

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CAMPUS A. C. SIMÕES
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

Ísis Lins de Carvalho Peralta

PRODUÇÃO DE EMBALAGEM PARA CAMARÕES A BASE DE BIOCOMPÓSITOS
(XANTANA DE *Xanthomonas campestris*/ALGINATO DE SÓDIO/MONTMORILONITA)
E EXTRATO AQUOSO DE ORÉGANO (*Origanum vulgare* L.)

Maceió – AL

2023

ÍISIS LINS DE CARVALHO PERALTA

**PRODUÇÃO DE EMBALAGEM PARA CAMARÕES A BASE DE
BIOCOMPÓSITOS (XANTANA DE *Xanthomonas campestris*/ALGINATO DE
SÓDIO/MONTMORILONITA) E EXTRATO AQUOSO DE ORÉGANO (*Origanum
vulgare* L.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para a Defesa de Mestrado em Ciências.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Maria Queijeiro López

Coorientadora: Profa. Dra. Amanda Lys dos Santos Silva

Maceió – AL

2023

Catlogação na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

P427p Peralta, Ísis Lins de Carvalho.

Produção de embalagem para camarões a base de biocompósitos (xantana de *Xanthomonas campestris* / alginato de sódio / montmorilonita) e extrato aquoso de orégano (*Origanum vulgare* L.) / Thamilla Maria Silva Maciel. – 2023.

73 f. : il. color.

Orientadora: Ana Maria Queijeiro López.

Coorientadora: Amanda Lys dos Santos Silva.

Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia. Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 57-70.

Apêndices: f. 71-73.

1. Embalagem ativa. 2. Biocompósitos. 3. Biofilmes. I. Título.

CDU: 66

Dedico

Aos meus pais Mirian e João, a minha
irmã Diana, e meus *cats*.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meu bom Deus e meus Santos devotos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia (PPGQB), da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), pela oportunidade e recepção.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo fomento da bolsa de estudos, e à “S.A. Usina Coruripe Açúcar e Álcool”, por financiar parte dos reagentes e equipamentos utilizados no Laboratório de Bioquímica do Parasitismo e Microbiologia Ambiental (LBPMA).

A minha orientadora, Prof. Dra. Ana Maria Queijeiro López pela atenção, conselhos e paciência.

A minha coorientadora, Prof. Dra. Amanda Lys dos Santos Silva, agradeço por ter aceitado entrar nessa jornada, sua paciência e dedicação são bem recebidos.

Aos professores do PPGQB, especialmente, Prof. Dr. Dimas Lima e Prof. Dra. Adriana Ribeiro, pela contribuição no entendimento do trabalho.

Ao Prof. Dr. Johnnatan Duarte e Doutoranda Jennifer Mclaine Duarte, do Instituto Federal de Alagoas (IFAL) de Maceió, pela parceria e colaboração.

Ao Prof. Dr. João Lobo Peralta, Prof. Dr. Alessandro Castro Correia e técnico Rogério Bentes da Costa, do Instituto Federal do Pará (IFPA-Belém), pela colaboração nos testes de propriedades mecânicas e MEV dos biofilmes.

A banca examinadora, pela disponibilidade e contribuições.

Aos meus pais Mirian e João, minha irmã Diana e minha madrastra Danielle, meu muito obrigada! Sem o apoio de vocês, mesmo longe, não estaria aqui. Amo vocês.

Aos colegas de LBPMA: Elane dos Santos, Everton Martins e Luan Carvalho. Obrigada pelo auxílio e contribuições.

Ao caro amigo de jornada acadêmica, doutorando Anderson Bezerra Campos. Muito obrigada pelo apoio, contribuições e amizade.

Aos meus caros colegas de mestrado: Andreza, Adrielle, Larissa e Messias. Agradeço o auxílio, parceria e amizade.

Aos meus amigos e eternos irmãos: Adria, Adriele, Adilson, Angelo, Camila, Camilla, Daniely, Erick, Felipe, Janylle, Rhyana, Rodrigo e Ruan. Obrigada pelo apoio e incentivo.

A todos os meus professores que me incentivaram e inspiraram nos estudos desde criança, influenciando a ser a profissional que hoje sou.

E a tudo e todos que de alguma forma contribuíram para este trabalho. Muito obrigada.

RESUMO

“Embalagens ativas” para alimentos baseiam-se na incorporação de componentes com propriedades que auxiliem no processo de controle das variações indesejáveis, como antioxidantes e antimicrobianos, além de agregar valor ambiental (biodegradabilidade, utilização de matérias-primas residuais, baixa toxicidade, entre outros). Este trabalho visa preparar um biocompósito de xantana de *Xanthomonas campestris*, alginato de sódio e montmorilonita (MMT) na forma de filmes ativos incorporados com extrato aquoso de folhas desidratadas de *Origanum vulgare* L. (EAO), para embalar/revestir filés de camarão. Após testar várias formulações com soluções de goma xantana, alginato de sódio e MMT, a melhor combinação foi incorporada com diferentes alíquotas de EAO (mg/mL): 0,083; 0,0207; 0,0249; 0,0332; 0,0415; 0,622; 0,083; 0,012 e 0,016. Os filmes e EAO foram caracterizados quanto à análise de coloração, espessura, propriedades mecânicas, espectrofotometria no infravermelho (FTIR), espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS), microscopia eletrônica de varredura (MEV), intumescimento, umidade, solubilidade, permeabilidade ao vapor de água (PVA), capacidade antioxidante, conteúdo de fenólicos totais e a atividade antimicrobiana foram testados. As soluções de biofilmes também foram analisadas como revestimento de camarões da espécie *Litopenaeus schmitti* (cru e cozido, sem exoesqueleto e cefalotórax) submetidos a congelamento por 30 dias. O EAO e os biofilmes incorporados com diferentes alíquotas dele apresentaram capacidade antioxidante frente ao radical DPPH (respectivamente de 62% e cerca de 47-87,5%), além de conteúdo fenólico justificando tal ação, porém, não se mostraram antimicrobianos a cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* nas concentrações testadas. A adição de EAO nos filmes proporcionou ótimos dados mecânicos, sendo a amostra AXMEAO⁹ o melhor filme. Análise de cores (L*) revelou tendência a cores claras, tendo o biofilme controle (alginato de sódio/xantana/montmorilonita) tonalidades amareladas. A espessura média dos filmes foi de 0,10 mm, sendo a tensão da ruptura (σ_{RUP}) alterada conforme a concentração de EAO incorporada. Os filés de camarão revestidos com o filme estudado, na maior dose testada de EAO, não sofreram deterioração quando armazenados em freezer por 30 dias, e seu conteúdo de carotenoides mostrou ótima capacidade antioxidante (radical de DPPH). Portanto, o biopolímero produzido com xantana, alginato de sódio, argila montmorilonita e EAO, em face de suas propriedades mecânicas e antioxidantes, tem bom potencial de utilização como embalagem de revestimento de alimentos como camarões.

Palavras-chaves: Antioxidante; biofilmes; embalagem ativa; fenóis totais; propriedades mecânicas.

ABSTRACT

Food “Active packaging” are based on the incorporation of components with properties that help in the process of controlling modified variations, such as antioxidants and antimicrobials, in addition to adding environmental value (biodegradability, use of residual raw materials, low toxicity, and others). This work aimed to elaborate a biocomposite with *Xanthomonas campestris* xanthan, sodium alginate, and montmorillonite (MMT) in the form of active films incorporated with aqueous extract of dehydrated leaves of *Origanum vulgare* L. (EAO), to pack/coat shrimp fillets. After evaluating several formulations with solutions of xanthan gum, sodium alginate, and MMT, the best combination was composed of different aliquots of EAO (mg/mL): 0.083; 0.0207; 0.0249; 0.0332; 0.0415; 0.622; 0.083; 0.012 and 0.016. We analyzed the films and EAO according to their color, thickness, mechanical properties, infrared spectrophotometry (FTIR), energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS), scanning electron microscopy (SEM), swelling, moisture, solubility, water vapor permeability (WVP), antioxidant capacity, total phenolic content, antimicrobial activity and as coating of shrimps (*Litopenaeus schmitti*), without exoskeleton and cephalothorax, crushed and cooked, subjected to freezing for 30 days. EAO and biofilms incorporated with different aliquots demonstrated antioxidant capacity against the DPPH radical (respectively 62% and about 47-87.5%), in addition to phenolic content justifying such action, however, antimicrobial agents for strains of *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were not known. The addition of EAO in the films works as optimized mechanical data, with the sample AXMEAO⁹ being the best film. Color analysis (L*) revealed a tendency towards light colors, with the control film (sodium alginate/xanthan/montmorillonite) having yellowish tones. The average thickness of the films was 0.10 mm, with the rupture stress (σ_{RUP}) altered according to the concentration of EAO created. Shrimp fillets coated with the studied film, at the highest tested dose of EAO, did not deteriorate when stored in a freezer for 30 days, and their carotenoid content showed excellent antioxidant capacity (DPPH radical). Therefore, the biopolymer produced with xanthan, sodium alginate, clay montmorillonite and EAO, in addition to its mechanical and antioxidant properties, has immense potential for use as coating packaging for foods such as shrimp.

Keywords: active packaging; antioxidant; biofilms; mechanical properties; total phenols.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 .	Tipos de Bioplásticos	14
Figura 2 .	Representação da estrutura da montmorilonita	17
Figura 3 .	Representação da estrutura química do glicerol	18
Figura 4 .	Representação da estrutura da goma xantana produzida por <i>X. campestris</i>	19
Figura 5 .	Representação da estrutura do alginato de sódio	21
Figura 6 .	Representação do camarão <i>Litopenaeus. schmitti</i> (Burkenroad, 1936)	23
Figura 7 .	Representação da molécula de Astaxantina	24
Figura 8 .	Esquema para elaboração dos biocompósitos	28
Figura 9 .	Esquema da avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos com tiras de biocompósitos	30
Figura 10 .	Filmes produzidos a partir de Xantana, alginato de sódio e argila montmorilonita	36
Figura 11 .	Filmes produzidos a partir de Xantana, alginato de sódio e argila montmorilonita e diferentes concentrações de extrato aquoso de orégano	36
Figura 12 .	Fotomicrografias das superfícies dos filmes poliméricos	39
Figura 13 .	Espectroscopia de energia dispersiva por raio-x (EDS) dos biocompósitos	41
Figura 14 .	Espectro de FTIR dos biocompósitos de AXMEAO	42
Figura 15 .	Teste de sensibilidade ao EAO e ao biocompósito produzido	49
Figura 16 .	Representação do teste de revestimento de soluções dos biocompósitos em camarões cozidos e <i>in natura</i> após 30 dias sob congelamento	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 .	Colorimetria dos biocompósitos à base de Xantana, alginato de sódio, argila montmorilonita e diferentes concentrações de extrato aquoso de orégano (EAO)	36
Tabela 2 .	Espessura dos biocompósitos produzidos à base de goma xantana, alginato de sódio, argila Montmorilonita e diferentes concentrações de EAO	43
Tabela 3 .	Efeito das propriedades mecânicas em diferentes tipos de biocompósitos	44
Tabela 4 .	Intumescimento e Permeabilidade ao vapor de água dos biocompósitos	47
Tabela 5 .	Teor de umidade dos biocompósitos produzidos à base de goma xantana, alginato de sódio, argila Montmorilonita e diferentes concentrações de EAO	48
Tabela 6 .	Conteúdo de compostos fenólicos totais (FT) em equivalentes mg de ácido gálico/mL ⁻¹ (AAG/mL) e capacidade antioxidante (%) através do sequestro do radical DPPH do extrato aquoso de orégano (EAO)	51
Tabela 7 .	Conteúdo de compostos fenólicos totais (TF) em equivalentes mg de ácido gálico/mL ⁻¹ (AAG/mL) e capacidade antioxidante (%) através do sequestro do radical DPPH (no tempo de retenção de 15 minutos) dos biocompósitos produzidos com alginato, xantana, MMT e EAO	51
Tabela 8 .	Teor de carotenoides totais (mg.mL ⁻¹) da massa de filés de camarões Vila Franca (<i>Litopenaus schmitti</i>) (<i>in natura</i> e cozido) revestidas em soluções de biocompósitos mantidas por 30 dias sob refrigeração	53

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAG	Ácido Acético Glacial
ABS	Absorbância
AD	Água Destilada
AXMEAO	Alginato de Sódio, Xantana, Argila, Extrato Aquoso de Orégano
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AS	Alginato de Sódio
ASTM	American Society for Testing and Materials
AX	Alginato e Xantana
AXM	Alginato, Xantana e Montmorilonita
a*	Variação entre cores vermelho e verde
b*	Variações entre cores azul e amarelo
CT	Carotenoides Totais
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
E	Módulo de Elasticidade
EAG	Equivalente ao Ácido Gálico
EAO	Extrato Aquoso de Orégano
EDS	Espectroscopia de energia dispersiva por raio-x
FT	Fenólicos Totais
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared Spectrophotometer</i>
GL	Glicerol
GX	Goma Xantana
L*	Luminosidade
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MMT	Montmorilonita
OEO	Óleo Essencial de Orégano
ONU	Organização das Nações Unidas
UV-Vis	Ultravioleta-Visível
WWF	Worldwide Fund for Nature

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 Polímeros: Classificação, origens e aplicabilidade	14
2.2 Biopolímeros	15
2.3 Argilas: Montmorilonita.....	16
2.4 Glicerol: Uso como plastificante.....	18
2.5 Goma Xantana.....	19
2.6 Alginato de Sódio.....	20
2.7 <i>Origanum vulgare</i> L.	22
2.8 Camarões Vila Franca.....	23
3. OBJETIVOS.....	26
3.1 Objetivo Geral.....	26
3.2 Objetivos Específicos.....	26
4. Material e Métodos.....	27
4.1 Locais de Desenvolvimento da Pesquisa.....	27
4.2 Reagentes.....	27
4.3 Obtenção do Extrato Aquoso de Orégano (EAO) por Infusão.....	27
4.4 Elaboração do biocompósito com EAO e argila Montmorilonita (MMT).....	27
4.5 Determinação dos Fenólicos Totais do EAO e da solução do biocomposito.....	29
4.6 Determinação da atividade antioxidante pelo método de sequestro de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH).....	29
4.7 Teste biológico: EAO, biocompósitos e aplicação como revestimento de filés de camarão.....	29
4.7.1 Capacidade antimicrobiana <i>in vitro</i> com EAO e biocompósitos.....	29
4.7.2 Revestimento de filés de camarões com a solução do biocomposito.....	30
4.7.2.1 Extrato dos carotenoides dos filés de camarões.....	31
4.7.2.2 Teste de carotenoides totais e antioxidante.....	31
4.7.2.3 Detecção de coliformes termotolerantes.....	32
4.8 Caracterização dos biocompósitos.....	32
4.8.1 Teste de Coloração.....	32
4.8.2 Análise de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	33
4.8.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva por raio-x (EDS).....	33

4.8.4 Medidas de Espessura.....	33
4.8.5 Propriedades Mecânicas.....	33
4.8.6 Intumescimento.....	34
4.8.7 Umidade e Solubilidade.....	34
4.8.8 Permeabilidade ao Vapor (PVA).....	35
4.9 Análise Estatística.....	35
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	36
5.1 Biocompósitos com Xantana, Alginato de Sódio, Argila e concentrações de EAO.....	36
5.2 Teste de colorimetria.....	37
5.3 Teste de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia por energia dispersiva (EDS).....	39
5.4 Análise de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	42
5.5 Espessura.....	44
5.6 Propriedades mecânicas: Elasticidade, Tensão e Deformação.....	45
5.7 Intumescimento e Permeabilidade ao Vapor de Água.....	47
5.8 Umidade e Solubilidade.....	49
5.9 Testes biológicos do revestimento de camarões: atividade antimicrobiana, capacidade antioxidante e conteúdo de fenóis e carotenóides totais.....	50
5.9.1 Atividade antimicrobiana do EAO e biofilme.....	50
5.9.2 Capacidade antioxidante e conteúdo de fenóis totais (FT) do extrato aquoso de orégano (EAO) e de biocompósitos preparados a partir de xantana/alginato/EAO.....	51
5.9.3 Carotenoides totais e capacidade antioxidante do extrato etanólico de filés de camarões Vila Franca (<i>Litopenaus schmitti</i>) revestidos e congelados por 30 dias, bem como detecção de coliformes termotolerantes.....	53
6 CONCLUSÕES.....	57
7 REFERÊNCIAS.....	58
APÊNDICE.....	72

1 INTRODUÇÃO

Devido ao baixo custo, fácil acesso, leveza, boa resistência mecânica, durabilidade, inércia e muitos outros atributos, os polímeros sintéticos derivados do petróleo têm sido muito utilizados no mundo todo, e para as mais diferentes aplicações. Os invólucros plásticos possuem como funções clássicas acondicionar, proteger e divulgar o produto por eles envolvido. Segundo Resolução RDC n. 27/2010 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), as embalagens de alimentos em geral são isentas da obrigatoriedade de registro junto à mesma, o que não as desobriga de atender exigências definidas nos regulamentos técnicos em vigor, alterados em anos subsequentes. Algumas das tecnologias atuais que interagem com o produto (“embalagens ativas”), como embalagens de Polietileno Tereftalato (PET) pós-consumo reciclado ou de Bisfenol A, por exemplo, tem obrigatoriedade de submissão a análise por parte da ANVISA e requerem aprovação e registro para comercialização (BRASIL, 2021).

A função protetora das embalagens implica em preservar ao máximo a qualidade do produto, criando condições que minimizem alterações químicas, bioquímicas e microbiológicas que levem à sua deterioração. Contudo, a origem não renovável da maioria dos plásticos, além de sua difícil biodegradabilidade em face das longas cadeias moleculares (podem levar de dezenas a centenas de anos para se decomporem totalmente nos ambientes), conduz ao acentuado acúmulo de resíduos. Torna-se urgente planejar novas tecnologias não só de descarte, reciclagem e degradação dos plásticos sintéticos, mas de produção de outros oriundos de fontes renováveis e biodegradáveis (bioplásticos), em especial para embalagens de alimentos (RUJNIC-SOKELE&PILIPOVIĆ, 2017) -estas inclusive estimuladas pelos órgãos de vigilância sanitária através da legislação RDC ANVISA 326/2019 (BRASIL, 2019).

A xantana é um exopolissacarídeo obtido a partir da biossíntese no processo de fermentação de glicídios pelas bactérias do gênero *Xanthomonas*. Possui alta viscosidade e características pseudoplásticas, sendo muito utilizada na indústria alimentícia, farmacêutica e petroquímica. Se comparada aos polímeros sintéticos, apresenta propriedades de barreira e mecânicas relativamente inferiores, mas que podem ser melhoradas com a adição de outros produtos, como argilas e nanomateriais (NEJADMANSOURI *et al.*, 2020).

O alginato de sódio é um sal de polissacarídeo de origem natural, solúvel em água a temperatura ambiente, formado por unidades monoméricas dos ácidos β -D-manurônico e α -L-gulurônico, ligados linearmente por ligações β -1,4, que podem estar arrançados em blocos ou aleatoriamente, e que é obtido a partir de algas marinhas marrons ou castanhas (*Phaeophyceae*) por um processo de extração com álcali diluído (LIAKOS *et al.*, 2014). As propriedades físicas

e químicas da molécula de alginato são determinadas pela proporção, distribuição, massa molar e comprimento destes blocos (MCHUGH, 1987). Os filmes formados por alginato são de fácil fabricação e manuseio, insolúveis em água após reticulação (ligação química entre as moléculas do polímero, provocada pela ação de catalisadores, e que resulta em polímeros de ligações tridimensionais), com baixa permeabilidade a gases e vapor, estáveis em temperatura ambiente e com flexibilidade e resistência ajustáveis pela alteração de parâmetros de preparo (SANTANA, 2010; PACHECO, 2016).

Nanopartículas de montmorilonita (MMT), por sua vez, são um exemplo de nanomateriais que podem ser incorporados a outras substâncias para formação de polímeros como biofilmes, visto que suas camadas esfoliadas entre as cadeias dos polímeros naturais melhoram as propriedades originais destes, reduzindo a espessura e aumentando a barreira ao vapor de água e ao oxigênio, além de elevar a resistência à tração (SOUZA *et al.*, 2019).

No caso de embalagens de alimentos, a incorporação de extratos de especiarias (usadas como temperos) às nanoargilas pode agregar função antioxidante e/ou antimicrobiana. Uma erva bastante estudada farmacologicamente quanto a essas capacidades e de uso amplo em culinária tem sido o orégano (*Origanum vulgare* L.) (ARCILA-LOZANO *et al.*, 2004), cujo extrato aquoso é rico em ácido *p*-cumárico, ácido rosmarínico, apigenina, canferol, luteolina e quercetina (BLANK *et al.*, 2016).

Além disso, existem alguns alimentos que também já são ricos em antioxidantes, como: verduras, frutas, mariscos, entre outros (MELO *et al.*, 2008; ARVAYO-ENRÍQUEZ *et al.*, 2013; QUISPE & RUIPIO, 2022). Um dos alimentos que é rico em antioxidante como a Astaxantina, e que é muito consumido na região brasileira, especialmente nas áreas litorâneas como a região Nordeste, é o camarão, principalmente os camarões Vila Franca [(*Litopenaeus schmitti* (= *Penaeus schmitti*)] (GRAÇA-LOPES *et al.*, 2007).

