

Preparação e caracterização de filmes de poli(butileno adipato-*co*-tereftalato) aditivados com óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*

Preparation and characterization of poly(butylene adipate-*co*-terephthalate) films added with *Melaleuca alternifolia* essential oil

Preparación y caracterización de films de poli(adipato-*co*-tereftalato de butileno) aditivados con aceite esencial de *Melaleuca alternifolia*

Recebido: 03/06/2022 | Revisado: 15/06/2022 | Aceito: 17/06/2022 | Publicado: 29/06/2022

Augusto Guilherme Feitosa Cacho Borges

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9426-6413>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: augusto.cacho@hotmail.com

Pedro Henrique Pessoa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4863-9124>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: peu.pessoa@gmail.com

Tiago Lopes de Araújo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6374-2018>
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
E-mail: tlopesaraujo@gmail.com

Karina Carvalho de Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9902-7566>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: karinacar_souza@hotmail.com

Camila Nunes Carneiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2957-182X>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: camilanc.quimica@gmail.com

Pâmela Barcelar Ferreira Gomes da Silva de Luna

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8443-0520>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: pamelabarcelar@gmail.com

Glória Maria Vinhas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5073-609X>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: gmvinhas@yahoo.com.br

Yêda Medeiros Bastos de Almeida

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1041-7144>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: yeda.oliveira@ufpe.br

Resumo

Com o intuito de prolongar o tempo de prateleira e preservar as propriedades dos alimentos, surgiram as embalagens ativas. Neste estudo, filmes de poli(butileno adipato-*co*-tereftalato) aditivados com 5, 10 e 15 % (m/m) de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* foram preparados pela técnica de *solution casting*. O óleo foi caracterizado por cromatografia gasosa hifenada com espectrometria de massas e espectroscopia no infravermelho médio por transformada de Fourier, identificando-se como componentes majoritários: aromadendreno, α -guaieño, α -terpineol e 2-metilisborneol. A atividade antimicrobiana do óleo foi avaliada frente à bactéria *Escherichia coli* pela técnica de disco-difusão em ágar, obtendo-se um halo de 15 mm. Os espectros de infravermelho médio dos filmes, quando submetidos à análise de componentes principais, mostraram que houve incorporação do óleo na matriz polimérica. O aumento da concentração do óleo aumentou a permeabilidade ao vapor de água e reduziu a rigidez do filme. Também se constatou, através da termogravimetria e da calorimetria exploratória diferencial, que o óleo incorporado não alterou: a estabilidade térmica do polímero (mantendo a degradação em uma única etapa), as temperaturas de fusão e de cristalização, o grau de cristalinidade e a entalpia de fusão. Por fim, o filme aditivado com 15 % (m/m) do óleo apresentou boa inibição frente à bactéria *Escherichia coli*, após 12 dias de contato com uma amostra de queijo muçarela na temperatura de 4 °C, reduzindo a carga microbiana inoculada de $1,08 \cdot 10^7$ UFC/mL para $2,75 \cdot 10^6$ UFC/mL, o que faz deste material uma promissora embalagem ativa antimicrobiana.

Palavras-chave: Poli(butileno adipato-*co*-tereftalato); *Melaleuca alternifolia*; Óleo essencial; Embalagem ativa.

