mexican oregano essential oils (*Lippia graveolens* H. B. K.) with different composition when microencapsulated in β cyclodextrin. **Letters in Applied Microbiology**, v. 50, p. 585-590, 2010.

SANTOS, R. R.; ANDRADE, M.; RAMOS, MELO, N.; SANCHES-SILVA, A. Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. **Trends in Food Science & Technology**, n. 61, p. 1312-140, 2017.

SEVERINO, R. A. B.; FERRARI, G. A. C.; DANG, K. V.; DONS, B. F.; LACROIX, C. S. B. M.; Antimicrobial effects of modified chitosan based coating containing nanoemulsion of essential oils, modified atmosphere packaging and gamma irradiation against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella Typhimurium* on green beans.

SHAH, M. A.; BOSCO, S. J. D.; MIR, S. A. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. **Meat science**, v. 98, n. 1, p. 21-33, 2014.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P.K.; WANASUNDARA, P.D. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v.32, n.1, p. 67-103, 1992.

SHAHIDI, F.; JANTINHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.

SHAHIDI, F.; ZHONG, T. Measurement of antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 757-781, 2015.

SHARAFATI, C.; TAGHIZADEH, F. M.; RAFIEIAN-KOPAEI, M. Effect of chitosan incorporated with cumin and eucalyptus essential oils as antimicrobial agents on fresh chicken meat. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 40, n. 3, p. 396-404, 2016.

SHIMADA, K.; FUJIKAWA, K.; YAHARA, K.; NAKAMURA, T.; Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin. **Food Chem.** v. 40, p. 945–948, 1992.

SIRIPATRAWAN, U., HARTE, B. R. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. **Food Hydrocolloids**. v. 24, p. 770–775, 2010.

SIRIPATRAWAN, U.; NOIPHA, S. Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life extension of pork sausages. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 1, p. 102-108, 2012.

SIRIPATRAWAN, U.; VITCHAYAKITTI, W. Improving functional properties of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis. **Food Hydrocolloids**. v. 61, p. 695–702, 2016.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1,p. 71-81, 2002.

SOKOVIC, M. D.; VUKOJEVIC, J.; MARIN, P. D.; BRKIC, D. D.; VAJS, V., VAN GRIENSVEN, L. J. L. D. Chemical composition of essential oils of Thymus and Mentha species and their antifungal activities. **Molecules**, v. 14, p. 238–249, 2009.

SOUSA, J. M.et al. Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 85-93, 2007.

SOUSA, J.M. et al. Polyphenolic profile and antioxidant and antibacterial activities of monofloral honeys produced by Melipomini in Brazilian semiarid region. **Fodd Research International**, v.84, p.61-68, 2016.

SOUZA, C. O.; SILVA, L. T.; SILVA, J. R.; LÓPEZ, J. A.; VEIGA-SANTOS, P.; DRUZIAN, J. I. Mango and Acerola pulps as antioxidant additives in Cassava starch bio-based film. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 6, p. 2248-2254, 2011.

SOUZA, V., G., L.; FERNANDO, A., L.; PIRESA, J., R., A.; RODRIGUES, P., F.; LOPES, A., A., S.; FERNANDES, F., M., B. Physical properties of chitosan films incorporated with natural antioxidants. **Industrial Crops & Products**, v. 107, p. 565–572, 2018.

SUGANO, M., WATANABE, S., KISHI, A., IZUME, M., & OHTAKARA, A. Hypocholesterolemic action of chitosans with different viscosity in rats. **Lipids**, v. 23, n. 3, p. 187-191, 1988.

SUPPAKUL, P.; BOONLERT, R.; BUAPHET, W.; SONKAEW, P.; LUCKANATINVONG, V. *Efficacy of superior antioxidant Indian gooseberry extract-incorporated edible Indian gooseberry puree/methylcellulose composite films on enhancing the shelf life of roasted cashew nut.* **Food Control**, v. 69, p. 51-60, 2016.

TALÓN, E.; TRIFKOVIC, K. T.; NEDOVIC, V. A.; BUGARSKIB, B. M.; VARGAS, M.; CHIRALTA, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Antioxidant edible films based on chitosan and starch containing polyphenols from thyme extracts. **Carbohydrate Polymers**, v.157, p. 1153–1161, 2017.

TEIXEIRA, B.; MARQUES, A.; RAMOS, C.; NENG, N. R.; NOGUEIRA, J. M. F.; SARAIVA, J. A.; NUNES, M. L. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 587-595, 2013.

THE, D. P.; DEBEAUFORT, F.; Voilley, A.; Luu, D.; Influence of hydrocolloid nature on the structure and functional properties of emulsified edible films, **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 691, 2009.

THIS, H. *Um Cientista na Cozinha*: 4. Ed. São Paulo: Ática, 2007.

THOMAIDIS, N. S.; GEORGIU, C. A. Edible oil analysis by flow injection. **Laboratory Automation and Information Management**, v. 34, p. 101-114, 1999.

TINYANE, P. P.; SIVAKUMAR, D.; SOUNDY, P. Influence of photo-selective netting on fruit quality parameters and bioactive compounds in selected tomato cultivares. **Scientia Horticulturae**, v. 161, p. 340-349, 2013.

TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, P. K. Physicochemical and bioactivity of cross-linked chitosan–PVA film for food packaging applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 45, p. 372–376, 2009.

TSAI, M. L.; WU, C. T.; LIN, W. C.; HUANG, Y. C.; YANG, C. H. Chemical Composition and Biological Properties of Essential Oils of Two Mint Species, **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, 2013.

ULTEE, A.; SMID, E. J. Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. **Journal of Food Microbiology**, v. 64, n. 3, p. 373-378, 2001.

URIBE, E. et al. Assessment of vacuum-dried peppermint (*Mentha piperita* L.) as a source of natural antioxidants. **Food Chemistry**, v. 190. 559-565, 2016.

VALERIANO, C.; PICCOLI, R., H.; CARDOSO, M., G.; ALVES, E. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Revista brasil plantas medicinais**, v. 14, n. 1, 2012.

VARGAS, F. C. **Caracterização de extratos aquosos de Pitanga (*Eugenia uniflora* L), Guaraná (*Paullinia cupana* Kunth) e Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e sua aplicação para promover a estabilidade da carne bovina refrigerada**. 125 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

VARGAS, F. C. et al. Rosemary and Pintaga Aqueous Leaf Extracts On Beef Patties Stability under Cold Storage. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 59, 2016.

VARGAS, M.; ALBORS, A.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; Characterization of chitosan–oleic acid composite films. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 2, p. 536–547, 2009.

VATAVALI, K.; KARAKOSTA, L.; NATHANAILIDES, C.; GEORGANTELIS, D.; KONTOMINAS, M., G.; Combined Effect of Chitosan and Oregano Essential Oil Dip on the Microbiological, Chemical, and Sensory Attributes of Red Porgy (*Pagrus pagrus*) Stored in Ice, **Food Bioprocess Technology**, 2013.

VERMEIREN, L. et al. Developments in the active packaging of foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, n. 3, p. 77-86, 1999.

WANG, H.; HU, D.; WANG, L. Physical and antioxidant properties of flexible soy protein isolate films by incorporating chestnut (*Castanea mollissima*) bur extracts. **LWT- Food Science and Technology**, v.71, p. 33-39, 2016.

WANG, L.; DONG, Y.; MEN, H.; TONG, J.; ZHOU, J. Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols. **Food hydrocolloids**, v. 32, n. 1, p. 35-41, 2013.

WHEATLEY, R. A. Some trends in the analytical chemistry of lipid peroxidation. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 19, n.10, p. 617-628, 2000.

WU, J. et al. Properties and antimicrobial activity of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin-chitosan films incorporated with oregano essential oil for fish preservation. **Food Science and Technology**, v. 71, p. 33-39, 2016.

WU, J., CHEN, S., GE, S., MIAO, J., LI, J., & ZHANG, Q. Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 32, n. 1, p. 42-51, 2013.

WU, J.; CHEN, S.; GE, S. MIAO, J.; LI, J.; ZHANG, Q. Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 32, n. 1, p. 42-51, 2013.

XIA, E. et al. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 1, p. 622-646, 2010.

YOSHIDA, C., M., P.; ANTUNES, A., J. Application of whey protein films, **Ciência Tecnologia dos Alimentos**, v. 29, p. 420, 2009.

ZAMUDIO-FLORES, P., B.; TORRES, A., V.; SALGADO-DELGADO, R.; BELLO-PÉREZ, L., A. Influence of the oxidation and acetylation of banana starch on the mechanical and water barrier properties of modifies starch and modified starch/chitosan blend films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 115, p. 991-998, 2010.

ZHONG, Y.; SONG, X. Y.; LI, Y. F. Antimicrobial, physical and mechanical properties of kudzu starch-chitosan composite films as a function of acid solvent types, 2011.

ZINOVIADOU, K., G.; KOUTSOUMANIS, K., P.; BILIADERIS, C., G. Physical and thermo-mechanical properties of whey protein isolate films containing antimicrobials, and their effect against spoilage flora of fresh beef. **Food hydrocolloids**, v. 24, p. 49, 2010.

Artigo 1

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E CARACTERIZAÇÃO DE FILME DE
QUITOSANA ADITIVADO COM EXTRATO DE HORTELÃ-PIMENTA (*Mentha
Piperita* L.)**

Anderson Campos Bezerra, Andreлина Maria Pinheiro Santos,
Enayde de Almeida Melo

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da incorporação do extrato de hortelã-pimenta (EHH) em filmes à base de quitosana. Foram realizadas análises para averiguação da capacidade antioxidante pelo sequestro do radical DPPH, das propriedades mecânicas, da umidade, do intumescimento, da cor, da transmissão de luz, da opacidade e da permeabilidade ao vapor de água (PVA). As análises de propriedade mecânicas RT (resistência a tração), AR (alongamento na ruptura) e E (Módulo Young) foram realizadas e mostraram que a incorporação do EHH afeta a estrutura mecânica dos filmes à base de quitosana, melhorando-as. Os resultados também mostraram que o aumento da concentração de EHH não promoveu alteração no teor de umidade, na solubilidade dos filmes e no PVA. A adição de EHH a filmes de quitosana leva a um aumento da resistência à luz UV e da opacidade. O ΔE^* (diferença de cor) dos filmes aumentaram de acordo com a proporção de EHH adicionado. A capacidade antioxidante dos filmes à base de quitosana foi avaliada e aumentada quando o EHH estava presente na matriz do filme. Os resultados mostraram que o EHH pode ser adicionado com sucesso aos filmes de quitosana, aumentando a qualidade final e a extensão da vida útil dos produtos alimentares.

Palavras-chaves: Filmes biodegradáveis. Quitosana. Antioxidante. Hortelã-pimenta.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of the incorporation of peppermint extract (EH) into chitosan based films. Analyzes were carried out to investigate the antioxidant capacity by sequestration of the DPPH radical, mechanical properties, moisture, swelling, color, light transmission, opacity and water vapor permeability (PVA). The mechanical properties analyzes (tensile strength), AR (elongation at rupture) and E (Young Module) were performed and showed that the incorporation of EHH affects the mechanical structure of the chitosan based films, improving them. The results also showed that the increase in EHH concentration did not promote changes in moisture content, film solubility and PVA. The addition of EHH to chitosan films leads to an increase in resistance to UV light and opacity. The ΔE^* of the films increased according to the proportion of EHH added. The antioxidant capacity of chitosan-based films was evaluated and increased when EHH was present in the film matrix. The results showed that EHH can be successfully added to the chitosan films, increasing the quality and the extension of the shelf life of food products.

Key-words: Biodegradable films. Chitosan. Antioxidant. Pepper mint.

1. INTRODUÇÃO

Durante os últimos anos houve um aumento na demanda dos consumidores por alimentos mais saudáveis, seguros e biodegradáveis, principalmente quando o assunto é o descarte das embalagens sintéticas para alimentos (SEVERINO *et al.*, 2015; PONTES, 2013;).

Alguns sistemas de embalagens ativas fornecem novas abordagens para a melhoria das embalagens tradicionais, interagindo diretamente com o produto, gerando resultados benéficos (LÓPEZ-RUBIO *et al.*, 2004; ROONEY, 2002). Alguns exemplos de sistemas de embalagens ativas incluem antioxidantes, adsorventes de umidade, sistemas enzimaticamente ativos e sistemas antimicrobianos (LÓPEZ-RUBIO *et al.*, 2004). Embalagens ativas e biodegradáveis contendo antimicrobianos e antioxidantes despertam grande interesse por parte da indústria, pois funcionam como alternativa às embalagens sintéticas convencionais por aumentarem a vida de prateleira e inibirem a multiplicação de microrganismos patogênicos e deteriorantes nos alimentos, bem como as alterações químicas (CALO *et al.*, 2015).

Embalagens com liberação de antioxidantes e antimicrobianos estão inseridas na categoria de sistema de conservação de alimentos, no qual um antioxidante ou antimicrobiano é incorporado ao filme, o que contribui para a extensão da vida útil dos alimentos. Dentre os aditivos naturais, os extratos de frutas e de hortaliças ganharam um mercado em expansão na indústria de alimentos (AKHTAR *et al.*, 2012).

Filmes contendo extratos de plantas têm sido desenvolvidos para uso em embalagens com potencial atividade antioxidante e antimicrobiana (QUILAQUEO GUTIÉRREZ *et al.*, 2012; KANATT *et al.*, 2012; MORADI *et al.*, 2012; NORAJIT; CAMO *et al.*, 2011; KIM; RYU, 2010; SIRIPATRAWAN e HARTE, 2010). Entre as plantas, a folha de hortelã-pimenta (*Mentha piperita*, Lamiaceae) apresenta em sua composição muitos compostos com propriedades antioxidantes, tais como ácidos fenólicos (ácido cafeíco, ácido coumárico, ácido rosmarínico e ácido sinápico), flavonoides (flavol-3-ol: galato de galocatequina, flavonóis: rutina e quercetina; flavonas: hesperidina) (SINGH *et al.*, 2015; CHOUDHURY; KUMAR; GARG, 2006).

A hortelã é utilizada na medicina popular para o controle e para o tratamento de várias doenças como: gastrite, asma e inflamações respiratórias

(KLINE *et al.*, 2005). As folhas são consumidas na forma de chás, com indicação para problemas no trato gastrointestinal e no pulmão, das mais diversas naturezas: doenças respiratórias, verminoses, antiprotozoários, inflamações, anemia; e, além disso, têm outros efeitos biológicos, como antioxidante e anti-inflamatório (SOKOVIC, 2009; RASOOLI *et al.*, 2008; SAMARTH, 2006;). Associado à preocupação com a qualidade dos alimentos, têm-se também os problemas e impactos ambientais gerados por materiais de embalagens plásticas sintéticas, desencadeando um interesse no desenvolvimento de filmes comestíveis e biodegradáveis para aumentar a vida de prateleira e, ao mesmo tempo, diminuir os resíduos de embalagens (RHIM, 2014; DUNCAN, 2011; AZEREDO, 2009; SORRENTINO *et al.*, 2007; THARANATHAN, 2003).

No entanto, a incorporação direta do extrato em alimentos ainda encontra certas limitações tecnológicas relacionadas com a natureza hidrofóbica, reativa e instável das moléculas bioativas que a constituem, além dos efeitos sobre características sensoriais (DONSI *et al.*, 2012). A criação de emulsões biopoliméricas com extratos de hortelã podem potencializar o efeito antimicrobiano, além de melhorar sua estabilidade (MCCLEMENTS *et al.*, 2011) e aumentar sua ação antioxidante, podendo ser utilizadas em embalagens antimicrobianas e antioxidantes (PONTES, 2013).

Assim, esse estudo objetivou desenvolver filmes biodegradáveis a partir da quitosana aditivado com quatro concentrações (2,5%, 5%, 10% e 25%) do extrato hidroetanólico da hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) com propriedade antioxidante e caracterizá-lo quanto a suas propriedades físico-químicas, mecânicas, de barreira e ópticas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Local de desenvolvimento da pesquisa

A pesquisa foi desenvolvida na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), nos laboratórios do Departamento de Ciências Domésticas (Físico-Química, Processamento de Alimentos e Técnica Dietética), no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Tecnologia Rural e no Laboratório de Bioprocessos, do Departamento de Engenharia Química, da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

2.2 Materiais

As matérias-primas utilizadas para a preparação dos filmes foram: extrato obtido da hortelã-pimenta adquirida no centro de abastecimento e logística de Pernambuco (CEAGEPE) e massa *Briseé* (produção própria). Para elaboração dos filmes, foram utilizados quitosana de peso molecular médio (SIGMA-ALDRICH Chemistry®), glicerol (NUCLEAR) e ácido acético glacial (DINÂMICA). Todos os reagentes empregados nas determinações foram de grau analítico.

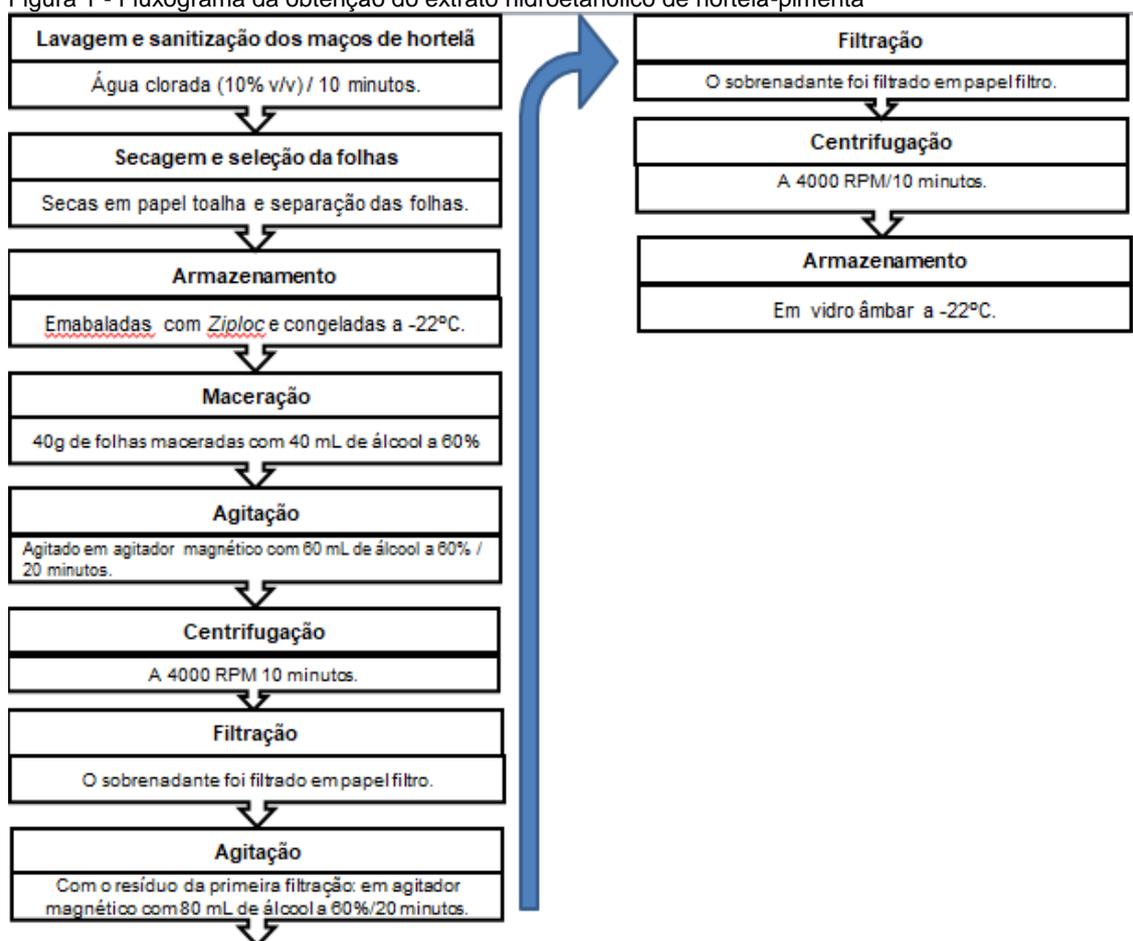
2.4. Obtenção do extrato hidroetanólico da folha de hortelã-pimenta (EHH)

Os maços de hortelã-pimenta foram lavados em água corrente e depois imersos em solução de água clorada (10%v/v) por dez minutos para sanitização. Após a retirada da solução clorada em água corrente, os maços foram colocados sobre toalhas de papel para a retirada do excesso de água. Posteriormente, as folhas foram retiradas dos caules, colocadas em sacos de polietileno com fechamento hermético tipo *Ziploc*[®] e armazenadas em *freezer*.

O extrato hidroetanólico da folha de hortelã-pimenta foi obtido segundo a metodologia de Machado (2015), com adaptações, em que 40 g das folhas de hortelã foram macerados em almofariz com 40 mL de álcool a 60% até obter uma pasta. A pasta de folhas de hortelã foi colocada sob agitação em agitador magnético com mais 60 mL de álcool a 60% por 20 minutos. O extrato, em seguida, foi centrifugado (modelo CT 6000 R, CIENTEC, Brasil) a uma rotação de 4.000 RPM por dez minutos. O sobrenadante foi filtrado em papel filtro e armazenado em vidro âmbar (Figura 1).