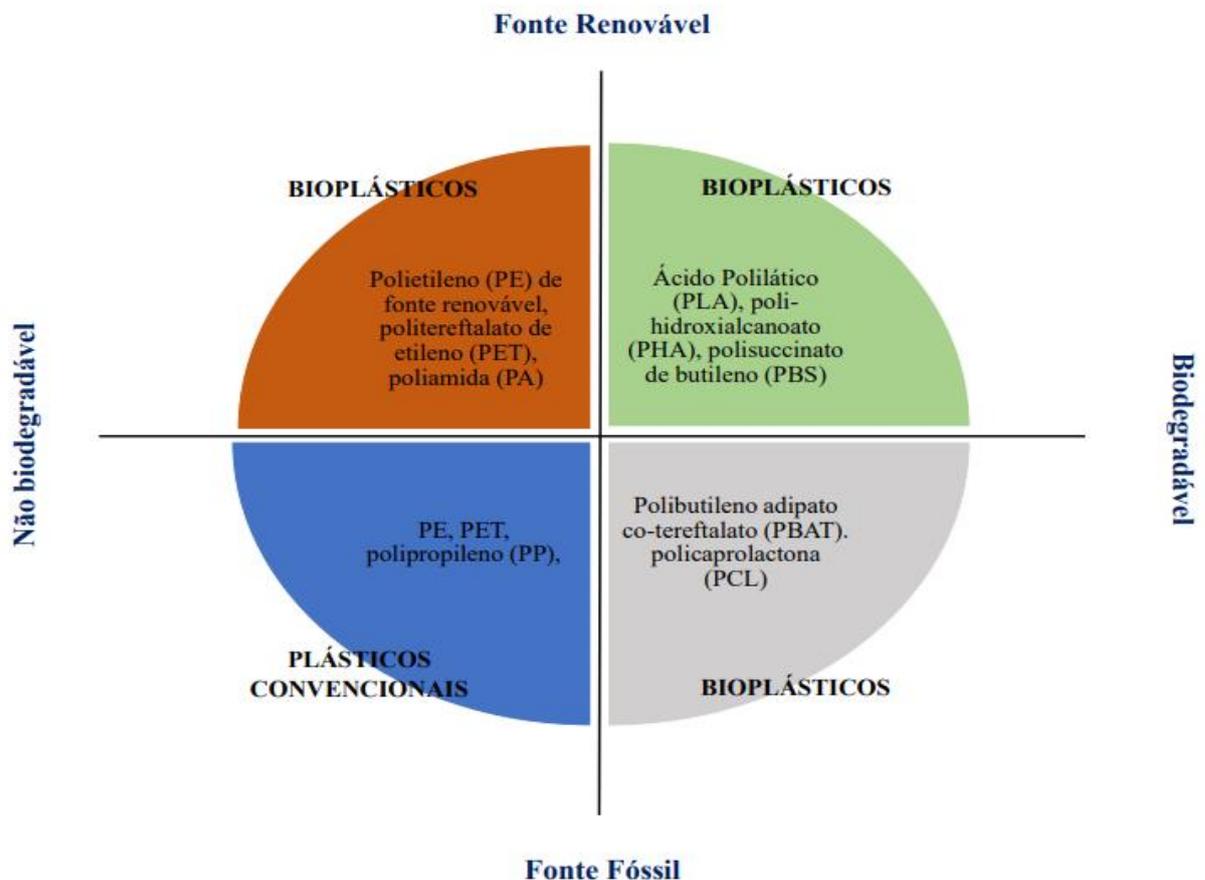
Diante disso, este trabalho visa desenvolver um biocompósito a partir da combinação dos polissacarídeos de xantana (produzida pela estirpe *Xanthomonas campestris*) e alginato de sódio, incorporados com MMT e extrato aquoso de orégano, e testar sua eficiência como embalagem biodegradável na preservação de filés de camarão Vila Franca [(*Litopenaeus schmitti* (= *Penaeus schmitti*)] mantidos por 30 dias sob refrigeração, e compará-los com embalagens sintéticas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Polímeros: Classificação, origens e aplicabilidade

Os polímeros são materiais compostos por diversas unidades de monômeros que se repetem de forma sucessiva em um determinado número de vezes, formando uma estrutura macromolecular. Provenientes de origem natural (polissacarídeos, proteínas, argilas, areia) ou sintética (plásticos, borrachas, fibras), podem ser encontrados de forma orgânica ou inorgânica, apresentando massa molar de 10.000 a 10.000.000 g/mol (CANAVEROLO, 2006), e mostrarem-se biodegradáveis ou não biodegradáveis (CINAR *et al.*, 2020), conforme ilustrado na Figura 1. Devido a sua maleabilidade, os polímeros são de fácil manipulação mediante calor e pressão, servindo de matéria-prima para a fabricação dos mais variados objetos, como os plásticos e/ou bioplásticos (MANO & MENDES, 2013).

Figura 1 - Tipos de Bioplásticos.



Fonte: Adaptado de *European Bioplastics* (2020).

Devido à facilidade de manipulação estrutural, durabilidade e armazenamento, a demanda dos plásticos sintéticos cresceu acentuadamente, sendo utilizados em quase todos os lugares, como na fabricação de celulares, em embalagens, produtos domésticos, na indústria automobilística, têxtil e farmacêutica. Porém, estes são normalmente produzidos com materiais não ecológicos, a base de materiais fósseis (petróleo) e possuem um tempo de degradação que varia de 1 a cerca de 400 anos (MANO & MENDES, 2013; ARAÚJO *et al.*, 2016). Assim, o gerenciamento de seu descarte tornou-se também uma preocupação (RAHMAN *et al.*, 2021), especialmente porque mais de 8 milhões de toneladas de lixo plástico são despejados em ambientes marinhos todos os anos (PANDEY *et al.*, 2021), afetando não somente a biota e o ecossistema aquático, mas também a saúde dos seres humanos (MONTAGNER, 2018).

Conforme descrito por KROSOFSKY (2021), a Organização das Nações Unidas (ONU), relata que mais de 1 milhão de animais marinhos (incluindo pássaros, peixes, tubarões e tartarugas marinhas) têm sido mortos por ingestão ou emaranhamento de poluição plástica. A instituição também afirma que, caso o ritmo de consumo continue o mesmo, em 2050 pode haver mais plástico do que peixes nos oceanos (KROSOFSKY, 2021). Outros estudos indicam que materiais plásticos liberam substâncias tóxicas que afetam a saúde humana, como é o caso das resinas Bisfenol A e dietilhexil-ftalato (SWAN, 2008; LA MERRIL *et al.*, 2020). Hipertensão, cardiopatias e alterações hormonais são alguns dos efeitos decorrentes por ingestão, inalação ou contato dérmico com esses aditivos (WATKINS *et al.*, 2017; YE *et al.*, 2017; ITO *et al.*, 2019). Dessa forma, alternativas para substituir os plásticos sintéticos de fontes fósseis estão sendo estudadas e desenvolvidas, como é o caso dos plásticos biodegradáveis, ou comumente chamado, bioplásticos (RUJNIĆ-SOKELE & PILIPOVIĆ, 2017).

2.2 Biopolímeros

De acordo com *European Bioplastics* (2020), os bioplásticos podem ser classificados em três categorias: naturais, sintetizados biologicamente a partir de monômeros biológicos e residuais, sendo apenas cerca de 1% das 359 milhões de toneladas de plásticos fabricados anualmente no mundo, ainda que de forma crescente a cada ano. Podem ter origem vegetal ou bacteriana, a partir de monômeros de carboidratos ou proteínas (THIELEN, 2014), e, portanto, de recursos renováveis que se regeneram mais rapidamente do que os fósseis, o que favorece o aumento de sua produção para algumas aplicações específicas, como o uso de látex extraído de árvores seringueiras para gerar pneus ao invés da borracha sintética (RIPPEL & BRAGANÇA, 2009).

Entre 2018 e 2019, a expansão da capacidade instalada dessa indústria no mundo foi de 5%, chegando a 2,1 milhões de toneladas. A expectativa da *European Bioplastics* é de que essa taxa continue crescendo e chegue em torno de 2,4 milhões de toneladas em 2024 (JONES, 2020). No Brasil, onde foram produzidos 6,6 milhões de toneladas de plásticos em 2018, não há estatísticas relacionadas à produção ou à venda de bioplásticos. O país, no entanto, é um dos grandes produtores de polímeros de origem renovável, como a cana-de-açúcar e etanol. A empresa Braskem, por exemplo, conta com capacidade instalada para produzir 200 mil toneladas do polietileno verde “*I’m green*”, representando cerca de 10% de fabricação global de bioplástico (JONES, 2020).

Portanto, os biopolímeros desenvolvidos a partir de recursos naturais apresentam-se como um substituto dos polímeros de fontes não-renováveis por serem biodegradáveis, biocompatíveis e de baixa toxicidade e custo (COSTA, 2018), mas requerem adaptações das tecnologias utilizadas em sua produção, visto algumas desvantagens de suas propriedades mecânicas (SANTOS & TAVARES, 2015). Assim, é necessário a adição e incorporação de alguns agentes e compostos que possam melhorar as propriedades mecânicas, como plastificantes tipos gliceróis (MACHADO *et al.*, 2014; ANTUNES *et al.*, 2019), argilominerais como a montmorilonita (LIN *et al.*, 2017; RUJNIC’-SOKELE & PILIPOVIĆ, 2017), gomas comestíveis do tipo xantana ou alginato (VIJAYENDRA & SHAMALA, 2013; PEREIRA & FERRAZ, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2019) e até compostos naturais que fornecem funções antioxidantes e antimicrobianas aos biocompósitos naturais a partir de extratos de plantas ou condimentos, como por exemplo orégano (PREVEDELLO & COMACHIO, 2021; ROSHANDEL-HESARI *et al.*, 2022).

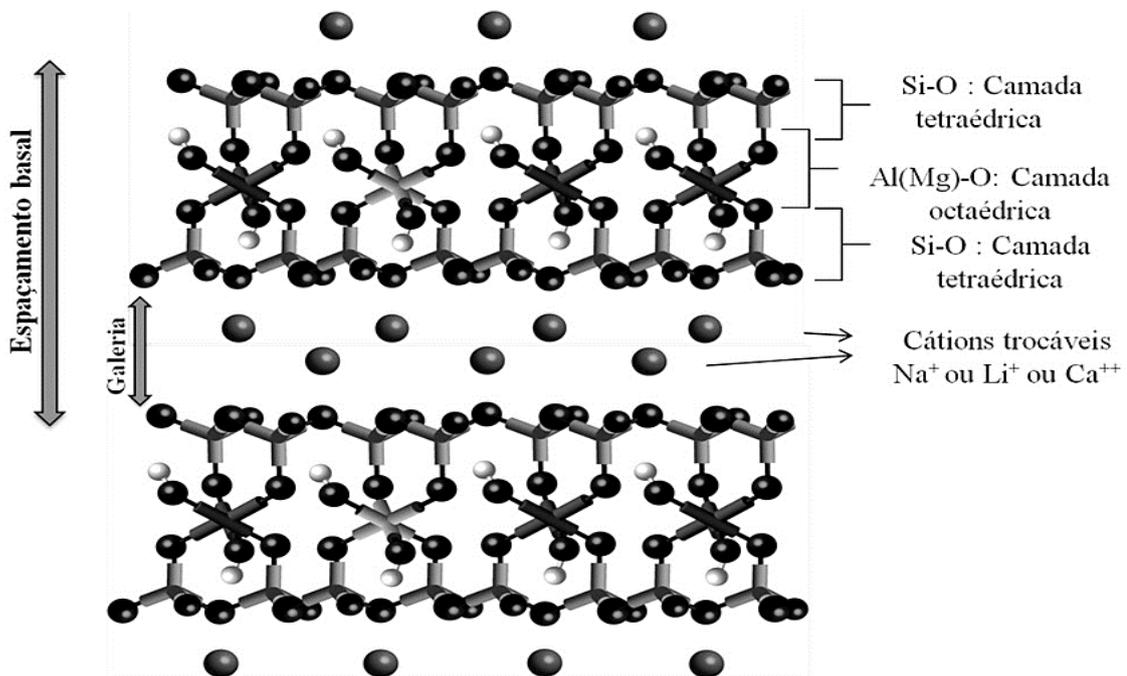
2.3 Argilas: Montmorilonita

As argilas possuem matéria prima de origem natural, com aspecto terroso e granulometria inferior a 2 μm , sendo provenientes de rochas sedimentares que contém argilominerais (MERCIER, 2019). Devido à sua abundância e baixo custo, tornam-se materiais promissores para diferentes aplicações nas mais diversas áreas, como farmacêutica, industrial, cosmética e alimentar (REIS *et al.*, 2020; AWOYAMA *et al.*, 2021). Além disso, possuem formas estruturais lamelares cristalinas nanométricas, quase bidimensionais (LAZARATOU *et al.*, 2019), sendo a caulinita e montmorilonita (MMT) as mais comuns (DOI *et al.*, 2019).

Diversas pesquisas vêm sendo desenvolvidas com adição de argilas em matrizes poliméricas visando obtenção de compósitos (MELO *et al.*, 2013; LIN *et al.*, 2017; BEE *et al.*, 2018; SOUSA *et al.*, 2020) com melhores propriedades mecânicas, físicas (térmicas e de barreira) e químicas, além da redução de seu peso e custo (WANG *et al.*, 2021).

A montmorilonita (MMT) se destaca pela sua abundância entre as esmectitas, com partículas que variam de 0,1-2 μm (média aproximada de 0,5 μm) e em formato de placas ou lâminas. De fórmula química geral $M_x(\text{Al}_{4-x}\text{Mg}_x)\text{Si}_8\text{O}_{20}(\text{OH})_4^-$, pertencente ao grupo dos filossilicatos 2:1, com uma folha octaédrica de alumina impressada entre duas folhas tetraédricas de sílica, todas unidas por átomos de oxigênio comuns (Figura 2). Seu diâmetro é de aproximadamente 100 nm, com espessura de até 1 nm e as dimensões laterais podem variar de 30 nm a vários microns, resultando em um aspecto de elevada razão que pode chegar até 1000 (PAIVA *et al.*, 2008).

Figura 2 - Representação da estrutura da montmorilonita.



Fonte: PAIVA *et al.* (2008).

O empilhamento dessas folhas é regido por forças polares fracas e forças de Van Der Waals, e entre essas folhas existem lacunas interlamelares nas quais residem cátions trocáveis como Na^+ , Ca^{2+} , Li^+ , fixos eletrostaticamente e com a função de compensar cargas negativas geradas por substituições isomórficas que ocorrem no reticulado, como, por exemplo, Al^{3+} por

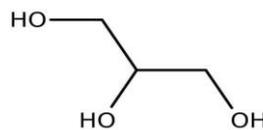
Mg^{2+} ou Fe^{2+} , ou Mg^{2+} por Li^+ . Cerca de 80% dos cátions trocáveis na MMT estão presentes nas galerias e 20% se encontram nas superfícies laterais (PAIVA *et al.*, 2008).

Além disso, a MMT possui característica de adsorção e capacidade de troca catiônica, alta viscosidade, resistência a solventes, altas temperaturas e um alto grau de delaminação quando colocada em contato com a água, resultando em significativas propriedades físicas e químicas que determinam as muitas aplicações industriais deste material (MELO *et al.*, 2013; FAVERO *et al.*, 2019). E ao incorporar MMT com outros compostos que

2.4 Glicerol: Uso como plastificante

O 1,2,3 propan-triol, popularmente conhecido como Glicerol, de fórmula molecular $C_3H_8O_3$, é um composto orgânico pertencente à função álcool (Figura 3), líquido a temperatura ambiente, incolor, adocicado, higroscópico, inodoro e com alta viscosidade, sendo derivado de fontes de biodegradação microbiana, por síntese química ou petroquímica, ou, de forma mais tradicional, como subproduto da fabricação de sabão a partir de gorduras (HOU *et al.*, 2008; ESPITIA *et al.*, 2014). Os três grupos hidroxila em sua estrutura é o que o tornam solúvel em água (natureza higroscópica). A molécula é altamente flexível, favorecendo a formação de ligações de hidrogênio intermolecular (ESPITIA *et al.*, 2014).

Figura 3 - Representação da estrutura química do glicerol.



Fonte: FISHER SCIENTIFIC (2022).

É um dos plastificantes mais utilizados na produção de filmes biológicos. Sua agregação em outras substâncias ou soluções pode 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 (MACHADO *et al.*, 2014; ANTUNES *et al.*, 2019). O plastificante é uma molécula pequena, de baixa volatilidade e de natureza química similar à do polímero usado na constituição de filmes (GONÇALVES *et al.*, 2019).

Alguns estudos, como os de Epure *et al.* (2011), Soares *et al.* (2014) e Chagas (2017), demonstraram que os filmes biodegradáveis preparados com adição de glicerol apresentaram

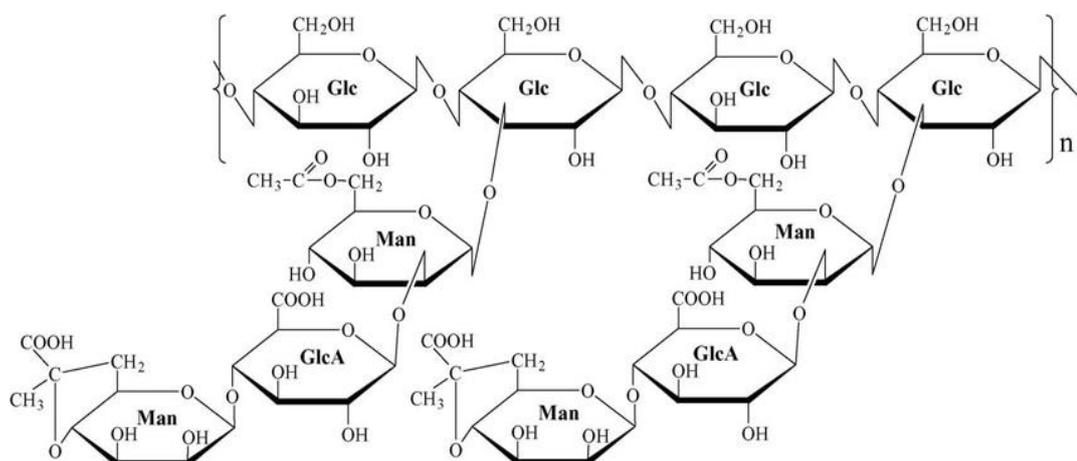
efeitos nas propriedades mecânicas, mostrando um aumento da elasticidade do polímero e a redução da tensão de ruptura, além de apresentar uma plastificação satisfatória devido à obtenção de filmes de espessura mais regular e menos espessa e uma capacidade de absorção de água.

2.5 Goma Xantana

Os biopolímeros microbianos externos, também conhecidos como substâncias exopolissacarídicas (EPS), são alternativas para produção de gomas tradicionais extraídas de plantas, pois apresentam propriedades físico-químicas de interesse industrial. Esses compostos têm a capacidade de formar géis e soluções viscosas em meio aquoso, mesmo em baixas concentrações (VIJAYENDRA & SHAMALA, 2013; SHANMUGAM & ABIRAMI, 2019). Nas últimas décadas, foram observados avanços significativos à identificação, caracterização e utilização de polissacarídeos microbianos, uma vez que são mais seguros e menos agressivo ao meio ambiente em comparação aos polímeros sintéticos (GANESAN *et al.*, 2018; SHANMUGAM & ABIRAMI, 2019).

A xantana, como já mencionado anteriormente, é um biopolímero do tipo heteroexopolissacarídeo sintetizado pelas bactérias do gênero *Xanthomonas*, a partir do cultivo aeróbico em fontes de glicídios simples, consistindo em uma unidade pentassacarídica composta por glicose, manose e ácido glucurônico na proporção de 2: 2: 1 além de grupos substituintes piruvato e acetila (Figura 4). A cadeia principal é formada por unidades de β -D-glicose, que estão ligadas nas posições 1 e 4 (BRANDÃO *et al.*, 2008).

Figura 4 - Representação da estrutura da goma xantana produzida por *X. campestris*.



Legenda: Glc: Glicosídeo; GlcA: Ácido Glucurônico; Man: Manose.

Fonte: QIAN *et al.* (2006).

A produção e uso da goma xantana varia entre as diferentes indústrias, como nas agrícolas, petroquímicas, farmacêuticas, têxteis e de alimentos. Está presente em uma ampla variedade de produtos alimentícios para seres humanos e outros animais, devido à estabilidade de sua capacidade emulsificante em diferentes temperaturas, compatibilidade com ingredientes e propriedades reológicas que permitem a formação de soluções viscosas a baixas taxas de concentração (0,05-1%) e ampla faixa de estabilidade a pH (5-8), além de apresentar propriedades pseudoplásticas em soluções (GARCÍA-OCHOA *et al.*, 2000; PALANIRAJ & JAYARAMAN, 2011; NEJADMANSOURI *et al.*, 2020).

Por ser mais palatável e de alta produção, a goma xantana é um substituinte para outros tipos de goma que possui um mercado rentável, sendo o Brasil um grande importador deste produto (FERRAZ *et al.*, 2021). Porém, o país tem um grande potencial econômico-industrial para fabricação deste biopolímero, considerando que o custo do meio de cultivo é um fator crítico de seu processo de produção (PEREIRA & FERRAZ, 2016), que a glicose e a sacarose puras possuem um elevado custo (SILVA *et al.*, 2018), mas que por possuir matérias-primas básicas de baixo custo fornecedoras desses monômeros, como no caso dos resíduos de agroindústrias, entre elas a como a do setor sucroenergético, o Brasil apresenta-se numa posição benéfica e competitiva sob o aspecto comercial, diminuindo ainda a quantidade de poluentes orgânicos (NIKNEZHAD *et al.*, 2016; FERRAZ *et al.*, 2021).

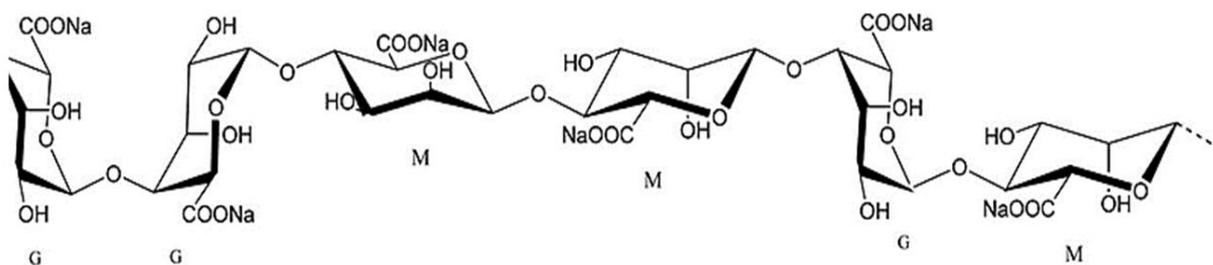
2.6 Alginato de Sódio

O alginato é um polissacarídeo natural derivado principalmente de paredes celulares de algas marinhas marrons, como: *Laminaria hypeborea*, *Macrocystis pyrifera* e *Ascophyllum nodosum* (ÇAYKARA *et al.*, 2005; LIAKOS *et al.*, 2014), trituradas. A solução de biomassa diluída é separada dos resíduos insolúveis através da filtração, e o extrato resultante é acidificado (pH 4,0) para hidrolisar o ácido algínico (C₁₄H₂₂O₁₃) complexado com minerais, formando o alginato livre, que é neutralizado pela adição de hidróxido de sódio, a um pH próximo de 11,0, para formação do alginato de sódio. O sal de alginato é filtrado, passando por um processo de purificação, no qual é solubilizado em água, seguido da adição de etanol para diminuir sua solubilidade, precipitando-o. Portanto, o alginato de sódio é um sal de carboidrato coloidal hidrofílico cujo processo de extração, hidrólise, neutralização e purificação ocorre várias vezes conforme o rendimento pretendido, de acordo com o interesse comercial (LARSEN *et al.*, 2003).

Quanto a sua estrutura, o alginato apresenta-se como um copolímero binário, com uma

cadeia química aniônica linear, formada por unidades monossacarídicas de ácidos β -D-manurônico e seu epímero C-5 ácido α -L-gulorônico, unidos por ligações glicosídicas β -1,4, que se organizam em forma de blocos de homopolímeros junto com blocos alternados na mesma molécula (Figura 5). A diferença na sequência e no conteúdo de blocos determina a flexibilidade da cadeia, influenciando na solubilidade e estabilidade da produção do gel, filme, suspensão ou estabilização da emulsão (TANG *et al.*, 2018; YILMAZ *et al.*, 2019).

Figura 5 - Representação da estrutura do alginato de sódio.



Fonte: OLIVEIRA *et al.*(2017).

Mesmo apresentando características poliméricas, biocompatíveis e não tóxicas, o alginato de sódio não apresenta propriedades ativas (como antibacterianas ou antioxidantes), sendo muito utilizado nas indústrias têxteis, alimentares (como aditivo, estabilizante e espessante), de cosméticos e farmacêuticos, de papel, de materiais odontológicos e medicina regenerativa, de curativos dérmicos, entre outras (MOGOSANU & GRUMEZESCU, 2014; ROSA *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2019).

Filmes poliméricos produzidos a base de alginato de sódio podem atuar como um importante carreador de substâncias bioativas quando incorporados com extratos e óleos naturais, agregando ao filme capacidades antioxidante, moduladora e antimicrobiana, por exemplo. Embalagens com essas funções são classificadas como embalagens ativas (LEON *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2019).

2.7 *Origanum vulgare* L.