Abstract

With the aim of prolonging the shelf life and preserving the properties of food, active packaging emerged. In this study, poly(butylene adipate-co-terephthalate) films added with 5, 10 and 15 % (m/m) of *Melaleuca alternifolia* essential oil were prepared by the solution casting technique. The oil was characterized by hyphenated gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) and Fourier transform mid-infrared spectroscopy (FTIR), identifying as major components: aromadendrene, α -guayene, α -terpineol and 2-methylisborneol. Oil's antimicrobial activity was evaluated against the bacteria *Escherichia coli* by disk-diffusion technique in agar medium, obtaining a halo of 15 mm. The mid-infrared spectra of the films, when subjected to a principal component analysis, showed that there was incorporation of oil into the polymer matrix. The increase in the oil concentration increased the water vapor permeability and reduced the film stiffness, evaluated by mechanical tensile tests. It was also found, through thermogravimetry and differential exploratory calorimetry techniques that the incorporated oil did not change: the thermal stability of the polymer (keeping the degradation in a single step), the melting and crystallization temperatures, the degree of crystallinity of the polymer and the enthalpy of fusion. Finally, the film added with 15% (w/w) of oil showed good inhibition against the *Escherichia coli* bacteria, after 12 days of contact with a sample of mozzarella cheese at 4° C, reducing the inoculated microbial load of $1,08 \cdot 10^7$ CFU/mL to $2,75 \cdot 10^6$ CFU/mL, which makes this material a promising antimicrobial active packaging.

Keywords: Poly(butylene adipate-co-terephthalate); *Melaleuca alternifolia*; Essential oil; Active packaging.

Resumen

Con la finalidad de prolongar la duración de validez e preservar las propiedades de los alimentos, surgieron los embalajes activos. En este estudio, films de poli (butileno adipato co-tereftalato) aditivados con 5, 10 e 15% de aceite esencial de *Melaleuca alternifolia* fueron preparados con la técnica de *solution casting*. El aceite fue caracterizado por cromatografía gaseosa hifenada con espectrometría de masas y espectroscopia en el infrarrojo mediano por transformada de Fourier, identificándose como componentes mayoritarios: aromadendreno, α -guaieno, α -terpineol e 2-metilisborneol. La actividad antimicrobiana del aceite fue evaluada frente a la bacteria *Escherichia coli* por la técnica de disco-difusión en agar, obteniendo un halo de 15 mm. Los espectros de infrarrojo mediano de los films, cuándo sometidos al análisis de componentes principales, demostraron que hubo incorporación del aceite en la matriz polimérica. El aumento de la concentración del aceite aumentó la permeabilidad al vapor de agua y redujo la rigidez del film, evaluada por ensayos mecánicos de tracción. También se constató, a través de la termogravimetría y de la calorimetría exploratoria diferencial, que el aceite incorporado no alteró: la estabilidad térmica del polímero (manteniendo la degradación en una única etapa), las temperaturas de fusión y de cristalización, el grado de cristalinidad y la entalpía de fusión. Por fin, el film aditivado con 15% (m/m) del aceite presentó buena inhibición frente a la bacteria *Escherichia coli*, pasados 12 días de contacto con una muestra de queso muzarella en la temperatura de 4 °C, reduciendo la carga microbiana inoculada de $1,08 \cdot 10^7$ UFC/mL para $2,75 \cdot 10^6$ UFC/mL, lo que hace de este material una promisoría embalaje activa antimicrobiana.

Palabras clave: Poli(adipato-co-tereftalato de butileno); *Melaleuca alternifolia*; Aceite esencial; Embalaje activo.

1. Introdução

Em muitos países desenvolvidos, principalmente no continente europeu, o fluxograma no que tange à distribuição de alimentos tem passado por grandes inovações, sobretudo com foco na redução de embalagens descartadas ao meio ambiente, visto que, atualmente, grande parte das embalagens utilizadas em indústrias é oriunda de combustíveis fósseis, causando impacto negativo ao meio ambiente (Wang et al., 2015).

Com isso, as indústrias estão buscando alternativas, como as embalagens ativas, a fim de evitar o desperdício de alimentos e agregar competitividade, inovação e sustentabilidade aos seus produtos, frente a esse novo mercado. Portanto, o incentivo ao desenvolvimento de novos sistemas de embalagens objetiva estender a durabilidade do produto, mantendo suas características organolépticas e garantindo a segurança alimentar dos consumidores finais (Battisti et al., 2017).

Uma alternativa que está em constante crescimento global é o emprego de extratos naturais associados a polímeros biodegradáveis para o preparo de materiais sustentáveis, aptos para serem utilizados nos processos de empacotamento (Haute et al., 2017).