A pasta de folhas resultante da filtração foi diluída em mais 80 mL de álcool a 60% e agitada novamente em agitador magnético (TECNAL) por 20 minutos e, depois, centrifugada. O sobrenadante foi filtrado e adicionado ao sobrenadante inicial e armazenado no *freezer*, a uma temperatura de -22 °C para posteriores análises e aplicações.

Figura 1 - Fluxograma da obtenção do extrato hidroetanólico de hortelã-pimenta



Fonte: Autor, 2018.

2.5 Determinações dos fenólicos totais do extrato de hortelã-pimenta (EHH)

Os compostos fenólicos dos extratos foram determinados por método espectrofotométrico (modelo UV – 1650 PC, Shimadzu, Japão) com espectro de absorção registrado no comprimento de onda de 725 nm, utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (Merck), descrita por Wettasingle e Shahidi (1999) e curva padrão de ácido gálico (10 a 120µg/mL, com $R_2= 0,9997$). Os resultados foram

expressos em mg de fenólicos totais em equivalente de ácido gálico (EAG) por mL de extrato.

2.6 Determinação da atividade antioxidante do extrato de hortelã-pimenta pelo método de sequestro de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

A capacidade antioxidante do extrato de hortelã de sequestrar o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) foi avaliada segundo método descrito por Brand-Williams *et al.* (1995), com algumas adaptações. Uma alíquota de 0,1 mL de diferentes concentrações de extrato foi adicionada a 3,9 mL da solução de radical DPPH* (6×10^{-5} mol/L⁻¹), atingindo concentração final de 0,1mg/mL, 0,25mg/mL e 0,50mg/mL. A absorbância foi registrada a 517 nm, em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC), até atingir o platô. A capacidade antioxidante foi calculada usando a Eq. 1

$$\text{: \%} = \frac{\text{Absorbância do controle} - \text{absorbância da amostra}}{\text{absorbância do controle}} \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

2.7 Elaboração do filme com extrato de hortelã-pimenta

Os filmes foram obtidos pela técnica de *casting*. 1 g de quitosana foi diluído em 100 mL de solução aquosa de ácido acético glacial (0,5% v/v). A solução foi agitada em agitador mecânico (Tecnal TE-102, Tecnal, Brasil) por dez minutos, com rotação de 18.000 RPM em temperatura de 27 ± 3 °C. Após três minutos, 0,2 mL do plastificante glicerol foram adicionados. Nos últimos quatro minutos foi adicionado o EHH, de acordo com o volume determinado em cada ensaio (Tabela 1). A solução foi disposta em placas acrílicas planas e redondas (Placas de petri de 150x15 mm), com peso constante de 40 ± 2 g, e secas a 35 ± 2 °C em estufa com circulação e renovação de ar (modelo MA035, Marconi Brasil) por 24 horas. Após a secagem, os filmes foram retirados das placas e armazenados em dessecador coberto com papel alumínio, contendo sílica gel, para posteriores análises.

Os filmes produzidos utilizaram uma concentração fixa de quitosana (1 g) e quatro concentrações de extrato de hortelã-pimenta (2,5%, 5%, 10% e 25%), que foram incorporados de acordo com o volume de quitosana pré-definido, totalizando quatro tipos de filmes (Tabela 1).

Tabela 1 - Formulação dos filmes de quitosana com diferentes concentrações de extrato de hortelã-pimenta

Ensaio	Quitosana (%)	Extrato de hortelã-pimenta (%)	Plastificante glicerol (mL)
C	1	0,0	0,2
EH2,5	1	2,5	0,2
EH5	1	5,0	0,2
EH10	1	10,0	0,2
EH25	1	25,0	0,2

EH2,5= Quitosana com 2,5% de extrato; EH5= Quitosana com 5% de extrato; EH10= Quitosana com 10% de extrato; EH25= Quitosana com 25% de extrato.

2.8 Extração dos compostos presentes nos filmes

Seguindo a metodologia descrita por Wang *et al.* (2013), com algumas adaptações, os filmes inteiros foram solubilizadas em 25 mL de solução etanólica (60%) e colocadas em agitação (Agitador magnético –TECNAL) na velocidade de 1.000 RPM durante um minuto. O sobrenadante foi utilizado para determinação dos fenólicos totais e da atividade antioxidante.

2.8.1 Determinação de fenólicos totais dos filmes

Os fenólicos totais dos compostos extraídos dos filmes foram mensurados por método espectrofotométrico com espectro de absorção registrado no comprimento de onda de 725 nm em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC), utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (Merck), segundo metodologia descrita por Wettasinghe e Shahidi (1999) e curva padrão de ácido gálico (10 a 120µg/mL⁻¹, com R² = 0,9997). Os resultados são expressos em mg de fenólicos totais em equivalente de ácido gálico (EAG)/g-1 do filme. Para a determinação dos fenólicos presentes nos filmes, foi utilizada a Equação 2:

$$T = \frac{C \times V}{M} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde T é o conteúdo total de fenólicos, em miligramas por grama de filme seco; C é a concentração de ácido gálico estabelecida a partir da curva de calibração em miligrama por mililitro; V é o volume de filme do extrato, em mililitro e M é o peso do filme seco, em grama, conforme descrito por Moradi *et al.* (2012).

2.8.2 Determinação da atividade antioxidante dos filmes.

A capacidade antioxidante dos filmes de sequestrar o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil foi avaliada segundo método descrito por Brand-Williams *et al.* (1995), com algumas adaptações. Uma alíquota de 0,5 mL da solução extraída dos filmes, adicionados de 3,5 mL da solução de radical DPPH (6×10^{-5} mol/L-1), teve sua absorvância registrada a 517 nm, em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC), até atingir o platô. A capacidade antioxidante foi calculada usando a Equação 1.

2.9 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

2.9.1 Espessura

A espessura do filme foi medida com a utilização de um micrômetro manual (Mitutoyo/micrometer, Japão) com 0,001 mm de precisão. Foram realizadas cinco medições. Quadrante e ponto central e os valores médios foram utilizados para os cálculos da opacidade e das propriedades mecânicas.

2.9.2 Propriedades mecânicas

Para a determinação das propriedades mecânicas (resistência à tração e porcentagem de alongamento na ruptura), foi empregada a metodologia descrita por ASTM D882-10 (2010), utilizando o equipamento LINHA DL-500 MF-MARCA: EMIC®. No teste de tração, os filmes foram dimensionados em corpos de prova com 7,5 cm de comprimento e 2,5 cm de largura. Esses corpos de prova foram fixados nas garras do equipamento com distância inicial entre elas de 30 mm e velocidade de tração de 0,5 mm/s. A tensão na ruptura foi determinada pela relação entre força e área da seção transversal inicial do filme. Os resultados foram analisados em triplicata.

2.9.3 Parâmetro de cor e de opacidade dos filmes

A análise instrumental da cor foi realizada de acordo com a descrição de Siripatrawan e Harte (2010), com adaptações, utilizando o colorímetro CHROMA METER CR-400 (Konica Minolta®, Japão) no modo de refletância e o iluminante C. As leituras de L*; a* e b* foram efetuadas em cinco diferentes pontos dos filmes, e os dados, submetidos ao cálculo da média aritmética.

A determinação da opacidade dos filmes seguiu a metodologia descrita por Siripatrawan e Harte (2010). As amostras dos filmes (10,0 cm de comprimento x 1,5 cm de largura) foram posicionadas no local da cubeta de modo perpendicular ao feixe de luz. A leitura foi realizada em triplicata, no comprimento de onda de 600 nm em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC), e a opacidade, calculada conforme a Equação 4:

$$\text{Opacidade} = \frac{\text{ABS}_{600}}{T} \quad (\text{Eq. 4})$$

sendo ABS600 é a absorção a 600 nm e T é a espessura do filme em mm.

2.9.4 Transmissão de luz

As propriedades de barreira de luz visíveis dos filmes foram medidas em comprimentos de onda selecionados entre 200 e 800 nm, utilizando-se o espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650 PC), de acordo com o procedimento referido por Fang *et al.* (2002). As amostras dos filmes (10 cm de comprimento x 1,5 cm de largura) foram levadas ao equipamento e alocadas no local da cubeta de modo perpendicular ao feixe de luz. A análise de transmissão de luz foi feita em triplicata.

$$\text{Transmissão} = \frac{\text{ABS}_{280}}{T} \quad (\text{Eq. 5})$$

2.9.5 Solubilidade e umidade

Os testes de solubilidade em água foram realizados pelo método de Zamudio-Flores *et al.* (2010). As amostras de biopolímeros foram separadas em tamanho de 1 cm por 2 cm e mantidas em dessecador com sílica por sete

dias e, então, pesadas, imersas em 80 mL de água deionizada e submetidas à agitação a 200 RPM pelo tempo de uma hora na temperatura de 25 °C. Posteriormente, as amostras foram secadas em estufa a 60 °C até atingir peso constante. A porcentagem do material total solúvel em água foi calculada utilizando a seguinte Equação 6:

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{\text{Peso seco inicial} - \text{Peso seco final}}{\text{Peso seco inicial}} \times 100 \quad (\text{Eq. 6})$$

E o teor de umidade foi determinado pela perda de peso das amostras, acondicionadas em estufa a 105±3 °C durante 24 horas, sendo calculado pela Equação 7:

$$x(\%) = \frac{m_{\text{massai}} - m_{\text{massaf}}}{m_{\text{massai}}} \times 100 \quad (\text{Eq. 7})$$

sendo X é o teor de umidade dos filmes (%), m_i é a massa inicial do filme úmido, m_f é a massa final do filme seco.

2.9.6 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Medição de permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi realizada pelo método gravimétrico baseado na ASTM 969 (1995), com algumas modificações (Dick *et al.*, 2015). Cada amostra de filme íntegra de 25 mm de diâmetro foi colocada sobre uma abertura circular de célula de permeação e armazenada a 25 °C em uma câmara de vidro. Para manter um gradiente de umidade relativa (UR) de 75% ao longo do filme, colocou-se CaCl₂ anidro (0% de UR) ao lado da célula e adicionou-se uma solução saturada de NaCl (75% uR) à câmara de vidro. A UR dentro da célula foi sempre mais baixa do que a exterior, e o transporte de vapor de água foi determinado a partir do aumento de peso da célula de permeação. Após duas horas, foi efetuada a primeira pesagem da célula, e, posteriormente, as demais em intervalos de tempo regulares por um período de 72 horas. A permeabilidade ao vapor de água das amostras foi determinada em triplicata com a seguinte equação 8:

$$PVA = \frac{w.L}{A.t.\Delta p} \quad (\text{Eq. 8})$$

Em que w é o peso da água que permeou a película (g), L é a espessura da película (mm), A é a área de permeação (m^2), t é o tempo de permeação (h) e Δp é a diferença de pressão de vapor de água entre os dois lados do filme (kPa).

2.9.7 Intumescimento

A capacidade dos filmes secos de absorver água foi analisada de acordo com metodologia descrita por Cao, Fu e He (2007). Para isso, os filmes foram recortados em círculos de 2,5 cm de diâmetro e armazenados por 24 horas em dessecador contendo sílica, a fim de retirar a umidade das amostras. Após esse período, os filmes foram pesados (w_1) e, em seguida, submersos em água destilada à temperatura ambiente, permanecendo nessa condição por dois minutos. Após isso, as amostras foram retiradas da água com o auxílio de uma pinça, colocadas em cima de pedaços de papel filtro, com o intuito de retirar o excesso de água, e pesadas (w_2). A quantidade de água absorvida pelos filmes após submersão em água pelo período de dois minutos foi calculada pela Equação 9.

$$\text{Intumescimento (\%)} = [(w_2 - w_1) / w_1] \times 100 \quad (\text{Eq. 9})$$

Em que w_1 e w_2 representam o peso das amostras seca e úmida, respectivamente.

2.10 Análise estatística

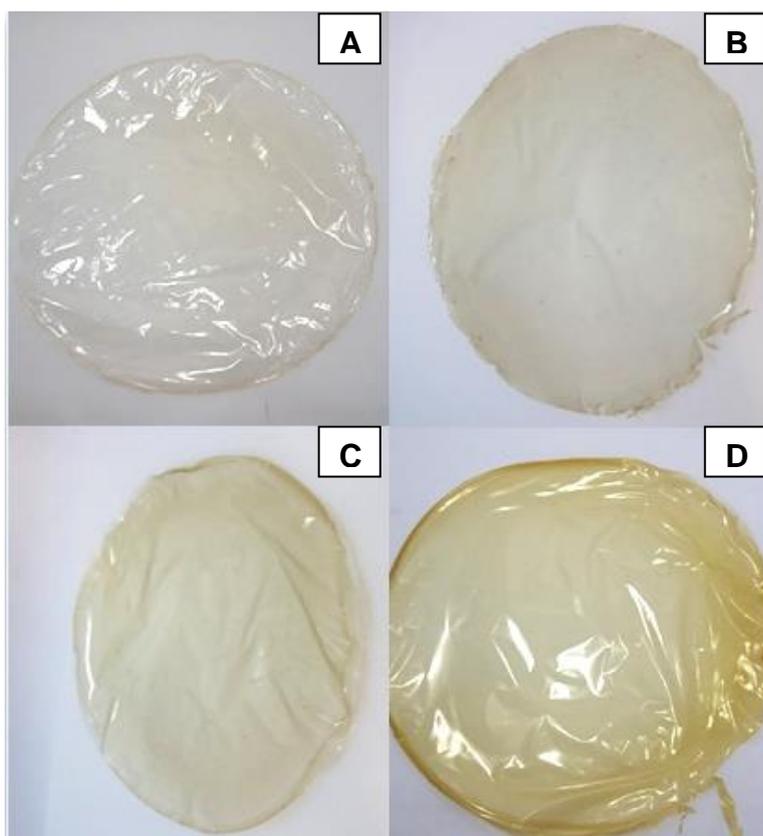
Todas as determinações foram realizadas em triplicata e os dados submetidos a análise estatística utilizando o *software* Statistica 7.0. Valores foram expressos em média \pm desvio padrão. O teste t de *Student* e o teste de Duncan foram aplicados para comparação das médias. Diferenças foram consideradas significativas para $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Características e aspectos visuais dos filmes de quitosana aditivado com EHH (extrato hidroetanólico de hortelã).

Os resultados estão apresentados na Figura 2. Verificou-se que houve uma boa interação do extrato de hortelã com o polímero. É importante que isso ocorra para que se obtenha espalhamento uniforme de extrato na superfície do polímero, fornecendo uma liberação homogênea do composto antioxidante para o alimento (SOUZA *et al.*, 2018; KANAT *et al.*, 2012). Na pré-avaliação dos filmes, a análise dos aspectos visuais demonstrou que ocorreu uma boa distribuição do EHH (extrato hidroetanólico de hortelã), cujos filmes apresentaram homogeneidade, uniformidade, transparência, boa flexibilidade, com fácil manuseabilidade (Figura 2) e leve aroma de hortelã.

Figura 11 – Filmes de quitosana aditivados com extrato hidroetanólico de hortelã pimenta.



[A) com 2,5% de extrato, B) com 5% de extrato, C) com 10% de extrato, D) com 25% de extrato.]

Fonte: Autor, 2018.

3.2. Quantificação do teor de fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato de hortelã-pimenta

O extrato de hortelã-pimenta apresentou uma concentração de fenólicos de 13,5 mg EAG/g (Tabela 2). Este valor foi inferior ao encontrado em seis espécies de *Mentha* (Lamiaceae) por Benabdallah *et al.* (2016), cujo teor de fenólicos totais do extrato metanólico (80%) foi de 31,4 mg EAG/g; e superior ao relatado por Nickavar *et al.* (2008) (4,33 mg EAG/g). Isso demonstra variabilidade da planta estudada em relação aos valores de TFT decorrente de fatores exógenos (condições climáticas) e endógenos (características físicas e genéticas da planta), além das diferenças metodológicas no processo de obtenção do extrato (NICKAVAR *et al.*, 2008; EBRAHIMZADEH *et al.*, 2010; BENABDALLAH *et al.*, 2016). Ebrahimzadeh *et al.* (2010), utilizaram o método de percolação com etanol-água para obtenção do extrato de hortelã-pimenta com 13,4 mg EAG/g, esse resultado corrobora os valores dos fenólicos totais encontrados na presente pesquisa.

Tabela 2 - Teor de fenólicos totais (TFT) e capacidade antioxidante de sequestro do radical DPPH do extrato de hortelã-pimenta

Análises	Valores
TFT(mg EAG/g)	13,5±0,02
DPPH[EC ₅₀ (mg/mL)]	10,47±0,08

Quanto à capacidade de sequestro do DPPH, o extrato demonstrou um valor de 10,47 % (Tabela 2). Ressalta-se que o índice EC₅₀ refere a concentração do extrato necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH em 50%. Portanto, quanto menor os valores de, EC₅₀, maior a ação antioxidante do extrato.

Os dados da capacidade antioxidante encontrados para o extrato de hortelã-pimenta (10,47±0,08 mg/mL) foi semelhante aos reportados por Farnad *et al.* (2014) para o extrato aquoso da hortelã, e para os extrato com metanol e etanol mostraram valores do EC₅₀ entre 10,02 a 14,77 mg/mL. Por outro lado, valores divergentes dos encontrados neste estudo foram obtidos por Dormam *et al.* (2003), para diferentes espécies de hortelã (*Mentha piperita* L.), cujos valores de EC₅₀ ficou em torno de 0,15 mg/mL. Entretanto, esses valores foram

obtidos em extratos liofilizados, o que pode contribuir para a melhoria da atividade antioxidantes dos extratos (DORMAN *et al.*,2003).

O resultado do sequestro do radical DPPH (Tabela 2) sugere que o extrato de hortelã é capaz de eliminar radicais livres, e, portanto, pode ser utilizado para a prevenção da inibição/propagação de reações em cadeia de radicais livres, por meio da estabilização de espécies reativas antes da participação desses nas reações (DORMAN *et al.*, 2009).

3.3 Teor de fenólicos, Capacidade de retenção e Atividade antioxidante dos filmes de quitosana aditivados com extrato de hortelã-pimenta

Para a quantificação do conteúdo de fenólicos e sua retenção nos filmes de quitosana utilizou-se etanol (60%) para a extração destes compostos dos filmes que foram produzidos com diferentes concentrações de extrato hidroetanólico da hortelã-pimenta. A Tabela 3 apresenta os valores do sequestro do radical DPPH, de fenólicos para cada filme fabricado e seu respectivo percentual de retenção

Tabela 3 - Teor de fenólicos totais, capacidade antioxidante (DDPH) e retenção dos filmes de quitosana produzidos com quatro concentrações de extrato de e seu respectivo percentual de retenção.

Filme	Teor de fenólicos (mg EAG/g de filme)	SEQUESTRO DO RADICAL DPPH (%)	Retenção (%)
Controle (C)	--	0,83±0,06 ^e	--
EH2,5	0,88±0,006 ^d	23,04±6,03 ^d	13,63±1,87 ^a
EH5	1,44±0,022 ^c	54,36±2,06 ^c	11,06±0,27 ^b
EH10	2,19±0,002 ^b	72,26±0,68 ^b	8,83±0,03 ^c
EH25	4,14±0,043 ^a	82,69±1,69 ^a	6,73±0,33 ^d

EH2,5= Quitosana com 2,5% de extrato; EH5= Quitosana com 5% de extrato; EH10= Quitosana com 10% de extrato; EH25= Quitosana com 25% de extrato. Os valores são apresentados como média e desvio padrão. As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste Duncan ($p > 0,05$).

Os compostos fenólicos apresentam uma relevante função como antioxidante natural, tornando-se necessário conhecer o teor destas substancias em alimentos. Vasco; Ruales; Kamal-Eldin (2008), segundo a

concentração dos fenólicos, classificam os alimentos em três níveis: baixo (0,21 até 0,91mg EAG/g), intermediário (0,92 até 10,1mg EAG/g) e alto (acima de 10,1mg EAG/g). Considerando essa classificação, constata-se que o filme EH 2,5 pode ser classificado como de baixo teor de TFT (0,88 mg EAG/g), enquanto que os demais filmes (EH5, EH10 e EH25) podem ser vistos como intermediários teor de TFT (1,44 mg EAG/g, 2,19 mg EAG/g e 4,14 mg EAG/g, respectivamente) (Tabela 3).

Observa-se que o mais alto teor de fenólicos totais ($4,14 \pm 0,043$) foi encontrado no filme elaborado com maior proporção de extrato (EH25). Em contrapartida, o biofilme sem adição de extrato (C) não apresentou estes compostos em sua composição. Siripatrawan; Vitchayakitti(2016) e Kanatt (2012), também, relatam ausência de fenólicos totais em biofilmes com 1% de quitosana.

Os teores de fenólicos totais nos filmes aditivados com 2,5%, 5%, 10% e 25% do extrato de hortelã estão convergentes com a quantidade de extrato incorporado, demonstrando que o teor de fenólicos totais do biofilme é diretamente proporcional à quantidade de extrato adicionado à matriz (YUAN *et al.*, 2015; BALLESTER-COSTA *et al.*, 2016). Estudos atestam que a *Mentha piperita* L possui considerável teor de fenólicos totais (NICKAVAR *et al.*, 2008; KANATT *et al.*, 2012).