O orégano (*Origanum vulgare* L.) é uma espécie das cerca de 40 do gênero *Origanum*, família *Lamiacea*, comumente utilizada como condimento alimentar (LUKAS, 2013; SOLTANI *et al.*, 2021). No Brasil, é cultivada principalmente nas regiões Sul e Sudeste do país

(BEZERRA, 2021), sendo caracterizada pelo seu aroma similar ao da lavanda com sabor forte ligeiramente amargo. As principais aplicações dessa erva estão na culinária, como temperos ou composição de licores, e na fitoterapia (MESQUITA *et al.*, 2019). O óleo essencial e o extrato das folhas, por exemplo, são utilizados nas áreas da fitoterapia cosmética e perfumaria (FERREIRA *et al.*, 2012). Entre as atividades farmacológicas de interesse clínico estão as capacidades antibacteriana, inseticida, antioxidante e antifúngica (MESQUITA *et al.*, 2019).

Seus extratos aquosos são ricos principalmente em ácido *p*-cumárico, ácido rosmarínico, apigenina, canferol, luteolina e quercetina (BLANK *et al.*, 2016), compostos largamente investigados por inúmeras ações, como antimicrobiano e larvicidas e cujas concentrações nesses exemplares podem variar conforme sua localidade e condições de cultivo (HOSSEINI *et al.*, 2015; MESQUITA *et al.*, 2019).

Prevedello e Comachio (2021) constataram que o consumo de antioxidantes presentes em plantas naturais associou-se a uma menor incidência de doenças relacionadas ao estresse oxidativo, que ocorre quando há um desequilíbrio entre o balanço pró-oxidante/antioxidante em favor da situação pró-oxidante, promovendo um dano potencial nas biomoléculas do organismo. Dessa forma, patologias como doenças crônicas, incluindo doenças cardiovasculares, câncer e doenças neurodegenerativas acabam sendo desenvolvidas.

Além desses estudos, outros envolvendo a incorporação de extratos e óleos essenciais em plásticos biodegradáveis, para agregar estas funções antimicrobianas e antioxidantes aos filmes, reduzindo também o tempo de degradação ao ser descartado no meio ambiente e conseqüentemente, reduzindo o uso de plásticos sintéticos, estão sendo desenvolvidos (JAHED *et al.*, 2017; WWF, 2019; FERNANDES-MARIN *et al.*, 2020).

Estudos como o de Fernandes-Marín *et al.* (2020) demonstraram que a incorporação de compósitos com óleo essencial de orégano também aumentou a atividade antioxidante e a disponibilidade dos compostos fenólicos dos biofilmes preparados para uso em embalagens ativas. Outros estudos, como de Roshandel-hesari *et al.* (2022) demonstraram que os filmes revestidos com quitosana e incorporados com extrato alcoólico de orégano em tomates-cereja foram capazes de retardar as mudanças na acidez titulável (AT), porcentagem de encolhimento e perda de peso em comparação com os frutos controle durante o armazenamento. O prolongamento da validade dos frutos em baixa temperatura foi aumentado para 32 dias, confirmando que o produto formado pode ser usado na indústria alimentícia como um material de embalagem biodegradável eficaz para armazenamento de frutas em longo prazo.

Além disso, Rathod *et al.* (2021) relata estudos promissores com a aplicação de biofilmes a base de compostos e produtos naturais (extratos de orégano, cítricos, entre outros)

que fornecem ação antimicrobiana e antioxidante em alimentos altamente perecíveis (ALÉMAN *et al.*, 2016; HOSSEINI *et al.*, 2016; YU *et al.*, 2017) como os camarões, assim, reduzindo seus valores nutricionais (MAQSOOD *et al.*, 2014; CHOTPHRUETHIPONG & BENJAKUL, 2019), e tornando-os menos adequados para consumo.

2.8 Camarões Vila Franca

A família dos camarões peneídeos, pertencentes a 80% dos camarões pescados ao redor do mundo, representam grande importância no mercado pesqueiro, no qual em torno de 700 mil toneladas são capturadas anualmente (BARIOTO, 2017). No Brasil, a pesca de camarões é realizada em grande escala no litoral nordestino, apresentando uma significativa importância econômica, histórica e cultural (GRAÇA-LOPES *et al.*, 2007).

Uma das espécies mais consumidas da família Penaeidae é a *Litopenaeus schmitti* (Burkenroad, 1936), popularmente conhecido como camarão branco ou Vila Franca (Figura 6). É comumente encontrado entre o Atlântico Ocidental (23° 30' N) até a região sul do Brasil (29° 45' S), habitando regiões marinhas de pequenas profundidades até 30 metros, com registros de ocorrência em até 50 metros (D'INCAO, 1999). Além disso, é uma espécie geralmente onívora, alimentando-se de algas e pequenos animais como: peixes, poliquetos e moluscos.

Figura 6 – Representação do camarão *Litopenaeus schmitti* (Burkenroad, 1936)

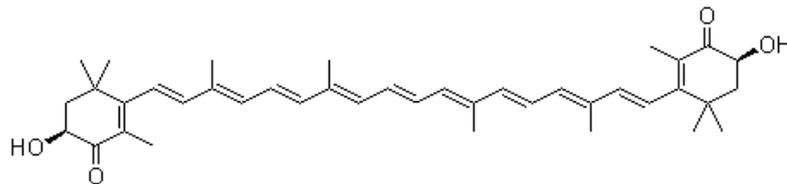


Fonte: CRAVEIRO (2018).

Devido a sua alimentação base, os camarões são dos poucos animais ricos em proteínas, lipídeos, minerais (fosfatos e carbonato de cálcio), quitina e carotenoides (AN *et al.*, 2018). Astaxantina, Licopeno, β -caroteno, β -criptoxantina, Luteína e Zeaxantina são os principais carotenoides encontrados em crustáceos (ARVAYO-ENRÍQUEZ *et al.*, 2013). A Astaxantina (3,3'-dihidroxi- β , β -caroteno-4,4'-diona), por exemplo, é o carotenoide predominante (acima de 85%) em camarões (Figura 7), fornecendo uma pigmentação alaranjada a estes animais, em especial após cozimento quando usados na alimentação humana (GUERRERO-LEGARRETA, 2009). Além disso, implica na alta atividade antioxidante

atribuída a resíduos e filés desses animais (NIAMNUY *et al.*, 2008), o que os torna benéficos para portadores de doenças cardiovasculares e suas comorbidades (diabetes e hipertensão) ou cancerígenas (HUSSEIN *et al.*, 2006; SEABRA *et al.*, 2014; LIRA *et al.*, 2016).

Figura 7– Representação da molécula de Astaxantina



Fonte: ARVAYO-ENRÍQUEZ *et al.*, (2013).

A tendência crescente de consumir crustáceos crus ou processados têm colocado muitos riscos biológicos decorrentes da infestação deles por espécies microbianas patogênicas, como: bactérias do gênero *Salmonella* spp., cepas produtoras de citotoxinas de *Escherichia coli*, *Vibrio* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., *Aeromonas* spp., e outras (FENG, 2012; VENUGOPAL & GOPAKUMAR, 2017; NGUYEN & TALLENT, 2019); parasitas como *Ascaris* spp., *Trichuris* spp. e *Trichinella* spp, tênia *Diphyllobothrium* spp., trematódeos (principalmente *C. sinensis*) (NOLLET & TOLDRÁ, 2010; ITO & BUDKE, 2014); vírus como a doença da mancha branca e hepatite A (BOSCH *et al.*, 2011; DEY *et al.*, 2020), que são obtidas pelos crustáceos após contato com fluidos descartados inadequadamente em águas marinhas, além de fungos como *Aspergillus awamori*, *Fusarium* spp. e outros (HATAI, 2012; KARTHIKEYAN *et al.*, 2015). Portanto, os crustáceos podem causar diferentes patologias aos humanos se não houver controle de sua qualidade, ocasionando diferentes sintomas que variam de leve a risco de vida e reações adversas crônicas (VENUGOPAL & GOPAKUMAR, 2017; FARAG *et al.*, 2022). Logo, o conhecimento acerca dos patógenos é de fundamental importância para a comunidade e setor produtivo.

Por serem animais de muita procura e demanda, seu valor no mercado é afetado pela aparência de suas cascas, que desempenham um papel também em seus valores nutricionais e propriedades benéficas para a saúde (LI *et al.*, 2013; LIRA *et al.*, 2016). Além disso, possuem tempo curto de “prateleira” tornando-se um potencial produto de estudo para avaliar sua atividade antioxidante e determinação de carotenoides (LÓPEZ, 2021) que ao ser aplicados em revestimentos biológicos ou filmes naturais, podem reagir e retardar sua degradação, aumentando assim seu tempo de consumo alimentar.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Desenvolver um biocompósito de xantana de *Xanthomonas campestris*/alginato de sódio/montmorilonita na forma de filme ativo incorporado com extrato aquoso concentrado de orégano (*Origanum vulgare* L.) para uso como embalagem/revestimento de filés de camarão.

3.2 Objetivos Específicos

- Produzir extrato aquoso de folhas desidratadas de orégano e estudar sua capacidade antioxidante, seu conteúdo total de fenóis e sua atividade antimicrobiana;
- Desenvolver um biocompósito a partir da combinação de xantana, de cultura de *Xanthomonas campestris*, alginato de sódio, montmorilonita e incorporado com o extrato aquoso de folhas de orégano (EAO);
- Estudar *in vitro* a atividade antioxidante e antimicrobiana dos biocompósitos produzidos;
- Avaliar as propriedades físicas, mecânicas, estruturais, colorimétricas e de barreira dos biocompósitos produzidos;
- Estudar a eficácia antimicrobiana e antioxidante do revestimento dos biocompósitos produzidos em contacto com filés de camarão e compará-la com embalagem de plástico sintético convencional (monitoramento da preservação sob refrigeração durante 30 dias).

4 MATERIAL E METÓDOS

4.1 Locais de Desenvolvimento da Pesquisa

A pesquisa foi desenvolvida na Universidade Federal de Alagoas (UFAL), *campus* A.C. Simões, no Laboratório de Bioquímica do Parasitismo e Microbiologia Ambiental (LBPMA). Algumas análises foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia do Grupo de Pesquisa em Síntese, Análises Químicas e Caracterização de Materiais (GSAQCM) do Instituto Federal de Alagoas (IFAL-Maceió) e no Laboratório de Resistência em Materiais do Instituto Federal do Pará (IFPA-Belém).

4.2 Reagentes

Para a preparação dos filmes foram utilizados: extrato aquoso de folhas de orégano (*Origanum vulgare* L.) desidratado (Kitano®), goma xantana 200 produzida por *X. campestris*, adquirida da MV Química®, alginato de sódio (C₆H₇O₆Na) adquirido da Êxodo Científica®, argila montmorilonita K10 (SiO₂/Al₂O₃) com comprimento de área de 220-270 g/m², adquirido da Sigma-Aldrich®, glicerol (C₃H₈O₃) e ácido acético glacial (C₂H₄O₂) ambos adquiridos da Vetec Química Fina.

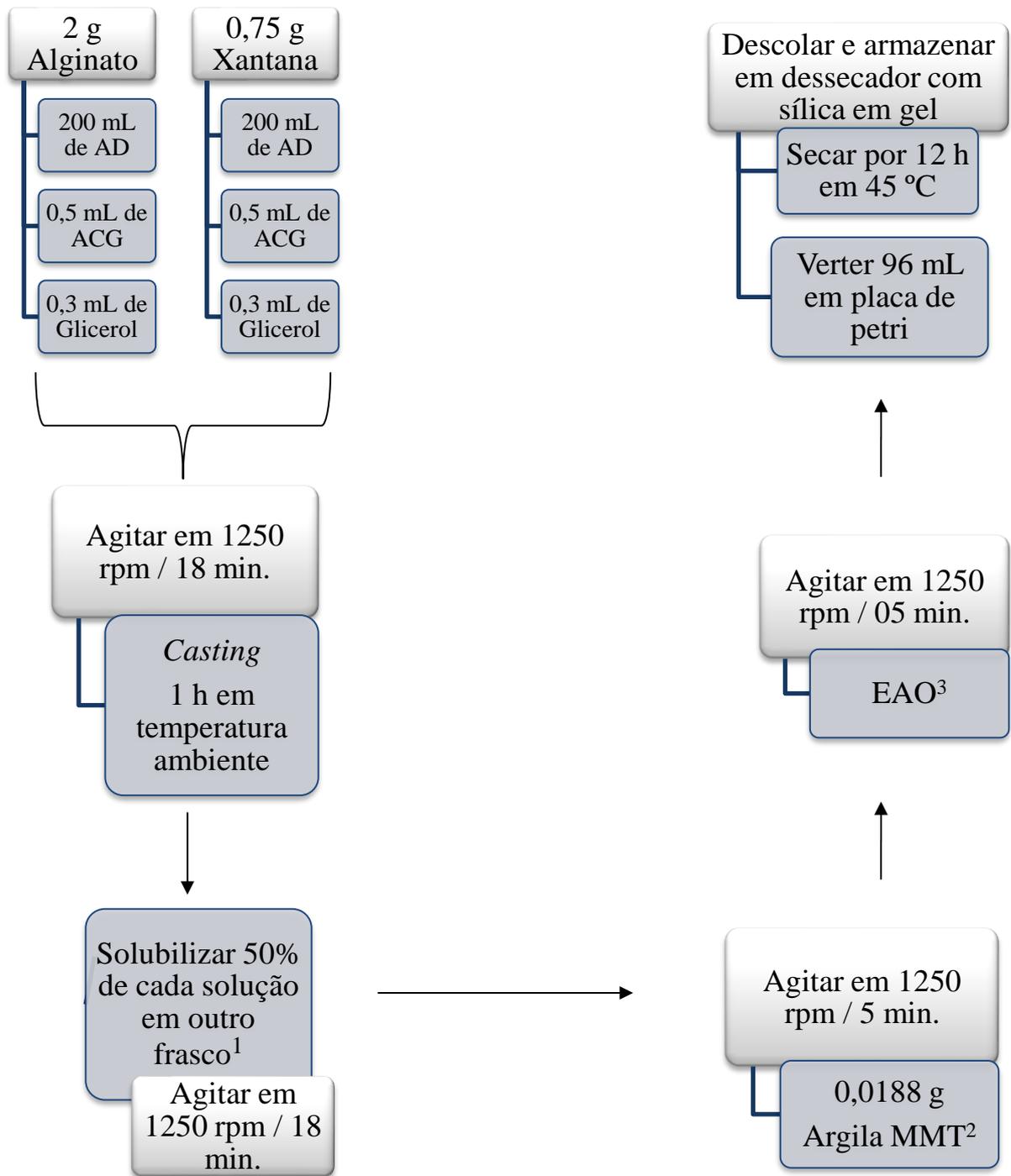
4.3 Obtenção do Extrato Aquoso de Orégano (EAO) por Infusão

Para obtenção do extrato aquoso de orégano (EAO) foram utilizados 50 g de folhas desidratadas de *Origanum vulgare* L, obtidas comercialmente, e 600 mL de água destilada fervente para a infusão. Cada frasco foi tampado com folhas de papel alumínio e deixado em repouso sobre a bancada por 2h até atingir a temperatura ambiente. Em seguida, cada frasco contendo a infusão foi submetido a agitação magnética (250 rpm) por 30 min. Posteriormente, a infusão foi filtrada utilizando papel filtro Whatman n.1 em funil, e o EAO total foi acondicionado em frasco de vidro âmbar (1 L) e levado para refrigeração (6 ±1 °C) para usos posteriores.

4.4 Elaboração do biocompósito com EAO e argila Montmorilonita (MMT)

Para as diferentes formulações dos biocompósitos de Alginato de Sódio (AS), Alginato-Xantana (AX), Alginato-Montmorilonita (AM), Alginato-Xantana-Montmorilonita (AXM) e AXM com 9 diferentes concentrações de EAO (mg/mL): 0,083; 0,207; 0,249; 0,332; 0,415; 0,622; 0,83; 1,2; 1,66 mg/mL, foram preparadas 2 soluções diferentes de AS e xantana como ilustrado na figura 8.

Figura 8 – Esquema para elaboração dos biocompósitos



Legenda: AD: Água destilada; ACG: Ácido Acético Glacial; EAO: Extrato Aquoso de Orégano; MMT: Montmorilonita; ¹Etapa para continuar a produção das soluções de AX e AXM. As soluções de AS e AM são agitadas separadamente; ²Etapa para produzir as soluções de AXM e AM. A solução de AS e AX já podem ser vertidas em placas de Petri secas; ³Etapa para produzir as diferentes soluções de AXMEAO. A solução de AXM já pode ser vertida e seca.

Fonte: AUTORA (2023).

4.5 Determinação dos fenólicos totais do EAO e da solução do biocompósito

Os compostos fenólicos foram determinados em espectrofotômetro FENTO XI- UV/Vis com varredura, utilizando-se o método de Folin-Ciocalteu (reagente Merck®), seguindo as instruções de Dias (2016), com leitura da absorbância das amostras a 725 nm, no decorrer do primeiro minuto, e comparação com curva padrão de ácido gálico (20 a 100 mg/mL e $R^2 = 0,992$). Os resultados de compostos fenólicos totais (FT) foram expressos em equivalentes mg de ácido gálico por mL de extrato (EAG/mL). Cada leitura foi realizada em triplicata.

4.6 Determinação da atividade antioxidante pelo método de sequestro de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

A capacidade do EAO e dos biocompósitos para sequestrar o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) foi avaliada seguindo o método descrito por Brand-Williams (1995), com algumas adaptações. Uma alíquota de 0,5 mL de cada uma das diferentes concentrações de EAO (0,041; 0,083; 0,0207 e 0,0249 mg/mL) e das diferentes formulações de biocompósitos foi adicionada a 1,5 mL da solução de radical de DPPH. A absorbância foi registrada a 517 nm, em método de espectrofotômetro UV-Vis com varredura (FEMTO 800-Xi), até atingir o platô (tempo de 0 a 15 minutos). Cada leitura foi realizada em triplicata. A capacidade antioxidante foi calculada de acordo com a equação 1 a seguir:

Eq. 1:

$$\% = \frac{Absorbância_{controle} - Absorbância_{amostra}}{Absorbância_{controle}} \times 100$$

4.7 Teste Biológico: EAO, biocompósitos e Aplicação como revestimento em filés de camarões

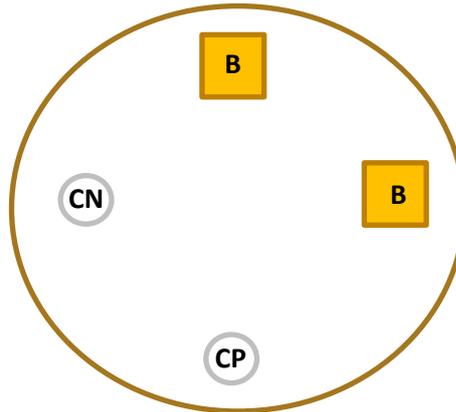
4.7.1 Capacidade Antimicrobiana *in vitro* com EAO e biocompósito

A avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos com EAO foi realizada por método de disco-difusão de Kirby-Bauer (1966), com algumas modificações: em cada disco, adicionou-se 01 mL de EAO em três concentrações: 83 µg, 66 µg e 41 µg/mL, e 01 mL de água destilada esterilizada como controle negativo. Como controle positivo, foram utilizados discos de 30 µg de antimicrobianos (Amicacina e Ofloxacina). Nesse teste, utilizaram-se cepas bacterianas

Gram-negativas *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, e a Gram-positiva *Staphylococcus aureus*, disponíveis na bacterioteca do LBPMA/UFAL.

Para a avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos com biofilme, os discos de papel foram substituídos por tiras de filme com EAO com 1 cm² de área (Figura 9).

Figura 9 – Esquema da avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos com tiras de biocompósitos



Legenda: CN: Controle Negativo; CP: Controle Positivo; B: Tiras de biocompósitos de 1 cm² de área.

Fonte: AUTORA (2023).

4.7.2 Revestimento de filés de camarões com a solução do biocompósito

Cerca de 1000 g de Camarões Vila Franca frescos [*Litopenaeus schmitti* (= *Penaeus schmitti*)] foram adquiridos diretamente dos pescadores que efetuaram a coleta, no ponto de vendas municipal da Praia de Ponta Verde, em Maceió (AL), devidamente acondicionados em embalagens contendo gelo e transportados para o laboratório (LBPMA), onde foram devidamente tratados para remoção do exoesqueleto, cefalotórax e intestino. Os filés dos camarões, então, foram pesados (um total de cerca de 500 g), separados em dois grupos de cerca de 250 g cada, e lavados com água destilada. O Grupo 1 foi considerado a amostragem *in natura*, e o Grupo 2 foi submetido ao cozimento em 1 L de água fervente (99 ± 1 °C) por 17 min. Em seguida, alíquotas de massa dos filés de camarões (30 g) de cada grupo foram separadas e pesadas.

Para os ensaios de revestimento foram realizadas as seguintes formulações: Xantana-Alginato-Montmorilonita, Xantana-Alginato-Montmorilonita e concentrações de EAO (mg/mL): 0,083 e 1,66. Cada três amostras dos dois grupos de camarões foram submersas nas diferentes soluções de biocompósitos. Em seguida, as triplicatas de cada tratamento foram armazenadas no congelador por -17 ± 2 °C por 30 dias, para análises posteriores. Para um

tratamento controle de embalagem, 3 amostras de 30 g de camarões de ambos os grupos também foram armazenadas em sacos plásticos sintéticos.

4.7.2.1 Extrato de carotenoides totais dos filés de camarão

Para extração dos pigmentos de carotenoides dos filés de camarões, seguiu-se orientações de Lira *et al.* (2016), com algumas modificações. Cada amostra de camarão por grupo, contendo um tipo de revestimento (e o controle de embalagem plástica) foi colocada em um liquidificador e liquefeita com Etanol 99,8° (100 mL/30 g de massa de filé) durante 5 min. Em seguida, centrifugou-se cada extrato obtido a 4.000 rpm, a 0 °C por 8 min. Os sobrenadantes foram retirados e filtrados em papel filtro Whatman n.1 e rapidamente armazenados em frascos de vidro tipo vacina/remédio até o topo, para evitar oxidação. Os frascos foram armazenados na geladeira a -17 °C (± 1 °C) até o dia seguinte, para realização dos testes para capacidade antioxidante e carotenoides totais.

4.7.2.2 Conteúdo total de carotenoides e atividade antioxidante dos extratos de filé de camarão

Seguindo as orientações de Lira *et al.* (2016), em espectrofotômetro UV-Vis com varredura (FEMTO 800-Xi), efetuou-se medida da absorvância em 470 nm de 01 mL de cada extrato etanólico de file de camarão tratado. Como “branco de referência” utilizou-se 01 mL do mesmo Etanol utilizado para o preparo dos extratos. O conteúdo de carotenoides foi determinado pela equação 2:

$$\text{Eq. 2:} \quad \text{Carotenoides (mg)} = \frac{A \times \text{vol} \times 1000}{A_{1\%}^{1\text{cm}} \times 100}$$

Sendo que: “A” = absorvância a 470 nm; “vol”= volume (mL) usado na extração de carotenoides; “ $A_{1\%}^{1\text{cm}}$ ” = é o coeficiente de absorção por 1% da mistura de carotenos desconhecidos a 2500 (valor arbitrário para fornecer uma estimativa de do teor total de carotenoides de um extrato).