As embalagens ativas, diferentemente das embalagens convencionais, apresentam aditivos, incorporados a sua estrutura, que podem interagir com o alimento, proporcionando uma maior estabilidade ao embalado durante o armazenamento. O termo “embalagens ativas” está associado às tecnologias que permitem satisfazer a demanda de estender a vida de prateleira de alimentos (Domínguez et al., 2018).

Para a preparação de tais materiais, a escolha do polímero deve ser considerada. Uma alternativa viável é o poli(butileno adipato-*co*-tereftalato) (PBAT), polímero desenvolvido pela BASF e que possui as seguintes características que possibilitam seu uso em embalagens de alimentos: é biodegradável quando em contato com os micro-organismos do solo e apresenta alta resistência mecânica, baixa permeabilidade ao vapor de água e alta flexibilidade (Weng et al., 2013).

Nesse contexto, estudos vêm sendo direcionados para o uso de polímeros biodegradáveis associados a óleos essenciais que possuam propriedades químicas funcionais contra a proliferação microbiana, para que possam ser utilizados como conservantes naturais, trazendo maior benefício aos consumidores (Debiagi et al., 2014). Um dos óleos essenciais que tem mostrado sua atividade antimicrobiana em diversas pesquisas é o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (OEM), uma planta nativa da Austrália (Comin et al., 2016; Silva et al., 2019; Souza et al., 2017).

À face do exposto, o objetivo deste trabalho foi preparar, pela técnica de *solution casting*, filmes de PBAT aditivados com 5, 10 e 15 % (m/m) de OEM. Por sua vez, o OEM foi caracterizado por cromatografia gasosa hifenada com espectrometria de massas (CG-MS) e espectroscopia no infravermelho médio por transformada de Fourier (FTIR) e teve a sua atividade antimicrobiana frente à bactéria *Escherichia coli* avaliada pela técnica de disco-difusão em ágar. Já as técnicas empregadas para a caracterização dos filmes foram: espectroscopia FTIR, permeabilidade ao vapor de água (PVA), ensaio mecânico de tração (EMT), termogravimetria (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). E, por fim, foi avaliada a atividade antimicrobiana do filme contendo a maior proporção de OEM em contato com amostras de queijo muçarela inoculadas com *Escherichia coli*.

2. Metodologia

2.1 Reagentes e microrganismo

O PBAT utilizado foi fornecido sob o nome comercial de Ecoflex® F Blend C1200 pela BASF e o OEM foi adquirido da Laszlo.

O clorofórmio e o cloreto de cálcio di-hidratado foram adquiridos da Dinâmica.

O ágar nutritivo (European Bacteriological Agar) e a peptona bacteriológica foram adquiridos da Kasvi.

O microrganismo utilizado nos testes de atividade antimicrobiana foi a *Escherichia coli* ATCC 25922, fornecido pela Coleção de Culturas de Microrganismos UFPEDA do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco.

2.2 Caracterização do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*

O OEM foi analisado utilizando um sistema ThermoScientific de cromatógrafo gasoso (modelo Trace 1300) acoplado a um espectrômetro de massas (modelo ISQ Single Quadrupole), equipado com coluna apolar (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm). A temperatura da coluna foi, inicialmente, de 70 °C. Depois, ela foi elevada até: 120 °C (15 °C/min), 180 °C (10 °C/min) e 250 °C (20 °C/min), permanecendo nesta última por 3 min (Grando et al., 2016). O fluxo de hélio (1,5 mL/min) foi mantido em pressão constante de 100 kPa.

Foram injetadas alíquotas de 1,0 µL em *split* (1:20) do OEM diluído em hexano. Em seguida, injetou-se 1,0 µL em *split* (1:50) da mistura de padrões de hidrocarbonetos (C9-C30). E, por fim, injetou-se 1,0 µL em modo *splitless* da mistura 8:2 do OEM com a mistura de padrões de hidrocarbonetos. A temperatura do injetor foi de 220 °C, enquanto que a temperatura do detector foi de 250 °C.