Kanatt *et al.* (2012), estudaram a extração dos compostos fenólicos em diferentes temperaturas (37°C, 28°C e 15°C), em filmes de quitosana incorporados com extrato liofilizado de hortelã-pimenta e de romã, e encontraram fenólicos totais de 22,5, 25, 7,5 mg EAG/g, respectivamente. Os autores ressaltam que a temperatura de extração exerce forte influência no teor de fenólicos totais dos biofilmes. Como neste trabalho a extração dos fenólicos dos filmes foi realizada à temperatura de $24 \pm 3^\circ\text{C}$, é possível que a temperatura utilizada tenha sido suficiente para liberação dos fenólicos dos filmes contendo uma menor concentração de extrato, mas não foi adequada para liberação desses compostos dos filmes com uma maior quantidade do extrato.

Quanto ao valor da retenção de fenólicos nos filmes, nota-se que com a menor concentração de extrato (2,5%) adicionado, houve um maior percentual de retenção dos compostos fenólicos (13,63%) enquanto que com a maior concentração de extrato (25%), ocorreu a redução desse percentual para

6,73% (Tabela 3). A análise dos dados indica que para se obter uma melhor retenção dos compostos fenólicos no filme é necessário manter uma relação proporcional entre a concentração de quitosana e do extrato de hortelã, uma vez que o aumento da concentração do extrato inserido no filme afeta a capacidade de retenção do filme, pois deve existir um limiar crítico. (CHIUMARELLI; HUBINGER, 2014).

Outro fator que interfere na retenção dos compostos fenólicos é a quantidade do plastificante usado, tendo em vista que o emprego dele em porcentagens maiores na solução filmogênica proporciona uma maior retenção desses compostos (CHIUMARELLI; HUBINGER, 2014). Entretanto, apesar da baixa retenção dos compostos fenólicos, os filmes se mostraram com boa ação antioxidante, sobretudo nos filmes com concentrações mais altas de EHH. Sugerindo que a quantidade de TFTs e a estrutura química dos fenólicos retidos foi suficiente para propiciar boa ação antioxidante aos filmes de quitosana.

O método de sequestro do radical DPPH foi utilizado para indicar a atividade antioxidante do filme. Este ensaio baseia-se na capacidade do DPPH, um radical livre estável, ser degradado e, assim, descolorir na presença de antioxidantes, resultando em uma redução nos valores de absorvância (ENAYAT; BANERJEE. 2009; BABBAR *et al.*, 2011; PAZ *et al.*, 2015). Na mensuração de inibição do radical DPPH, os antioxidantes o reduzem, transformando-o de tonalidade violácea para um composto de cor amarelada. O prolongamento da reação depende da capacidade de doação de hidrogênio dos antioxidantes (BLOIS, 1958).

Os dados da atividade antioxidante dos filmes pelo método de captura do radical DPPH revelam que o filme com 25% do extrato de hortelã-pimenta apresentou maior atividade antioxidante (Tabela 2), assim como, nos demais filmes (2,5%, 5%, 10%) a ação antioxidante foi proporcional à quantidade de extrato inserido no filme.

O filme elaborado sem a adição do extrato de hortelã-pimenta (C) apresentou atividade antioxidante de 0,83%. Kannatt *et al.* (2012) utilizaram blendas de quitosana/PVA como biopolímero para a obtenção de filmes aditivados com extrato liofilizado de hortelã-pimenta e extrato liofilizado de casca de romã. No filme controle, sem adição de extrato liofilizado, eles

encontraram valores de sequestro do radical DPPH de 0,78%, próximos ao deste estudo. Wang *et al.* (2015), também, relatam ação antioxidante em filmes de quitosana a 1% (0,92%). No entanto, Kanatt *et al.* (2008) estudaram revestimento de quitosana (1%) com extrato de hortelã aplicado em bifes de carne bovina, relatam que não foi constatada atividade antioxidante no revestimento controle, sem extrato.

Bitencourt *et al.* (2014) observaram que, em filmes à base de gelatina de peixe, houve uma melhora (78% em comparação ao controle) da atividade antioxidante quando se adicionou extrato etanólico de cúrcuma (200g de extrato/100g), sendo proporcional ao aumento da concentração de extrato adicionado. Essa característica também foi encontrada neste estudo (Tabela 3) e corroborada por Hafsa *et al.* (2016), Bitencourt *et al.* (2014) e LI *et al.* (2014). O aumento da atividade antioxidante com a adição de compostos naturais a filmes também foi observada por Moradi *et al.* (2012) em filmes de quitosana com óleo essencial de *Zataria multiflora* e de extrato de semente de uva e por Tongnuanchan, Benjakul e Podpan (2013) em estudo com filmes à base de gelatina de peixe acrescidos com extrato de gengibre e cúrcuma.

Na medida em que o antioxidante natural foi incorporado ao filme de quitosana, as interações com quitosana também podem afetar sua propriedade antioxidante. Portanto, para interpretar a atividade antioxidante de filmes de quitosana contendo extratos, é preciso informações não só sobre a estrutura e do mecanismo antioxidante dos compostos adicionados, mas também sobre as interações entre a quitosana e os antioxidantes (WANG *et al.*, 2015).

3.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

O ensaio EH25, apesar de conter mais extrato, não contém compostos fenólicos e ação antioxidante proporcional, pois o alto teor de extrato gera retenção mais baixa, por isso não foi escolhido para a caracterização. O ensaio EH2,5, apesar de boa retenção, não traz consigo a maior capacidade antioxidante.

Assim, os ensaios que reúnem melhor atividade em conjunto com boa retenção são os ensaios intermediários no teor de extrato, sendo os ensaios EH5 e EH10, os escolhidos para prosseguir com a caracterização.

3.4.1 Espessura e propriedades mecânicas

Um dos parâmetros que influencia as propriedades mecânicas dos filmes é a espessura. Ele é um importante parâmetro para avaliar a homogeneidade, para definir a uniformidade dos materiais, para a repetibilidade das medidas das propriedades e validade das comparações entre as propriedades dos filmes (MAHMOUD; SAVELLO, 1992; GENNADIOS *et al.*, 1993).

Os filmes ativos de quitosana foram caracterizados quanto à espessura e às propriedades mecânicas. A espessura dos filmes contendo EHH não apresentou diferença significativa quando comparada ao filme de quitosana sem adição de extrato, Tabela 4.

Yuan *et al.* (2015) estudaram filmes de quitosana aditivados com extrato de casca de romã e relatam não haver diferença significativa na espessura dos filmes. Os resultados demonstraram que os compostos fenólicos do extrato podem ter espalhabilidade na superfície do filme sem alterar a espessura de forma significativa. Resultados semelhantes a este estudo foram igualmente relatados por Bitencourt *et al.* (2014), em trabalho com filmes de gelatina com extrato de cúrcuma, e por Kanmani e Rhim (2014), em filmes de carragena com extrato de semente de uva.

Tabela 4 - Espessura dos filmes à base de quitosana com extrato de hortelã-pimenta

Filmes	Espessura (mm)
Controle (C)	0,04±0,004 ^a
EH5	0,04±0,001 ^a
EH10	0,05±0,003 ^a

EH5= Quitosana com 5% de extrato; EH10= Quitosana com 10% de extrato. Os valores são apresentados como média e desvio padrão. As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste Duncan ($p > 0,05$).

As propriedades mecânicas dos filmes definem a capacidade de proteger a integridade dos alimentos de danos físicos (MARTINS, CERQUEIRA e VICENTE, 2012; RUBILAR *et al.*, 2013). A quitosana, devido à sua carga positiva, apresenta uma versatilidade de adesão a superfícies biológicas, sendo capaz de formar materiais estáveis (MORADI *et al.*, 2012), no entanto podem apresentar fragilidade tornando-se necessário a utilização do plastificante, para

reduzir o atrito entre as cadeias do polímero e melhorar a flexibilidade da matriz (FERREIRA et al., 2014; LECETA et al., 2015).

Os resultados das propriedades mecânicas referente a tensão de ruptura, alongamento na ruptura e módulo de Young dos filmes EH5 e EH10 estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Efeito da incorporação do extrato hidroetanólico de hortelã-pimenta (EHH) na resistência à tração (RT), no alongamento na ruptura (AR) e no módulo de Young (E) dos filmes à base de quitosana

Filmes	RT (MPa)	AR (%)	E (MPa)
Controle	14,05 ± 0,65 ^c	5,64 ± 0,27 ^b	240,83 ± 25,53 ^c
EH5	17,27 ± 0,34 ^b	8,39 ± 0,45 ^a	615,00 ± 43,15 ^a
EH10	36,03 ± 0,57 ^a	8,47 ± 0,69 ^a	330,40 ± 8,41 ^b

EH5= Quitosana com 5% de extrato; EH10= Quitosana com 10% de extrato. Os valores são apresentados como média e desvio padrão. As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

A resistência à tração aumentou quando a concentração de EHH aumentou de 0 para 10% , o filme EH5 teve diferença significativa quando comparado com o filme EH10. A melhoria dessa propriedade mecânica dos filmes incorporados com EHH pode ser atribuída às interações entre os componentes da hortelã (por exemplo, ácidos fenólicos e seus ésteres) que possuem características polares com os grupos hidrofílicos das moléculas de quitosana. Essas interações podem resultar no aumento da adesão interfacial entre as moléculas de quitosana e o EHH na matriz do filme, levando a uma resistência mais efetiva ao estresse mecânico (PASTOR *et al.*, 2010).

O conhecimento da propriedade de resistência à tração (RT), de alongamento na ruptura (AR) e do módulo de Young (E) é relevante para identificar a sua aplicabilidade (BOURBON *et al.*, 2011; KALAYCIOĞLU *et al.*, 2017). Esses parâmetros relacionam as propriedades mecânicas dos filmes com as suas estruturas químicas e estão fortemente relacionados com a composição da película (BOURBON *et al.*, 2011). A retirada dos biofilmes das placas ocorreu de forma fácil, podendo ser manuseados em condições de serem analisados.

Nos filmes com 10% de extrato de hortelã, os valores de RT aumentaram 2,6 vezes em comparação aos filmes de quitosana pura. Kalaycioğlu *et al.* (2017) obtiveram um aumento de 1,5 vez da RT quando

incorporaram extrato de açafraão à solução filmogênica de quitosana. Liu *et al.* (2016) encontraram resultados semelhantes quando aditivaram filmes de quitosana com curcumina. A obtenção desses dados pode ser explicada pela quantidade de EHH que foi incorporada, visto que, Kanatt *et al.* (2012) prepararam filmes à base de quitosana (1,0%, v/v) com diferentes concentrações de extrato de hortelã e de romã e verificaram que a RT aumentou em relação ao controle, comprovando a influência da concentração no valor de RT.

A resistência à tração é a medida da força máxima de um filme para resistir ao esforço de tração aplicada (PARK; ZHAO, 2004). Na literatura, as tendências na mudança de valores de RT de filmes de quitosana com a incorporação de diferentes aditivos são frequentes (KALAYCIOĞLU *et al.*, 2017; RUBILAR *et al.*, 2013). Com a inserção de alguns aditivos, a RT pode aumentar ou diminuir. Geralmente, um aumento é atribuído a uma forte interação entre aditivos e cadeias de quitosana, o que provoca um aumento na rigidez do filme (KALAYCIOĞLU *et al.*, 2017).

O alongamento na ruptura (AR) dos filmes teve um aumento significativo ($p > 0,05$) ao ser adicionado o extrato de hortelã aumentaram de 0 para 5% (Tabela 5). Esse resultado no alongamento das películas pode ser atribuído às interações entre os componentes da hortelã-pimenta, que possuem características polares com os grupos hidrofílicos da quitosana. (PASTOR *et al.*, 2010; SIRIPATRAWAN e VITCHAYAKITTI, 2016). Essas interações podem resultar em uma maior adesão entre as moléculas de quitosana e o EHH, fortalecendo a cadeia biopolimérica, proporcionando o aumento do AR ($p > 0,05$). Entretanto, não houve diferença significativa entre EH5 e EH10, mostrando que o AR não se altera com o aumento da concentração de EHH acima de 5%. Esse fator pode ser justificado pela formação cristalina de componentes do EHH excessivos na matriz de quitosana, que leva a uma estagnação na flexibilidade do filme (PASTOR *et al.*, 2010).

Achados semelhantes também foram observados por Shen e Kamdem, (2015) que encontraram alongamento na ruptura inalterado com o aumento da concentração de dois óleos essenciais em filmes de quitosana. Siripatrawan e Vitchayakitti. (2016) relataram a diminuição do AR no filme de quitosana com 10% de extrato de própolis para o filme de quitosana com 25% de extrato.

Bodini *et al.* (2013) sugerem que as interações entre os componentes bioativos em altas concentrações com quitosana podem produzir reticulação, o que pode diminuir o volume livre e a mobilidade, causando uma diminuição no alongamento.

Geralmente, diferentes compostos naturais mostraram diferentes efeitos nas propriedades mecânicas do filme de quitosana. Hosseini *et al.* (2009) verificaram que o óleo essencial de tomilho e de cravo diminuiu a resistência à tração, mas melhoraram o alongamento. Sanchez-Gonzalez *et al.* (2010) relataram que o óleo essencial de bergamota diminuiu a resistência à tração e o alongamento do filme de quitosana. Essas diferenças podem ser atribuídas ao tipo de quitosana (solvente e peso molecular) utilizado e às interações particulares com os componentes naturais, que, por sua vez, são afetados pela umidade relativa, pela presença de tensoativos e temperatura (BALTI *et al.*, 2017; MA *et al.*, 2016).

O módulo de Young (comumente expresso em MPa) é a relação entre a resistência à tração e a deformação na região elástica, em que a resposta do corpo-de-prova ao alongamento é crescente e, linearmente, proporcional à tração imposta. O módulo de Young é um indicador da rigidez do filme, sendo que, quanto maior o módulo, mais rígido é o filme (SARANTÓPOULOS *et al.*, 2002; FERREIRA *et al.*, 2014).

O filme controle favoreceu a diminuição dos valores do módulo Young (240,83 MPa), proporcionando a formação de filmes mais elásticos (Tabela 5). Os resultados também mostram que os filmes incorporados com EHH (EH5=615,00 MPa e EH10=340,75 MPa) exibem um aumento significativo ($p>0,05$), no módulo Young em comparação com o filme de quitosana puro. A diminuição da elasticidade (aumento do valor de Young) pode ser atribuída a interação entre moléculas de quitosana e o extrato de hortelã (KALAYCIOĞLU.,*et al* 2017).

3.4.2 Umidade e solubilidade em água

Os filmes de quitosana elaborados com 5 e 10% de extrato de hortelã-pimenta, apresentaram umidade de $7,88 \pm 0,17\%$ e $8,43 \pm 0,40\%$, respectivamente (Tabela 6). Esses resultados mostram que a umidade dos filmes EH5 não foi influenciada com a adição do extrato ($P>0,05$), no entanto,

os filmes EH10 apresentaram diferença significativa em relação ao controle. Os valores de umidade dos filmes estão de acordo com os obtidos por diversos autores que utilizaram quitosana como matriz (RUBILAR *et al.*, 2013; PEREDA *et al.*, 2011; CERQUEIRA *et al.*, 2012).

Tabela 6 - Umidade e solubilidade de filmes de quitosana com diferentes concentrações de extrato de hortelã-pimenta

Filmes	Umidade (%)	Solubilidade (%)
Controle	6,64±0,83 ^b	32,50±2,07 ^a
EH5	7,88±0,17 ^b	31,87±1,87 ^a
EH10	8,43±0,40 ^a	27,00±1,37 ^b

EH5= Quitosana com 5% de extrato; EH10= Quitosana com 10% de extrato. Os valores são apresentados como média e desvio padrão. As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

Segundo Cerqueira *et al.* (2012), a quantificação da umidade dos filmes designa a fração de água que está inserida neles. Sendo, também, conexo com as lacunas vagas entre as moléculas da microestrutura do biofilme que podem ser ocupados por moléculas de água (RUBILAR *et al.*, 2013; PEREDA *et al.*, 2011). Esses autores denotam que a parcela desse elemento nos filmes é também dependente do volume do plastificante (glicerol) presente, que, por conta da sua hidrofílicidade, conserva a água na matriz do filme, elevando a inter-relação entre elas, o que pode explicar a baixa umidade dos filmes desenvolvidos neste estudo, dado que, quando contrapostos a outros trabalhos (PENG e LI, 2014; WANG *et al.*, 2013), a quantidade de plastificante utilizada foi em torno de 50% menor, propiciando filmes mais secos.

Beigzadeh, Esmaili e Almasi (2017) lograram resultados contrários com filmes de quitosana incorporados com extrato de cardo leiteiro (*Silybum marianum*), reduzindo a umidade nos filmes. Esse fenômeno pode ser atribuído a interações específicas entre quitosana e extrato de cardo leiteiro, que podem estabilizar a estrutura do biofilme. Resultados semelhantes foram relatados em outros estudos (ALIABADI *et al.*, 2014; CASARIEGO *et al.*, 2009).

Os fenólicos, compostos bioativos presente no EHH possui propriedades hidrofílicas, proporcionando um aumento da umidade dos filmes. (KANATT *et*

al., 2012). Rubilar *et al* (2013) ratificam os resultados praticados neste estudo, que desenvolverem três filmes à base de quitosana aditivados com diferentes concentrações do extrato de uva (caráter hidrofílico) e demonstraram um aumento na umidade (14,87%) em comparação com o controle.

A solubilidade é outra importante característica dos filmes para as aplicações que visam à proteção dos alimentos. A solubilidade é definida como porcentagem da matéria seca resultante após 1 hora de imersão em água destilada. A solubilidade dos filmes está diretamente relacionada com os componentes envolvidos na sua formação, ou seja, o tipo de estrutura que formam, e também com a sua hidrofiliicidade/hidrofobicidade. (WANG *et al.*, 2016).

Os valores de solubilidade dos filmes de quitosana com extrato de hortelã-pimenta são apresentados na Tabela 6. A solubilidade do filme controle de quitosana ($32,50 \pm 0,4\%$) foi próximo ao valor encontrado por Pérez-Córdoba *et al.* (2017).

Todos os filmes aditivados com extrato de hortelã apresentaram solubilidade ligeiramente inferior em água destilada. Os valores para EH5 ($31,87 \pm 1,8$) e EH10 ($27,35 \pm 1,5$) tiveram uma diminuição em relação ao controle, porém apenas o filme EH10 apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) em relação ao filme controle. Pérez-Córdoba *et al.* (2017) relataram uma redução na solubilidade em água de filmes à base de quitosana/gelatina com nanoemulsão de óleo de canola; α -tocoferol/cinamaldeído; α -tocoferol/óleo de alho; α -tocoferol/cinamaldeído e óleo de alho. Alegadamente, isso ocorreu devido aos compostos não polares nos óleos usados, o que resultou em uma interferência física substancial nas cadeias de polipeptídios de quitosana/gelatina na matriz do filme (PÉREZ-CÓRDOBA *et al.*, 2017; AHMAD *et al.*, 2012).

Wang *et al.* (2015), também, constataram a diminuição da solubilidade em filmes de quitosana com extrato da fruta *Lycium barbarum* (Goji berry). Entretanto, Khoshgozaran *et al.* (2012) obtiveram resultados contrários aos apresentados neste estudo, verificando um aumento na solubilidade dos filmes de quitosana aditivados com óleo de *Aloe vera*. Essa diferença de solubilidade pode ser explicada pelas diferenças nos aditivos, na composição da quitosana e na preparação do filme (KHOSHGOZARAN *et al.*, 2012; OJAGH *et al.*, 2010).

Comumente, pensa-se que os compostos hidrofílicos devem aumentar a solubilidade de um filme enquanto os compostos hidrofóbicos devem diminuir. No entanto, após a incorporação do extrato de hortelã no filme de quitosana, a solubilidade em água da película foi baixa, sugerindo a formação de gel. Essas interações quitosana/extrato são responsáveis pelo gel, podendo diminuir a solubilidade em água. Esses dados indicam que, com o aumento da quantidade de EHH, os grupos hidrofílicos disponíveis para unir-se com a água estavam menos disponíveis, apontando que mais desses grupos hidrofílicos estão envolvidos nas interações com o extrato (WANG *et al.*, 2015).

3.4.3 Permeabilidade ao vapor de água (PVA) e Intumescimento

O intumescimento é relacionado à quantidade de água que um filme seco absorve após um determinado período de tempo. Geralmente, a ocorrência acentuada desta propriedade proporciona redução na qualidade de propriedades mecânicas (MU *et al.*, 2012). Filmes com caráter hidrofílico tendem a apresentar altas taxas de absorção de água em condições muito úmidas (NAGARAJAN *et al.*, 2014).

Os experimentos com intumescimento foram conduzidos com filmes de quitosana sem extrato (C) e com filmes de quitosana EH5 e EH10. Todos os filmes com extrato apresentaram maior grau de inchaço ($p < 0,05$) em comparação ao filme controle, indicando sua maior hidrofilicidade (Tabela 7). As propriedades de inchaço são influenciadas pelo conteúdo de EHH nos filmes.