Para a determinação da atividade antioxidante, misturou-se 01 mL de cada extrato etanólico com 0,5 mL de DPPH, e após repouso em ambiente escuro por 30 min, mediu-se a absorvância a 517 nm. Para amostra controle, substituiu-se o extrato por 01 mL de Etanol. A atividade antioxidante foi determinada segundo a equação 3:

$$\text{Eq. 3:} \quad \text{Atividade(1\%)} = \frac{1 - \text{Amostra}_{\text{branco}}}{\text{Amostra}_{\text{controle}}} \times 100$$

Sendo que: “Amostra branco” = absorvância da mistura de reação de cada extrato de carotenoide e DPPH; “Amostra Controle” = absorvância da mistura do controle (etanol) com DPPH.

4.7.2.3 Detecção de coliformes termotolerantes em filés de camarão

Para as amostras de filés de camarões cozidos e *in natura* revestidos com as soluções poliméricas, e de controle (embalados com plástico sintético), após 30 dias de congelamento a -17°C (± 1), a detecção de bactérias do grupo coliforme foi efetuada pela técnica dos tubos múltiplos, seguindo orientações de Chagas *et al.* (2019) com adaptações: na etapa presuntiva, após semeio das amostras obtidas em 10 mL de NaCl a 0,85%, alíquotas de 1 mL de cada uma de três diluições decimais seriadas (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) foram repicadas em tubos de ensaio contendo 9 mL Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) esterilizado e um tubo de Durhan invertido no mesmo, os quais foram incubados por até 48 h a 35 (± 1) $^{\circ}\text{C}$. A partir das culturas nos tubos que apresentaram presença de gás no seu interior e turvação do meio, alíquotas de 1 mL foram transferidas para novos tubos de ensaio contendo 9 mL de Caldo Bile Verde Brilhante 2% esterilizado e um tubo Durhan invertido, os quais foram incubados conforme anteriormente, para prova confirmatória de coliformes totais. Em seguida, as amostras com gás em seu interior foram inoculadas em meio *Escherichia coli* (EC) em tubos de ensaio contendo novos tubos Durhan, sendo incubadas a 35°C por 48 h para observação de turbidez e produção de gás. Simultaneamente, tais amostras foram inoculadas também em meio Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) contido em placas de Petri, e incubadas da mesma forma, para observação do possível crescimento e contagem das colônias.

4. 8 Caracterização dos biocompósitos

4.8.1 Coloração

A análise instrumental da cor dos biofilmes foi realizada conforme instruções de Cárdenas-Pérez *et al.* (2017), com algumas modificações, utilizando o *software* Colorímetro versão 1.6.6.5 disponível por *Lab Tools*. As medidas de luminosidade (L^*), variação de cor entre vermelho e verde (a^*), variação de cor entre amarelo e azul (b^*) e diferença entre cores (ΔE) foram efetuadas em cinco pontos equivalentes e diferentes dos filmes em todas as formulações.

4.8.2 Análise de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

As análises dos biocompósitos foram realizadas em espectrofotômetro Shimadzu (modelo IR-Affinity-1). Os espectros foram analisados em faixa de comprimento de onda entre 600 e 4000 cm^{-1} , e número de *scan* de 64, com acessório de refletância total atenuada (ATR). As amostras foram analisadas em forma de filmes finos com média de espessura de 0,10 mm. Os ensaios foram realizados com as seguintes formulações: Xantana-Alginato, Xantana-Alginato-Montmorilonita, Alginato-Montmorilonita, Alginato, Xantana-Alginato-Montmorilonita e concentrações de EAO (mg/mL): 0,083; 0,207; 0,249; 0,332; 0,415; 0,622; 0,83; 1,2; 1,66. Cada ensaio foi realizado em triplicata e os resultados obtidos foram tratados no *software Essential FTIR®*.

4.8.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva por raio-x (EDS)

As análises da morfologia dos biocompósitos foram realizadas em MEV da TESCAN (modelo VEGA 3 LMU), com Sistema de Microanálise – EDS da Oxford (modelo AZTec Energy X-Act, resolução 129 eV). Os filmes foram metalizados com ouro durante 5 minutos (corrente de 10 mA em ambas) em metalizador quarum Q150 ES. A varredura das amostras ocorreu em diferentes pontos com ampliação de foco entre 50x e 2kx.

4.8.4 Medida de espessura

A espessura de cada biocompósito foi determinada com a utilização de um micrômetro manual (Mitutoyo/micrometer, Japão) com 0,001 mm de precisão, segundo a norma ASTM D6988-13 em cada formulação dos filmes. Foram realizadas cinco medições aleatórias de cada filme e os valores médios foram utilizados para os cálculos das propriedades mecânicas.

4.8.5 Propriedades Mecânicas

Para determinação das propriedades mecânicas (Elasticidade, deformação e tensão), utilizou-se a metodologia empregada por ASTM D882-10 (2010) e Máquina Universal de Ensaio da Arotec (modelo WDW-300E). Foram preparadas as seguintes formulações: Xantana-Alginato, Xantana-Alginato-MMT, Alginato, Alginato-MMT, Alginato-Xantana-MMT e concentrações de EAO (0,083; 0,207; 0,249; 0,332; 0,415; 0,622; 0,83; 1,2; 1,66 mg/mL). Para cada formulação, obteve-se corpos de prova de 8 cm de comprimento e 1 cm de largura. O ensaio realizado consistiu em fixar os corpos de prova nas garras do equipamento com distância

inicial de 50 mm e velocidade da sonda de 100 mm/min até ruptura total. Os ensaios foram analisados em quintuplicata. Os dados foram obtidos através do *software* WinWdw.

4.8.6 Intumescimento

A capacidade dos filmes poliméricos secos de absorver água foi analisada seguindo a metodologia descrita por Cao, Fu & He (2007). Cada formulação dos filmes foi cortada em tiras de 2,5 cm² e armazenados por 24 h em dessecador com sílica em gel. Em seguida, as tiras foram pesadas (W_1) e submersas em 20 mL de Água destilada à temperatura ambiente por 2 min. Com auxílio de uma pinça, as amostras foram retiradas da água, colocadas em papel filtro para retirar o excesso de água, e pesadas (W_2). Cada processo foi realizado em triplicata. O valor de intumescimento foi calculado de acordo com a equação 6 a seguir:

Eq. 6

$$\% = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \times 100$$

Sendo W_1 e W_2 a representação do peso da amostra seca e úmida, respectivamente.

4.8.7 Umidade e solubilidade

O teor de Umidade foi determinado pela perda de peso das amostras de cada formulação, no qual tiras de 4 cm x 2 cm, foram acondicionadas em estufa a 105±2 °C durante 24 horas, sendo calculado pela equação 4:

Eq. 4:

$$X (\%) = \frac{Massa_i - Massa_f}{Massa_i} \times 100$$

Sendo: X o teor de umidade (%), M_i a massa inicial do biocompósito e M_f a massa final do biocompósito seco.

Os testes de solubilidade em água foram realizados pelo método de Zamudio-Flores *et al.* (2010) com algumas modificações. As amostras dos biocompósitos foram separadas em tiras de tamanho 4 cm² de área e mantidas em dessecador com sílica em gel por sete dias. Em seguida,

as amostras foram pesadas, imersas em 20 mL de água deionizada e submetidas à agitação magnética a 200 rpm por 05 min em temperatura ambiente.

4.8.8 Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA)

Foi realizada pelo método gravimétrico baseado na ASTM 969 (1995), com algumas modificações. Cada formulação dos biocompósitos com 25 mm foi colocada em uma célula de permeação e armazenada em dessecador de vidro, em temperatura de 25 ± 2 °C. Para manter a umidade relativa (UR) de 75% ao longo do filme, colocou-se CaCl_2 anidro (0% UR) ao lado das amostras e adicionou-se uma solução saturada de NaCl (75% UR) no dessecador. Após duas horas, foi realizada a primeira pesagem do material, as demais foram realizadas a cada 24 h por até três dias. Assim, PVA foi determinada seguindo a equação 5:

Eq. 5:
$$\text{PVA} = \frac{w \cdot L}{A \cdot t \cdot \Delta p}$$

Sendo: w igual o peso da água que permeou a película (g), L 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 PVA entre os dois lados do filme (kPa).

4.8.9 Análise Estatística

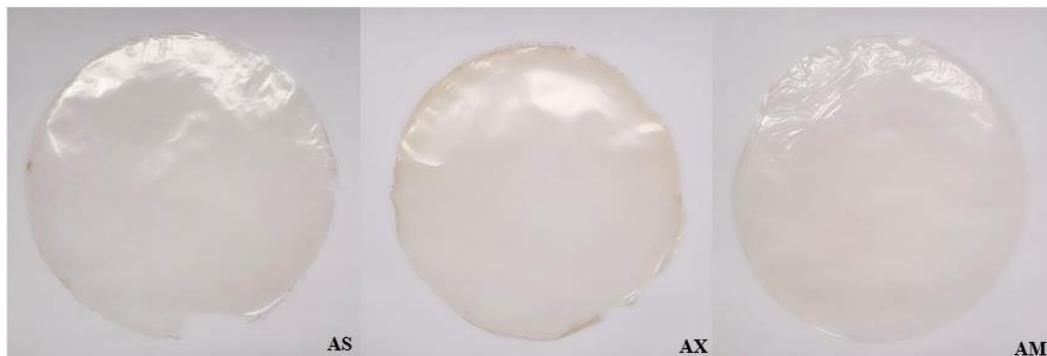
Os diferentes testes foram realizados em triplicatas e quintuplicatas. Os dados foram depositados no programa *Microsoft Excel 365*®, e submetidos a análise estatística por teste ANOVA e Tukey utilizando o programa JAMOVI®, com 95% de confiança e $p \geq 0,05$. Os valores foram expressos em média \pm desvio padrão.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Filmes poliméricos com Xantana, Alginato de Sódio, Argila e concentrações de EAO

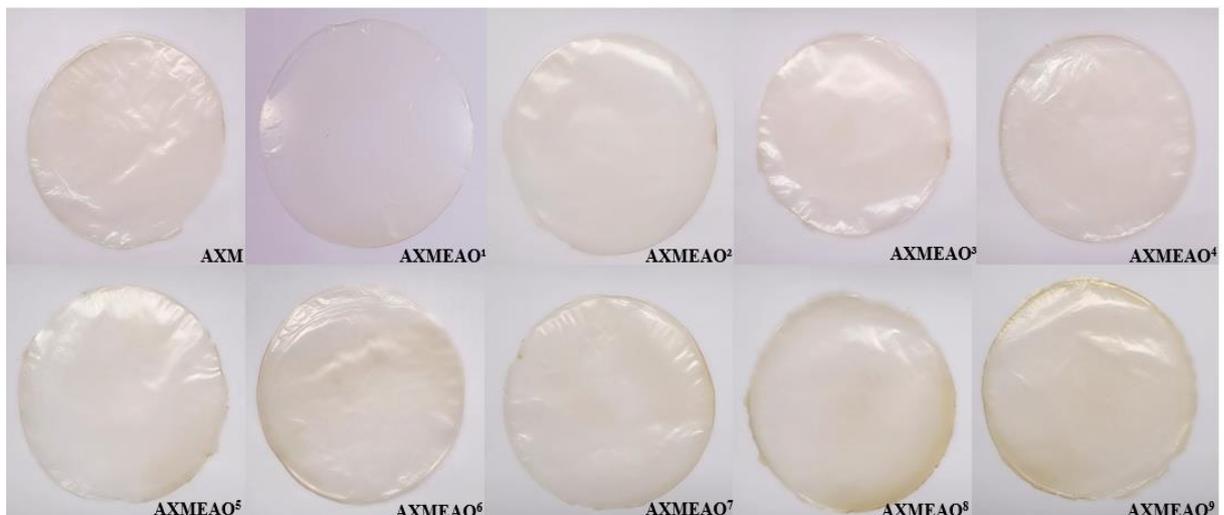
A figura 10 e 11 apresentam os filmes produzidos de Alginato de Sódio (AS), Alginato-Xantana (AX), Alginato-Montmorilonita (AM), Alginato-Xantana-Montmorilonita (AXM), e AXM com diferentes concentrações de extrato aquoso de orégano de EAO¹⁻⁹ (0,083; 0,207; 0,249; 0,332; 0,415; 0,622; 0,83; 1,2; 1,66 mg/mL), respectivamente.

Figura 10 – Filmes produzidos a partir de Xantana, alginato de sódio e argila montmorilonita



Legenda: AS: Alginato de sódio; AX: Alginato-Xantana; AM: Alginato-Montmorilonita; AXM: Alginato-Xantana-Montmorilonita (Controle). Fonte: AUTORA (2023).

Figura 11 – Filmes produzidos a partir de Xantana, alginato de sódio, argila montmorilonita e diferentes concentrações de extrato aquoso de orégano (EAO)



Legenda: AXM: Alginato-Xantana-Montmorilonita (Controle); 1-9 (diferentes concentrações de EAO) – mg/mL: 1- 0,083; 2- 0,207; 3- 0,249; 4- 0,335; 5- 0,415; 6- 0,622; 7- 0,83; 8- 1,2; 9- 1,66. Fonte: AUTORA (2023).

A análise macroscópica dos filmes, após remoção da placa de Petri, revelou um padrão: todos eram maleáveis e flexíveis; apresentaram um lado liso, contínuo e sem fissuras, e o verso

sendo áspero e sem fissuras. Com exceção do filme A (Figura 9), que demonstrou ser visualmente mais semelhante a um plástico sintético, foram facilmente removidas das placas. Conforme o acréscimo de diferentes concentrações de EAO (Figura 10), os filmes apresentaram escurecimento visual da coloração, sendo o filme AXMEAO⁹ o filme mais escuro entre todas as amostras, o que pode ser observado a partir do teste de Colorimetria descrito no item a seguir.

5.2 Teste de Colorimetria

O espaço de cor L*, a*, b*, conhecido como espaço de cor CIELAB, é amplamente utilizado para avaliar as variações de cores, e está correlacionado com a percepção visual, sendo muito utilizadas em indústrias como: plástico, tintas, impressão, alimentos e têxtil (TAKATSUI, 2011). E como as propriedades de cor e brilho dos plásticos das embalagens estão geralmente associadas à imagem do produto, o que por sua vez, acaba por influenciar na aceitação e venda para o consumidor que busca uma boa apresentação e transparência na escolha do produto (PEREIRA, 2011; PAGNO *et al.*, 2016, MONTEIRO, 2021). As diferentes formulações dos filmes apresentaram diferentes resultados nos seguintes parâmetros: luminosidade (L*) com variações entre cores claras (=100) e escuras (=0), variações de cores* entre vermelho (+) e verde (-), variações de cor b* entre amarelo (+) e azul (-) e diferença entre cores (ΔE^*) a partir da média dos valores de L*, a* e b* (Tabela 1).

Tabela 1 – Colorimetria dos biocompósitos à base de Xantana, alginato de sódio, argila montmorilonita e diferentes concentrações de extrato aquoso de orégano (EAO).

Filme	Parâmetros de Cor			
	L*	a*	b*	ΔE^*
Controle (AXM)	12,18 ± 0,08 ^g	1,00 ± 0,06 ^e	1,34 ± 0,60 ^c	0,8 ± 0,40 ^b
AS	2,76 ± 1,38 ^{cd}	1,00 ± 0,01 ^e	0,56 ± 0,28 ^b	2,8 ± 1,40 ^b
AX	5,10 ± 2,55 ^{cd}	0,56 ± 0,28 ^{cd}	0,32 ± 0,16 ^b	5,1 ± 1,50 ^d
AM	8,26 ± 4,13 ^{ef}	0,36 ± 0,18 ^{bc}	0,08 ± 0,04 ^a	8,2 ± 4,20 ^{cd}
AXMEAO ¹	2,68 ± 1,34 ^{cd}	1,16 ± 0,58 ^{ef}	0,96 ± 0,48 ^{bc}	2,7 ± 1,35 ^b
AXMEAO ²	0,40 ± 0,20 ^b	0,24 ± 0,12 ^b	1,40 ± 0,70 ^{bc}	0,4 ± 0,20 ^b
AXMEAO ³	3,14 ± 1,57 ^e	0,79 ± 0,39 ^e	0,56 ± 0,28 ^b	3,1 ± 1,50 ^{cd}
AXMEAO ⁴	2,04 ± 1,02 ^{cd}	0,04 ± 0,02 ^a	3,00 ± 1,50 ^{cd}	2,0 ± 1,00 ^c
AXMEAO ⁵	4,42 ± 2,21 ^{de}	0,18 ± 0,09 ^b	4,08 ± 2,04 ^d	4,3 ± 2,10 ^{cd}
AXMEAO ⁶	0,16 ± 0,08 ^a	0,10 ± 0,05 ^b	2,26 ± 1,13 ^{bc}	0,1 ± 0,05 ^a
AXMEAO ⁷	0,60 ± 0,30 ^b	0,06 ± 0,03 ^a	6,60 ± 3,30 ^d	0,4 ± 0,20 ^b
AXMEAO ⁸	1,80 ± 0,90 ^{cd}	0,54 ± 0,27 ^{cd}	3,10 ± 1,55 ^{cd}	1,8 ± 0,90 ^c
AXMEAO ⁹	1,44 ± 0,72 ^c	0,68 ± 0,34 ^{de}	10,68 ± 5,34 ^e	0,6 ± 0,30 ^b

Legenda: AS: Alginato de sódio; AX: Alginato-Xantana; AM: Alginato-Montmorilonita; AXM: Alginato-Xantana-Montmorilonita (Controle); 1-9 (diferentes concentrações de EAO) – mg/mL: 1- 0,083; 2- 0,207; 3- 0,249; 4- 0,335; 5- 0,415; 6- 0,622; 7- 0,83; 8- 1,2; 9- 1,66. As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não se diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

A partir da amostra controle (AXM) pode-se observar diminuição da Luminosidade- L^* conforme a variação da composição do tipo de filme. A amostra AM apresentou maior luminosidade entre as formulações ($8,26 \pm 4,13$), e todas as amostras apresentaram tendência de luminosidade para cores escuras, o que pode ser confirmado a partir dos resultados em a^* e b^* que demonstrou uma variação de cores entre vermelho e amarelo, respectivamente.

Biocompósitos à base de alginato de sódio ou xantana apresentam uma tendência a uma transparência com tom levemente amarelado (GAO *et al.*, 2017; PEREIRA *et al.*, 2019), o que pode ser observado e confirmado com os resultados obtidos neste trabalho. Os dados obtidos se assemelham também aos de Jahed *et al.*, (2017), Nawab *et al.*(2017) e García-Betanzos *et al.* (2017), confirmando o comportamento inicial de coloração amarelada que o alginato de sódio, a GX, e os compostos fenólicos do EAO incorporados com a MMT produz.

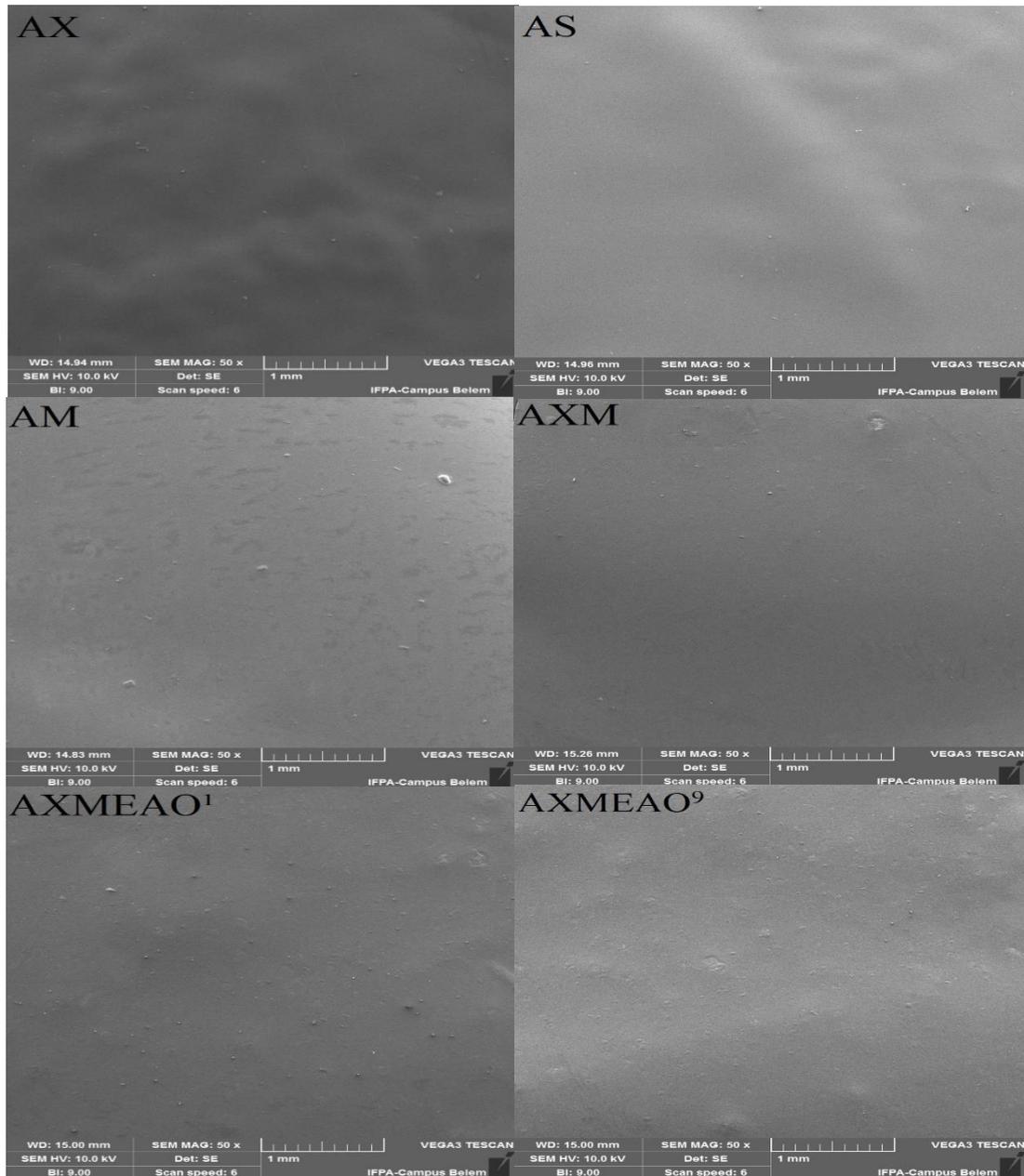
Geralmente os invólucros plásticos devem ter alto brilho e alta transparência para uma boa apresentação visual dos produtos (NAWAB *et al.*, 2017). Esses parâmetros também são importantes para a caracterização dos filmes, pois estão relacionados com a matéria-prima utilizada em sua elaboração.

A adição de diferentes concentrações de EAO às combinações poliméricas (alginato de sódio com ou sem montmorilonita e/ou xantana) influenciaram diretamente a diferença total de cor (ΔE^*), sendo que cada concentração e composição apresentou valores maiores diferentes a partir da amostra controle-AXM, com exceção das amostras AXMEAO: 2,6,7 e 9 (Tabela 1). Assim, os dados confirmam que a cor original dos filmes biodegradáveis é influenciada diretamente pelo tipo e pela concentração de compostos adicionados e que se ligam estruturalmente às soluções formadoras de filme (NAWAB *et al.*, 2017). Além disso, macroscopicamente no lado áspero dos filmes aparecem pequenos grânulos de material não dissolvido, o que pode ser mais bem observado nas características morfológicas dos filmes poliméricos que foram aplicados no teste de microscopia eletrônica de varredura (MEV) abaixo.