Os espectros de massas foram registrados em 70 eV (em modo de ionização por impacto de elétrons), com uma velocidade de escaneamento de 0,5 varreduras/s, e razão massa/carga (m/z) 20 até 350. Os componentes do OEM foram identificados a partir da comparação de seus espectros de massa e de seus tempos de retenção com padrões autênticos disponíveis em bibliotecas de referência integradas ao software do sistema. Já as amostras do OEM foram quantificadas, em

triplicata, por cromatografia gasosa com detector de ionização de chamas, nas mesmas condições do CG-MS, para determinar a proporção dos componentes no óleo.

O espectro de FTIR do OEM foi adquirido empregando um espectrômetro PerkinElmer (modelo Spectrum 400 FT-IR/FT-NIR) com acessório de reflectância total atenuada (ATR), faixa espectral de 4000 a 650 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} e média de 16 varreduras.

Para avaliar a atividade antimicrobiana do OEM frente à bactéria Gram-negativa *Escherichia coli*, representante do grupo coliforme e indicadora de contaminação alimentícia, empregou-se o método de disco-difusão em ágar, realizado em triplicata: discos de papel de filtro, previamente esterilizados, foram imersos no OEM e, em seguida, foram dispostos em placas de Petri contendo ágar nutritivo inoculado com 0,1 mL da suspensão bacteriana (em água estéril) 10^{-4} na escala MacFarland. O sistema foi incubado em estufa, por 48 h e na temperatura de 30 °C, para posterior medição do halo de inibição utilizando um paquímetro.

2.3 Preparação dos filmes poliméricos

Para os filmes de PBAT, foram dissolvidos 2,0 g do polímero em 60 mL de clorofórmio, em um béquer e sob agitação magnética por 45 min.

Já para os filmes aditivados foram pesados: 1,9 g de PBAT e 0,1 g de OEM (ou seja, 5 % (m/m) de OEM); 1,8 g de 0,2 g de OEM (ou seja, 10 % (m/m) de OEM) e 1,7 g de PBAT e 0,3 g de OEM (ou seja, 10 % (m/m) de OEM), correspondendo, respectivamente, aos filmes a partir de agora codificados como: PBAT/5%OEM, PBAT/10%OEM e PBAT/15%OEM. A dissolução também foi feita com 60 mL de clorofórmio, em um béquer e sob agitação magnética por 45 min.

Posteriormente, as soluções preparadas foram dispostas em placas de Petri de 15 cm de diâmetro e aguardou-se a completa evaporação do solvente por 72 h, em temperatura ambiente e sem controle de umidade.

2.4 Espectroscopia FTIR dos filmes

Os espectros de FTIR dos filmes foram obtidos utilizando-se um espectrômetro PerkinElmer (modelo Spectrum 400 FT-IR/FT-NIR) com acessório de ATR, faixa espectral de 4000 a 650 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} e média de 16 varreduras.

Em seguida, usando o *software* The Unscrambler (versão 9.7), os dados espectrais foram pré-processados aplicando a primeira derivada de Savitzky-Golay (com janela de 11 pontos e ajuste dos dados a um polinômio de segundo grau) e, em seguida, foi realizada uma análise de componentes principais (PCA), com os dados centrados na média e validação cruzada, a fim de classificar as amostras.

2.5 Permeabilidade ao vapor de água

A PVA dos filmes foi determinada, em triplicata, através do método gravimétrico padrão (American Society for Testing and Materials [ASTM], 1995).

Em um tubo cilíndrico de 6,0 cm de altura foi adicionado cloreto de cálcio anidro (agente higroscópico) em quantidade suficiente para deixar um espaço de 1,5 cm entre o filme e esse agente. Os recipientes foram dispostos em um dessecador hermeticamente fechado, contendo solução saturada de cloreto de sódio (que irá proporcionar 75 % de umidade relativa no interior do dessecador), e pesados em uma balança analítica por 8 dias consecutivos, com intervalos de 24 h entre essas pesagens.