Tabela 7 – Intumescimento e Permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes de quitosana com EH

Filmes	Intumescimento(%)	PVA (g.mm/h.m ² .kPa)
Controle	123,33 ± 11,29 ^c	0,059 ± 0,001 ^b
EH5	184,01 ± 8,53 ^b	0,074 ± 0,010 ^b
EH10	216,48 ± 6,58 ^a	0,113 ± 0,003 ^a

EH5= Quitosana com 5% de extrato; EH10= Quitosana com 10% de extrato. Os valores são apresentados como média e desvio padrão. As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste Duncan ($p < 0,05$).

O valor de intumescimento do controle, mostrado na Tabela 7, foi equivalente ao encontrado por Hajji *et al.* (2016). Os autores estudaram filmes com diferentes concentrações de quitosana e de PVA (polivinil álcool) e constataram que os filmes que possuíam quitosana 100% tinham valores de intumescimento análogos com os apresentados neste estudo. A quitosana sem extrato contribui para reduzir a hidrofiliabilidade dos filmes, visto que ela possui menor teor de grupos hidrofílicos por unidade molecular quando não possui um aditivo (COSTA-JÚNIOR *et al.*, 2009).

Os filmes com EHH tiveram valores maiores de intumescimento em relação ao controle. Esse fato pode ser atribuído às interações intermoleculares entre a matriz de quitosana e os compostos fenólicos do extrato de hortelã-pimenta (MORADI *et al.*, 2012). Essa propriedade é desejável para absorver água da superfície externa dos alimentos que possuam alta umidade (HAJJI *et al.*, 2016).

Kowalczyk e Biendl (2016) compararam quatro tipos de biopolímeros (carboximetil celulose, amido de batata oxidado, proteína de soja isolada e gelatina) com diferentes concentrações de extrato de lúpulo (0,1, 0,25, 0,50%). Os filmes de gel aditivado com extrato obtiveram valores de intumescimento maiores do que o controle. Com o aumento da concentração de extrato, também houve uma elevação do intumescimento do filme biopolimérico.

Outro fator decorrente do aumento do inchaço dos filmes com EHH é a liberação do composto bioativo para o produto embalado. De acordo com Thakhiew *et al.* (2014), valores altos de intumescimento podem prejudicar a liberação do composto, sendo ineficaz como antioxidante ou antimicrobiano.

Outro parâmetro importante é a permeabilidade ao vapor da água (PVA) considerado a propriedade mais importante dos filmes comestíveis devido à sua estreita relação com reações de deterioração (AHMADI *et al.*, 2012). A vida útil dos produtos alimentares está diretamente relacionada à transferência de água entre o produto e o ambiente externo em que eles são apresentados (CRIZEL *et al.*, 2018). O controle da transferência de umidade pode assegurar a estabilidade e segurança do produto durante a distribuição e o armazenamento (ALOUJ *et al.*, 2011). Os resultados da análise de PVA dos filmes estão apresentados na Tabela 7.

Os filmes de quitosana sem EHH apresentaram a menor PVA entre os filmes testados, não apresentando diferença significativa ($p > 0,05$) quando comparados aos filmes EH5. No filme EH10 a PVA aumentou significativamente ($P > 0,05$).

De acordo com Silva *et al.* (2016), os filmes flexíveis são classificados em função dos valores de PVA. Os filmes que apresentam valor de PVA entre 0,4 e 4,2 g.mm/h.m².kPa são considerados ineficazes enquanto os que são considerados com eficácia moderada se enquadram entre 0,004 e 0,4 g.mm/h.m².kPa e entre 4×10^{-4} e 4×10^{-3} g.mm/h.m².kPa são considerados eficazes. Neste trabalho, os filmes de quitosana com as duas concentrações de extratos podem ser classificados com eficácia moderada.

Similarmente ao encontrado neste estudo, Crizel *et al.* (2018) relataram um aumento da PVA quando incorporaram farinha e pó do bagaço de azeitona à matriz de quitosana. O aumento da permeabilidade do vapor de água está relacionado com o aumento da concentração do pó. Esse fato é devido à estrutura irregular da farinha e à sua insolubilidade na matriz, o que pode resultar em pequenas fissuras, que facilitam a transferência de água através do filme. Contudo, os mesmos autores comprovaram que a micropartícula do pó de azeitona não resultou em diferença significativa ($p > 0,05$) em relação ao controle (CRIZEL *et al.*, 2018).

Martins *et al.* (2012) aplicaram α -tocoferol à filmes de quitosana e observaram os valores de PVA aumentados com a elevação da proporção do composto bioativo, entretanto, sem diferença significativa entre os filmes. Os autores alegaram que esse aumento da permeabilidade pode ser atribuído ao efeito da adição de α -tocoferol sobre as forças de coesão da rede de quitosana (BONILLA *et al.*, 2011).

Diferentemente do observado neste estudo, Bitencourt *et al.* (2014) comprovaram que a adição de extrato de cúrcuma provocou diminuição significativa da permeabilidade de vapor de água em filmes à base de gelatina. Porém, não houve diferença entre os filmes com deferente percentual de extrato adicionado.

3.4.4 Cor, opacidade e transmissão de luz UV

As propriedades de cor, opacidade e transmissão de luz UV são muito importantes para a aparência do filme, o que, por sua vez, pode influenciar a aceitação do consumidor pelos produtos embalados (BARBA De LA ROSA *et al.*, 2009; PEREDA, AMICA e MARCOVICH, 2012). A cor e o brilho de uma embalagem estão geralmente, relacionados à imagem do produto. Ela é um importante parâmetro para a caracterização dos filmes, pois está relacionada com a matéria prima utilizada na elaboração dos mesmos, como por exemplo, filmes a base de quitosana apresentam uma tendência à cor amarelada.

A opacidade e transmissão de luz UV desempenham um papel muito importante, uma vez que determinados produtos, principalmente, alimentícios estão suscetíveis à fotodegradação ou fotoxidação (OJAGH *et al.*, 2010). Um filme é transparente quando a luz incidente o atravessa com um mínimo de absorção ou reflexão. Por sua vez um filme opaco, absorve e/ou reflete toda a luz nele incidente. Em alguns produtos a proteção contra a incidência de luz se faz necessária, como no acondicionamento de produtos sensíveis a reações de deterioração catalisada pela luz (CHENG *et al.*, 2015). Filmes que contenham na sua composição ingredientes que absorvam luz no espectro UV (200 a 400nm) ou visível (400 a 800nm), como compostos antioxidantes, são alternativa, a fim de, prevenir essas reações (SILVA-WEISS *et al.*, 2013).

A adição do extrato de hortelã nos filmes à base de quitosana exerceu influência nos parâmetros L*, a* e b* (Tabela 8). Quando correlacionados as diferentes concentrações de extrato, pode-se notar que a adição do EHH acarretou diminuição do parâmetro L* (claro/escuro).

Tabela 8 - Efeito da adição do extrato de hortelã-pimenta na luminosidade (L*), no croma a*, no croma b* e na diferença de cor (ΔE^*) nos filmes à base de quitosana

Filmes	L*	a*	b*	ΔE^*
Controle	90,95 ± 1,38 ^a	-0,37 ± 0,06 ^c	6,37 ± 0,19 ^c	7,24 ± 1,54 ^c
EH5	77,76 ± 3,77 ^b	-0,84 ± 0,17 ^b	24,01 ± 1,03 ^b	28,35 ± 0,52 ^b
EH10	73,21 ± 2,30 ^b	-1,34 ± 0,27 ^a	28,11 ± 1,14 ^a	36,54 ± 2,42 ^a

EH5= Quitosana com 5% de extrato; EH10= Quitosana com 10% de extrato. Os valores são apresentados como média e desvio padrão. As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste Duncan ($p < 0,05$).

Para o parâmetro a^* , a adição de extrato acarretou em valores menores, o que indica uma tendência mais esverdeada dos filmes. A proporção de EHH interferiu na tonalidade da cor verde nos filmes, ou seja, a tonalidade se acentuava com o aumento da concentração de extrato de hortelã (Tabela 8).

Quando avaliado o parâmetro b^* , que representa as variações de cor entre o azul e o amarelo, em todas as concentrações de extrato adicionado se observou que a adição deles colabora para uma coloração mais amarelada dos filmes e que tal tendência também é observada com adição de maiores concentrações nos filmes.

Siripatrawan e Harte (2010), estudando filmes de quitosana com extrato de chá verde, verificaram um decréscimo no valor L^* (de $87,50 \pm 1,43$ a $65,70 \pm 0,97$), similarmente ao observado neste estudo. Os autores observaram uma tendência amarelada (aumento do valor de b^*) para os filmes acrescidos de extrato de chá verde em relação ao filme sem extrato. Entretanto, os filmes com extratos de plantas apresentaram maiores tendências avermelhadas (aumento do valor de a^*). Siripatrawan e Vitchayakitti (2016) obtiveram valores de b^* similares aos encontrados neste estudo.

As diferentes concentrações de extrato nos filmes igualmente influenciaram a diferença de cor (ΔE^*) (Tabela 8), sendo que, para maiores concentrações de extrato, maiores os valores de ΔE^* . A cor original dos filmes biodegradáveis é diretamente influenciada pelo tipo e pela concentração dos compostos adicionados que se ligam estruturalmente às soluções formadoras de filme (MORADI *et al.*, 2012). Mudanças semelhantes em parâmetros de cor foram relatadas depois de incorporar outros aditivos, como o óleo essencial de alecrim (ABDOLLAHI *et al.*, 2012), compostos fenólicos de chás (WANG *et al.*, 2013) e extrato de chá verde em filmes (SIRIPATRAWAN e HARTE, 2010; WANG *et al.*, 2017).

Na análise da opacidade dos filmes de quitosana com EHH, Tabela 9, apresentaram-se valores mais altos quando comparado a outros estudos. De acordo com Santacruz e Castro (2015), o peso molecular da matriz e o tempo de agitação utilizado para a preparação dos filmes pode interferir na opacidade. Outro fator que também pode interferir na opacidade é a diferença entre as fontes de quitosana e o seu método de obtenção (ARANAZ *et al.*, 2009).

No estudo de Khoshgozaran-Abras *et al.* (2012), os filmes de quitosana pura apresentaram-se com valores de L^* menores que os incorporados com Aloe vera, revelando filmes menos transparentes e com uma maior opacidade quando comparados aos biofilmes aditivados. Wang *et al.*, (2017) estudaram filmes de quitosana com extrato de *Lonicera japônica* e atestaram que a opacidade aumentava proporcionalmente à quantidade de extrato adicionado.

Tabela 9 - Interferência na transmissão da luz visível (%T) pela adição do extrato hidroetanólico de hortelã-pimenta (EHH) nos filmes de quitosana

Filmes	Absorção de luz (nm)				Transmissão de luz visível (600nm)	
	400	500	600	700	800	Opacidade (%T)
C	0,159 ± 0,04	0,120±0,03	0,111 ± 0,00	0,100 ± 0,00	0,106 ± 0,00	1,96 ± 0,11 ^b
EH5	0,585 ± 0,01	0,224±0,03	0,168 ± 0,03	0,128 ± 0,03	0,111 ± 0,02	4,2 ± 0,44 ^a
EH10	0,952 ± 0,07	0,321±0,02	0,227 ± 0,01	0,162 ± 0,01	0,133 ± 0,01	4,45 ± 0,34 ^a

EH5= Quitosana com 5% de extrato; EH10= Quitosana com 10% de extrato. Os valores são apresentados como média e desvio padrão. As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste Duncan ($p < 0,05$).

Com relação à transmissão de luz ultravioleta, as amostras exibiram baixa transmissão de luz no comprimento de onda a 280 nm (Tabela 10). Os filmes com EHH apresentaram maior índice de proteção em comparação com o filme controle (sem extrato), sugerindo que os filmes aditivados teriam boa barreira à luz ultravioleta, podendo ser usado como agente antioxidante para alimentos com alto teor de gordura (KANATT *et al* 2012; SOUZA *et al.*, 2017).

Tabela 10 - Interferência na transmissão da luz UV (%T) pela adição do extrato hidroetanólico de hortelã-pimenta (EHH) nos filmes de quitosana

Filmes	Absorção de luz (nm)			Transmissão de luz ultravioleta (280nm)
	350	280	200	UV (%T)
C	0,221 ± 0,01	0,413 ± 0,01	3,06 ± 0,0	7,65 ± 0,01 ^b
EH5	1,222 ± 0,14	1,550 ± 0,18	3,494 ± 0,08	45,59 ± 5,43 ^a
EH10	2,03± 0,3	2,54±0,35	3,61±0,01	49,99±6,89 ^a

EH5= Quitosana com 5% de extrato; EH10= Quitosana com 10% de extrato. Os valores são apresentados como média e desvio padrão. As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste t ($p < 0,05$).

Comportamento semelhante foi observado por Martins, Cerqueira e Vicente (2012), com a incorporação de α -tocoferol em filmes à base de quitosana, e em outros estudos com outras matrizes, tais como o de Norajit, Kim e Ryu (2010), que trabalharam com matriz de alginato incorporada com extrato de ginseng; os de Wu *et al.* (2013), Bitencourt *et al.* (2014) e Li *et al.* (2014) que trabalharam com filmes de gelatina, incorporados com extrato de chá verde, extrato etanólico de cúrcuma e compostos antioxidantes (extrato da semente de uva, polifenóis de uva, extrato de gengibre, extrato da folha de ginkgo e extrato de chá verde), respectivamente.

Os filmes de quitosana adicionados com as duas concentrações de EHH apresentaram coloração mais escura, que o controle, apontando uma capacidade em ajudar a evitar a deterioração oxidativa pela exposição à luz visível e à luz ultravioleta, que poderiam levar a perdas de nutrientes, à descoloração, e alterações no aroma e no sabor dos alimentos embalados.

4. CONCLUSÃO

Filmes de quitosana aditivados com extrato hidroetanólico de hortelã-pimenta (EHH) mostraram-se maleáveis, de fácil manuseio e desprendimento do suporte de secagem. O extrato incorporou compostos fenólicos aos filmes que passaram a exibir ação antioxidante frente ao radical DPPH, entretanto, a adição de 5 e 10% de extrato (EH5 e EH10) exibiram melhor retenção dos compostos bioativos por quantidade de extrato adicionado. Nos filmes (EH5 e EH10) a adição do extrato promoveu melhoria das propriedades mecânicas, principalmente as relacionadas à resistência a tração e resistência ao alongamento, bem como nas propriedades de barreira e ópticas. Sendo assim, os resultados demonstraram a viabilidade da produção de filmes de quitosana aditivados com extrato de hortelã-pimenta a serem aplicados em alimentos, protegendo-os, especialmente, contra as reações de oxidação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOLLAHI, M.; REZAEI, M.; FARZI, G. Improvement of active chitosan film properties with Rosemary essential oil for food packaging. **International Journal of Food Science and Technology**, 47, 847–853, 2012.

ABOOTALIBIAN, M.; KERAMAT, J.; KADIVAR, M.; AHMADI, F.; ABDINIAN, M. Comparison of total phenolic and antioxidant activity of different *Mentha spicata* and *M. longifolia* accessions. **Annals of Agricultural Science**, v. 61, p. 175–179, 2016.

AHMADI, R.; KALBASI-ASHTARI, A.; OROMIEHIE, A.; YARMAND, M-S.; JAHANDIDEH, F. Development and characterization of a novel biodegradable edible film obtained from psyllium seed (*Plantago ovata* Forsk). **Journal of Food Engineering**, v. 109, p. 745–751, 2012.

ALOUI, H. et al. Effect of glycerol and coating weight on functional properties of biopolymer-coated paper. **Carbohydrate Polymers**, v.86, p.1063-1072, 2011.

ARANAZ, I.; ACOSTA, N.; HERAS, A. Encapsulation of an Agrobacterium radiobacter extract containing d-hydantoinase and d-carbamoylase activities into alginate–chitosan polyelectrolyte complexes Preparation of the biocatalyst. AZEREDO, H., M., C. Nanocomposites for food packaging applications. **Food Research International**, v. 42, p. 1240-1253, 2009.

BABBAR, N.; OBEROI, H. S.; UPPAL, D. S.; PATIL, R. T. Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 391-396, 2011.

BALLESTER-COSTA, C.; SENDRA, E.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; VIUDAMARTOS, M. Evaluation of the antibacterial and antioxidant activities of chitosan edible films incorporated with organic essential oils obtained from four *Thymus* species. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 8, p. 3374–3379, 2016.

BALTI, R.; MANSOUR, M., B.; SAYARI, N.; YACOUBI, L.; RABAQUI, L.; BRODUG, N.; MASSÉ, A. Development and characterization of bioactive edible films from spider crab (*Maja crispata*) chitosan incorporated with *Spirulina* extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 1464–1472, 2017.

BARBA DE LA ROSA, A. P. *et al.* Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: Phenolic acids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality. **Journal of Cereal Science**, v. 49, n. 1, p. 117-121, 2009.

BENABDALLAH, A.; RAHMOUNE, C.; BOUMENDJEL, M.; AISSI, O.; MESSAOUD, C. Total phenolic content and antioxidant activity of six wild *Mentha* species (Lamiaceae) from northeast of Algeria. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 9, p. 760–766, 2016.

BITENCOURT, R. G.; POSSAS, A. M. M.; CAMILLOTO, G. P.; CRUZ, R. S.; OTONI, C. G. Antimicrobial and aromatic edible coating on fresh-cut pineapple preservation, **Ciência Rural**, v. 44, n.6. p. 1119-1125, 2014.

BITENCOURT, C.M.; FÁVARO-TRINDADE, C.S.; SOBRAL, P.J.A.; CARVALHO, R.A. Gelatin-based films additivated with curcuma ethanol extract: Antioxidant activity and physical properties of films. **Food Hydrocolloids**, v. 40, p. 145-152, 2014.

BITENCOURT, C.C.M. **Papel cartão revestido com filmes de gelatina e quitosana aditivados com Extrato etanólico de própolis e cúrcuma para embalagem de alimentos**. Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos), Universidade de São Paulo, 145p, 2016.

BLOIS, M. S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. **Nature**, v.181, p.1199–1200, 1958.

BODINI, R.B.; SOBRAL, P.J.A.; FAVARO-TRINDADE, C.S.; CARVALHO, R.A. BONILLA, J.; ATARÉS, L.; VARGAS, M.; CHIRALT, A. Edible films and coatings to prevent the detrimental effect of oxygen on food quality: Possibilities and limitations. **Journal of Food Engineering**, v. 110, p. 208–213, 2012.

BOURBON, A. I., PINHEIRO, A. C., CERQUEIRA, M. A., ROCHA, C. M. R., AVIDES, M. C., QUINTAS, M. A. C., VICENTE, A. A. Physical-chemical characterization of chitosan-based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. **Journal of Food Engineering**, v. 106, p. 111–118, 2011.

BRAHMI, F.; HAUCHARD, D.; GUENDOUZE, N.; MADANI K., M.; KIENDREBEOGO, L. Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian Mentha species: M. spicata (L.), M. pulegium (L.) and M. rotundifolia (L.) Huds (Lamiaceae). **Ind Crops Prod**, v. 74, p. 722-730. 2015.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie / LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n.1, p. 25-30, 1995.

CAI, L.; CAO, A.; LI, T.; WU, X.; XU, Y.; LI, J. Effect of the Fumigating with Essential Oils on the Microbiological Characteristics and Quality Changes of Refrigerated Turbot (*Scophthalmus maximus*) Fillets, **Food and Bioprocess Technology**, 2015.

CALO, J., R.; et al. Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. **Food Control**, v. 54, p. 111-119. 2015.

CAMO, J. et al. Display life of beef packaged with an antioxidant active film as a function of the concentration of oregano extract. **Meat Science**, v. 88, n. 1, p. 174-178, 2011.

CAO, N.; FU, YUHUA.; HE, JUNHUI. Mechanical properties of gelatin films cross-linked, respectively, by ferulic acid and tannin acid. **Food Hydrocolloids** v.21, p. 575–584, 2007.

CASARIEGO, A.; SOUZA, B.W.S.; CERQUEIRA, M.A.; TEIXEIRA, J.A.; CRUZ, L.; DÍAZ, R.; VICENTE, A.A. Chitosan/clay films' properties as affected by biopolymer and clay micro/nanoparticles' concentrations. **Food Hydrocolloids**, v.23, p. 1895-1902, 2009.

CHOUDHURY, R. P.; KUMAR, A.; GARG, A. N. Analysis of Indian mint (*Mentha spicata*) for essential, trace and toxic elements and its antioxidant behavior. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, n. 3, p. 825-832, 2006.

CHUMARELLI, M; HUBINGER, M.D. Evaluation of edible films and coatings formulated with cassava starch, glucerol, carnauba wax and stearic acid. **Food Hydrocolloids**, v.38, p. 20-27, 2014.

COSTA-JÚNIOR, E., S.; BARBOSA-STANCIOLI, E., F.; MANSUR, A., A., P.; VASCONCELOS, W., L.; MANSUR, H., S. Preparation and characterization of chemically crosslinked chitosan / poly (vinyl alcohol) blends for biomedical applications. **Carbohydr Polym**, p. 76, p. 472-481, 2009.

CRIZEL, T., M.; RIOS, A., O.; ALVES, V., D.; BANDARRA, N.; MARTINS, M., M.; FLÔRES, S., H. Active food packaging prepared with chitosan and olive pomace. **Food Hydrocolloids**, v. 74, p. 139-150, 2018.