5.3 Teste de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva por raio-x (EDS)

A MEV foi utilizada para verificar presença ou ausência de poros ou fissuras nos filmes poliméricos. Na figura 12 estão representadas as fotomicrografias das superfícies das seguintes formulações dos filmes poliméricos formados: AS, AX, AM, AXM, AMXEAO¹ e AXMEAO⁹. As imagens foram geradas com ampliação de 50 vezes.

Figura 12 – Fotomicrografias das superfícies dos filmes poliméricos.



Legenda: AS: Alginato de Sódio; AX: Alginato-Xantana; AM: Alginato-Montmorilonita; AXM: Alginato-Xantana-Montmorilonita (Controle); AXM1-9 (diferentes concentrações de EAO) – mg/mL: 1- 0,083, 9- 1,66.

Fonte: AUTORA (2023)

A imagem gerada do filme de AS (Figura 12) revela a formação de filme homogêneo, com superfície lisa, uniforme e contínua, indicando uma boa solubilização de cada componente. O que também pode ser observado nos filmes produzidos a base de alginato de sódio e glicerol de Farias (2018), e de alginato de Gonçalves *et al.* (2019). No filme de AX, observa-se a presença de grânulos de xantana não dissolvidos totalmente, porém com uma superfície lisa, contínua e sem presença de poros, o que pode ser devido a uma boa reação das soluções de

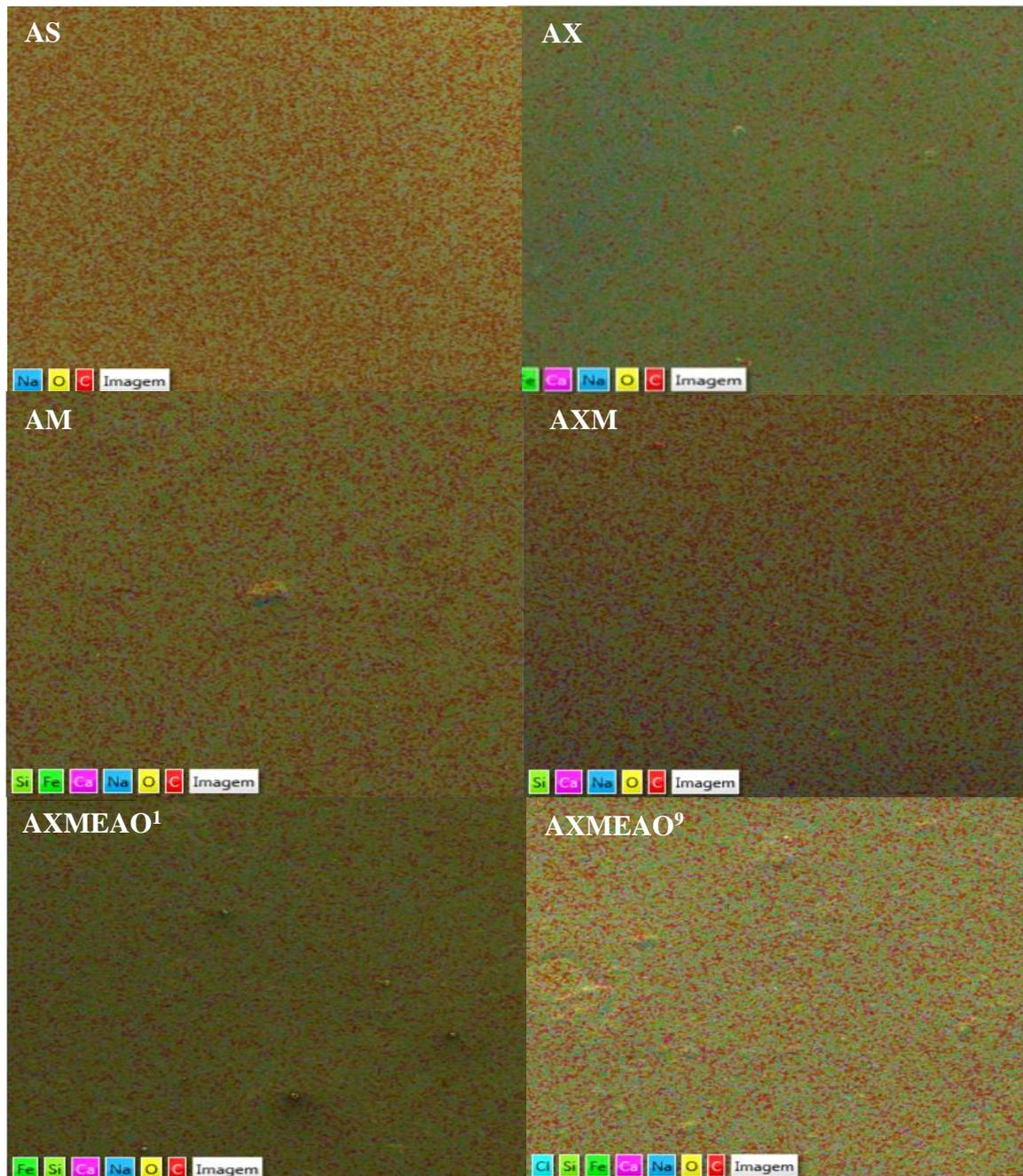
xantana e alginato de sódio, pois estudos como de Spada *et al.* (2014) e Nejadmansouri *et al.* (2020) com goma xantana e glicerol, apresentaram macroscopicamente uma estrutura lisa, porém ao ser visualizada por MEV, observaram-se grandes quantidades de poros irregulares e não uniforme.

Observa-se que a amostra AM também compartilha uma superfície lisa e uniforme, com aparentes fissuras, porém com características diferentes das amostras anteriores pois não apresentam rompimentos ou poros, mas sim pequenos grânulos de argila montmorilonita. Esses dados são semelhantes ao de Bourakadi *et al.* (2022) ao obter filmes de quitosana, alginato e montmorilonita. As amostras AXM, AXMEAO¹ e AXMEAO⁹ apresentaram características morfológicas semelhantes: estrutura parcialmente lisa, com algumas elevações devido a argila montmorilonita, porém nenhum rompimento ou fissura. A adição de baixa ou alta concentração de EAO, isto é, amostras AXMEAO¹ e AXMEAO⁹ respectivamente, não influenciou visualmente na estrutura microscópica dos filmes.

A Espectroscopia de energia dispersiva por raios-x (EDS) integrada ao MEV é uma análise semi-qualitativa e quantitativa que permite identificar os elementos químicos presentes na amostra, desde o carbono ao urânio com limite de detecção entre 0,1% e 0,5 % em massa, emapeamento químico de superfícies de até sete elementos(VIERA *et al.*, 2021). Dessa forma, a partir das amostras utilizadas para o MEV, teste de EDS também foi aplicado conforme observado na Figura 13 adiante.

O alginato de sódio é rico em sais minerais como sódio e cálcio, o que pode ser observado na imagem de AS (Figura 13) onde prevaleceu o aparecimento de Na, além de interações entre carbono e oxigênio. Com a adição da goma xantana na amostra AX, houve interações entre sais de cálcio, sódio e ferro. Já na amostra AM com a adição de argila, verificou-se aparecimento da molécula Si, provavelmente da interação de SiO própria da composição da argila montmorilonita (MMT), além de ligações Ca, Fe, O, C e Na, sendo os três últimos provenientes também do alginato. Nas amostras de AXM, AXMEAO¹ e AXMEAO⁹ observaram-se moléculas semelhantes das composições das amostras anteriores, e na amostra de maior concentração de orégano (AXMEAO⁹) observou-se um aparecimento de Cl, o que pode ser proveniente dos sais de cloreto de sódio do alginato ou de interações entre componentes químicos do EAO, já que o orégano utilizado neste trabalho foi um produto desidratado comercialmente. Assim, para confirmar as interações entre as composições moleculares dos biocompósitos produzidos, foi realizado o teste de FTIR.

Figura 13 – Espectroscopia de energia dispersiva por raio-x (EDS) dos biocompósitos



Legenda: AS: Alginato; AX: Alginato-Xantana; AM: Alginato-Montmorilonita; AXM: Alginato-Xantana-Montmorilonita (Controle); AXM1-9 (diferentes concentrações de EAO) – mg/mL: 1- 0,083, 9- 1,66.

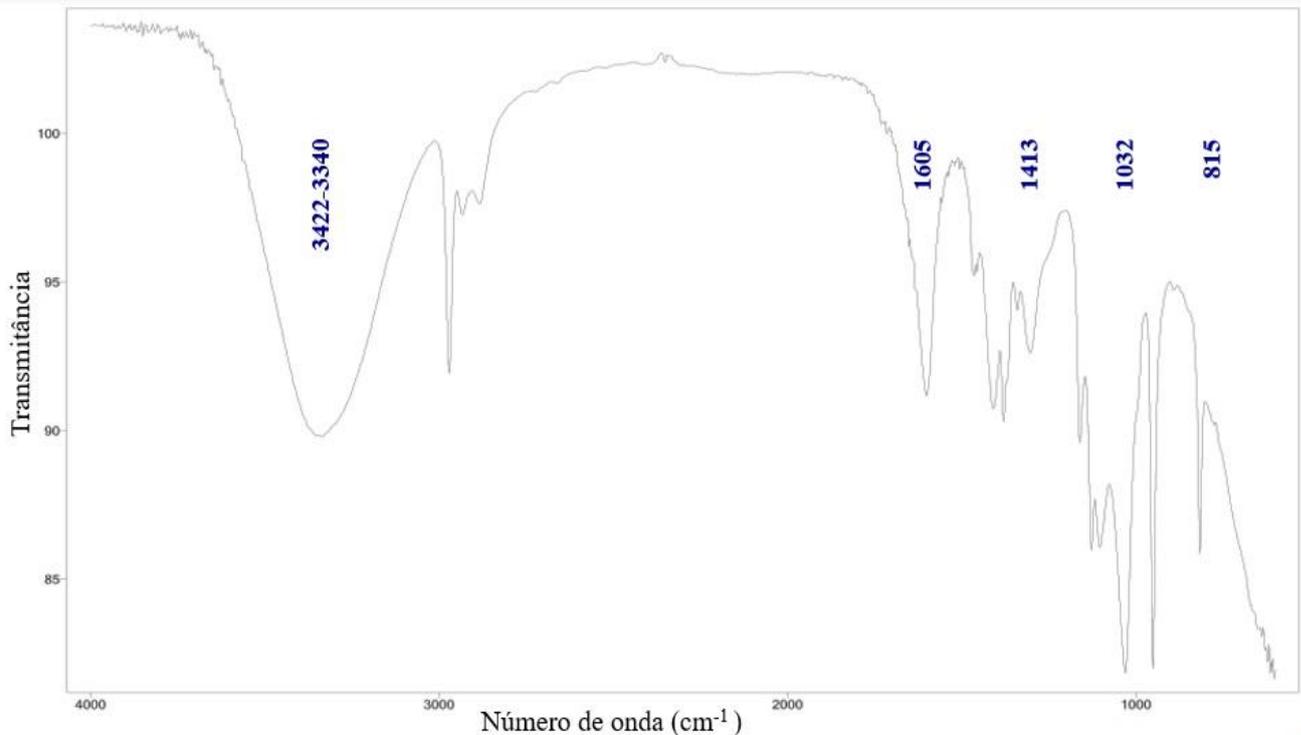
Fonte: AUTORA (2023).

5.4 Análise de Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

O FTIR é uma ferramenta poderosa e versátil na avaliação da composição molecular de amostras, e no caso dos filmes aqui estudados, para a confirmação dos componentes utilizados na sua preparação e visualização de prováveis mudanças tanto na superfície quanto em seu

interior. Na Figura 14 é apresentado um espectro no infravermelho do biofilme AXMEAO.

Figura 14 – Espectro de FTIR do filme de AXMEAO.



Fonte: AUTORA (2023).

Conforme o espectro FTIR da figura 14, destacam-se alguns picos: uma banda alargada de grupo OH em $3422-3340\text{ cm}^{-1}$, uma banda de estiramento larga em 1605 cm^{-1} comum de carbonila de ácido carboxílico, provavelmente vindo da goma xantana, como também observado nos estudos de Pawlicka *et al.*, (2019). Além disso, verifica-se as bandas de absorção de estiramento de C=C de anel aromático em aproximadamente 1413 cm^{-1} , vindo da interação entre alginato e xantana. Por fim, observa-se um estiramento de C-O de ácido carboxílico em aproximadamente 1032 cm^{-1} e dobramento =CH fora do plano em 815 cm^{-1} de anel aromático, conforme também descrito por Rajesh & Siddaramaiah (2009).

Percebe-se que a incorporação da MMT não resultou em grandes diferenças espectrais, não sendo possível observar algumas ligações químicas que compõem sua estrutura, como o grupo Si-O. Esse comportamento possivelmente se deu devido à baixíssima quantidade incorporada ao biofilme. Isso também foi observado nos estudos de Souza *et al.* (2019) com filmes incorporados de quitosana e MMT, no qual constataram apenas pequenas mudanças nas intensidades dos picos de absorção, justificando-as com a sobreposição de ligações químicas. Portanto, as pequenas mudanças nos espectros de FTIR obtidos com os biofilmes aqui

estudados devem-se à forte interação entre as moléculas dos seus diferentes componentes (alginato, xantana, MMT e os compostos do EAO).

5.5 Espessura

Na tabela 2 estão apresentados os resultados da espessura dos filmes obtidos, que variaram entre 0,03 mm e 0,10 mm. Os filmes AS e AX se apresentaram como estatisticamente diferentes da amostra controle AMX, sendo as amostras com os menores valores de espessura ($0,04 \pm 0,002$ e $0,03 \pm 0,003$, respectivamente), contudo, essas pequenas variações entre a espessura não afetam significativamente as demais características dos filmes produzidos.

Tabela 2 - Espessura dos filmes produzidos à base de goma xantana, alginato de sódio, argila Montmorilonita e diferentes concentrações de EAO

Filmes	Espessura (mm)
AXM (Controle)	$0,090 \pm 0,001^c$
AS	$0,040 \pm 0,002^b$
AX	$0,030 \pm 0,003^a$
AM	$0,070 \pm 0,001^c$
AXMEAO ¹	$0,090 \pm 0,001^e$
AXMEAO ²	$0,070 \pm 0,001^c$
AXMEAO ³	$0,080 \pm 0,005^d$
AXMEAO ⁴	$0,090 \pm 0,001^e$
AXMEAO ⁵	$0,090 \pm 0,004^{de}$
AXMEAO ⁶	$0,080 \pm 0,008^d$
AXMEAO ⁷	$0,100 \pm 0,001^f$
AXMEAO ⁸	$0,100 \pm 0,003^f$
AXMEAO ⁹	$0,100 \pm 0,001^f$

Legenda: AS: Alginato de sódio; AX: Alginato-Xantana; AM: Alginato-Montmorilonita; AXM: Alginato-Xantana-Montmorilonita (Controle); 1-9 (diferentes concentrações de EAO) – mg/mL: 1- 0,083; 2- 0,207; 3- 0,249; 4- 0,335; 5- 0,415; 6- 0,622; 7- 0,83; 8- 1,2; 9- 1,66. As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não se diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

A espessura representa um dos principais parâmetros para definir a uniformidade dos filmes, influenciando diretamente as demais propriedades. Depende diretamente do método de preparação, temperatura, quantidade de solução vertida nas molduras e do nivelamento da

superfície durante a secagem (FERNANDEZ-MARIN *et al.*, 2020). Dessa forma, para obter filmes com espessuras mais próximas possíveis, a mesma quantidade de amostra deve ser utilizada em placas de tamanho assemelhado e sem inclinação da superfície onde são preparadas (REZVANIAN *et al.*, 2016).

5.6 Propriedades mecânicas: Elasticidade, Tensão e Deformação

Na Tabela 3 podem ser observadas as propriedades mecânicas dos filmes aqui estudados, como módulo de elasticidade (E), tensão máxima (σ_{MAX}), tensão na ruptura (σ_{RUP}) e deformação máxima (D_{MA}). A elasticidade (E) apresentou comportamentos diferentes entre as composições e, principalmente, entre as concentrações de EAO incorporadas (Tabela 3).

Tabela 3 - Efeito das propriedades mecânicas em diferentes tipos de filmes.

Propriedades Mecânicas				
Filme	E (Mpa)	σ_{MAX} (Mpa)	D_{MAX} (mm)	σ_{RUP} (Mpa)
AS	1555,6 ± 17,9 ^g	36,81 ± 1,01 ^a	2,90 ± 0,20 ^c	37,20 ± 0,40 ^e
AM	892,10 ± 15,1 ^d	12,86 ± 1,87 ^b	1,40 ± 0,90 ^b	12,60 ± 1,70 ^a
AX	1110,08 ± 42,8 ^{ef}	09,21 ± 3,69 ^c	1,06 ± 0,10 ^b	8,19 ± 3,90 ^a
AXM (C)	1195,82 ± 11,9 ^f	16,60 ± 1,60 ^b	3,30 ± 0,10 ^d	16,02 ± 1,60 ^b
AXMEAO ¹	916,21 ± 13,9 ^c	916,2 ± 44,9 ^d	1,90 ± 0,70 ^c	14,30 ± 0,80 ^b
AXMEAO ²	1040,39 ± 77,7 ^e	1040,3 ± 51,1 ^e	2,02 ± 0,60 ^c	14,70 ± 0,60 ^b
AXMEAO ³	842,167 ± 17,6 ^c	842,16 ± 41,2 ^d	2,12 ± 0,50 ^c	13,20 ± 1,30 ^b
AXMEAO ⁴	919,83 ± 13,70 ^d	919,80 ± 45,1 ^e	2,13 ± 0,50 ^c	28,80 ± 6,30 ^d
AXMEAO ⁵	1052,09 ± 71,8 ^e	1052,09 ± 51,7 ^f	1,06 ± 0,10 ^b	15,10 ± 0,40 ^c
AXMEAO ⁶	1064,90 ± 65,4 ^e	1064,90 ± 52,4 ^f	0,71 ± 0,01 ^a	12,60 ± 1,60 ^a
AXMEAO ⁷	619,242 ± 28,8 ^a	619,70 ± 30,1 ^g	1,02 ± 0,10 ^b	7,67 ± 4,10 ^a
AXMEAO ⁸	889,760 ± 15,3 ^b	889,76 ± 43,6 ^d	1,30 ± 0,10 ^b	14,60 ± 0,70 ^b
AXMEAO ⁹	1709,06 ± 25,6 ^h	1709,06 ± 84,6 ^h	1,11 ± 0,10 ^b	23,90 ± 3,90 ^d

Legenda: AS: Alginato de Sódio; AX: Alginato-Xantana; AM: Alginato-Montmorilonita; AXM: Alginato-Xantana-Montmorilonita (Controle); 1-9 (diferentes concentrações de EAO) – mg/mL: 1- 0,083; 2- 0,207; 3- 0,249; 4- 0,335; 5- 0,415; 6- 0,622; 7- 0,83; 8- 1,2; 9- 1,66. σ_{MAX} : Tensão Máxima; σ_{RUP} : Tensão na ruptura, D_{MAX} : Deformação máxima. As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não se diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

De acordo com Teixeira (2019), as propriedades mecânicas dos plásticos definem sua capacidade de proteger os alimentos de danos físicos, e as condições de barreira são

influenciadas pelas condições ambientais e tipo de material incorporado. A Elasticidade, também conhecida como módulo de Young (E), é um indicador da rigidez de um filme polimérico. Portanto, quanto maior a rigidez menor será deformação elástica resultante da aplicação de uma tensão (CALLISTER, 2007). Neste estudo, observou-se que os filmes com maiores elasticidade foram: AXMEAO⁹ (1709,06 ± 25,6 Mpa), AS (1555,6 ± 17,9 Mpa), AXMEAO⁶ (1064,90 ± 65,4 Mpa) e AXMEAO⁵ (1052,09 ± 71,8 Mpa). A amostra AXMEAO⁹, que possui a maior concentração de extrato de orégano em sua composição, foi o que apresentou a maior elasticidade em comparação ao controle AXM (1195,82 ± 11,9 Mpa), podendo estar relacionado com a adição e maior concentração de EAO em sua amostra. Estes dados apresentaram características semelhantes aos estudos de Yang *et al.* (2018) que desenvolveram filmes à base de alginato de sódio.

Em relação à tensão máxima (σ_{MAX}), o filme que apresentou o menor valor foi AX (09,21 ± 3,69 Mpa) e, assim como no teste de elasticidade, o filme AXMEAO⁹ (1709,06 ± 84,6 Mpa) foi o de maior tensão, seguido por AXMEAO⁵ (1052,09 ± 51,7 Mpa). Entretanto, não é observado um padrão entre a quantidade incorporada do EAO nos diferentes tipos de filmes produzidos neste trabalho (Tabela 3). A σ_{MAX} é a condição limite de um material polimérico dentro de sua capacidade de tensão final, ou seja, é o limite empregado ao material para que ele não crie nenhum “dano”, como deformação ou qualquer tipo de “trinca”, de modo que quanto maior o valor de σ_{MAX} menos frágil e mais polimérico o material será (ZEEMAN, 2016).

Observa-se que ao incorporar argila montmorilonita (MMT) ao alginato de sódio, sua σ_{MAX} diminuiu de 36,81 ± 1,01 Mpa para 12,86 ± 1,87 Mpa, e o mesmo padrão ocorreu após a adição da goma xantana na solução de alginato (09,21 ± 3,69 Mpa). Entretanto, as diferentes concentrações de EAO à combinação dos polímeros com MMT (AXM) aumentaram a tensão, ou seja, a adição destes componentes afeta significativamente a resistência à tensão. Estudos semelhantes ocorreram nas pesquisas efetuadas por Balasubramanian *et al.* (2019) e Chen *et al.* (2022), ao incorporarem xantana e nanocompositos de TiO₂ e metilcelulose, detectando-se um aumento de tensão de 40,5–56,1 Mpa e de 44,92 ± 1,56 Mpa, respectivamente.

A ductilidade (flexibilidade) do polímero é influenciada diretamente pela fragilidade (quanto mais frágil menos dúctil). Na fratura dúctil, o material apresenta maior resistência e se deforma plasticamente sem recuperação antes de sofrer fratura. Portanto, quanto maior a resistência à moldagem, maior o alerta para a fratura dúctil e deformação permanente (SILVA *et al.*, 2017). Assim, entre os filmes estudados, o biofilme AXMEAO⁹ foi o mais dúctil.

As taxas de deformações apresentaram diferenças entre as formulações. A maior deformação foi da amostra controle (AXM) com 3,30 ± 0,16 mm, seguido por filmes de AS

($2,90 \pm 0,2$ mm) e AXMEAO⁴ ($2,13 \pm 0,5$ mm). Como nem sempre esses parâmetros apresentarão comportamento diretamente proporcional, tais diferenças não se afetam significativamente entre si (Apêndice). Por outro lado, as taxas de deformação (D_{MAX}) podem influenciar o comportamento mecânico de um polímero (CANAVEROLO, 2006), como por exemplo, as variações de temperatura ou a adição da matéria-prima para elaboração do filme ativo, que podem torná-lo maleável. Assim, é necessário otimizar formulações que suportem essas variações. Com relação à Tensão da Ruptura (σ_{RUP}), que é o momento final em que o polímero suporta a tensão para se romper, os filmes com as maiores σ_{RUP} foram: AS ($37,2 \pm 0,4$ Mpa), seguido por AXMEAO⁴ ($28,8 \pm 6,3$ Mpa) e AXMEAO⁹ ($23,9 \pm 3,9$ Mpa).