A expressão empregada para determinar a permeabilidade é a equação 1, na qual: PVA é a permeabilidade ao vapor de água, $\Delta m/\Delta t$ é o ganho de umidade por unidade de tempo, X é a espessura média do filme, A é a área do filme e ΔP é a diferença de pressão de vapor de água entre os dois lados do filme (Fráguas et al., 2015).

$$PVA = (\Delta m/\Delta t) \cdot (X/A) \cdot (1/\Delta P) \quad (\text{Eq. 1})$$

2.6 Ensaio mecânico de tração

O EMT foi realizado em uma máquina universal EMIC (modelo DL500MF), de acordo com o que preconiza a norma ASTM D882 (ASTM, 2018). Foram ensaiados 9 corpos de prova (2,5 cm x 7,5 cm) de cada tipo de filme, sendo a velocidade de deslocamento da garra de 0,5 mm/s e a distância inicial entre as garras de 4 cm. O teste estatístico de Tukey ($p < 0,05$), após a realização de uma análise de variância (ANOVA), foi aplicado aos resultados para avaliar se houve ou não diferença estatisticamente significativa entre as médias.

2.7 Termogravimetria

Amostras de 20 mg dos filmes foram submetidas ao ensaio de TGA, empregando uma termobalança Shimadzu (modelo DTG 60H). A faixa de temperatura foi de 25 a 600 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min e em atmosfera de nitrogênio (fluxo de 50 mL/min).

2.8 Calorimetria diferencial exploratória

O DSC das amostras dos filmes foi realizado em um sistema Mettler Toledo (modelo Star System), utilizando cadinhos de alumínio e em atmosfera de nitrogênio (fluxo de 50 mL/min).

Inicialmente houve uma etapa de aquecimento (de 25 a 200 °C) seguida de resfriamento (de 250 a 25 °C) para a remoção do histórico térmico da matriz polimérica. Por fim, houve um segundo aquecimento (de 25 a 200 °C). As taxas tanto de aquecimento quanto de resfriamento foram de 10 °C/min. Os resultados foram tratados com o auxílio dos *softwares* SigmaPlot (versão 12.3) e Integral 1B, para obtenção dos parâmetros de interesse.

2.9 Atividade antimicrobiana do filme aditivado

Para avaliar a atividade antimicrobiana do filme PBAT/15%OEM (material contendo a maior proporção de OEM) frente à bactéria Gram-negativa *Escherichia coli*, utilizou-se amostras de queijo muçarela (40 mm x 40 mm x 0,2 mm) adquiridas comercialmente na cidade do Recife/PE.

Cada amostra de queijo foi esterilizada com irradiação ultravioleta, por 15 min em cada lado, e inoculada, em um dos lados, com 0,1 mL da suspensão bacteriana (em água estéril) 0,5 na escala MacFarland. Em seguida, foi colocado um corpo de prova, também previamente esterilizado por irradiação ultravioleta, do filme aditivado (40 mm x 40 mm) em contato com o lado inoculado.

Na sequência, os sistemas foram acondicionados em sacos do tipo *ziplock* estéreis e armazenados a 4 °C. Os tempos de contato avaliados foram de 3, 6, 9 e 12 dias (Dannenberg et al., 2017).

Para a quantificação da *Escherichia coli*, foi utilizado o método de contagem de células viáveis. Inicialmente, em cada um dos sacos *ziplock* foram adicionados 10 mL de solução aquosa de peptona 0,1 % (m/V) para arrastar os microrganismos. Depois, 1 mL da suspensão obtida foi pipetada para preparar uma série de 10 diluições (1:10), também com a solução aquosa de peptona 0,1 % (m/V). De cada uma das 10 diluições foi pipetado, em duplicata, 1 mL da suspensão, que foi transferida para

uma placa de Petri (80 x 15 mm) na qual foi adicionado ágar nutritivo fundido. Após homogeneização e solidificação dos meios de cultura, os sistemas foram incubados a 35 °C por 48 h.