CRUZ-ROMERO, M. C., MURPHY, T., MORRIS, M., CUMMINS, E., KERRY, J. P. Antimicrobial activity of chitosan, organic acids and nano-sized solubilisates for potential use in smart antimicrobially-active packaging for potential food applications. **Food Control**, v. 34, n. 2, p. 393-397, 2013.

DICK, M.; COSTA, T. M. H. C.; GOMAA, A.; SUBIRADE, M.; RIOS, A. O.; FLÔRES, S. H. Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glycerol concentration on its physicochemical and mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 130, p. 198-205, 2015.

DONSI, F.; et al. Design of nanoemulsion-based delivery systems of natural antimicrobials: effect of the emulsifier. **Journal of Biotechnology**, v. 159, p. 342- 350, 2012.

DORMAN, H., J., D., et al. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 16, p. 4563-4569, 2003.

DORMAN, H., J., D., et al. Phenolic profile and antioxidant evaluation of *Mentha piperita* L (peppermint) extracts. **Natural Product Communications**, v. 4, n. 4, p. 535-542, 2009.

DUNCAN, T., V. Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 363, p. 1-24, 2011.

EBRAHIMZADEH, M., A.; NABAVI, S., F.; NABAVI, S., M.; Eslami, B. Antioxidant and antihemolytic activities of *Mentha piperita*. **Pharmacologyonline**, v. 1, p. 744-752, 2010.

ENAYAT, S.; BANERJEE, S. Comparative antioxidant activity of extracts from leaves, bark and catkins of *Salix aegyptiaca* sp. **Food Chemistry**, v. 116, p. 23–28, 2009.

FALGUERA, V., QUINTERO, J. P., JIMÉNEZ, A., MUÑOZ, J. A., & IBARZ, A. Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, n. 6, p. 292-303, 2011

FANG, Y.; TUNG, M. A.; BRITT, I. J.; YADA, S.; DALGLEISH, D. G. Tensile and barrier properties of edible films made from whey proteins. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 1, p. 188-193, 2002.

FARNAD, N.; HEIDARI, R.; ASIANPOUR, B. Phenolic composition and comparison of antioxidant activity of alcoholic extracts of Peppermint (*Mentha piperita* L.). **Journal of Measurement and Characteristics** v.8 , n. 2, p. 113-121, 2014.

FERREIRA, A., S.; NUNES, C.; CASTRO, A.; FERREIRA, P.; COIMBRA, M., A. Influence of grape pomace extract incorporation on chitosan films properties. **Carbohydrate Polymers**, v.113, p. 490–49, 2014.

GENNADIOS, A.; BRANDENBURG, A.H.; WELLER, C.I.; TESTIN, R.F. Effect of pH on wheat gluten and soy protein isolate films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, p.1835-1839, 1993.

GHELEJLU, S.B.; ESMAILI, M.; Almasi, H. Characterization of chitosan nanoclay bionanocomposite active films containing milk thistle extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 86, p. 613-621, 2016.

HAFSA, J.; et al. Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan films containing *Eucalyptus globulus* essential oil. **LWT – Food Science and technology**, v. 68,p. 335-443, 2016.

HAIJI, S.; CHAKER, A.; JRIDI, M.; MAALEJ, H.; JELLOULI, K.; BOUFI, S.; NASRI, M. Structural analysis, and antioxidant and antibacterial properties of chitosan-poly (vinyl alcohol) biodegradable films. **Environ Sci Pollut Res**, v. 23, p. 15310–15320, 2016.

HAJJI, S.; CHAKER. A.; JRIDI, M.; MAALEJ, H.; JELLOULI, K.; BOUFI, S.; NASRI M. Structural analysis, and antioxidant and antibacterial properties of chitosan-poly (vinyl alcohol) biodegradable films. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n.15, p. 15310–15320, 2016.

JAVIERA, F.; RUBILAR A, C.; RUI, M. S.; CRUZ, B. C.; HÉLDER, D.; SILVA, D.; ANTÓNIO, A.; VICENTE, D.; KHMELINSKII, A. C.; MARGARIDA, C. Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract Vieira. **Journal of Food Engineering**, v. 115, p. 466–474, 2013.

JOUKI, M.; YAZDI, F., T.; MORTAZAVI, S., A.; KOOCHKEKI, A.; KHAZAEI, Z. Effect of quince seed mucilage edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension of refrigerated rainbow trout fillets, **International Journal of Food microbiology**, v. 174, p. 88–97, 2014.

KALAYCIOĞLU, Z; TORLAK, E; AKIN-EVINGÜR, G; İLHAN, F; ÖZEN, B. Antimicrobial and psysical properties of chitosan films incorporated with safflower extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 101, p. 882-888, 2017.

KANATT, S., R.; CHANDER, R.; SHARMA, A. Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products. **Food Chemistry**, v. 107, p. 845–852, 2008.

KANATT, S., R.; RAO, M., S.; CHAWLA, S., P.; SHARMA, A. Active chitosan–polyvinyl alcohol films with natural extracts. **Food Hydrocolloids**, v. 29, p. 290-297, 2012.

KANMANI, P.; RHIM, J. W. Development and chacterization of carrageenanqgrapefruit seed extract composite films for active packging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 68, p. 258-266, 2014.

KLINE, R., M.; KLINE, J., J.; DI PALMA, J.; BARBERO, G., J.; Entericcoated, pH dependent peppermint oil capsules for the treatment of irritable bowel syndrome in children. **J. Pediatr.** v. 138, p. 125–128, 2005.

KOWALCZYK, D.; BIENDLS, M. Physicochemical and antioxidant properties of biopolymer/candelilla wax emulsion films containing hop extract – A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 60, p. 384-392, 2016.

LECETA, I., GUERRERO, P., & DE LA CABA, K. Functional properties of chitosan based films. **Carbohydrate Polymers**, v. 93, p. 339-346, 2013.

LI, J., H. et al. Preparation and chacacterization of active gelatina-based films incorporated with natural antioxidants. **Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 166-173, 2014.

LIU, X.; JIA, Y.; HU, Y.; XIA, X.; LI, Y.; ZHOU, J.; LIU, Y. Effect of Citrus wilsonii Tanaka extract combined with alginate-calcium coating on quality maintenance of white shrimps (*Litopenaeus vannamei* Boone). **Food Control**, v. 68, p.83-91, 2016.

LÓPEZ-RUBIO, A. et al. Overview of Active Polymer Based Packing Technologies for Food Application. **Food Reviews International**, v. 20, p. 357-387, 2004.

MA, Q.; ZHANG, Y.; CRITZER, F.; DAVIDSON, P., M.; ZIVANOVIC, S.; ZHONG, Q. Physical, mechanical, and antimicrobial properties of chitosan films with microemulsions of cinnamon bark oil and soybean oil. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 533-542, 2016.

MA, W., TANG, C. H., YANG, X. Q., & YIN, S. W. Fabrication and characterization of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein isolate–chitosan composite films at acidic pH. **Food Hydrocolloids**, v. 31, n. 2, p. 237-247, 2013.

MAHMOUD, R; SAVELLO, P.A. Mechanical properties of water vapor transferability through whey protein films. **Journal of Dairy Science**, v.75, n. 4, p. 453-460, 1992.

MARTINS, J. T.; CERQUEIRA, M. A.; VICENTE, A. A.; Influence of α -tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 1, p. 220–227, 2012.

MARTINS, J., T.; CERQUEIRA, M., A.; VICENTE, A., A. Influence of α -tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 1, p. 220–227, 2012.

MCCLEMENTS, D., J.; RAO, J. Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, p. 285-330, 2011.

MORADI, M.; TAJIK, H.; ROHANI, S., M.; OROMIEHIE, A., R.; MALEKINEJAD, H.; ALIAKBARLU, J., HADIAN, M. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract. **LWT-Food Sci Technol**, v. 46, p. 477–484, 2012.

NAGARAJAN, M. *et al.* Film forming ability of gelatins from splendid squid (*Loligo formosana*) skin bleached with hydrogen peroxide. **Food Chemistry**, v. 138, n. 2-3, p. 1101-1108, 2013.

NAKAMURA, T.; SILVA, F., S.; SILVA, D., X.; SOUZA, M., W.; MOYA, H., D. Determination of total antioxidant activity and total content of polyphenols in samples of tea leaves marketed in bags. **ABCS Health Sci**, v. 38, n. 1, p. 8-16, 2013.

NICKAVAR, B.; ALINAGHI, A.; KAMALINEJAD, M. Evaluation of the Antioxidant Properties of Five *Mentha* Species. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 3, p. 203-209, 2008.

NORAJIT, K.; KIM, K. M.; RYU, G. H. Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films

containing ginseng extract. **Journal of Food Engineering**, v. 98, p. 377-384, 2010.

OTONI, C., G; AVENA-BUSTILLOS, R., J.; AZEREDO, H., M., C.; LOREVICE, M., V.; MOURA, M., R.; MATTOSO, L., H., C.; MCHUGH, T., H. Recent Advances on Edible Films Based on Fruits and Vegetables—A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v. 16, 2017.

PARK, S. I., ZHAO, Y. Incorporation of a high concentration of mineral or vitamin into chitosan-based films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 7, p. 1933–1939, 2004.

PASTOR, C., SANCHEZ-GONZALEZ, L., CHAFER, M., CHIRALT, A., & GONZALEZ-MARTÍNEZ, C. Physical and antifungal properties of hydroxypropylmethylcellulose based films containing propolis as affected by moisture content. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 1174-1183, 2010.

PENG, YONG; LI, YUNFEI. Combined effects of two kinds of essential oils on physical, mechanical and structural properties of chitosan films. **Food Hydrocolloids**, v. 36, p. 287-293, 2014.

PEREDA, M.; AMICA, G.; MARCOVICH, N. E. Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, p. 1318-1325, 2012.

PEREDA, M.; AMICA, G.; RACZ, I.; MARCOVICH, N. E. Structure and properties of nanocomposite films based on sodium caseinate and nanocellulose fibers. **Journal of Food Engineering**, v. 103, n. 1, p. 76-83, 2011.

PONTES, S., F., O. **Desenvolvimento de nanoemulsões de óleos essenciais incorporadas em filme de metilcelulose para uso em alimentos**. 2013. 112 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

Properties of gelatin-based films with added ethanol–propolis extract. **LWT - Food Science and Technology**, v. 51, n. 1, p. 104-110, 2013.

QUILAQUEO GUTIÉRREZ, M. *et al.* Carboxymethylcellulose-montmorillonite nanocomposite films activated with murta (*Ugni molinae Turcz*) leaves extract. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, p. 1495-1502, 2012.

RAJINDER, L.; SINGH.; MUFTAH A., M.; BELKHEI S., A. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita*, **Arabian Journal of Chemistry**, v. 8, p. 322–328, 2015.

RASOOLI, I.; GACHKAR, L.; YADEGARINIA, D.; REZAEI, M., B.; ASTANEH, S., D., A. Antibacterial and antioxidant characterization of essential oils from *Mentha piperita* and *Mentha spicata* grown in Iran. **Acta Alimentaria**, v. 37, n. 1, p. 41–52, 2008.

RHIM, J-W.; PARK, H-M.; HA, C-S. Bio-nanocomposites for food packaging applications. **Progress in Polymer Science**, v. 38, p. 1629-1652, 2014.

RUBILAR, J. F., CRUZ, R. M., SILVA, H. D., VICENTE, A. A., KHMELINSKII, I., & VIEIRA, M. C. Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract. **Journal of Food Engineering**, v. 115, n. 4, p. 466-474, 2013.

RUIZ-NAVAJAS, Y.; VIUDA-MARTOS, M.; SENDRA, E.; PEREZ-ALVAREZ, J., A.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. **Food Control**, v. 30, p. 386–392, 2013.

SAMARTH, R., M.; PANWAR, M.; KUMAR, M.; KUMAR, A. Protective effects of *Mentha piperita* Linn on benzo[a]pyrene-induced lung carcinogenicity and mutagenicity in Swiss albino mice. **Mutagenesis**, v. 21, p. 61–66, 2009.

SANTACRUZ, C.; CASTRO, R, M. Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant's hydrophobic tail and mechanical treatment. **Food Hydrocolloids**, v. 49, p. 89-94, 2015.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L. et al. **Embalagens plásticas flexíveis : principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ITAL, 2002.

SEVERINO, R. Antimicrobial effects of modified chitosan based coating containing nanoemulsion of essential oils, modified atmosphere packaging and gamma irradiation against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* on green beans. **Food Control**, v. 50, p. 215-222, 2015.

SILVA, F. Avaliação do teor de óleo essencial de *Baccharis trimera* (Less.) DC. Em diferentes embalagens durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 1, p. 54-58. 2013.

SILVA, F., G. Seasonal variability in the essential oils of wild and cultivated *Baccharis trimera*. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 5, p. 990-997. 2007.

SILVA, M., de F.; LOPES, P., S.; SILVA, C., F.; YOSHIDA, C., M., P. Active packaging material based on buriti oil – *Mauritia flexuosa* L.f. (Arecaceae) incorporated into chitosan films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 10, p.1-9, 2016.

SILVA-WEISS, A. *et al.* Natural Additives in Bioactive Edible Films and Coatings: Functionality and Applications in Foods. **Food Engineering Reviews**, v. 5, n. 4, p. 200-216, 2013.

SIRIPATRAWAN, U.; HARTE, B., R. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 24, n. 8, p. 770-775, 2010.

SIRIPATRAWAN, U.; VITCHAYAKITI, W. Improving the functional properties of chitosan films as active food packaging, incorporating with propolis, **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 695–702, 2016.

SOKOVIC, M., D.; VUKOJEVIC, J.; MARIN, P., D.; BRKIC, D., D.; VAJS, V.; VAN GRIENSVEN, L., J., L., D. Chemical composition of essential oils of Thymus and Mentha species and their antifungal activities. **Molecules**, v. 14, p. 238–249, 2009.

SORRENTINO, A.; GORRASI, G.; VITTORIA, V. Potential perspectives of bionanocomposites for food packaging applications. **Trends in Food Science and Technology**, v. 18, p. 84-95, 2007.

SOUZA, B. W. S., CERQUEIRA, M. A., MARTINS, J. T., CASARIEGO, A., TEIXEIRA, J. A., & VICENTE, A. A. Influence of electric fields on the structure of chitosan edible coatings. **Food Hydrocolloids**, v. 24, n. 4, p. 330-335, 2010.

SOUZA, V., G., L.; FERNANDO, A., L.; PIRESA, J., R., A.; RODRIGUES, P., F.; LOPES, A., A., S.; FERNANDES, F., M., B. Physical properties of chitosan films incorporated with natural antioxidants. **Industrial Crops & Products**, v. 107, p. 565–572, 2017.

TEIXEIRA, B. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 587-595. 2013.

THAKHIEW, W.; DEVAHASTIN, S.; SOPONRONNARIT, S. Combined Effects of Drying Methods, Extract Concentration, and Film Thickness on Efficacy of Antimicrobial Chitosan Films. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 6, 2014.

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

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Structural, morphological and thermal behaviour characterisations of fish gelatin film incorporated with basil and citronella essential oils as affected by surfactants. **Food Hydrocolloids**, v.41, p. 33-43, 2014.

MU, C.*et al.* Characterization and microstructure of films made from mucilage of Salvia hispânica and whey protein concentrate. **Journal of Food Engineering**, v.111, n.3, p.511-518, 2012.

VASCO, C., RUALES, J., KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, p. 816–823, 2008.

WANG, L.; DONG, Y.; MEN, H.; TONG, J.; ZHOU, J. Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols. **Food hydrocolloids**, v. 32, n. 1, p. 35-41, 2013.

WANG, L.; WANG, Q.; TONG, JIN.; ZHOU, J. Physicochemical Properties of Chitosan Films Incorporated with Honeysuckle Flower Extract for Active Food Packaging. **Journal of Food Process Engineerin**, n.40, v.1, p. 1-8, 2017.

WANG, Q.; TIAN, F.; FENG, Z.; FAN, X.; PAN, Z.; JIANG, Z. Antioxidant activity and physicochemical properties of chitosan films incorporated with Lycium barbarum fruit extract for active food packaging. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 50, p. 458–464, 2015.

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidant and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.47, p. 1801-1812, 1999.

WU, J.; CHEN, S.; GE, S. MIAO, J.; LI, J.; ZHANG, Q. Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 32, n. 1, p. 42-51, 2013.

YANG, G.; YUEA, J.; GONG, B.; WANG, H.; DENG, Y.; ZHAO, Y. Blueberry leaf extracts incorporated chitosan coatings for preserving postharvest quality of fresh blueberries. **Postharvest Biology and Technology**, v. 92, p. 42-49, 2014.

YANG, G; YUEA, J; GONG, B; WANG, H; DENG, Y; ZHAO, Y. Blueberry leaf extracts incorporated chitosan coatings for preserving postharvest quality of fresh blueberries. **Postharvest Biology and Technology**, v. 92, p. 42-49, 2014.

YUAN, G.; LV, H.; YANG, B.; CHEN, X.; SUN, H. Physical Properties, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Chitosan Films Containing Carvacrol and Pomegranate Peel Extract. **Molecules**, n. 20, p. 11034-11045, 2015.

ZAMUDIO-FLORES, P., B.; TORRES, A., V.; SALGADO-DELGADO, R.; BELLO-PÉREZ, L., A. Influence of the oxidation and acetylation of banana starch on the mechanical and water barrier properties of modified starch and modified starch/chitosan blend films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 115, p. 991-998, 2010.

Artigo 2

AVALIAÇÃO DE FILMES DE QUITOSANA ADITIVADOS COM EXTRATO DE HORTELÃ-PIMENTA (*Mentha piperita* L.) APLICADOS EM MASSA *BRISÉÉ* (massa de empada).

Anderson Campos Bezerra, Andreлина Maria Pinheiro Santos,
Enayde de Almeida Melo,

RESUMO

Filmes de quitosana incorporados com extrato de hidroetanólico de hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) (EHH) foram analisados em relação à valência em inibir a oxidação lipídica da massa de empada (*Briseé*), armazenada à temperatura de refrigeração ($4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$). Filmes a base de quitosana (1%), aditivados com concentrações de 0,0%; 5,0% e 10% de EHH foram avaliados quanto à concentração de fenólicos totais e ação antioxidante, e aplicados, como embalagens, em massa *Briseé* que foram armazenadas em refrigeração por 10 dias. Os resultados demonstraram que com o aumento da concentração de EHH os filmes apresentaram uma coloração esverdeada mais acentuada, e ação antioxidante frente ao sequestro do radical DPPH (55,05% e 73,23%, respectivamente), porém não exibiram ação inibitória para *S. aureus* e *Escherichia coli*. As massas embaladas com os filmes aditivados, independente da concentração do EHH, apresentaram menores valores de TBARS do que as massas do ensaio controle (filmes sem adição de EHH). Nos biofilmes aditivados houve redução da atividade antioxidante, em torno de 50%, ao fim dos dez dias de armazenamento, indicando migração do composto bioativo para a massa. Desse modo, pode-se constatar que os biofilmes desenvolvidos apresentam forte potencial para aplicação em embalagem para alimentos pois exercem proteção contra a oxidação lipídica.

Palavras-chaves: Filmes de quitosana. Extrato de hortelã-pimenta. Antioxidante. Oxidação lipídica. Massa brissé.

ABSTRACT

Chitosan biofilms incorporated with peppermint hydroethanolic extract (*Mentha piperita* L.) were analyzed for valence in inhibiting the lipid oxidation of the batter mass (Briseé), stored at refrigeration temperature ($4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$). Chitosan based films (1%), added with concentrations of 0.0%; 5.0% and 10% of EHH were evaluated for total phenolic concentration and antioxidant action, and applied as packages, in bulk Briseé that were refrigerated for 10 days. The results showed that with the increase of the concentration of EHH (55.05% and 73.23%, respectively), but did not show an inhibitory action for *S. aureus* and *Escherichia coli*. The masses packed with the films (EHH), showed lower values of TBARS than the control assay masses (films without addition of EHH). In the biofilms added there was a reduction of the antioxidant activity, around 50%, after the ten days of storage, indicating migration of the bioactive compound to the mass. Thus, it can be observed that the biofilms developed have a strong potential for application in food packaging as they exert protection against lipid oxidation.

Keywords: Chitosan biofilms. Mint extract. Antioxidant. Lipid oxidation

1. INTRODUÇÃO

A oxidação lipídica é uma das principais causas da deterioração dos alimentos. Produtos com elevado conteúdo lipídico, especialmente aqueles com alto grau de instauração, são suscetíveis à deterioração. A oxidação dos lipídios nos alimentos resulta no desenvolvimento de sabores anômalos, típicos do ranço, tornando o produto inaceitável para o consumo humano (SIRIPATRAWAN; VITCHAYAKITTI, 2016; JRIDI *et al.*, 2014).

O Brasil ocupa a posição de 2.^o maior produtor mundial de “massas amanteigadas”, com o registro de 1.250 milhões de toneladas produzidas em 2016, o que representou 2,5% de crescimento no mesmo ano. Ainda, o consumo per capita desse produto é de 6,2 kg/ano. (PINTO *et al.*, 2016). A massa *Brissé*, rica em gordura, é largamente utilizada na elaboração de salgados e pode sofrer com a ação da oxidação lipídica (ALBUQUERQUE *et al.*, 2016).