5.7 Intumescimento e Permeabilidade ao Vapor de Água

Conforme a Tabela 4 a seguir, as taxas de intumescimento neste trabalho foram relativamente altas, variando entre 58-2603% entre as composições. Após a incorporação do EAO nos filmes de AXM, o filme AXMEAO⁹ ($2603,56 \pm 99,1\%$) e AXMEAO¹ ($73,6 \pm 0,27\%$) apresentaram o maior e menor valor, respectivamente. Também se verificou que as diferentes composições dos filmes estudados sofreram variação de PVA (Tabela 4) entre 0,0010-0,0018 g.mm/h.m².kPa, sendo que a incorporação das diferentes doses de EAO aumentou sua PVA a partir da amostra controle AXM ($0,0010 \pm 0,0001$ g.mm/h.m².kPa).

Tabela 4 – Intumescimento e Permeabilidade ao vapor de água dos biocompósitos.

Filme	Intumescimento (%)	PVA (g.mm/h.m ² .kPa)
AS	$86,2 \pm 0,26^a$	$0,0012 \pm 0,0001^b$
AM	$58,02 \pm 0,58^c$	$0,0011 \pm 0,0002^b$
AX	$58,23 \pm 0,28^c$	$0,0013 \pm 0,0001^b$
AXM (C)	$621,03 \pm 0,86^h$	$0,0010 \pm 0,0001^{ab}$
AXMEAO ¹	$73,60 \pm 0,27^b$	$0,0017 \pm 0,0001^c$
AXMEAO ²	$161,29 \pm 0,22^d$	$0,0016 \pm 0,0001^c$
AXMEAO ³	$388,86 \pm 1,16^f$	$0,0017 \pm 0,0001^c$
AXMEAO ⁴	$640,50 \pm 9,70^i$	$0,0018 \pm 0,0002^c$
AXMEAO ⁵	$338,79 \pm 1,41^e$	$0,0015 \pm 0,0001^c$
AXMEAO ⁶	$589,90 \pm 1,56^g$	$0,0016 \pm 0,0001^c$
AXMEAO ⁷	$663,13 \pm 2,10^j$	$0,0017 \pm 0,0001^c$
AXMEAO ⁸	$814,90 \pm 9,60^k$	$0,0014 \pm 0,0001^{bc}$
AXMEAO ⁹	$2603,56 \pm 99,10^l$	$0,0015 \pm 0,0001^c$

Legenda: AS: Alginato de Sódio; AX: Alginato-Xantana; AM: Alginato-Montmorilonita; AXM: Alginato-Xantana-Montmorilonita (Controle); 1-9 (diferentes concentrações de EAO) – mg/mL: 1- 0,083; 2- 0,207; 3- 0,249; 4- 0,335; 5- 0,415; 6- 0,622; 7- 0,83; 8- 1,2; 9- 1,66. As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não se diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

O intumescimento está relacionado à quantidade de água que um filme seco absorve após um determinado tempo, e filmes à base de polissacarídeos como a goma xantana e alginato, com caráter hidrofílico, tendem a apresentar altas taxas de absorção de água em condições úmidas (NAGARAJAN *et al.*, 2014). Além disso, a amostra controle AXM contendo as duas soluções de alginato, xantana e orégano foi a quinta maior taxa ($621,03 \pm 8,6\%$), confirmando que a presença de grupos hidroxila (grupos polares) nos componentes poliméricos pode conferir maior natureza hidrofílica aos filmes e que houve alguma ligação, até o momento desconhecida, entre os componentes do extrato que demonstrou que o aumento do intumescimento não está diretamente proporcional com o aumento da concentração de EAO incorporada nos filmes.

De acordo com Silva *et al.* (2016), os polímeros flexíveis são classificados de acordo com os valores de permeabilidade ao vapor de água (PVA). E para filmes produzidos a base de materiais poliméricos degradáveis é importante determinar as propriedades de barreira, como a PVA, devido a sua estreita relação com reações de deterioração em alimentos. É desejável, portanto, que apresentem baixa PVA para evitar ganho de umidade, o que favorece a formação de grânulos e crescimento microbiano, além de deteriorar o aspecto e sabor do alimento (SILVA, 2011). Os filmes que apresentam valor de PVA entre 0,4 e 4,2 g.mm/h.m².kPa são considerados ineficazes, os que são considerados de eficácia moderada enquadram-se entre 0,004 e 0,4 g.mm/h.m².kPa, e entre 4×10^{-4} e 4×10^{-3} são os filmes considerados eficazes para serem considerados embalagens (ASTM E96-00, 1996). Portanto, neste trabalho todos os filmes podem ser considerados eficazes devido ao seu baixo valor de PVA.

5.8 Umidade e Solubilidade

Os filmes apresentaram teor de umidade (Tabela 5) entre 41,14-80,5%, sendo a amostra AXMEAO² a de maior umidade (80,5%). A amostra AXMEAO⁹ que antes apresentou ótimos resultados em propriedades mecânicas, aqui apresentou o segundo menor teor de umidade entre todos os resultados (43,09%). Esses resultados também mostram que após incorporar as concentrações de EAO, a partir da amostra controle AXM ($76,06 \pm 14,08$), apresentaram diferentes resultados com aumento e diminuição da umidade variando entre 43,09-80,5%.

Tabela 5 - Teor de umidade dos filmes produzidos à base de goma xantana, alginato de sódio, argila Montmorilonita e diferentes concentrações de EAO

Filmes	Umidade (%)
AXM (Controle)	76,06 ± 14,08 ^e
AS	46,78 ± 0,50 ^b
AX	41,14 ± 3,37 ^a
AM	47,90 ± 4,70 ^b
AXMEAO ¹	67,65 ± 9,88 ^d
AXMEAO ²	80,50 ± 1,62 ^e
AXMEAO ³	61,11 ± 6,61 ^d
AXMEAO ⁴	71,70 ± 11,90 ^{de}
AXMEAO ⁵	73,90 ± 13,02 ^{de}
AXMEAO ⁶	65,50 ± 8,80 ^d
AXMEAO ⁷	47,65 ± 0,12 ^b
AXMEAO ⁸	50,08 ± 1,09 ^c
AXMEAO ⁹	43,09 ± 2,04 ^a

Legenda: AS: Alginato de sódio; AX: Alginato-Xantana; AM: Alginato-Montmorilonita; AXM: Alginato-Xantana-Montmorilonita (Controle); 1-9 (diferentes concentrações de EAO) – mg/mL⁻¹: 1- 0,083; 2- 0,207; 3- 0,249; 4- 0,335; 5- 0,415; 6- 0,622; 7- 0,83; 8- 1,2; 9- 1,66. As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não se diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Segundo Cerqueira *et al.* (2012), a umidade dos filmes designa a fração de água em sua estrutura - quanto mais úmido um filme biodegradável, mais solúvel será. O que é possível comprovar nesse trabalho, visto que ao realizar os testes de Solubilidade com diferentes protocolos, todos os filmes se dissolviam em água em menos de 5 minutos, não podendo então determinar seu teor de solubilidade exata. Estudos como o de Lima (2017) relataram que os filmes à base de materiais polissacarídeos, como a goma xantana, apresentam propriedades interessantes como as mecânicas e ópticas, no entanto, exibem alta sensibilidade à umidade.

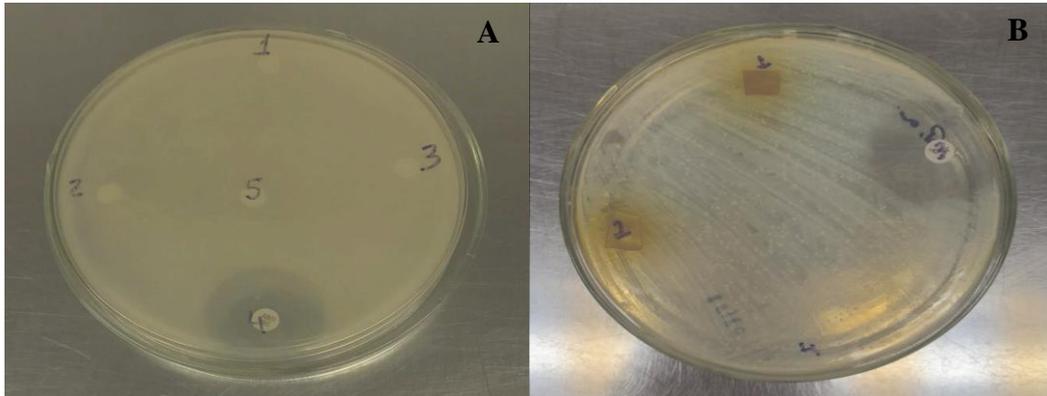
5.9 Testes biológicos do revestimento de camarões: atividade antimicrobiana, capacidade antioxidante e conteúdo de fenóis e carotenoides totais

5.9.1 Atividade antimicrobiana do EAO e biofilme

A Figura 15 apresenta o aspecto das culturas de *E. coli* e *P. aeruginosa* frente,

respectivamente, a diferentes concentrações do EAO e aos filmes com ele incorporados, pelo teste de Kirby-Bauer. Verificou-se que, nas concentrações utilizadas, não houve atividade antimicrobiana para nenhuma das bactérias testadas.

Figura 15 – Teste de sensibilidade ao EA e ao biofilme produzido



Legenda: A: Estirpe de *Escherichia coli* frente a diferentes concentrações do Extrato Aquoso de Orégano (EAO). Disco 1: 83 µg de EAO, Disco 2: 66 µg de EAO, Disco 3: 41 µg de EAO, Disco 4: controle positivo - 30 µg de Amicacina, Disco 5: controle negativo - 1 mL de água destilada. B: estirpe de *Pseudomonas aeruginosa* frente a tiras de filmes. Números 1 e 2: tiras de filme 1x1 cm, Número 3: controle positivo - 30 µg de Ofloxacina, Número 4: controle negativo - 1 mL de água destilada.

Fonte: AUTORA (2023).

Alvarenga *et al.* (2007) e Matos *et al.* (2016), utilizando o EAO, e Karakaya *et al.* (2011), trabalhando com o óleo essencial de orégano (OEO), em teste semelhantes, também não detectaram halo de inibição da bactéria *S. aureus*. Porém, estudos como de Stojković *et al.* (2013) e Campos *et al.* (2022) com OEO concentrado, revelaram ação antimicrobiana *in vitro* contra estirpes de *E. coli* e *S. aureus* isoladas de queijo. Da mesma forma, Scandorieiro *et al.* (2016) verificaram que o OEO incorporado a nanopartículas de prata atuou na redução das colônias de vários isolados Gram-positivos e Gram-negativos, inclusive contra bactérias multirresistentes, como *Acinetobacter baumannii*, embora essa função provavelmente se deva mais à nanopartícula de prata do que ao OEO.

5.9.2. Capacidade antioxidante e conteúdo de fenóis totais (FT) do extrato aquoso de orégano (EAO) e de biofilmes preparados a partir de xantana/alginato/EAO

De acordo com Peres (2019), a porcentagem de captura de radicais livres ou doadores de hidrogênio que entram em contato com amostras e que resultam em descoloração da solução do material avaliado é indicativa de potencial antioxidante, isto é, quanto maior seu valor, maior

será a capacidade antioxidante. Portanto, o resultado obtido neste estudo (Tabela 6) com o EAO produzido ($62,00 \pm 2,10\%$) é promissor como antioxidante.

Conforme observa-se na Tabela 6, o EAO preparado apresentou uma concentração de fenólicos totais (FT) de $0,25 \text{ mg EAG.mL}^{-1}$ (equivalentes mg de ácido gálico por mL). Este valor é superior aos encontrados por Gonçalves *et al.* (2015) e Peres (2019) em seus estudos com o mesmo tipo de extrato (respectivamente $0,016$ e $0,041 \text{ mg de EAG.mL}^{-1}$).

Tabela 6 – Conteúdo de compostos fenólicos totais (FT) em equivalentes mg de ácido gálico/mL⁻¹ (AAG/mL⁻¹) e capacidade antioxidante (%) através do sequestro do radical DPPH do extrato aquoso de orégano (EAO).

Análises	Valores
Capacidade antioxidante (% da descoloração- DPPH)	$62,00 \pm 2,10$
FT (mg EAG. mL ⁻¹)	$0,25 \pm 0,01$

A atividade antioxidante por DPPH sugere que o EAO tem potencial de captar radicais livres e, portanto, pode ser incorporado em filmes com finalidade preservante. Além disso, o uso de “embalagens ativas” é uma opção de armazenamento que oferece menos riscos de contaminação e maior margem de segurança e qualidade, prolongando a vida útil dos alimentos, por exemplo. Assim, é relevante avaliar a incorporação de EAO em biofilmes a fim de investigar a atividade antioxidante/conteúdo de FT.

A Tabela 7, portanto, apresenta esses mesmos parâmetros obtidos nas análises das soluções contendo alginato, xantana e diferentes concentrações do EAO, utilizadas para produção de filmes ativos. Com exceção do filme AXMEAO⁶, a atividade antioxidante dos filmes contendo as diferentes concentrações de EAO, medida pelo teste do DPPH, variou de $58,68\%$ a $87,5\%$ (Tabela 7). Estudos de Roshandel-Hesari *et al.* (2022), com filmes incorporados com argilas e extrato de orégano, apresentaram dados semelhantes ao do presente trabalho, com média de redução de 56% de radicais livres.

Os compostos fenólicos compõem um grupo amplamente difundido na natureza, sendo que mais de 10.000 deles já foram identificados como metabólitos/pigmentos de plantas, normalmente derivados de mecanismos de defesa contra vias externas. Em relação ao conteúdo de FT, o maior índice desse parâmetro ($0,752 \pm 0,16 \text{ mg EAG.mL}^{-1}$) não está diretamente relacionado com a maior concentração do EAO ($1,66 \text{ mg}$) incorporada ao filme e nem com a maior atividade antioxidante obtida.

Tabela 7 - Conteúdo de compostos fenólicos totais (TF) em equivalentes mg de ácido gálico por mL (EAG.mL⁻¹) e capacidade antioxidante (%) através do sequestro do radical DPPH (no tempo de retenção de 15 minutos) dos biofilmes produzidos.

Biofilmes	DPPH (%)	Fenólicos Totais (mg EAG/mL ⁻¹)
AXMEAO ¹	61,93 ± 2,65 ^b	0,384 ± 0,02 ^a
AXMEAO ²	71,56 ± 2,13 ^c	0,625 ± 0,01 ^c
AXMEAO ³	77,49 ± 5,09 ^{cd}	0,639 ± 0,02 ^c
AXMEAO ⁴	58,68 ± 4,31 ^{ab}	0,648 ± 0,02 ^c
AXMEAO ⁵	60,54 ± 3,38 ^b	0,552 ± 0,03 ^b
AXMEAO ⁶	47,11 ± 10,09 ^a	0,752 ± 0,16 ^f
AXMEAO ⁷	87,55 ± 10,12 ^d	0,745 ± 0,03 ^f
AXMEAO ⁸	78,26 ± 5,48 ^d	0,702 ± 0,03 ^d
AXMEAO ⁹	62,79 ± 2,25 ^b	0,721 ± 0,03 ^e

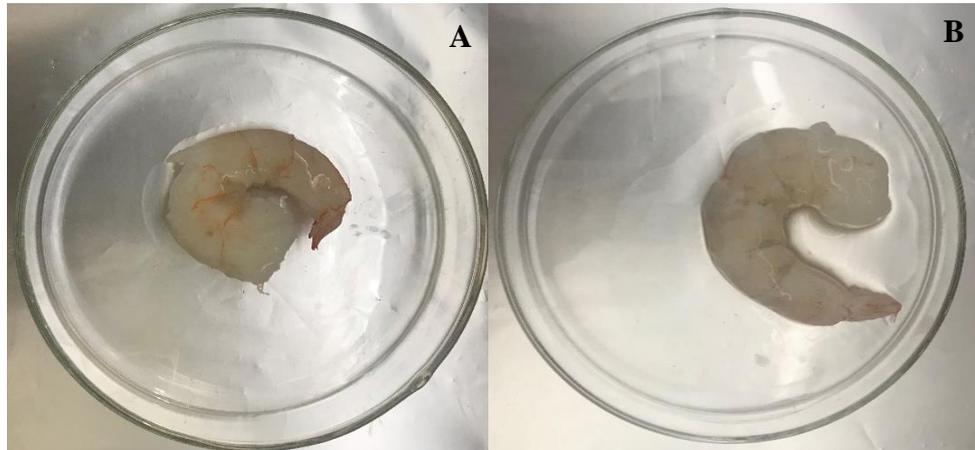
Legenda: AXMEAO: Solução de Alginato/Xantana contendo argila Montmorilonita e Extrato Aquoso de Orégano (EAO) em diferentes concentrações (mg/mL⁻¹): ¹0,083; ²0,207; ³0,249; ⁴0,332; ⁵0,415; ⁶0,622; ⁷0,83; ⁸1,2; ⁹1,66. As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não se diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Assim, o conteúdo de FT no filme contendo a maior concentração de EAO (1,66 mg), isto é, AXMEAO⁹, foi de 0,721 ± 0,03 mg EAG.mL⁻¹, e tal filme apresentou 62,7% de capacidade antioxidante. Considerando os valores estatisticamente iguais para concentração fenólica superior, o filme mais ativo nesse quesito e em capacidade antioxidante foi o AXMEAO⁷ (0,745 ± 0,03 mg EAG.mL⁻¹, 87,55 ± 10,12%). Portanto, no geral, a partir da adição de 0,622 mg.mL⁻¹ de EAO, altas capacidades antioxidantes foram obtidas sem mudanças significativas no teor de fenóis.

5.9.3 Carotenoides totais e atividade antioxidante do extrato etanólico de filés de camarão Vila Franca (*Litopenaeus schmitti*) revestidos com os biofilmes antes do congelamento (30 dias), e detecção de coliformes termotolerantes

Em relação à detecção de coliformes termotolerantes, não foram detectadas amostras positivas entre os tratamentos dos files de camarão *natura* ou cozidos e submetidos a revestimento com as formulações de biofilme ou com o plástico sintético, e incubados por 30 dias sob congelamento (Figura 16). Em relação ao conteúdo de carotenoides totais e atividade antioxidante nos extratos etanólicos obtidos desses camarões, os resultados podem ser visualizados na Tabela 8.

Figura 16 – Representação do teste de revestimento de soluções dos biopolímeros em camarões cozidos e *in natura* após 30 dias sob congelamento



Legenda: A: Filé de camarão cozido revestido com solução AXMEAO: Solução de Alginato/Xantana contendo argila Montmorilonita e Extrato Aquoso de Orégano (EAO)⁹1,66. B: Filé de camarão *in natura* revestido com solução de AXM.

Fonte: AUTORA (2023).

No grupo de filés de camarão cozidos, as amostras embaladas com plástico sintético (PL) apresentaram conteúdo de carotenoides totais de cerca de $0,0537 \pm 0,004 \text{ mg.mL}^{-1}$, enquanto a amostra revestida com AXMEAO⁹ ($0,0116 \pm 0,004 \text{ mg.mL}^{-1}$), que apresenta a maior dose de EAO (1,66 mg), teve o menor conteúdo desses compostos. Em amostras de filés *in natura*, o revestimento controle PL ($0,1914 \pm 0,004 \text{ mg.mL}^{-1}$) também favoreceu uma menor deterioração dos carotenoides totais, sendo que a amostra AXM, que não contém EAO apresentou o menor teor dessas substâncias ($0,1452 \pm 0,001 \text{ mg.mL}^{-1}$).

Além disso, nas soluções de revestimento AXM e AXMEAO¹ o conteúdo de carotenoides totais foi estatisticamente semelhante (Tabela 8). Observou-se que as amostras *in natura* de filés de camarão revestidos na solução de biofilme AXMEAO⁹ apresentou a maior atividade antioxidante entre todas as testadas ($98,21 \pm 1,10\%$), enquanto a amostra cozida revestida com o mesmo biofilme (AXMEAO⁹) foi a de menor capacidade antioxidante, e a única estatisticamente diferente das demais.

Tabela 8 - Teor de carotenoides totais (mg.mL⁻¹) da massa de filés de camarões Vila Franca (*Litopenaus schmitti*) (in natura e cozido) revestidas em soluções de biofilme mantidas por 30 dias sob congelamento

Tratamento	Revestimento	DPPH (%)	Carotenoides Totais (mg.mL ⁻¹)
<i>Cozido</i>	AXM	97,68 ± 3,70 ^a	0,0134 ± 0,001 ^a
	AXMEAO ¹	96,03 ± 0,80 ^a	0,0134 ± 0,001 ^a
	AXMEAO ⁹	93,66 ± 2,00 ^b	0,0116 ± 0,004 ^a
	PL (C)	97,68 ± 0,01 ^a	0,0537 ± 0,004 ^b
<i>In natura</i>	AXM	95,50 ± 0,03 ^a	0,1452 ± 0,001 ^c
	AXMEAO ¹	95,70 ± 0,01 ^a	0,1488 ± 0,006 ^d
	AXMEAO ⁹	98,21 ± 1,10 ^a	0,1548 ± 0,003 ^e
	PL (C)	95,50 ± 0,01 ^a	0,1914 ± 0,004 ^f

Legenda: C: Controle; PL: Plástico Sintético; AXM: Alginato-Xantana-Montmorilonita; AXMEAO: Solução de Alginato-Xantana-Montmorilonita e Extrato Aquoso de Orégano (EAO) em concentrações (mg/mL⁻¹): ¹0,083 e ⁹1,66. As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não se diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Os carotenoides são isoprenóides sintetizados por todos os organismos fotossintéticos e considerados pigmentos naturais com alta atividade antioxidante (BOTELLA-PAVÍA & RODRÍGUEZ-CONCEPCIÓN, 2006). Os camarões podem acumulá-los por meio da ingestão de pequenos animais que consomem microalgas marinhas ou elas próprias. Dessa forma, quanto maior o teor de carotenoides que um extrato etanólico de filé de camarão, espera-se que maior seja sua atividade antioxidante e menor o tempo de degradação do alimento (MESQUITA *et al.*, 2017). Neste trabalho, os extratos das amostras de filé de camarão embaladas em plástico sintético apresentaram um teor maior de carotenoides totais do que o dos camarões revestidos nos biofilmes, ou seja, o plástico sintético preservou mais o alimento da reação que leva a sua degradação. No entanto, a concentração em geral desses compostos não foi tão expressiva, e provavelmente isso se deve ao método de extração utilizado, já que o volume de etanol utilizado e seu grau de pureza podem ter interferido no processo. A astaxantina, um carotenoide com muitas ramificações -OH, corresponde a mais de 90% dos carotenoides de camarões, e certamente um extrato hidroetanólico favoreceria melhor a extração. Além disso, o volume do solvente utilizado talvez devesse ser muito maior para lavar toda pigmentação dos resíduos dos camarões, haja visto ter sido utilizado um liquidificador ao invés do ultraturrax. Além disso, poderia ser posteriormente concentrado antes das análises. Entretanto, é também necessário que outras formulações do biopolímero em estudo sejam testadas para o revestimento dos filés de

camarão, visando analisar qual exerce melhor o papel de preservadora do conteúdo de carotenoides totais.