3. Resultados e Discussão

3.1 Caracterização do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*

Os principais componentes do OEM e seus respectivos percentuais no óleo, determinados por CG-MS, são apresentados na Tabela 1. O método identificou e quantificou 22 componentes, sendo que 11 deles apresentam percentuais menores do que 3,00 %.

Tabela 1. Composição do OEM obtida por GC-MS.

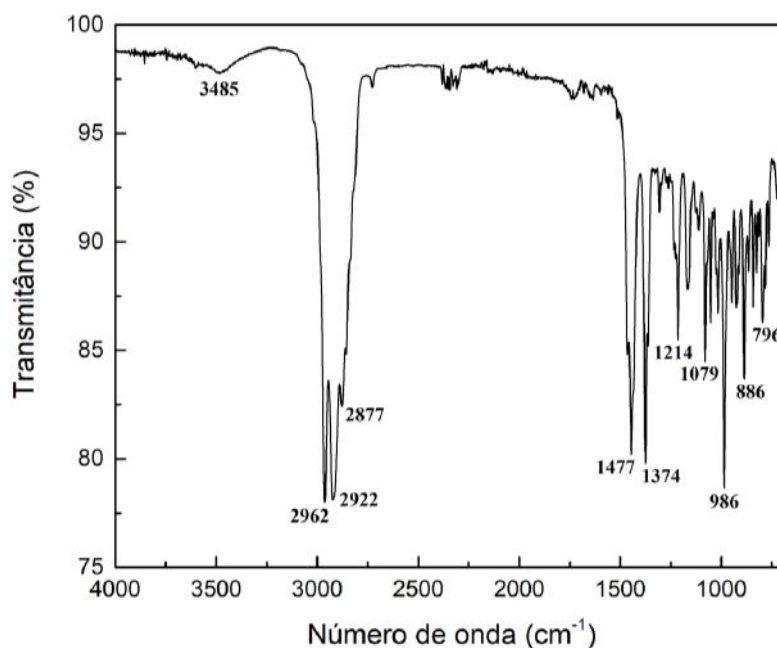
Composto	(%)
Aromadendreno	20,45
α -guaieno	14,23
α -terpineol	9,15
2-metilisoborneol	7,88
Outros	48,29

Fonte: Autores (2022).

Podemos observar que os componentes majoritários do OEM são os sesquiterpenos aromadendreno ($C_{15}H_{24}$) e α -guaieno ($C_{15}H_{24}$) e os monoterpenoides α -terpineol ($C_{10}H_{18}O$) e 2-metilisoborneol ($C_{11}H_{20}O$). Outros autores também identificaram esses mesmos componentes no OEM, como: Graziano et al. (2016) (aromadendreno, α -guaieno e α -terpineol); Souza et al. (2017) (aromadendreno e α -terpineol) e Tranchida et al. (2010) (aromadendreno, α -terpineol e 2-metilisoborneol).

O espectro de FTIR do OEM (Figura 1) apresentou bandas características de seus componentes majoritários (Silverstein et al., 2007): estiramento de hidroxila (O – H) em 3485 cm^{-1} ; estiramento assimétrico e simétrico do grupo metil (CH_3) em 2962 e 2877 cm^{-1} , respectivamente; estiramento assimétrico do grupo metileno (CH_2) em 2922 cm^{-1} ; dobramento tesoura do grupo CH_2 em 1477 cm^{-1} ; dobramento guarda-chuva do grupo CH_3 em 1374 cm^{-1} ; estiramento das ligações C – O em 1214 e 1079 cm^{-1} ; dobramento fora do plano das ligações $C(sp^2) - H$ em 986 cm^{-1} (compostos *trans* ou *E*), 886 cm^{-1} (dupla terminal) e 796 cm^{-1} (alceno trissubstituído).