Outros efeitos negativos são a formação de aldeídos tóxicos (GUILLEN; GOICOECHEA, 2008) e a perda da qualidade nutricional devido à degradação de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA). Para reduzir a oxidação lipídica, foram desenvolvidas várias estratégias, como a adição direta de antioxidantes nos alimentos e com tecnologias de embalagens adequadas, como embalagens a vácuo e atmosfera modificada combinadas com materiais de embalagem com boas propriedades de barreira (DICASTILLO *et al.*, 2010). A embalagem de alimentos não é apenas um papel passivo na proteção e na comercialização de um produto alimentar. Novos conceitos de embalagens ativas e inteligentes desempenham um papel cada vez mais importante, oferecendo inúmeras e inovadoras soluções para ampliar a vida útil, manter, melhorar ou monitorar a qualidade e a segurança dos alimentos (AHMED; IKRAM, 2016; GENSKOWSKY *et al.*, 2015).

Os filmes ou revestimentos comestíveis podem fornecer obstáculo à perda de umidade, de oxigênio e de soluto do alimento (BOURTOOM, 2008). Esses filmes possuem potencial para transportar ingredientes ativos, como agentes, corantes, saborizantes, nutritivos, antimicrobianos e antioxidantes que podem prolongar a vida útil do produto ou mesmo aumentar as propriedades sensoriais e o valor nutricional dos alimentos. Outro fato importante é o menor impacto ambiental, pois esses filmes são biodegradáveis, podendo ser

descartados sem onerar o meio ambiente (GANIARI, CHOULITOU DI e OREOPOULOU, 2017).

Com o objetivo de reduzir o uso de aditivos químicos na indústria de alimentos, aumentou-se o interesse no uso de aditivos alimentares naturais com propriedades antimicrobianas e antioxidantes (CRIZEL et al., 2018; KALAYCIOĞLU et al., 2017; KANATT et al., 2012;). Recentemente, pesquisas e desenvolvimentos em embalagens de alimentos ativos se concentraram em materiais funcionais baseados em extratos que incorporam compostos ativos naturais (VAN DEN BROEK et al., 2015; LECETA, GUERRERO; DE LA CABA, 2013;).

A quitosana é um biopolímero funcional com propriedades antimicrobianas e antioxidantes intrínsecas e, conseqüentemente, tem alto potencial para ser usada como uma alternativa de embalagem ativa biodegradável (GUOA et al., 2015; VAN DEN BROEK et al., 2015). Vários pesquisadores realizaram inúmeros estudos sobre a utilização da quitosana incorporada de extratos como alternativa aos agentes antimicrobianos sintéticos e antioxidantes (CRIZEL et al., 2018; GENSKOWSKY et al., 2015; SIRIPATRAWAN, 2016). Os extratos de ervas e as especiarias, ou subprodutos agrícolas, também mostraram propriedades antioxidantes, o que os torna aditivos interessantes em alimentos.

A hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) é considerada uma boa fonte de antioxidantes e de antibacterianos (KANATT et al., 2012; SINGH, SHUSHNI e BELKHEIR., 2015). A hortelã possui uma variedade de compostos químicos, como polifenóis (flavonoides agliconas, ácidos fenólicos e seus ésteres, aldeídos fenólicos, álcoois e cetonas), sesquiterpeno quininas, cumarinas, aminoácidos e compostos inorgânicos (SINGH, SHUSHNI e BELKHEIR., 2015; VIJI et al., 2015).

Com o intuito de contribuir com a diminuição do impacto ambiental e com a preservação da qualidade de massas amanteigadas processadas, este estudo tem por objetivo o desenvolvimento de biofilmes ativos a partir de quitosana, incorporando compostos ativos antioxidantes da hortelã-pimenta para aplicação em massa *Briseé*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Local de desenvolvimento da pesquisa

A pesquisa foi desenvolvida na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), nos laboratórios do Departamento de Ciências Domésticas (Físico-Química, Processamento de Alimentos e Técnica Dietética), no laboratório de microbiologia do Departamento de Tecnologia Rural.

2.2 Materiais

As matérias-primas utilizadas para a preparação dos filmes foram: a hortelã-pimenta (CEAGEPE) para obtenção de extrato; quitosana de peso molecular médio (SIGMA-ALDRICH Chemistry®), para a elaboração dos filmes, além de glicerol (NUCLEAR) e ácido acético glacial (DINÂMICA). Todos os reagentes empregados nas determinações foram de grau analítico. Para a elaboração da massa *Briseé*, foram usadas farinha de trigo branca sem fermento (Boa Sorte®) e a manteiga sem sal (Aviação®).

2.3. Produção da massa *Briseé*

A massa foi produzida no laboratório de Técnica Dietética da UFRPE. O preparo da massa foi realizado de acordo com o método descrito por Chef Profissional (2009), com adaptações, em que todos os ingredientes (Tabela 1) foram misturados de uma só vez, à mão, por dez minutos, até formar uma massa lisa e homogênea. Após 30 minutos de armazenamento, a massa foi aberta com rolo de polipropileno articulado de 25 x 6 cm e guardada em refrigeração ($4^{\circ}\text{C} \pm 2$) para análises.

Tabela 1 - Formulação da massa *Briseé*

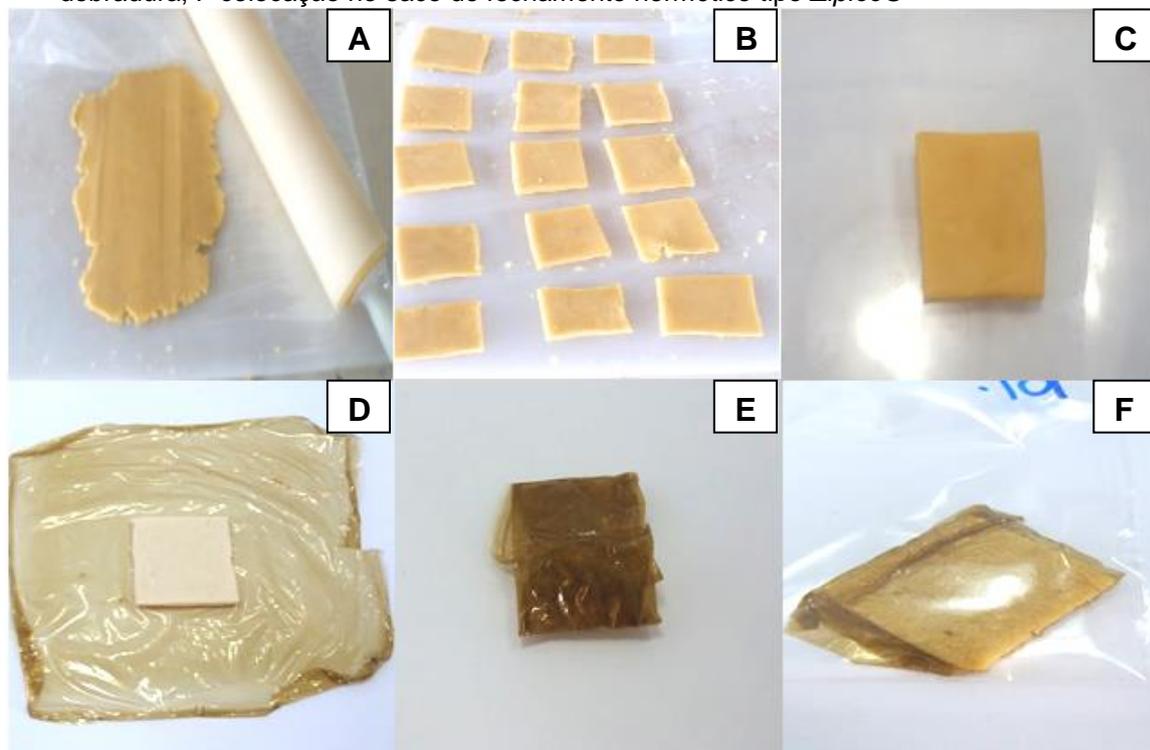
Ingredientes	Massa <i>Briseé</i>	
	(g)	(%)
Farinha de trigo	200	100
Manteiga	132	66

2.4. Aplicação do filme à massa *Briseé*

A massa foi aberta em bancada previamente higienizada (RDC N°216/2014 ANVISA) e cortada em quadrados de 3,5 cm por 3,5 cm, com espessura de 0,5 cm (Figura 1). Os quadrados cortados foram embalados e

etiquetados com informações referentes às concentrações de EHH, à data e à validade.

Figura 1 – Aplicação do filme de quitosana aditivado com extrato de hortelã-pimenta. A abertura da massa, B corte em 3 x 3 cm, C, massa cortada, D embalando a massa, E dobradura, F colocação no saco de fechamento hermético tipo *Ziploc*®



Fonte: Autor, 2018.

2.5 Obtenção do extrato hidroetanólico da folha de hortelã-pimenta

Os maços de hortelã-pimenta foram lavados em água corrente e depois imersos em solução de água clorada (10% v/v) por dez minutos para sanitização. Após a retirada da solução clorada foram lavados em água corrente, em seguida, colocados sobre toalhas de papel para a retirada do excesso de água. Posteriormente, as folhas foram retiradas dos caules, colocadas em sacos de polietileno com fechamento tipo *Ziploc*® e armazenadas em *freezer*.

O extrato hidroetanólico da hortelã-pimenta (EHH) foi obtido segundo a metodologia de Wang *et al.* (2013), com adaptações, em que 40 g das folhas de hortelã foram macerados em almofariz com 40 mL de álcool a 60% até virarem uma pasta. A pasta de folhas de hortelã foi colocada sob agitação em agitador magnético (TECNAL) com mais 60 mL de álcool a 60% por 20 minutos. O extrato, em seguida, foi centrifugado (modelo CT 6000 R,

CIENTEC, Brasil) a uma rotação de 4.000 RPM por dez minutos. O sobrenadante foi filtrado em papel filtro e armazenado em vidro âmbar.

A pasta de folhas resultante da filtração foi diluída em mais 80 mL de álcool a 60% e agitada novamente em agitador magnético (TECNAL) por 20 minutos e, depois, centrifugada. O sobrenadante foi filtrado e adicionado ao sobrenadante inicial e armazenado em *freezer* a uma temperatura de -22°C para posteriores análises e aplicações.

2.6 Elaboração do filme com extrato de hortelã-pimenta

Os filmes foram obtidos pela técnica de *casting*. Quitosana (1g) foi solubilizada em 100 mL de solução aquosa de ácido acético glacial (0,5% v/v). A solução foi agitada em agitador mecânico (Tecnal TE-102, Tecnal, Brasil) por dez minutos, com rotação de 18.000 RPM em temperatura de $27 \pm 3^{\circ}\text{C}$.

Após três minutos, 0,2 mL do plastificante glicerol foram adicionados e nos últimos quatro minutos foram adicionados o EH (v/v_{gel}), de acordo com o volume determinado na Tabela 4. A solução foi disposta em placas acrílicas planas e redondas (placas de petri de 150 x 15 mm), com peso constante de $40 \pm 2\text{g}$, e secas a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ em estufa com circulação e com renovação de ar (modelo MA035, Marconi Brasil) por 24 horas. Após a secagem, os filmes foram retirados das placas e armazenados em dessecador coberto com papel alumínio, contendo sílica gel, para posteriores análises.

Tabela 2 - Formulação dos filmes de quitosana com diferentes concentrações de extrato de hortelã-pimenta

Ensaio	Quitosana (%)	Extrato de hortelã (%)	Plastificante (glicerol) (mL)
C	1	0,0	0,2
EH5	1	5,0	0,2
EH10	1	10,0	0,2

EH5= Quitosana com 5% de extrato; EH10= Quitosana com 10% de extrato.

2.7 Extração dos compostos presentes nos filmes

Seguindo a metodologia descrita por Wang *et al.* (2013), com algumas adaptações, os filmes inteiros foram solubilizados em 25 mL de solução

etanólica (60%) e colocadas em agitação (Agitador magnético – TECNAL) na velocidade de 1.000 RPM durante um minuto. O sobrenadante foi utilizado para determinação dos fenólicos totais e da atividade antioxidante.

2.7.2 Determinação da atividade antioxidante dos filmes

A capacidade antioxidante dos filmes de sequestrar o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil foi avaliada segundo método descrito por Brand-Williams *et al.* (1995), com algumas adaptações. Uma alíquota de 0,5 mL da solução extraída dos filmes, adicionada de 3,5 mL da solução de radical DPPH ($6 \times 10^{-5} \text{ mol/L}^{-1}$), teve sua absorbância registrada a 517 nm, em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC), até atingir o platô. A capacidade antioxidante foi calculada usando a Eq.1:

$$\% \text{ de sequestro} = \frac{\text{Absorbância do controle} - \text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbância do controle}} \times 100$$

(Eq.1)

2.7.3 Determinação de fenólicos totais dos filmes

Os fenólicos totais dos compostos extraídos dos filmes foram mensurados por método espectrofotométrico com espectro de absorção registrado no comprimento de onda de 725 nm em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC), utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (Merck), segundo metodologia descrita por Wettasinghe e Shahidi (1999) e curva padrão de ácido gálico ($10 \text{ a } 120 \mu\text{g/mL}^{-1}$, $R^2 = 0,9997$). Os resultados são expressos em mg de fenólicos totais em equivalente de ácido gálico (EAG)/g⁻¹ do filme. Para a determinação dos fenólicos presentes nos filmes, foi utilizada a Equação 2:

$$T = \frac{C \times V}{M} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde T é o conteúdo total de fenólicos, em miligramas por grama de filme seco; C é a concentração de ácido gálico estabelecida a partir da curva de calibração em miligrama por mililitro; V é o volume de filme do extrato, em

mililitro e M é o peso do filme seco, em grama, conforme descrito por Moradi *et al.* (2012).

2.8 Determinações da atividade antimicrobiana dos filmes aditivados com extrato hidroetanólico de hortelã-pimenta (EHH)

A análise da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar, também conhecido por método *halo* de inibição, foi realizada de acordo com metodologia proposta por JOUKI *et al.*, (2014), contra cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25972) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 1901), para os filmes contendo óleos essenciais. Cepas de *E. coli* e *S. aureus* foram inoculadas em caldo infusão de cérebro e de coração (BHI, Hi Media, Índia) e incubadas a 37°C durante 24 horas. Após esse período, 100 µL das suspensões bacterianas foram transferidos, separadamente, para tubos contendo solução salina esterilizada para diluições seriadas e contagem de unidade formadora de colônias (UFC) mL⁻¹.

A densidade do inóculo foi, então, ajustada para corresponder a um padrão na escala MacFarland 0.5 (aproximadamente 10⁶ UFC mL⁻¹). E outros 100 µL da suspensão foram espalhados na superfície de placas contendo ágar triptona de soja (TSA, Hi Media, Índia) com auxílio de alça de drigalski. Os filmes elaborados com extrato de hortelã-pimenta foram cortados em círculos com 8mm de diâmetro e acomodados na superfície do ágar, incubados a 37°C por 24 horas.

Após tempo de incubação, o diâmetro da zona de inibição em torno dos discos de película com a superfície do ágar foi medido com auxílio de um paquímetro, e a área total, calculada. A área da zona inteira foi calculada por subtração da área do disco do filme, e essa diferença foi relatada como a zona de inibição em mm². Foi observada também a atividade antimicrobiana por inibição de contato, ou seja, mesmo sem a presença de uma zona de inibição clara, se a película inibiu o crescimento microbiano na superfície de contato com o disco de película de ágar.

2.9 Determinação da oxidação lipídica pela determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A estabilidade oxidativa da massa *Briseé* foi determinada obtendo-se o teor de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), como descrito pela metodologia de Vyncke (1970), com adaptações, de acordo com Sorensen e Jongersen (1995). Para a determinação da oxidação lipídica, as amostras foram pesados (5 g) em triplicata, colocados em um béquer e adicionados de 25 mL de ácido tricloroacético a 7,5% (TCA) (SIGMA Aldrich/Vetec) e homogeneizados em agitador magnético (TECNAL) por três minutos. Em seguida, levadas à centrífuga (modelo CT 6000 R, CIENTEC, Brasil) a uma velocidade de 4.000 RPM por dez minutos. O sobrenadante foi filtrado em papel filtro qualitativo (Whatman n.º 1). Em seguida, foram transferidos 4 mL do filtrado de cada amostra para tubos de ensaio com tampa de rosca, em triplicata. Nesses tubos, foram adicionados 5 mL de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) 0,020 M (Merck) e mais 1 mL do TCA e foram homogeneizados em agitador de tubos tipo vórtex (modelo Certomat MV, B, Braun Biotech, Alemanha).

Os tubos foram colocados em banho a 90°C por 40 minutos para ocorrer a reação do ácido tiobarbitúrico com o malonaldeído. Após esse tempo, os tubos foram resfriados em água corrente até alcançar a temperatura ambiente (22 ± 2,0°C). As amostras foram conduzidas para a leitura de absorvância feita em comprimento de onda de 532 nm em espectrofotômetro (modelo UV-1650PC, Shimadzu, Japão), utilizando-se como base uma curva padrão com solução de 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMT) (Sigma-Aldrich) (0,1 a 2,4 nmol/mL, R²= 0,99440). Os resultados da determinação da oxidação lipídica foram expressos em valor de TBARS, definido como mg de malonaldeído (MDA)/kg de amostra úmida, Eq.3:

$$K = \frac{1000g \cdot X}{0,8g} \quad (\text{Eq.3})$$

K é valor de TBARS em mg de malonaldeído (MDA)/kg de amostra úmida; e X é a equação da reta.

2.10 Cinética da ação antioxidante, da oxidação lipídica e atividade microbiana da massa *Briseé*

As massas embaladas com os filmes de quitosana aditivados com 5 e 10% de extrato de hortelã-pimenta foram armazenadas em refrigeração (8°C) por dez dias. A cada dois dias, de acordo com a resolução CNNPA nº 16, de 28 de junho de 1978/ANVISA, ao longo do período de armazenamento, os filmes foram submetidos à determinação da ação antioxidante frente ao radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, segundo método descrito por Brand-Williams *et al.* (1995). A extração dos compostos contidos no filme foi feita conforme descrição no item 2.7.

2.11 Estatística

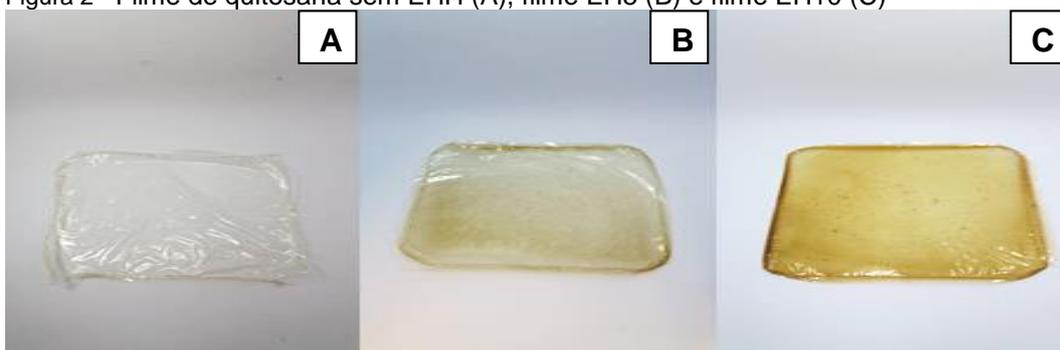
Todas as determinações foram efetuadas em triplicatas e os dados submetidos a análise estatística utilizando o *software* Statistica 5.0. Valores foram expressos em média \pm desvio padrão. O teste t de Student e o teste de Duncan foram aplicados para comparação das médias. Diferenças foram consideradas significativas para $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Características e aspectos visuais dos filmes de quitosana de acordo com o percentual de extrato hidroetanólico incorporado

Todos os filmes produzidos foram retirados das placas com facilidade apresentando fácil manuseabilidade. As imagens dos filmes a base de quitosana (1%) sem extrato e com EHH encontram-se na Figura 2.

Figura 2 - Filme de quitosana sem EHH (A), filme EH5 (B) e filme EH10 (C)



A solução de quitosana aditivada com EHH, após agitação a 18.000 rpm por dez minutos, resultou em uma solução filmogênica homogênea. Moradi *et al.* (2015) estudaram a viabilidade do filme de quitosana enriquecido com óleo essencial de cominho. Eles aplicaram uma velocidade de 1.000 rpm para a completa homogeneização do biopolímero por um tempo de duas horas. Santos *et al.* (2012) estudaram filmes de quitosana com óleo essencial de orégano e determinaram que o tempo para completa homogeneização da solução foi de seis horas a 120 rpm. Comparados aos deste estudo, ambos os trabalhos tiveram tempos de agitação maiores para a obtenção de soluções completamente dissolvidas, em função da velocidade de agitação utilizada no processo (Bonilla *et al.*, 2014).