Sabe-se que ao serem cozidos em alta temperatura os filés não só liberam os carotenoides das carotenoproteínas, mas pela redução de água das células seu teor eleva-se, assim como outras biomoléculas orgânicas (PEDROSA & COZZOLINO, 2001). Esse fato foi evidenciado no ensaio, visto que os extratos das amostrada cozidas apresentaram teores de carotenoides totais maiores que os das amostras *in natura*. Além disso, observou-se que apesar do teor de carotenóides totais menor nos extratos de filés *in natura* do que nos extratos dos filés cozidos, após o revestimento de biofilme houve um aumento na atividade antioxidante desse mesmo grupo, principalmente no tratamento AXMEAO⁹ que possui mais EAO, fato que não ocorreu no tratamento das amostras cozidas. Pode-se então dizer que apesar da baixa concentração de antioxidantes iniciais nos camarões *in natura*, após a incorporação do revestimento de filmes com EAO, a atividade antioxidante foi potencializada a ponto de retardar sua decomposição e, conseqüentemente, aumentar o tempo de vida de prateleira desses filés *in natura*.

Além disso, o conhecimento das condições higiênicas e sanitárias em que o alimento é exposto, é um importante parâmetro para determinar os riscos que o consumo desses alimentos pode oferecer a saúde do consumidor (EVANGELISTA-BARRETO *et al.*, 2016; CHAGAS *et al.*, 2019), sendo necessário a avaliação microbiológica desses alimentos, como o teste para grupo coliforme que esteja de acordo com o padrão para consumo estabelecido pelo Resolução da Diretoria Colegiada Nº 12, de 02 de Janeiro de 2001 da ANVISA (BRASIL, 2001). Assim, foi realizado o teste para o grupo coliforme das amostras revestidas de camarões cozidas e *in natura* em 30 dias de congelamento, no qual, nenhuma amostra apresentou turvação, presença de gás, ou colônias bacterianas visíveis após 48h de incubação.

6. CONCLUSÕES

A partir da mistura de goma xantana, alginato de sódio e argila montmorilonita, incorporada com 09 diferentes doses de extrato de orégano, foram produzidos 13 diferentes biocompósitos, no quais todos apresentaram boas propriedades mecânicas e fácil manuseio como plástico biodegradável. Além disso, ao incorporar a maior dose de EAO ao filme, a elasticidade e tensão aumentaram, indicando que a amostra AXMEAO⁹ foi a formulação mais forte e elástica de todas as testadas.

Também se constatou que à medida que diferentes doses de EAO foram adicionadas, não houve mudanças tão acentuadas no teor de fenóis, provavelmente porque a concentração do EAO, rico nesses compostos, não era tão elevada nos volumes utilizados. Ao ter contato com água, os filmes poliméricos apresentaram alta solubilidade, o que dificulta seu uso como embalagem plástica de alimentos úmidos, como é o caso dos pescados como camarão, sendo mais indicado como solução de revestimento, assim como o aperfeiçoamento de sua formulação para embalagem plástica (aumentando a porcentagem de alginato de sódio reticulado com montmorilonita e diminuindo a de xantana).

No ensaio de revestimento de camarões com a solução do biocompósito com EAO na maior dose testada, houve um aumento da atividade antioxidante do produto em relação ao controle. Considerando também que nos filés revestidos (pré-cozidos cozidos ou *in natura*) e congelados por 30 dias, não houve, por exemplo, detecção de bactérias do grupo coliforme termotolerante, os resultados demonstram a potencialidade do aperfeiçoamento desses biopolímeros à base de xantana, alginato de sódio, argila montmorilonita e especiarias para impedir a deterioração de alimentos, especialmente se forem não úmidos, ou como revestimento protetor em alimentos úmidos.

7. REFERÊNCIAS

- ALÉMAN, A.; *et al.* Comparative study between film and coating packaging based on shrimp concentrate obtained from marine industrial waste for fish sausage preservation. **Food Control**, v. 70, p. 325–332, 2016.
- ALVARENGA, A.L.; *et al.* Atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre bactérias patogênicas humanas. **Rev Bras Pl Med**, v. 9, n.4, p.86-91, 2007.
- AN, Z., ZHANG, Y., SUN, L. Effects of dietary astaxanthin supplementation on energy budget and bioaccumulation in *Procambarusclarki* (Girard, 1852) crayfish under microcystin-LR stress. **Toxins**, v. 10, n. 7, p. 277, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/toxins10070277>>. Acesso em: 03 jan. 2023.
- ANTUNES, L. B.; *et al.* Effect of glycerol on the mechanical properties of films based on chitosan. **Rev Desafios**, v. 6, p. 110-117, 2019.
- ARAÚJO, M. C. B.; SILVA-CAVALCANTI, J. S. Dieta indigesta: milhares de animais marinhos estão consumindo plásticos. **Rev Meio Amb e Sust**, v. 10, n. 5, p. 74-81, 2016.
- ARCILA-LOZANO, C.C.; LOARCA-PINA, G.; LECONA-URIBE, S.; MEJIA, E. G. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. **Arch Latinoam de Nutrición**, v. 54, n. 1, p. 100-111, 2004.
- ARVAYO-ENRÍQUEZ, H.; MONDACA-FERNÁNDEZ, I.; GORTÁREZ-MOROYOQUI, P.; LÓPEZ-CERVANTES, J.; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, R. Carotenoids extraction and quantification: a review. **Anal Meth**, v. 5, n. 12, p. 2916-2924, 2013.
- AWOYAMA, S. M., VIEIRA, D. A. S., CARVALHO, C. Usos terapêuticos e cosmeceuticos da argila mineral branca. **Rev Eletr Funvic**, v. 6, n. 1, p. 53-61, 2021.
- BALASUBRAMANIAN, *et al.* Effect of TiO₂ on highly elastic, stretchable UV protective nanocomposite films formed by using a combination of k-Carrageenan, xanthan gum and gellan gum, **Int J Biol Macromol**, v. 123, p. 1020-1207, 2019.
- BARIOTO, JOÃO GABRIEL. **Ecologia e estrutura populacional do camarão branco *Litopenaus schmitti* (Burkenroad, 1936) (Dendrobranchiata: Penaeoidea) na região de Cananéia, litoral sul do estado de São Paulo**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas AC: Zoologia, Botucatu, 2017. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/150967>>. Acesso em: 15 de jan. de 2023.
- BEE, S-Y.; *et al.* Polymer nanocomposites based on silylated-montmorillonite: A review. **Progr in Polym Sci**, v. 85, p. 57-82, 2018.
- BEZERRA, SAMARA ARAUJO. **Padronização de extratos para a obtenção de produto fitoterápico antifúngico de *Origanum vulgare* L.** Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Maranhão. Programa de Pós-graduação em Ciências da

Saúde, São Luís, 2021. Disponível em: <<https://tede2.ufma.br/jspui/bitstream/tede/3323/2/SAMARA-BEZERRA.pdf>> Acesso em: 22 de set. de 2022.

BLANK, D. E.; ALVES, G. H.; FREITAG, R. A.; CORRÊA, R. A.; HÜBNER, S. O.; CLEFF, M. B. Composição química e citotoxicidade de *Origanum vulgare* L. e *Rosmarinus officinalis* L. **Sci and Anim Health**, v. 4, n. 2, p. 117–130, 2016.

BOTELLA-PAVÍA, P.; RODRÍGUEZ-CONCEPCIÓN, M. Carotenoid biotechnology in plants for nutritionally improved foods. **Phys Plantarum**, v. 126, p. 369-381, 2006.

BOURAKADI, K. E.; QAISS, A. K.; BOUHFID, R. Bio-films based on alginate/modified clay through spray drying: Mechanical, rheological, morphological, and transport properties for potential use as active food packaging **Int J Biol Macromol**, v. 210, p. 663-668, 2022.

BRANDÃO, L. V.; NERY, T. B. R.; MACHADO, B. A. S.; ESPERIDIÃO, M. C. A.; DRUZIAN, J. I.; et al. Produção de goma xantana obtida a partir do caldo de cana. **Ciênc Tecnol Aliment**, v. 28, p. 217-222, 2008.

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

BRASIL (Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Diretoria Colegiada). 2001.Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) 12, de 03 de dezembro de 2001.Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2001/res0012_02_01_2001.html>. Acesso em: 13 de março de 2023.

BRASIL (Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Diretoria Colegiada). 2019.Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) 326, de 03 de dezembro de 2019. Estabelece a lista positiva de aditivos destinados à elaboração de materiais plásticos e revestimentos poliméricos em contato com alimentos e dá outras providências. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-326-de-3-de-dezembro-de-2019-231272617>>. Acessado em: 19 de julho de 2022.

BRASIL (Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Diretoria Colegiada). 2021.Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) 498, de 20 de maio de 2021. Altera a Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 20, de 22 de março de 2007, que aprova o regulamento técnico sobre disposições para embalagens, revestimentos, utensílios, tampas e equipamentos metálicos em contato com alimentos. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/5284328/RDC_498_2021_.pdf/79bfe989-f482-4576-8ce2-106ddd345ac0>. Acesso em: 19 de julho de 2022.

CALLISTER, W.D. **Materials Science and Engineering - An Introduction**. 7ªEd. New York: Jonh Wiley and Sons, p. 721, 2007.

CAMPOS, A.C.L.P.; et al. Antimicrobial effect of *Origanum vulgare* (L.) essential oil as an alternative for conventional additives in the Minas cheese manufacture. **LWT**, v. 157, n. 113063, 2022.

CANAVEROLO JR, S. V. **Ciências dos Polímeros**. São Paulo-SP: Artiliber Ed Ltda, 2006.

CAO, N.; FU, Y. H.; HE, J. H. Mechanical properties of gelatin films cross-linked, respectively, by ferulic acid and tannin acid. **Food Hydrocol**, v. 21, p-575-584, 2007.

CÁRDENAS-PÉREZ, S.; CHANONA-PÉREZ, J., MÉNDEZ-MÉNDEZ, R.V.; CALDERÓN-DOMÍNGUEZ, G.; et. al. Evaluation of the ripening stages of apple (Golden Delicious) by means of computer vision system. **Biosys Eng**, v. 159, p. 46-58, 2017.

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 Hydrocol**, v. 27, n. 1, p. 175-184, 2012.

CHAGAS, A. L. K.; FERNANDES, G. S. T. Qualidade microbiológica do camarão *Macrobrachium amazonicum* comercial. **Rev Persp Online: Biol & Saúde**, v. 9, n. 30, p-38-49, 2019.

CHAGAS, J. A. O. **Membranas de quitosana com glicerol para aplicação em tratamento de águas residuais**. 2017. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Programa de Pós-Graduação em Química, Natal, 2017. Disponível em: <<https://repositorio.ufrn.br/jspui/handle/123456789/22374>>. Acesso em: 20 de setembro de 2022.

CHEN, J. *et al.* Development of xanthan gum/hydroxypropyl methyl cellulose composite films incorporating tea polyphenol and its application on fresh-cut green bell peppers preservation, **Int J Biol Macromol**, v. 211, p. 198-206, 2022.

CHOTPHRUETHIPONG, L.; BENJAKUL, S. Use of cashew (*Anacardium occidentale* L.) leaf extract for prevention of lipidoxidation in Mayonnaise enriched with fish oil. **Turkish J Fisher and Aquatic Sci**, v. 19, n. 10, p. 825–836, 2019.

CINAR, O. S.; CHANG, Z. K.; KUCUKER, M. A.; WIECZOREK, N.; UGUR, C.; KUCHTA, K. Bioplastic production from microalgae: a review. **Int J Environ Res Public Health**, v. 17, n. 3842, p. 1-21, 2020.

COSTA, J. P. F. N. **Bioplásticos compostáveis na Economia Circular**. Dissertação (Mestrado em Design de Equipamento) - Universidade De Lisboa, Faculdade De Belas-artes, Lisboa, Portugal, 2018. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10451/34951>>. Acesso em: 22 de julho de 2022.

ÇAYKARA, T.; DEMIRCI, S.; EROGLU, M. S.; GÜVEN, O. Poly (ethylene oxide) and its blends with sodium alginate. **Polymer**, v. 46, p. 10750 -10757, 2005.

DEY, B. K.; DUGASSA, G. H.; HINZANO, S. M.; BOSSIER, P. Causative agent, diagnosis, and management of white spot disease in shrimp: A review. **Rev in Aquacult**, v. 12, n. 2, p. 822-865, 2020.

DIAS, T. **Determinação do teor de fenólicos totais (folin-ciocalteu) - espectrofotometria**, Universidade Federal de Goiás, 2016. Disponível em:

<https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/128/o/Fen%C3%B3licos_Totais_-_LANAL-UFG._Vers%C3%A3o_2.pdf?1545409339> Acesso em: 06 jun. 2022.

D'INCAO, F.; ALMEIDA, H. L. P. S. Análise do esforço de pesca do camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) na Lagoa dos Patos, Brasil. **Atlântica**, Rio Grande, v.21, p.77-92, 1999. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbzool/a/yPzsZYJtxGFLGBHcHvtsXGq/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 10 jan. 2023

DOI, A.; EJTEMAEI, M.; NGUYEN, A. V. Effects of ion specificity on the surface electrical properties of kaolinite and montmorillonite. **Min Engin**, v. 143, n. 8, p. 105929, 2019.

EPURE, V. et al. Structure and properties of glycerool-plasticized chitosan obtained by mechanical kneading. **Carboh Polym**, v. 83, n. 2, p. 947- 952, 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 Hydrocol**, v. 35, p. 287-296, 2014.

EUROPEAN BIOPLASTICS. What are bioplastics? **Eur Biopl**, 2020. Disponível em: <<https://www.europeanbioplastics.org/bioplastics/>>. Acesso em: 22 de julho de 2022.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S.; da SILVA, R. A. R.; CERQUEIRA, B. N.; de FARIAS, A. P.F., BERNARDES, F.S. ; SILVA, I. P. Qualidade microbiológica e físico-química do camarão salgado, seco e defumado comercializado em Cruz das Almas, Recôncavo da Bahia. **Acta Fisher and Aquatic Res**, v.4, n. 2, p.1-7, 2016.

FARAG, M. A.; MANSOUR, S. T.; NOUH, R. A.; KHATTAB, A. R. Crustaceans (shrimp, crab, and lobster): A comprehensive review of their potential health hazards and detection methods to assure their biosafety. **J Food Saf**, v. 43, n. 1, 2022.

FARIAS, N. S. **Biofilmes ativos de alginato de sódio com extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.): avaliação das propriedades físico-químicas e cinética de liberação de compostos fenólicos**, 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos). Pós-Graduação em Ciências de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Catarina. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/206049/PCAL0435-D.pdf?sequence=-1&isAllowed=y>>. Acesso em: 25 de setembro de 2022.

FAVERO, J. et al. Evaluation and characterization of Melo Bentonite clay for cosmetic applications. **Appl Clay Sci**, v. 175, n. 3, p. 40–46, 2019.

FENG, H. O. C. The Tale of Sushi: History and Regulations. **Comp Rev in Food Sci and Food Saf**, v. 11, n. 2, p. 205-220, 2012.

FERNANDEZ-MARIN, R.; LABIDI, J.; ANDRES, M. A.; FERNANDES, S. C. M. Using α -chitin nanocrystals to improve the final properties of poly (vinyl alcohol) films with *Origanum vulgare* essential oil. **Polym Degrad and Stab**, v. 179, p. 109227, 2020.

FERRAZ, F. S.; RODRIGUES, A. C. A. B.; ABREU, D. J. M.; SOUZA, R. V.; ALMEIDA, A. F.; SANTOS, C. C. A. A. Xanthan gum production by the wild strain of *Xanthomonas* spp. using whey as fermentation substrate. **Sci Plena**, v. 17, n. 8, 2021.

FERREIRA, A., COELHO, I. S., SARAIVA, I., DARGENT, L., SERRANO, M. do C., & FERREIRA, M. E. (2012). **Plantas aromáticas e medicinais: Produção e valor económico**. Retrieved, Disponível em: <http://www.cebal.pt/images/publicacao_pam.pdf>. Acesso em: 20 de set. 2022.

FISHER SCIENTIFIC. Glycerol Solution, **Thermo Fisher Scientific**, 2022. Disponível em: <<https://www.fishersci.se/shop/products/glycerol-solution-puriss-p-a-86-89-t-honeywell-riedel-de-ha-n-3/15695690>>. Acesso em: 22 de setembro de 2022.

GANESAN, A.R., SHANMUGAM, M., BHAT, R. Producing novel edible films from semi refined carrageenan (SRC) and ulvan polysaccharides for potential food applications. **Int J Biol Macromol**. v,112, p. 1164-1170, 2018.

GAO, C.; POLLET, E.; AVÉROUS L. Properties of glycerol-plasticized alginate films obtained by thermomechanical mixing. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 414 – 42, 2017.

GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery, and properties. **Biotech Adv**, v. 18, n. 7, p. 549-579, 2000.

GAUTAM, A.; KOMAL, P. Synthesis of montmorillonite clay/poly(vinyl alcohol) nanocomposites and their mechanical properties. **J Nanosci and Nanotech**, v. 19, p. 8071–8077, 2019.

GUERRERO-LEGARRETA, I.; ARMENTA, R. E. Stability studies on astaxanthin extracted from fermented shrimp byproducts. **J Agr and Food Chem**, v. 57, p. 6095-6100, 2009.

GONÇALVES, F. C. P. **Obtenção e caracterização de filmes à base de blendas de fécula de batata, quitosana e alginato de sódio**. 2021. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal Rural do Semi-árido. Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. Disponível em: <https://repositorio.ufersa.edu.br/bitstream/prefix/6815/1/FrancielleCPG_DISSERT.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2023.

GONÇALVES, J. H. T.; SANTOS, A. S.; MORAIS, H. A.; Atividade antioxidante, compostos fenólicos totais e triagem fitoquímica de ervas condimentares desidratadas. **Rev Univ Vale do Rio Verde**, v. 13, n. 1, p. 486-497, 2015.

GONÇALVES, S. S.; *et al.* EFEITO DO GLICEROL NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DE FILMES A BASE DE QUITOSANA, 2019. DESAFIOS - **Rev Interd da Univ Fed do Tocantins**, v. 6, p. 110-117, 2019.

GRAÇA-LOPES, R.; SANTOS, E. P.; SEVERINORODRIGUES, E.; BRAGA, F. M. S.; PUZZI, A. Aportes ao conhecimento da biologia e da pesca do camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*, Heller, 1862) no litoral do Estado de São Paulo, Brasil. **Bol Inst de Pesca**, p.333-384, 2007. Disponível em:<https://www.pesca.sp.gov.br/39_3_217-235.pdf>. Acesso em: 13 jan. 2023.

GU, Y. G.; HUANG, H. H.; LIN, Q. Concentrations, and human health implications of heavy metals in wild aquatic organisms captured from the core area of Daya Bay's Fishery Resource Reserve, South China Sea. **Environ Toxic and Pharm**, v. 45, p. 90-94, 2016.

HATAI, K. Diseases of Fish and Shellfish Caused by Marine Fungi. **Biol Marine Fungi**, v. 53, p.15-52, 2012.

HOSSEINI, S.F.; REZAI, M.; ZANDI, M.; GHAZI, F.F. Effect of fish gelatin coating enriched with oregano essential oil on the quality of refrigerated rainbow trout fillet. **J Aquatic Food Prod Tech**, v. 25, n. 6, p. 835-842, 2016.

HOSSEINI, S.F., REZAEI, M., ZANDI, M., FARAHMANDGHAZI, F. Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. **Ind Crops and Prod**, v. 67, p.403-413, 2015.

HOU, C. H.; BELTRAMINI, J. N.; FAN, Y. X.; LU, G. Q. Chemoselective catalytic conversion of glycerol as a biorenewable source to valuable commodity chemicals **Chemical Society Reviews**, v. 37, n. 3, p. 527-549, 2008.

HUSSEIN, G. *et al.* Antihypertensive potential and mechanism of action of astaxanthin: III. Antioxidant and histopathological effects in spontaneously hypertensive rats. **Biol and Pharm Bul**, v. 29, n. 4, p. 684-688, 2006a.

ITO, A.; BUDKE, C. Culinary delights and travel? A review of zoonotic cestodiasis and metacestodiasis. **Travel Med and Inf Dis**, v. 12, n. 6a; 2014.

ITO, Y.; KAMIJIMA, M., & NAKAJIMA, T. (2019). Di(2-ethylhexyl) phthalate-induced toxicity and peroxisome proliferator-activated receptor alpha: A review. **Environ Health and Prev Med**, v. 24, n. 1, p. 4-7, 2019.

JAHED, E.; KHALEDABAD, M-A.; BARI, M. R.; ALMASI, H. Effect of cellulose and lignocellulose nanofibers on the properties of *Origanum vulgare* ssp. *gracile* essential oil-loaded chitosan films. **React Funct Polym**, v. 117, p. 70-80, 2017.

JONES, F. A promessa dos bioplásticos. **Rev Fapesp**, 2020. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/a-promessa-dos-bioplásticos/#bioplásticoC_290>. Acesso em: 19 de julho de 2022.

KARAKAYA, S.; *et al.* Antioxidant and antimicrobial activities of essential oils obtained from oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) by using different extraction methods. **J Med Food**, v. 14, n. 6, 2011.

KARTHIEKEYAN, V.; SELVAKUMAR, P.; GOPALAKRISHNAN, A. A novel report of fungal pathogen *Aspergillus awamori* causing black gill infection on *Litopenaeus vannamei* (Pacific white shrimp), **Aquacult**, v. 444, p. 36-40, 2015.

BAUER, A.W., KIRBY, W.M., SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method, **Am J Clin Path**, v. 45, p. 493-496, 1966.

KROSOFSKY, A. Poluição por plásticos mata milhões de animais todos os anos. **FUNVERDE**, 2021. Disponível em: <<https://www.funverde.org.br/blog/poluicao-por-plasticos-mata-milhoes-de-animais-todos-os-anos/>>. Acesso em: 19 de julho de 2022.

LA MERRIL, M. A.; VANDENBERG, L. N.; SMITH, M. T.; GOODSON, W.; BROWNE, P.; PATISAUL, H. B.; ZOELLER, R. T. Consensus on the key characteristics of endocrine-disrupting chemicals as a basis for hazard identification. **Nat Rev Endoc**, v. 16, n. 1, p. 45–57, 2020.

LARSEN, B.; *et al.* Characterization of the alginates from algae harvested at the Egyptian Red Sea coast. **Carboh Res**, v. 338, n. 22, p. 2325–2336, 2003.

LAZARATOU, C. V.; VAYENAS, D. V.; PAPOULIS, D. The role of clays, clay minerals and clay-based materials for nitrate removal from water systems: A review. **Appl Clay Sci**, n. 11, p. 105377, 2019.

LEON, A. M.; MEDINA, W. T.; PARK, D. J.; AGUILERA, J. M. Properties of microparticles from a whey protein isolate/alginate emulsion gel. **Food Sci and Tech Int**, v. 24, n. 5, p. 414–423, 2018.

LI, Y.; *et al.* Chemical treatments for reducing the yellow discoloration of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fillets. **J Food Sci**, v. 8, n. 10, p. 1609-1613, 2013.

LIAKOS, I. *et al.* All-natural composite wound dressing films of essential oils encapsulated in sodium alginate with antimicrobial properties. **Int J Pharm**, v. 463, p.137–145, 2014.

LIMA, M. M. **Avaliação de filmes à base de quitosana combinado com goma xantana e hidrolisado proteico de corvina (*Micropogonias furnieri*)**. 2017. Tese (Doutorado em Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Pelotas. Disponível em: <http://www.repositorio.ufpel.edu.br/bitstream/prefix/3365/1/MARIA_25_04.pdf>. Acesso em: 24 de set. 2022.