3.2 Teor de fenólicos totais e atividade antioxidante dos filmes de quitosana com EHH

A atividade antioxidante da hortelã-pimenta é decorrente da presença dos compostos fenólicos e polifenóis, os quais são responsáveis pela eliminação dos radicais livres. Portanto, deve haver uma estreita correlação entre o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante (PAN *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2013). O método da reação colorimétrica Folin-Ciocalteu (F-C) foi utilizado para obter uma estimativa bruta da quantidade de compostos fenólicos totais (TFT) presente nos filmes (BALTI *et al.*, 2017; MORADI *et al.*, 2012). Na Tabela 3 observa-se que o filme sem EHH não apresentou TFT. Enquanto que nos filmes incorporados com EHH, o TFT aumentou com o aumento da concentração de EHH. Siripatrawan e Harte (2010) relataram que o conteúdo de fenólicos totais dos filmes de quitosana com extrato de chá verde foi de 17,5 mg EAG/g para a concentração de 10% (bem maior que o obtido nesta pesquisa). Siripatrawan e Vitchayakitti (2016) encontraram 4,0 mg de EAG/g e 5,0mg de EAG/g para as concentrações de 5 e 10%, respectivamente, em filmes de quitosana com extrato de própolis. Balti *et al.* (2017) incorporaram extrato de Spirulina a filmes de quitosana e obtiveram valores para as concentrações de extrato (5% e 10%) de 10,0 e 15 mg de EAG/g, respectivamente.

Os valores mais baixos encontrados neste estudo podem ser atribuídos à composição química da hortelã-pimenta. Zheng e Wang (2001) estudaram o TFT de várias ervas usadas na medicina e na culinária e encontraram valores medianos de fenólicos na hortelã-pimenta em comparação com outras ervas.

TFTs aproximados ao deste estudo foram relatados por Saberi *et al.* (2017) quando incorporaram extratos de vegetais (mirtilo, casca de banana e folha de macadâmia) a blendas biopoliméricas de amido de ervilha/goma. Os autores acharam valores similares de TFTs, nas concentrações proporcionais, para os filmes com extrato de folha de macadâmia.

Devido às suas propriedades antioxidantes, as películas de quitosana incorporadas com EHH ajudam a inibir a reação da oxidação lipídica que pode ocorrer em vários alimentos.

Tabela 3 - Teor de fenólicos totais e atividade antioxidante dos biofilmes de quitosana produzidos com três concentrações de extrato

Filme	Teor de fenólicos (mg EAG/g de filme)	Sequestro do radical DPPH (%)
C	--	0,75 ± 0,03 ^c
EH5	1,44 ± 0,02 ^b	55,05 ± 2,00 ^b
EH10	2,19 ± 0,02 ^a	73.23 ± 0,68 ^a

EH5= Quitosana com 5% de extrato; EH10= Quitosana com 10% de extrato. Os valores são apresentados como média e desvio padrão. As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste Duncan e teste de "t" student ($p < 0,05$).

As embalagens antioxidantes estão enquadradas entre as principais categorias de embalagens ativas e são muito promissoras para prolongar a vida útil dos produtos alimentares. Neste estudo, foi investigada a capacidade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH dos biofilmes com as concentrações de EHH (Tabela 3). Os filmes produzidos sem adição de extrato (C) não apresentaram propriedade antioxidante relevante, cujo resultado está de acordo com os de Kanatt *et al.* (2012); Siripatrawan e Vitchayakitti, (2016); Siripatrawan e Harte, (2010) e Jridi *et al.* (2014). A atividade antioxidante dos filmes de quitosana EH5 e EH10 foi semelhante a encontrada por Balti *et al.* (2017) para filme de quitosana + extrato de Spirulina, e por Bitencourt *et al.* filme de gelatina + extrato de cúrcuma..

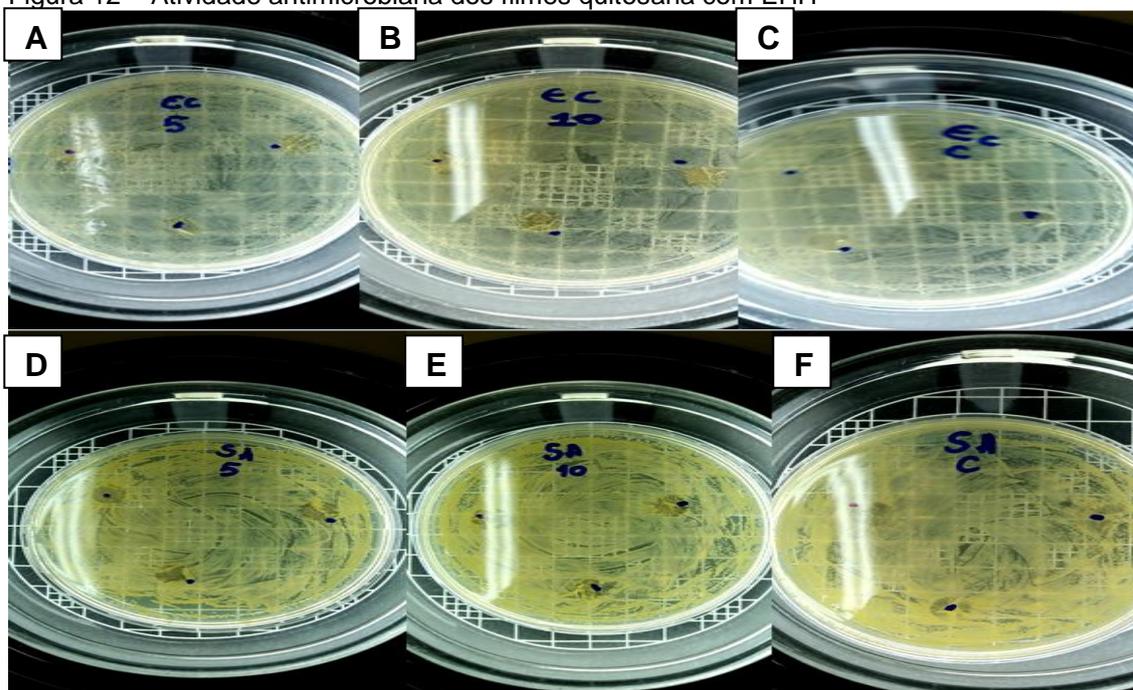
Pode-se observar que o biofilme com maior concentração de EHH (EH10) apresentou maior capacidade de captura do radical DPPH ($73,23 \pm 0,68\%$) (Tabela 3). Inúmeros estudos relatam o aumento da atividade antioxidante proporcional à quantidade de extrato inserido nos filmes (ADILAH *et al.*, 2018; CRIZEL *et al.*, 2018; SIRIPATRAWAN e HARTE, 2010; MORADI *et al.*, 2012).

Kanatt *et al.* (2012) pesquisaram a atividade antioxidante pelo sequestro do radical DPPH em blendas biopoliméricas de quitosana/polivinil aditivadas com extrato liofilizado de hortelã-pimenta e de casca de romã e relataram ação antioxidante de quase 70%.

3.3 Atividade antimicrobiana dos filmes de quitosana aditivados com EHH

Para avaliar a eficácia do filme de aditivado com extrato de hortelã foi realizado análise de inibição identificada pela presença ou ausência do halo de inibição frente aos microrganismos (*S. aureus* e *Escherichia coli*). Os resultados estão apresentados na Figura 3.

Figura 12 – Atividade antimicrobiana dos filmes quitosana com EHH



(A) Filme com 5% de EHH. *E.coli*; (B) Filme com 10%de EHH. *E.coli*; (C) Filme controle. *E.coli*; (D) Filme de 5% de EHH. *S. aureus*; (E) Filme de 10% de EHH. *S. aureus*; (F) Filme controle. *S. aureus*.

Os filmes de quitosana sem extrato não apresentaram ação antimicrobiana (Figura 3). Esse resultado pode está associado ao tipo de

quitosana usada neste experimento, que possuía peso molecular médio e menor grau de desacetilização (DUTTA *et al.*, 2009). Os filmes contendo EHH também não apresentaram atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *Escherichia coli* para as concentrações de extrato adicionadas (Figura 3). Todavia, estudos comprovam que a hortelã-pimenta tem potencial bactericida para as bactérias estudadas. Singh *et al.*, (2015) estudaram a ação antimicrobiana do extrato etéreo de hortelã-pimenta e comprovaram a inibição, pelo método de difusão em ágar, para *S. aureus* e *Escherichia coli*. Viji *et al.*, (2015) verificaram a eficácia do extrato hidroetanólico de hortelã-japonesa (*Mentha arvensis*) para aeróbios mesófilos.

Esses resultados justificam a ação antimicrobiana do extrato de hortelã, sugerindo, que a quantidade de extrato utilizado nos filmes não foi suficiente para acrescentar propriedades antimicrobianas aos filmes aditivados. Bodini *et al.*, (2013) também constataram que as concentrações de extrato de própolis (5 e 10%) em filmes de gelatina não apresentaram atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *Escherichia coli*. Esses autores constataram que a atividade antimicrobiana só ocorreu quando foram incorporados 40% do extrato ao filme de gelatina.

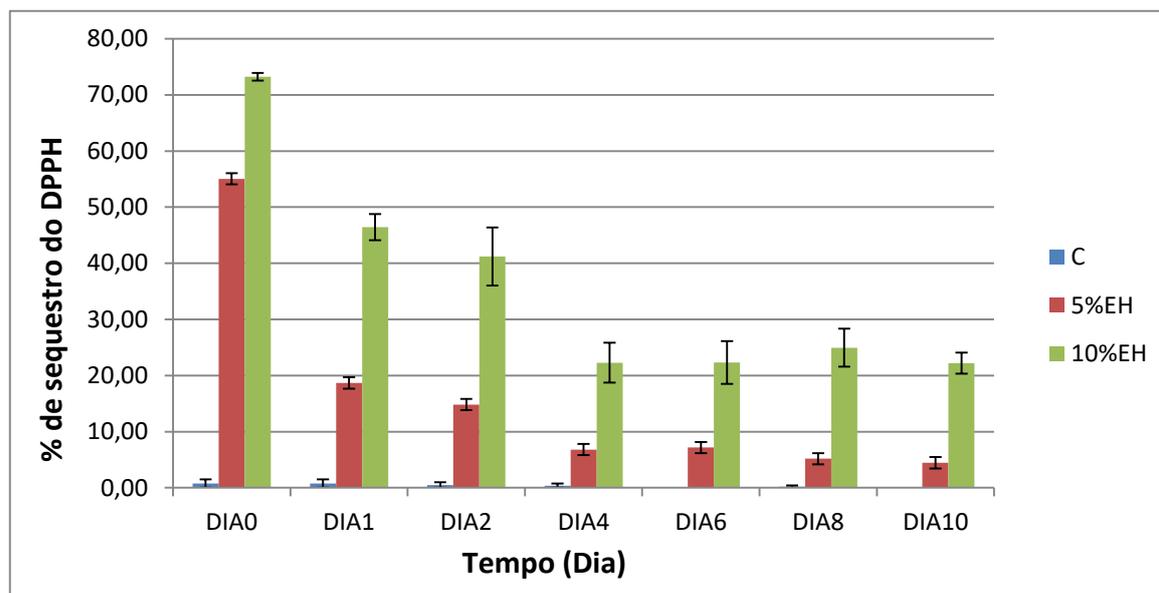
Assim, pelo teste de halo de inibição, não foi possível verificar a ação antimicrobiana dos filmes aditivados com EHH. Sendo necessária a aplicação do estudo de viabilidade celular para confirmar a inibição das bactérias estudadas.

3.4 Cinética da atividade antioxidante

Uma das principais causas de deterioração dos alimentos é a oxidação lipídica (SIRIPATRAWAN e VITCHAYAKITTI, 2016; BABBAR *et al.*, 2011; BREWER, 2011). Por conta disso, cresce o interesse no desenvolvimento de estratégias que previnam os produtos alimentícios dos interferentes externos auxiliando a inocuidade do alimento. Visando a essa inocuidade, as embalagens com propriedades ativas são uma boa alternativa de proteção.

Na avaliação da ação antioxidante de filmes aditivados com EHH aplicados em massa *Briseé* por dez dias evidencia-se um bom comportamento cinético dos filmes (Figura 4).

Figura 4 – Cinética da atividade de sequestro dos radicais livres do extrato contendo compostos bioativos antioxidantes retirados dos filmes à base de quitosana sem EHH (C) e com 5% e 10% de EHH.



A ação antioxidante dos filmes EH10, no dia zero, foi superior a encontrada por Wang *et al.* (2013), o qual os valores estavam próximos de 60% nos filmes de quitosana incorporados com 40% de polifenóis oriundos de vários tipos de chás, entretanto, a estabilização da reação (definição do platô), relatada pelos autores, ocorreu aos 30 minutos, enquanto que neste estudo foi aos cinco minutos, demonstrando que o EHH tem uma ação mais rápida, característica desejável para um antioxidante. Após 10 dias de armazenamento, a atividade de sequestro de radicais livres dos filmes de quitosana/EHH diminuiu em 51% e 50%, nos ensaios EH5 e EH10, respectivamente (Figura 4). Isso provavelmente é consequência da perda de fenólicos totais nos filmes devido à migração desses compostos para massa (CRIZEL *et al.*, 2018).

Crizel *et al.* 2018 aplicaram três concentrações de farinha de azeitona (10%, 20% e 30%) a filmes de quitosana. No ensaio com 10% de farinha de azeitona, obtiveram 14,08% de sequestro do radical DPPH no dia zero. Os filmes de quitosana com EH10 se mostraram com ação antioxidante cinco vezes mais alta, para o mesmo tempo (Figura 4).

A hortelã-pimenta apresenta propriedades antioxidantes promissoras, podendo ser útil quando incorporada aos filmes de quitosana. Os compostos fenólicos presentes no EHH fornecem ação antioxidante, por intermédio dos

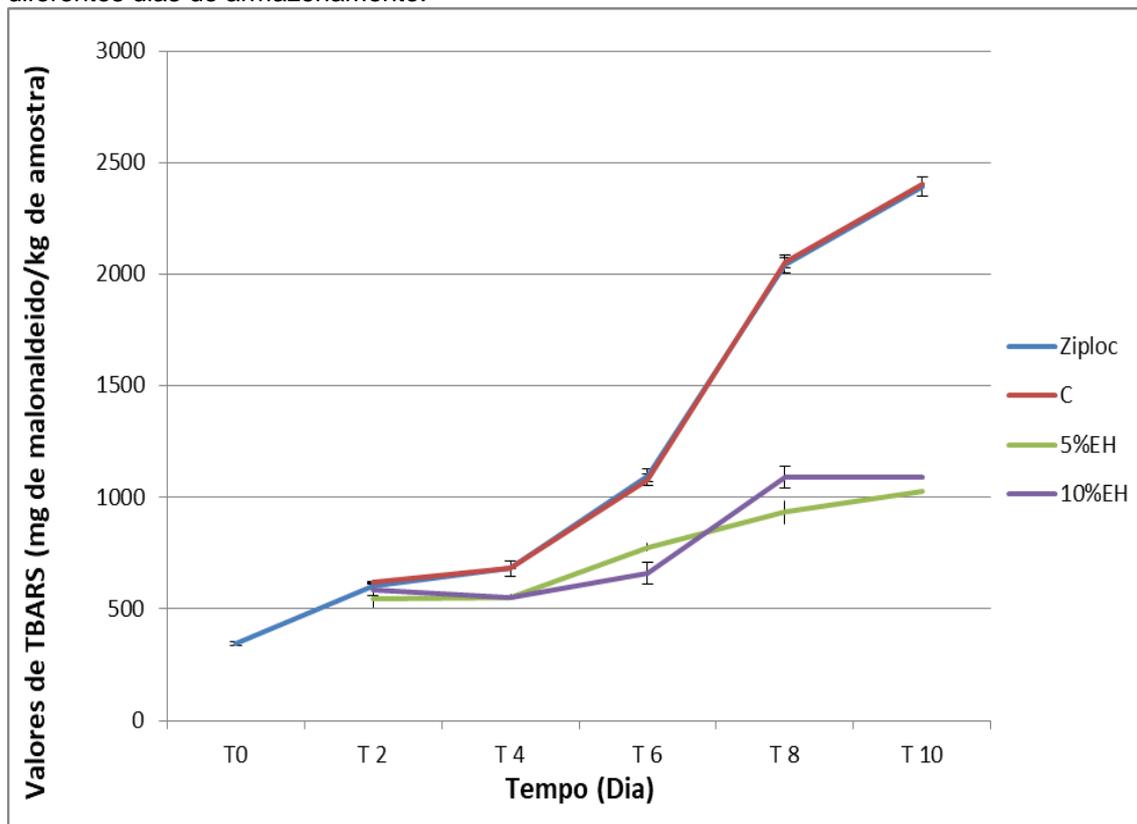
polifenóis, que auxiliam no combate aos radicais livres (JAYABALAN *et al.*, 2008). Assim, os antioxidantes têm um importante papel na preservação dos alimentos, principalmente os ricos em gordura, pois, além de protegerem o produto, agregam valor à sua composição, melhorando e/ou mantendo sua funcionalidade, tornando o produto ainda mais relevante por se tratar de um produto natural (KANATT *et al.*, 2012).

3.5 Cinética da oxidação lipídica pela determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A decomposição dos peróxidos resulta em compostos de natureza muito diversa, entre eles, aldeídos, cetonas, hidroxiácidos, hidrocarbonetos, polímeros, os quais são genericamente denominados produtos secundários. Muitos desses produtos secundários possuem odor e sabor desagradáveis. O ácido 2-tiobarbitúrico tem capacidade de reagir com os produtos de decomposição dos ácidos graxos, resultando em compostos que podem ser medidos por espectrofotometria (ASHRAFI *et al.*, 2018).

Os valores de TBARS encontrados para massa *Briseé* embalada com filme de quitosana aditivado com EH5 e EH10, armazenadas à temperatura de 4°C, por 10 dias, com proteção da luz, são apresentados na Figura 5. Observa-se a influência de quatro formas de embalagens: sacos de polietileno com fechamento tipo *Ziploc*®, filme de quitosana sem extrato (C), filme de quitosana com 5% de EHH e com 10% de EH, sobre os valores de TBARS das amostras durante o armazenamento. As massas com embalagens controle (*Ziploc*® e C) apresentaram os mais elevados valores de TBARS, sem, contudo, diferirem significativamente entre si ($p < 0,05$). Este fato constata que estas embalagens não são eficazes em proteger o produto contra a oxidação lipídica. Em contra partida, nas massas embaladas com filmes de quitosana aditivados com 5% e 10% de EHH evidencia-se que houve inibição da oxidação lipídica de forma significativa, demonstrando eficácia destes filmes em proteger a massa *Briseé* contra a reação de oxidação.

Figura 5 - Resultado na cinética com valores médios de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) da massa *Briseé* embalada com filmes aditivados com EHH em diferentes dias de armazenamento.



A oxidação lipídica é um dos fatores importantes relacionados à qualidade dos alimentos, podendo resultar em sabores anômalos causados pelo ranço. Ademais, os lipídios são facilmente oxidados na presença da luz, do calor e de enzimas (MÉNDEZ-CID *et al.*, 2017; RAMIREZ *et al.*, 2004). A determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) é um método adequado para a quantificação dos produtos secundários da oxidação lipídica (SATHIVEL *et al.*, 2007). O valor TBARS mede a formação de produtos secundários oriundos da oxidação quando reagem com ácido tiobarbitúrico (principalmente malonaldeído-MDA) (DARUGHE *et al.*, 2012). Durante a oxidação lipídica, MDA, um componente menor de ácidos graxos com três ou mais ligações duplas é formado, resultando na degradação dos ácidos graxos polinsaturados. O MDA é provavelmente formado a partir de trienos de peróxidos insaturados (WHEATLEY, 2000).

A literatura é escassa no que se refere à aplicação de filmes de quitosana aditivados, com algum composto bioativo que tenha ação antioxidante, em massas de biscoitos, tortas, pizzas, pães ou empadas.

Entretanto, há relatos de vários estudos de aplicação destes filmes em produtos cárneos (SIRIPATRAWAN; NOIPHA, 2012; SABAGHI *et al.*, 2015), pescados (GÓMEZ-ESTACA *et al.*, 2007), carneiro (CAMO *et al.*, 2008), castanhas (NERÍN *et al.*, 2006) e carne bovina (VITAL *et al.*, 2016; CAMO *et al.*, 2011; OUSSALAH *et al.*, 2004). Aplicação de revestimento de quitosana aditivado com extrato de chá verde microencapsulado em empanadas de hambúrgueres foi reportado por Özvural *et al.* (2016). As empanadas, imersas na solução biopolimérica aditivada e mantidas em ambiente refrigerado por 8 dias apresentaram menor valor de TBARS em comparação com o controle (revestimento de quitosana sem extrato).

Alguns estudos, no entanto, reportam a inibição da oxidação lipídica em massas ricas em gorduras que incorporaram extrato natural (antioxidante) ao produto, como ingrediente. Bialek *et al.* (2016) estudando a progressão oxidativa em massa de *cookies* aditivada com extrato de *chocoberry* (*Aronia melanocarpa*), por um período de 18 semanas, verificaram aumento nos valores de mg MDA/kg⁻¹ da massa, sem, contudo, superar o do *cookie* sem o extrato (controle). Darughe *et al.* (2012) avaliaram, por um período de 60 dias, a ação antioxidante do óleo essencial do coentro aplicado em bolos, e constataram que os bolos com concentrações de 0,05, 0,10 e 0,15% de óleo essencial tiveram um retardo na oxidação lipídica quando comparados com o controle (com adição de BHT). Izzreen e Noriham (2011), também, comprovaram a eficácia da adição do extrato de folhas oriundas da Malásia em bolos no controle da oxidação lipídica, tendo em vista a diminuição dos valores de MDA/kg ao longo de 15 dias.