LIN, F.; XIANG, Y.; SHEN, H-S. Temperature dependent mechanical properties of graphene reinforced polymer nanocomposites – A molecular dynamics simulation. **Composites Part B: Engin**, v. 111, p. 261-269, 2017.

LIRA, G. M., LOPEZ, A. M. Q., FIRMINO, G. O., SANTOS, S. D., BEZERRA, R. S. Total carotenoids and antioxidant activity of fillets and shells (in natura or cooked) of “Vila Franca” shrimp (*Litopenaeus schmitti*) in different intervals of storage under freezing. **Ciê n e Agrotec**, v. 41, n. 1, p. 94-103, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1413-70542017411023616>>. Acesso em: 03 de jan. 2023.

LOPEZ, A. M. Q.; *et al.* Pink and white shrimps from the Brazilian coast: pigment identification, antioxidant activity and microbial quality under different freezing-times. **Food Sci Technol**, v. 41, n. 2, p. 447-457, 2021.

LUKAS B, SAMUEL R, MADER E, BASER KHC, NOVAK J. *Complex evolutionary relationships in Origanum section Majorana (Lamiaceae)*. **Bot J Linn Soc**, v. 171, p. 667- 686, 2013.

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. **Quim Nova**, v. 37, n. 8, p. 1275-1282, 2014.

MANO, E. B. & MENDES, L. C. **A Natureza e os Polímeros**. São Paulo-SP: Blucher, 2013.

MAQSOOD, S.; BENJAKUL, S.; ABUSHELAIABI, A.; ALAM, A. Phenolic compounds, and plant phenolic extracts as natural antioxidants in prevention of lipid oxidation in seafood: A detailed review. **Compr Rev Food Sci and Food Saf**, v. 13, n. 6, p. 1125–1140, 2014.

MATOS, C. B.; *et al.* Atividade germicida de extratos vegetais de *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* frente a fungos do complexo *Sporothrix schenckii*. **Acta Vet Bras**, v.10, n.3, p.246-252, 2016.

MCHUGH, D. J. Production, properties, and uses of alginates. In McHugh, D. J. (ed.) Production and utilization of products from seaweeds. **Food & Agr Org UN**, p. 58-115, 1987.

MELO, E. A.; M., M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, J. R. Antioxidant capacity of the fruits. **Braz J Pharm Sci**, v. 44, n. 2, 2008.

MELO, K. C.; DANTAS, T. N. C.; NETO, E. L. B. Influência da temperatura na reologia de fluidos de perfuração preparados com carboximetilcelulose, goma xantana e bentonita. **Holos**, v. 5, n. 29, p. 3–18, 2013.

MERCIER, P. H. J.; *et al.* First quantification of <2 µm clay, <0.2 µm ultrafines and solids wettability in process streams from naphthenic froth treatment plant at commercial mined oil sands operations. **Fuel**, v. 237, n. 04, p. 961–976, 2019.

MESQUITA, S. S.; TEIXEIRA, C. M. L. L.; SERFULO, E. F. C. Carotenoides: Propriedades, Aplicações e Mercado. **Rev Virt Quím**, v. 9, n.2, p-672-688, 2017.

MESQUITA, L.S.S.D; LUZ, T.R.S.A, MESQUITA, J.W.C.D; COUTINHO, D.F; AMARAL F.M.M.D; RIBEIRO, M.N.D.S. ;MALIK, S. Exploring the anticâncer properties of essential oils from Family *Lamiaceae*. **Food Rev Int**, v. 35, n. 2, p. 105-131, 2019.

MONTAGNER, C. C.; OLIVATTO, G.P.; CARREIRA, R.; TORNISIELO, V.L. Microplastics: Contaminants of global concern in the Anthropocene, **Rev Virt Quím**, v. 10, n. 6, p. 1968-1989, 2018.

MONTEIRO, L. B. **Filme com potencial ativo elaborado com mesocarpo de pequi e incorporado com extrato de própolis**, 2021. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Pós-Graduação - Stricti Sensu- Em Tecnologia de Alimentos do IF de Goiano. Disponível em: <<https://repositorio.ifgoiano.edu.br/bitstream/prefix/1744/1/Disserta%20c3%a7%20c3%a3o%20-%20Lilianne%20B%20Monteiro.pdf>>. Acesso em: 26 de setembro 2022.

MOGOSANU, G. D.; GRUMEZESCU, A. M. Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. **Int J Pharm**, v. 463, n. 2, p. 127-136, 2014.

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

NAWAB, A. *et al.* Mango kernel starch-gum composite films: Physical, mechanical and barrier properties. **Int J of Bio Macromol**, v. 98, p. 869-876, 2017.

NEJADMANSOURI, M.; SHAD, E.; RAZMJOOEI, M.; SAFDARIANGHOMSHEH, R.; DEVILGNE, F.; KHALES, M. Production of xanthan gum using immobilized *Xanthomonas campestris* cells: Effects of support type. **Biochem Eng J**, v. 157, p. 107554, 2020.

NEJADMANSOURI, M.; SHAD, E.; RAZMJOOEI, M.; SAFDARIANGHOMSHEH, R.; DEVILGNE, F.; KHALES, M. Semi-continuous production of xanthan in biofilm reactor using *Xanthomonas campestris*. **J Biotech**, v. 328, p. 1-11, 2021.

NGUYEN, A.T.; TALLENT, S. M. Screening food for *Bacillus cereus* toxins using whole genome sequencing. **Food Microb.** v. 78, p. 164-170, 2019.

NIAMNUY, C.; DEVAHASTIN, S.; SOPONRONNARIT, S. Changes in protein compositions and their effects on physical changes of shrimp during boiling in salt solution. **Food Chem**, v. 108, p. 165-175, 2008b.

NIKNEZHAD, S. V.; ASADOLLAHI, M. A.; ZAMANI, A.; BIRIA, D. Production of xanthan gum by free and immobilized cells of *Xanthomonas campestris* and *Xanthomonas pelargonii*. **Int J Biol Macromol**, v. 82, p. 751-756, 2016.

NOLLET, L. M. L.; TOLDRÁ, F. **Sensory analysis of foods of animal origin**. Nova Iorque: CRC Press, 2011.

OLIVEIRA, D. A.; PESSOA, I. L.; *et al.* Desenvolvimento de matriz polimérica de quitosana e alginato com imobilização de íons ferro (II) para degradação do corante tipo azóico vermelho de metila via processo Foto-Fenton. **Res Gate**, 2017. Disponível em: <10.13140/RG.2.2.26866.56007> Acesso em: 19 de setembro de 2022.

OLIVEIRA FILHO, J. G.; RODRIGUES, J. M.; VALADARES, A. C. F.; ALMEIDA, A. B.; LIMA, T. M.; TAKEUCHI, K. P.; ALVES, C. C. F.; SOUSA, H. A. F.; SILVA, E. R.; DYSZY, F. H.; EGEA, M. B. Active food packaging: Alginate films with cottonseed protein hydrolysates. **Food Hydrocol**, v. 92, p. 267-275, 2019.

PACHECO, L. R. S. **Obtenção e caracterização de uma matriz polimérica a base de alginato com diferentes agentes reticulantes**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais do Centro de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2016. Disponível em: <<https://uenf.br/posgraduacao/engenharia-de-materiais/wp-content/uploads/sites/2/2013/07/Disserta%C3%A7%C3%A3o-La%C3%ADssa-R-E-Pacheco.pdf>> Acesso em: 22 de set. de 2022

PALANIRAJ, A.; JAYARAMAN, V. Production, recovery, and applications of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. **J Food Engin**, v. 106, n. 1, p. 1-12, 2011.

PANDEY, S. **Plastics Management Index: Evaluating effective management and sustainable use of plastics**, 2021. Disponível em: <https://backtoblueinitiative.com/wp-content/uploads/2021/09/Plastics-Management-Index-Whitepaper_sep29.pdf> Acesso em: 06 de junho de 2022.

PAVIA, L. B. de; MORALES, A.R.; DIAZ, F.R.V. Organophilic clays: characteristics, preparation methods, intercalation compounds and characterization techniques. **Cerâmica**, v.54, p. 213-226, 2008.

PAGNO, C.H. **Efeito da adição de nanoestruturas, óleos essenciais e quitosana no desenvolvimento de filmes e coberturas biodegradáveis com propriedades antioxidantes e antimicrobianas**, 2016. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/139454>>. Acesso em 26 de set.2022.

PAWLICKA, A.; *et al.* Dielectric behavior and FTIR studies of xanthan gum-based solid polymer electrolytes. **Electrochim Acta**, v. 305, p. 235-239, 2019.

PEDROSA, L. F. C.; COZZOLINO, S. M. F. Centesimal and mineral composition of the raw and cooked shellfishes of the Natal - RN city. **Food Sci Technol**, v. 21, n. 2, 2001.

PEREIRA, C.A.P.A. **A cor como espelho da sociedade e da cultura: um estudo do sistema cromático do design de embalagens de alimentos**, 2011. Tese (Doutorado em Arquitetura e Urbanismo). Faculdade de Arquitetura e Urbanismo – Design e Arquitetura. Disponível em: <<https://teses.usp.br/teses/disponiveis/16/16134/tde-19082013-111907/publico/carlapereira.pdf>>. Acesso em: 25 de set. 2020.

PEREIRA, E. L., FERRAZ, A. T. Bioprocessos para produção de goma xantana utilizando resíduos agroindustriais como matérias-primas. **Rev Univ Vale Rio Verde**, v. 14, n. 2, p. 756-776, 2016.

PEREIRA, J. F. *et al.* Desenvolvimento de filmes orodispersíveis biopoliméricos à base de amido, goma xantana e gelatina. **Iniciação Científica CESUMAR**, v. 21, n. 1, p. 61-70, 2019.

PERES, D.S. **Butter oil com adição de extratos vegetais de orégano (*Origanum vulgare* L.) e manjerição (*Ocimum basilicum* L.)**, 2019. Dissertação (Mestrado em Tecnologia em Alimentos), Pós-Graduação em Tecnologia dos Alimentos do Instituto Federal de Goiano. Disponível em: <https://repositorio.ifgoiano.edu.br/bitstream/prefix/626/1/Disserta%20a7%20a3o_Daiane%20Sousa%20Peres.pdf>. Acesso em: 26 de setembro de 2022.

PREVEDELLO, M. T.; COMACHIO, G. Antioxidants and their relationship with free radicals, and Chronic Non communicable Diseases: a literature review. **Braz J Develop**, v. 7, n.6, p. 55244-55285, 2021.

QIAN, F.; NA, L.; HE, X.; HAN, Q. Antibacterial activity of xantho-oligosaccharide cleaved from xanthan against phytopathogenic *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. **Process Biochem**, v. 41, n. 7, p. 1582-1588, 2006.

QUISPE, J. Q.; RUBIO, F. M. R. **Conocimientos en Nutrición, Índice de la Calidad de la Dieta y Consumo de Alimentos Antioxidantes en Deportistas**, 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Nutrição Humana), Facultad de Ciências de la Salud, Universidad Peruana Unión. Disponível em: <https://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12840/5585/Juana_Tesis_Licenciatura_2022.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 20 de abril de 2023.

RAHMAN, Md. A.; SARKAR, A. Potential human health risks due to environmental exposure to nano- and microplastics and knowledge gaps: A scoping review. **Sci Tot Environ**, v. 757, n. 9, p. 143872, 2021.

RAJESH, N.; SIDDARAMAIAH. Feasibility of xanthan gum–sodium alginate as a transdermal drug delivery system for domperidone. **J Mat Sci: Mat in Med**, v. 20, p. 2085-2089, 2009.

RATHOD, N. B.; RANVEER, R. C.; BENJAKUL, S.; KIM, S.; PAGARKAR, A. U.; PATANGE, S.; OZOGUL, F. Recent developments of natural antimicrobials and antioxidants on fish and fishery food products. **Compr Rev in Food Sci and Food Saf**, v. 2, n. 4, p. 4182–4210, 2021.

REIS, T. L.; DIEILILIS, F.; FASSANI, E. J.; CALIXTO, L. F. L. Aluminosilicates in poultry feed: a review. **Res, Soc and Develop**, v. 9, n. 8, 2020.

REZVANIAN, M.; AMIM, M. C. I. M.; SHIOW-FERN, N. Development and physicochemical characterization of alginate composite film loaded with simvastatin as a potential wound dressing. **Carbohydr Polym**, v. 167, p. 295-304, 2016.

RIPPEL, M. M.; BRAGANÇA, F. C. Borracha Natural e Nanocompósitos com Argila. **Ver Quim Nova**, v. 32, n. 3, p. 818-826, 2009.

ROSHANDEL-HESARI, N.; MOKABER-ESFAHANI, M.; TALEGHANI, A.; AKBARI, R. Investigation of physicochemical properties, antimicrobial and antioxidant activity of edible films based on chitosan/casein containing *Origanum vulgare L.* essential oil and its effect on quality maintenance of cherry tomato. **Food Chem**, v. 396, p. 133650, 2022.

ROSA, J. M.; *et al.* Antimicrobial wound dressing films containing essential oils and oleoresins of pepper encapsulated in sodium alginate films. **Ciência Rural**, v. 48, n. 03, e20170740, 2018.

RUJNIĆ-SOKELE, M.; PILIPOVIĆ, A. Challenges and opportunities of biodegradable plastics: A mini review. **Waste Managem & Res**, v. 35, n. 2, p. 132 – 140, 2017.

SANTANA, A. A. **Influência de características físicas e químicas de plastificantes na confecção e no comportamento estrutural e higroscópico de filmes de alginato de cálcio**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010. Disponível em: <<https://bv.fapesp.br/pt/dissertacoes-teses/75537/influencia-de-caracteristicas-fisicas-e-quimicas-de-plastifi>> Acesso em 22 de set. de 2022.

SANTOS, F. A.; TAVARES, M. I. B. Development of biopolymer/cellulose/sílica nanostructured Hybrid materials and their characterization by NMR relaxometry. **Polymer Testing**, v.47, p.92-100, 2015.

SCANDORIEIRO, S.; *et al.* Synergistic and additive effect of oregano essential oil and biological silver nanoparticles against multidrug-resistant bacterial strains. **Front. Microbiol**, v.7, article 760, 2016.

SEABRA, L. M. J., DAMASCENO, K. S. F. S. C., SILVA, C. R.; GOMES, C. C.; PEDROSA, L. F. C. Carotenoides totais em resíduos de camarão *Litopenaeus vannamei*. **Rev Ceres**, v. 61, n.1, p. 130-133, 2014.

SHANMUGAM, M., & ABIRAMI, R. G. Microbial Polysaccharides - Chemistry and Applications. **J Biol Act Prod from Nature**, v. 9, n. 1, p. 73–78, 2019.

SILVA, E. M. **Produção e caracterização de filmes biodegradáveis de amido de pinhão**. Trabalho de Conclusão de curso (Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2011. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/38562/000823833.pdf?sequence=>>>. Acesso em: 10 de jan. 2023.

SILVA, H. G.A. *et al.* Caracterização de fraturas frágil e dúctil em microscopia eletrônica de varredura (MEV). **Rev Ciên Mil e Tecnol**, v. 34, n. 03, 2017.

SILVA, J.A.; CARDOSO, L. G.; ASSIS, D. J.; GOMES, G. V. P.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; SOUZA, C. O.; *et. al.* Xanthan gum production by *Xanthomonas campestris pv. Campestris* IBSBF 1866 and 1867 from lignocellulosic agroindustrial wastes, **Appl Biochem Biotechnol**, v. 186, p. 750-763, 2018.

SILVA, M. 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. **J Appl Polym Sci**, v. 10, p-1-9, 2016.

SOARES, I. F. O. *et al* Síntese e caracterização de biofilmes de amido plastificados com glicerol ou triacetina. **Foco**, v. 5, n. 7, p. 79-97, 2014.

SOLTANI, S.; SHAKERI, A.; *et al.* A Review of the Phytochemistry and Antimicrobial Properties of *Origanum vulgare* L. and Subspecies. **Iran J Pharm Res**, v. 20, n. 2, p. 268-285, 2021.

SOUSA, R. P. F., *et al.* Efeito da goma xantana e da bentonita no desempenho de um fluido de perfuração base microemulsão. **Holos**, v. 2, n. 36, e7378, 2020.

SOUZA, V. G. L.; PIRES, J. R. A.; RODRIGUES, C.; RODRIGUES, P. F.; LOPES, A.; SILVA, R. J.; CALDEIRA, J.; DUARTE, M. P.; FERNANDES, F. B.; COELHO, I. M.; FERNANDO, A. L. Physical and morphological characterization of chitosan/montmorillonite films incorporated with ginger essential oil. **Coatings**, v. 9, n. 700 p. 1-20, 2019.

SPADA, J. C.; SILVA, E. M.; TESSARO, I. C. Production and characterization of pinhão starch biofilms. **Agrária - Rev Brasil Ciên Agr**, v. 9, n. 3, p. 365-369, 2014.

STOJKOVIC, D.; *et al.* Investigation on antibacterial synergism of *Origanum vulgare* and *Thymus vulgaris* essential oils. **Arch Biol Sci**, v. 65, n 2, p. 639-643, 2013.

SWAN, S. H. Environmental phthalate exposure in relation to reproductive outcomes and other health endpoints in humans. **Environ Res**, v. 108, n. 2, p. 177–184, 2008.

TAKATSUI, F. **Sistema CIE LAB: Análise Computacional de Fotografias**. Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas) – Faculdade de Odontologia do Araraquara, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2011. Disponível em: <https://www.foar.unesp.br/Home/Pos-Graduacao/LatoSensu/CienciasOdontologicas/takatsui_f_me_arafo.pdf>. Acesso em 22 de set. de 2022.

TANG, S.; WANG, Z.; LI, P.; LI, W.; LI, C.; WANG, Y.; CHU, P. K. Degradable and photocatalytic antibacterial au-tio₂/sodium alginate nanocomposite films for active food packaging. **Nanomater**, v. 8, n. 11, p. 930-940, 2018.

TEIXEIRA, F. Definição de ambiente padrão para condicionamento e realização de ensaios e sua influência nas propriedades de materiais plásticos. **Bol Tecnol e Desenv de Embal**, v. 31, n. 1, 2019.

THIELEN, M. Bioplastics: plants and crops raw materials products. **Fachagentur nach wachsende Rohstoffe V(FNR)**, 2014. Disponível em: <<https://international.fnr.de/>>. Acesso em: 19 de julho de 2022.

TURKULU, G.; KAYA, S. Bioaccumulation of heavy metals in various tissues of some fish species and green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus*) from İskenderun Bay, Turkey, and risk assessment for human health. **Biol Trace Element Res**, v. 180, p. 314-326, 2017.

VENUGOPAL, V.; GOPAKUMAR, K. Shellfish: nutritive value, health benefits, and consumer safety. **Comp Rev in Food Sci and Food Safety**, v. 16, n. 6, 2017.

VIERA, M. E. M.; SILVA, M. L. S.; *et al.* X-ray energy dispersive spectroscopy (EDS) coupled with scanning electron microscope (SEM): fundamentals and applications in dairy products. **Res, Soc and Develop**, v. 10, n. 10, e262101018622, 2021.

VIJAYENDRA, S. V. N.; SHAMALA, T. R. Film forming microbial biopolymers for commercial applications – A review. **Crit Rev Biotech**. v. 34, n. 4, p. 338-357, 2013.

WANG, Y.; ERMILOV, V.; STRIGIN, S.; SAFAEI, B. Multilevel modeling of the mechanical properties of graphene nanocomposites/polymer composites. **Microsystem Technologies**, v. 27, p. 4241–4251, 2021.

WATKINS, D. J.; *et al.* Phthalate and bisphenol A exposure during in utero windows of susceptibility in relation to reproductive hormones and pubertal development in girls. **Environ Res**, v. 159, p. 143–151, 2017.

WWF (Worldwide Fund for Nature). Brasil é o 4º país do mundo que mais gera lixo plástico. 2019. Disponível em: <<https://www.wwf.org.br/?70222/Brasil-e-o-4-pais-do-mundo-que-mais-gera-lixo-plastico>> Acesso em 23 de set. 2022

YANG, M.; *et al.* Effect of SiO₂, PVA and glycerol concentrations on chemical and mechanical properties of alginate-based films. **Int J Biol Macromol**, v. 107 b, p. 2686-2694, 2018.

YE, H.; HA, M.; YANG, M.; YUE, P.; XIE, Z.; LIU, C. Di2-ethylhexyl phthalate disrupts thyroid hormone homeostasis through activating the Ras/Akt/TRHr pathway and inducing hepatic enzymes. **Scient Rep**, v. 7, n.1, p.401-453, 2017.

YILMAZ, T.; MALDONADO, L.; TURASAN, H.; KOKINI, J. Thermodynamic mechanism of particulation of sodium alginate and chitosan polyelectrolyte complexes as a function of charge ratio and order of addition. **J Food Engin**, v. 254, p. 42-50, 2019.

YU, D.; XU, Y.; JIANG, Q.; XIA, W. Effects of chitosan coating combined with essential oils on quality and antioxidant enzyme activities of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets stored at 4 C. **Int J Biol Macromol**, v. 52, n. 2, p. 404–412, 2017.

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

ZEEMAN, A. **Resistência Mecânica**. 2016. Disponível em: <<https://www.linkedin.com/pulse/resist%C3%A2ncia-mec%C3%A2nica-annelise-zeemann/?originalSubdomain=pt>>. Acesso em: 24 de set. 2022.

APÊNDICE

Propriedades Mecânicas: Gráficos de Tensão x Deformação das amostras de biocompósitos testadas

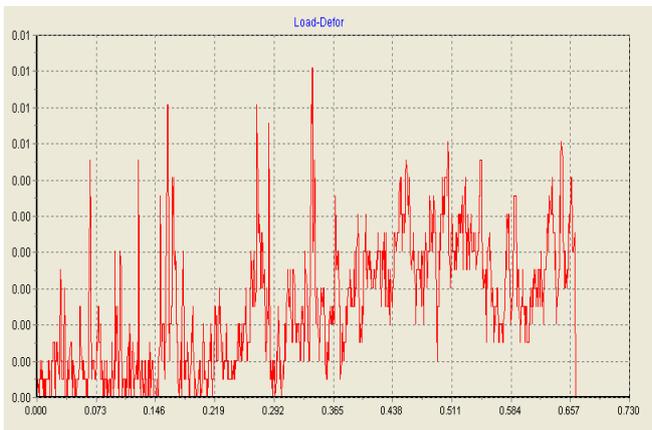
Filme de AS



Filme de AM



Filme de AX



Filme de AXM



Filme de AXMEAO¹



Filme de AXMEAO²



Filme de AXMEAO³



Filme de AXMEAO⁴



Filme de AXMEAO⁵



Filme de AXMEAO⁶



Filme de AXMEAO⁷



Filme de AXMEAO⁸



Filme de AXMEAO⁹



Legenda: AS: Alginato de sódio; AX: Alginato-Xantana; AM: Alginato-Montmorilonita; AXM: Alginato-Xantana-Montmorilonita (Controle); 1-9 (diferentes concentrações de EAO) – mg/mL⁻¹: 1- 0,083; 2- 0,207; 3- 0,249; 4- 0,335; 5- 0,415; 6- 0,622; 7- 0,83; 8- 1,2; 9- 1,66.

Fonte: AUTORA (2022).