Esses três trabalhos acima citados mostraram valores de TBA (até 60 mg MDA/kg⁻¹), no tempo zero, muito inferiores aos obtidos neste estudo, cujo valor de TBARS no início do armazenamento foi de 346,05 mg de malonaldeído kg⁻¹ (tempo zero), valor muito acima do estabelecido como nível máximo de aceitação da oxidação lipídica (57,6 mg MDA/kg⁻¹) (IZZREEN e NORIHAM, 2011). Contudo, esse valor não condiz com as características sensoriais aparentes das massas que se mostraram sem alteração. Entretanto, valores muito altos podem ser decorrentes de interferentes, pois outras substâncias podem reagir com o TBA, promovendo aumento da absorvância, e superestimação dos valores (SHAHIDI e ZHONG., 2005). Assim, Levando em

consideração o exposto, é fundamental um estudo mais aprofundado para investigar com maior precisão a existência de interferentes nos ensaios.

4. CONCLUSÃO

Os filmes de quitosana com extrato de hortelã-pimenta mostraram-se de coloração esverdeadas e com propriedade antioxidante proporcional ao volume de extrato incorporado (55,05% e 73,23%, filmes com 5% e 10% EHH, respectivamente), porém não exibiram ação antimicrobiana para as bactérias *S. aureus* e *Escherichia coli*. Aplicados à massa *Briseé*, os filmes de quitosana aditivados com EHH, independente da concentração do extrato, demonstraram eficácia em inibir a oxidação lipídica do produto por 10 dias. Desse modo, os biofilmes desenvolvidos apresentam forte potencial de aplicação em embalagem para alimentos por exercer proteção contra a oxidação lipídica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADILAH, Z.A. M.; JAMILAH, B.; NUR HANANI, Z.A. Functional and antioxidant properties of protein-based films incorporated with mango kernel extract for active packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 74, p. 207-218, 2018.

AHMAD, M.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; AGUSTINI, T., W. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. **Food Hydrocolloids**, v. 28, n. 1, p. 189–199, 2012.

AHMED, S.; IKRAM, S. Chitosan and gelatin based biodegradable packaging films with UV-light protection. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**. V. 163, p. 115–124, 2016.

ALBUQUERQUE, T. G.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; SANCHES-SILVA, A.; BENTO, A. C.; COSTA, H. S. The impact of cooking methods on the nutritional quality and safety of chicken breaded nuggets. **Food & Function**, v. 7, n. 6, p. 2736-2746, 2016.

ALIABADI, S.; MOHAMMADIFAR, S.; HOSSEINI, H.; MOHAMMADI, A.; GHASEMLOU, M.; HOSSEINI, S., M.; HAGHSHENAS, M.; KHAKSAR, R. Caracterização do filme de kappa-carragenano nanobiocomposito com óleo essencial de *Zataria multiflora* e nanoclay. *nt. J. Biol. Macromol*, n. 69, p. 282-289, 2014.

ANVISA. **Agencia Nacional De Vigilância Sanitária**. Resolução da diretoria colegiada- RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Disponível em:< www.anvisa.gov.br/legis> Acessado em: 15 dez. 2017.

ANVISA. **Agencia Nacional De Vigilância Sanitária**. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos - Resolução CNNPA nº 16 , de 28 de junho de 1978 . Disponível em:< www.anvisa.gov.br/legis> Acessado em: 15 dez. 2017.

ASHRAFIA, A.; JOKARB, M.; NAFCHI, A., M. Preparation and characterization of biocomposite film based on chitosan and kombucha tea as active food Packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 444–454, 2018.

BABBAR, N.; OBEROI, H. S.; UPPAL, D. S.; PATIL, R. T. Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 391-396, 2011.

BALTI, R.; MANSOUR, M., B.; SAYARI, N.; YACOUBI, L.; RABAQUI, L.; BRODUG, N.; MASSÉ, A. Development and characterization of bioactive edible films from spider crab (*Maja crispata*) chitosan incorporated with *Spirulina* extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 1464–1472, 2017.

BIALEK, M.; RUTKOWSKA, J.; BIALEK, A.; ADAMSKA, A. Oxidative Stability of Lipid Fraction of Cookies Enriched with Chokeberry Polyphenols Extract. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, v. 66, n. 2, p. 77–84, 2016.

BITENCOURT, C.M.; FÁVARO-TRINDADE, C.S.; SOBRAL, P.J.A.; CARVALHO, R.A. Gelatin-based films additivated with curcuma ethanol extract: Antioxidant activity and physical properties of films. *Food Hydrocolloids*, v. 40, p. 145-152, 2014.

BODINI, R. B. *et al.* Properties of gelatin-based films with added ethanol-propolis extract. *Food science and technology*, v. 51, n. 1, p. 104-110, 2013.

BONILLA, J.; FORTUNATI, E.; ATARÉS, L.; CHIRALT, A.; KENNY, C. J.M. Physical, structural and antimicrobial properties of poly vinyl alcohol–chitosan biodegradable films. *Food Hydrocolloids*, v.35, p. 463-470, 2014.

BOURTOOM, T. Films and edible coatings: characteristics and properties. *International Food Research Journal*. v. 15, p. 237-248, 2008.

BREWER, M. S. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v.10, p. 221-247, 2011.

C. LÓPEZ DE DICASTILLO, J.M. ALONSO, R. CATALÁ, R. GAVARA, P. HERNÁNDEZ-MUÑOZ. Improving the antioxidant protection of packaged food by incorporating natural flavonoids into ethylene-vinyl alcohol copolymer (EVOH) films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 58, p. 10958-10964, 2010.

CAMO, J.; BELTRÁN, J.A.; RONCALÉS, P. Extension of the display life of lamb with an antioxidant active packaging. *Meat Science*, v.80, p. 1086-1091, 2008.

CAMO, J.; LORÉS, A.; DJENANE, D.; BELTRÁN, J.A.; RONCALÉS, P. Display life of beef packaged with an antioxidant active film as function of the concentration of oregano extract. *Meat Science*, v.88, p. 174-178, 2011.

CERQUEIRA, M., A.; SOUZA, B., W.; TEIXEIRA, J, A.; & VICENTE, A. A. Effect of glycerol and corn oil on physicochemical properties of polysaccharide films – A comparative study. *Food Hydrocolloids*, v. 27, n. 1, p. 175-184, 2012.

CONTINI, C.; KATSIKOIANNI, M.; O'NEILL, F.T.; O'SULLIVAN, M.; DOWLING, D.P.; MONAHAN, F.J. Development of active packaging containing natural antioxidants. *Procedia Food Science*, v.1, p. 224-228, 2011.

CRIZEL, T., M.; RIOS, A., O.; ALVES, V., D.; BANDARRA, N.; MARTINS, M., M.; FLÓRES, S., H. Active food packaging prepared with chitosan and olive pomace. *Food Hydrocolloids*, v. 74, p. 139-150, 2018.

DARUGHE, F.; BARZEGAR, M.; SAHARI, M., A. Antioxidant and antifungal activity of Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil in cake. **International Food Research Journal**, v. 19, n. 3, p. 1253-1260, 2012.

DUTTAA, P.K.; TRIPATHIA, SHIPRA.; MEHROTRAA, G.K.; DUTTAB, JOYDEEP. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1173-1182, 2009.

GANIARI, S.; CHOULITOU, E.; OREOPOULOU, V. Edible and active films and coatings as carriers of natural antioxidants for lipid food. **Trends in Food Science and Technology**, v. 68, p. 70-82, 2017.

GENSKOWSKY, E.; PUENTA, L., A.; PEREZ-ÁLVAREZ, J., A.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; MUÑOZ, L., A.; VIUDA-MARTOS, M. Assessment of antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with maqui berry (*Aristotelia chilensis*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, p. 1057-1062, 2015.

GENSKOWSKY, E.; PUENTE, L.A.; PEREZ- ALVAREZ, J.A.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; MUNOZ, L.A.; VIUDA-MARTOS, M. Assessment of antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with maqui berry (*Aristotelia chilensis*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, p. 1057-1062. 2015.

GOMEZ-ESTACA, J.; MONTERO, P.; GIMÉNEZ, B.; GÓMEZ-GUILLE, M.C. Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). **Food Chemistry**, n.105, p. 511-520, 2007.

GUILLEN, M., D.; GOICOECHEA, E. Formation of oxygenated α , β -unsaturated aldehydes and other toxic compounds in sunflower oil oxidation at room temperature in closed receptacles. **Food Chemistry**, v. 111, p. 157-164, 2008.

GUOA, M.; MAA, Y.; WANGA, C.; LIUB, H.; LI, Q.; FEI, M. Synthesis, antioxidant activity, and biodegradability of a novel recombinant polysaccharide derived from chitosan and lactose. **Carbohydrate Polymers**, v. 118, p. 218-223, 2015.

HOSSEINI, M. H.; RAZAVI, S. H.; MOUSAVI, M.A. Antimicrobial, physical and mechanical properties Of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 33, p. 727-743, 2009.

IZZREEN, I.; NORIHAM, A. Evaluation of the antioxidant potential of some Malaysian herbal aqueous extracts as compared with synthetic antioxidants and ascorbic acid in cakes. **International Food Research Journal** v. 18, p. 583-587, 2011.

JAYABALAN, R.; SUBATHRADEVI, P.; MARIMUTHU, S.; SATHISHKUMAR, M.; SWAMINATHAN, K. Changes in free-radical scavenging ability of

kombucha tea during fermentation. **Food Chemistry**, v.109, n.1, p. 227-234, 2008.

JRIDI, M.; HAJJI, S.; AYED, H. B.; LASSOUED, I.; NASRI, M. Physical, structural, antioxidant and antimicrobial properties of gelatin–chitosan composite edible films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 67, p. 373-379, 2014.

JUNG, D.; LEE, S.; YOON, J.; HONG, K.; KANG, Y.; PARK, S. Inhibition of pork and fish oxidation by a novel plastic film coated with horseradish extract. **LWT-Food Science and Technology**, v.42, p.856-861, 2009.

KALAYCIOĞLU, Z; TORLAK, E; AKIN-EVINGÜR, G; İLHAN, F; ÖZEN, B. Antimicrobial and psysical properties of chitosan films incorporated with safflower extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 101, p. 882-888, 2017.

KALIANA, S.; MACHADO, M., T., C.; Machado, HUBINGER, M., D.; MENEGALI, F., C. Development of Active Films From Pectin and Fruit Extracts: Light Protection, Antioxidant Capacity, and Compounds Stability. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 11, 2015.

KANATT, S., R.; RAO, M., S.; CHAWLA, S., P.; SHARMA, A. Active chitosan–polyvinyl alcohol films with natural extracts. **Food Hydrocolloids**, v. 29, p. 290-297, 2012.

KHOSHGOZARAN-ABRAS, S.; AZIZI, M., H.; HAMIDY, Z.; BAGHERIPOOR-FALLAH, N. Mechanical, physicochemical and color properties of chitosan based coatings as a function of the incorporation of gel of *Aloe vera* . **Carbohydrate Polymers** , v. 87 , p. 2058–2062, 2012.

LECETA, I.; GUERRERO, P.; DE LA CABA, K. Functional properties of chitosan based films. **Carbohydrate Polymers**. v. 93, p. 339-346, 2013.

LÓPEZ DE DICASTILLO, C.; GÓMEZ-ESTACA, J.; CATALÁ, R.; GAVARA, R.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P. Active antioxidant packaging films: Development and effect on lipid stability of brined sardines. **Food Chemistry**, v. 131, p. 1376-1384, 2012.

MA, Q.; ZHANG, Y.; CRITZER, F. P.; DAVIDSON, M.; ZIVANOVIC, S.; ZHONG, Q. Physical, mechanical, and antimicrobial properties of chitosan films with microemulsions of cinnamon bark oil and soybean oil. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 533-542, 2016.

MA, Q.; ZHANG, Y.; CRITZER, F.; DAVIDSON, P., M.; ZIVANOVIC, S.; ZHONG, Q. Physical, mechanical, and antimicrobial properties of chitosan films with microemulsions of cinnamon bark oil and soybean oil. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 533-542, 2016.

MACHADO, B. A. S.; REIS, J. H. O.; SILVA, J. B.; CRUZ, L. S.; NUNES, I. L.; PEREIRA, F. V.; DRUZIAN, J. I. Obtenção de nanocelulose da fibra de coco verde e incorporação em filmes biodegradáveis de amido plastificados com glicerol. **Quimica Nova**, v. 37, n. 8, p. 1275-1282, 2014.

MÉNDEZ-CID, F.J.; LORENZO, J.M.; MARTÍNEZ, S.; CARBALLO, J. Oxidation of edible animal fats. Comparison of the performance of different quantification methods and of a proposed new semi-objective colour scale-based method. **Food Chemistry**, v. 217, p. 743-749, 2017.

MORADI, M.; TAJIK, H.; ROHANI, S. M. R.; MAHMOUDIAN, A. Antioxidant and antimicrobial effects of zein edible film impregnated with *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and monolaurin. **LWT - Food Science and Technology**, v. 72, p.37-43, 2016.

MORADI, M.; TAJIK, H.; ROHANI, S., M.; OROMIEHIE, A., R.; MALEKINEJAD, H.; ALIAKBARLU, J., HADIAN, M. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract. **LWT-Food Sci Technol**, v. 46, p.477–484, 2012.

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

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

OUSSALAH, M.; CAILLET, S.P.; SALMIEÄRI, S. P.; SAUCIER, L.; LACROIX, M. Antimicrobial and Antioxidant Effects of Milk Protein-Based Film Containing Essential Oils for the Preservation of Whole Beef Muscle. **Journal Agric. Food Chemistry**, v. 52, p. 5598–5605, 2004.

ÖZVURAL, E.B.; HUANG, Q.; CHIKINDAS, M.L. The comparison of quality and microbiological characteristic of hamburger patties enriched with green tea extract using three techniques: Direct addition, edible coating and encapsulation. **LWT - Food Science and Technology**, v.68, p. 385-390, 2016.

PAN, Y.; WANG, K.; HUANG, S.; WANG, H.; MU, X.; HE, C.; et al. Antioxidant activity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan* Lour.) peel. **Food Chemistry**, v. 106, p. 1264-1270, 2008.

PÉREZ-CÓRDOBA, L., J.; NORTON, I., T.; BATCHELOR, H., K.; GKATZIONIS, K.; SPYROPOULOS, F.; SOBRALA, P., J., A. Physico-chemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-chitosan based films loaded with nanoemulsions encapsulating active compounds. **Food Hydrocolloids**, v. 10, p. 1-16, 2017.

PINTO, A. L. D.; MIRANDA, T. L. S.; FERRAZ, V. P.; ATHAYDE, D. D. Determinação e verificação de como a gordura trans é notificada nos rótulos de alimentos, em especial naqueles expressos “0% gordura trans”. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n. e2015043, 2016.

QIN, YU-YUE.; YAN, JI-YI.; LU, HONG-BO.; WANG SHA-SHA.; YANG, J.; YANG, XING-CHAO.; CHAI, MAN.; LI, LIN.; CAO, JIAN-XIN. Effect of chitosan film incorporated with tea polyphenol on quality and shelf life of pork meat patties, **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 61, p. 312-316, 2013.

RAMIREZ, M., R.; MORCUENDE, D.; ESTÉVEZ, M.; CAVA, R. Effects of frying type with cooking fat and refrigerated storage in lipid oxidation and color of fried pork loin chops. **Food Chemistry**, v. 88, n. 1, p. 85-94, 2004.

SABAGHI, M.; MAGHSOULDOU, Y.; KHOMEIRI, M.; ZIAIFAR, A.M. Active edible coating from chitosan incorporating green tea extract as an antioxidant and antifungal on fresh walnut kernel, **Postharvest Biology and Technology**, v. 110, p. 224-228, 2015.

SABERI, B.; VUONG, Q., V.; CHOCKCHASAWASDEE, S.; GOLDING, J., B.; SCARLETT, C., J.; STATHOPOULOS, C., E. Physical, Barrier, and Antioxidant Properties of Pea Starch-Guar Gum Biocomposite Edible Films by Incorporation of Natural Plant Extracts. **Food Bioprocess Technol**, v. 10, p. 2240–2250, 2017.

SANCHEZ-GONZALEZ, L.; CHAFER, M.; CHIRALT, A.; GONZALEZ-MARTINEZ, C. Physical Properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and his inhibitory action of *Penicillium italicum*. **Carbohydrate Polymers** , v. 82, p. 277–283, 2010.

SATHIVEL, S.; LIU, Q.; HUANG, J.; PRINYAWIWATKUL, W. The influence of chitosan glazing on the quality of skinless pink salmon (*Oncorhynchus gorboscha*) fillets during frozen storage. **Journal Of Food Engineering**. v. 83, p. 366-373, 2007.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Lipid oxidation: Measurement Methods. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. v. 6, n. 6, p. 357–385, 2005.

SINGH, T. P.; CHATLI, M. K.; SAHOO, J. Development of chitosan based edible films: process optimization using response surface methodology. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 5, p. 2530–2543, 2015.

SIRIPATRAWAN, U.; HARTE, B., R. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 24, n. 8, p. 770-775, 2010.

SIRIPATRAWAN, U.; NOIPHA, S. Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life extension of pork sausages **Food Hydrocolloids**, v. 27, p. 102-108, 2012.

SIRIPATRAWAN, U.; VITCHAYAKITI, W. Improving the functional properties of chitosan films as active food packaging, incorporating with propolis, **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 695–702, 2016.

SOUZA, C., B.; CERQUEIRA, M.; TEIXEIRA, J.; CRUZ, L.; DÍAZ, R.; VICENTE, A. Chitosan/clay films' properties as affected by biopolymer and clay micro/nanoparticles' concentrations. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 1895–1902, 2009.

VAN DEN BROEK, L., A., M.; KNOOP, R., J., I.; KAPPEN, F., H., J.; BOERIU, C., G. Chitosan films and blends for packaging material. **Carbohydrate Polymers**. v. 116, p. 237-242, 2015.

VIJI, P.; BINSI, P., K; VISNUVINAYAGAM, S.; BINDU, J.; RAVISHANKAR, C., N.; GOPAL, T., K., S. Efficacy of mint (*Mentha arvensis*) leaf and citrus (*Citrus aurantium*) peel extracts as natural preservatives for shelf life extension of chill stored Indian mackerel. **J Food Sci Technol**, v. 52, n. 10, p. 6278–6289, 2015.

VITAL, A.C.P.; GUERRERO, A.; MONTESCHIO, J.O.; VALERO, M.V.; CARVALHO, C.B.; FILHO, B.A. Effect of edible and active coatings (with rosemary and oregano essential oils) on beef characteristics and consumer acceptability. **PloS One**, v. 11, n. 8, p.160-169, 2016.

WANG, L.; DONG, Y.; MEN, H.; TONG, J.; ZHOU, J. Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols. **Food Hydrocolloids**, v. 32, n. 1, p. 35-41, 2013.

WANG, L.; WANG,Q.; TONG, J.; ZHO, J., Physicochemical Properties of Chitosan films Incorporated with Honeysuckle Flower Extract for Active Food Packaging. **Food Process Engineering**, v.40, p. 1745-4530, 2017.

WANG, Q.; TIAN, F.; FENG, Z.; FAN, X.; PAN, Z.; ZHOU, J. Antioxidant activity and physicochemical properties of chitosan films incorporated with *Lycium barbarum* fruit extract for active food packaging. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 50, p. 458–464, 2015.

WHEATLEY, R. A. Some trends in the analytical chemistry of lipid peroxidation. ZHENG, W.; WANG, S., Y. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. **Food Chemistry**, v. 49, p. 5165–5170, 2001.

ZHENG, WEI.; WANG, S.Y. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. **Jornal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5165- 5170, 2001.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A construção de filmes biodegradáveis com potencial ativo, utilizando matriz de origem natural é uma vertente de pesquisa relevante e promissora para a indústria de alimentos. Este trabalho foi elaborado com a finalidade de gerar um material que possa auxiliar com a preservação do ambiente, com o aproveitamento da hortelã-pimenta que possui valiosas propriedades antioxidantes que possam ser usados na preservação da qualidade dos alimentos.

Os filmes elaborados apresentaram propriedade antioxidante, sobretudo os aditivados com 5 e 10% (55,05% e 73,23%, respectivamente) de extrato de hortelã pimenta, o que foi importante para o direcionamento para a caracterização. Com isso se obteve melhores respostas quanto a propriedades de barreira à luz, as propriedades mecânicas, especialmente na resistência a tração e alongamento na ruptura, bem como nas propriedades barreira a água. A partir dos resultados obtidos também é possível estimular outros estudos para ampliar ainda mais os conhecimentos da matéria, seja para melhorar a resistência desses filmes, seja para aprofundar-se na diversificação dos alimentos nos quais o material poderia ser aplicado.

Graças a este estudo foi possível observar que, os filmes aditivados foram eficazes na preservação da oxidação lipídica da massa amanteigada (Briseé). Desta maneira, ficou demonstrada a sua potencialidade na preservação da qualidade e segurança dos alimentos, sendo uma alternativa viável para estender sua validade comercial, assim como para auxiliar a diminuição do desperdício dos mesmos.