Figura 1. Espectro de FTIR do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*.



Fonte: Autores (2022).

Ao final da avaliação do OEM pelo método de disco-difusão, verificou-se que o óleo inibiu o crescimento da bactéria *Escherichia coli*. O diâmetro médio do halo de inibição medido após o teste foi de 15 ± 1 mm. Resultados semelhantes também foram obtidos por Kulkarni et al. (2012) e Siddique et al. (2017). As propriedades antimicrobianas do OEM são atribuídas principalmente aos terpenos e terpenoides presentes em sua composição (Burt, 2004; D'Arrigo et al., 2010). Vale ressaltar que os resultados da avaliação por CG-MS indicaram a presença de *trans*-1(7),8-*p*-mentadien-2-ol (5,39 %), hidrato de *trans*-sesquisabineno (1,73 %) e 5,5-dimetil-4-[(1*E*)-3-metilbuta-1,3-dienil]-1-oxaspiro[2.5]octano (1,09 %), fazendo com que esses isômeros *trans* e *E* totalizem um percentual de 8,21 %.

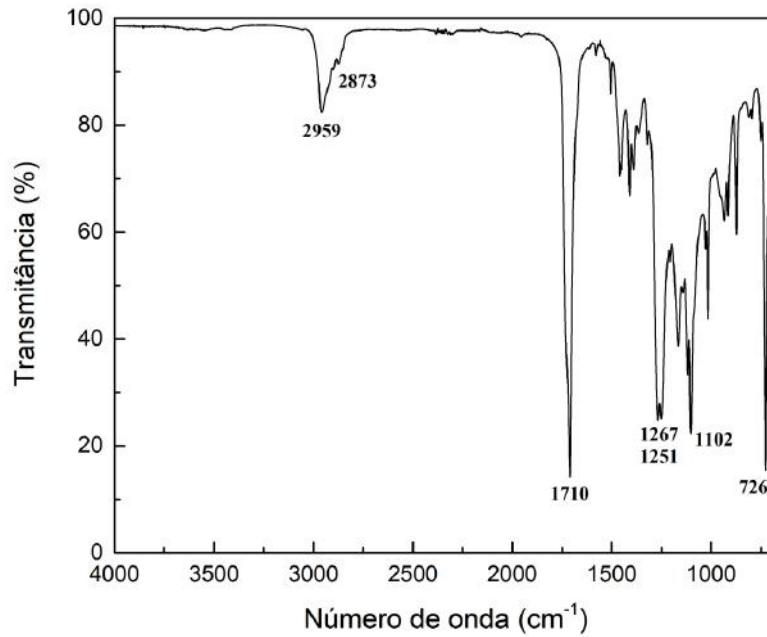
3.2 Espectroscopia FTIR dos filmes

A Figura 2 apresenta o espectro de FTIR do filme de PBAT, que contém bandas de: estiramento assimétrico e simétrico do grupo metileno em 2959 e 2873 cm^{-1} , respectivamente; estiramento de carbonila (C = O) em 1710 cm^{-1} ; estiramento das ligações C – O em 1267, 1251 e 1102 cm^{-1} ; dobramento assimétrico no plano e em fase de quatro ou mais grupos metileno ligados consecutivamente em 726 cm^{-1} . Esse resultado é semelhante ao por Scheibel et al. (2021) e Siyamak et al. (2012).

Os espectros de FTIR dos filmes PBAT, PBAT/5%OEM, PBAT/10%OEM e PBAT/15%OEM são apresentados na Figura 3. Visualmente não é possível fazer nenhuma distinção entre eles, uma vez que o teor de óleo na matriz polimérica é relativamente baixo (como no caso do filme PBAT/5%OEM) ou pode haver sobreposição das bandas de absorção do OEM e do polímero em algumas regiões espectrais.

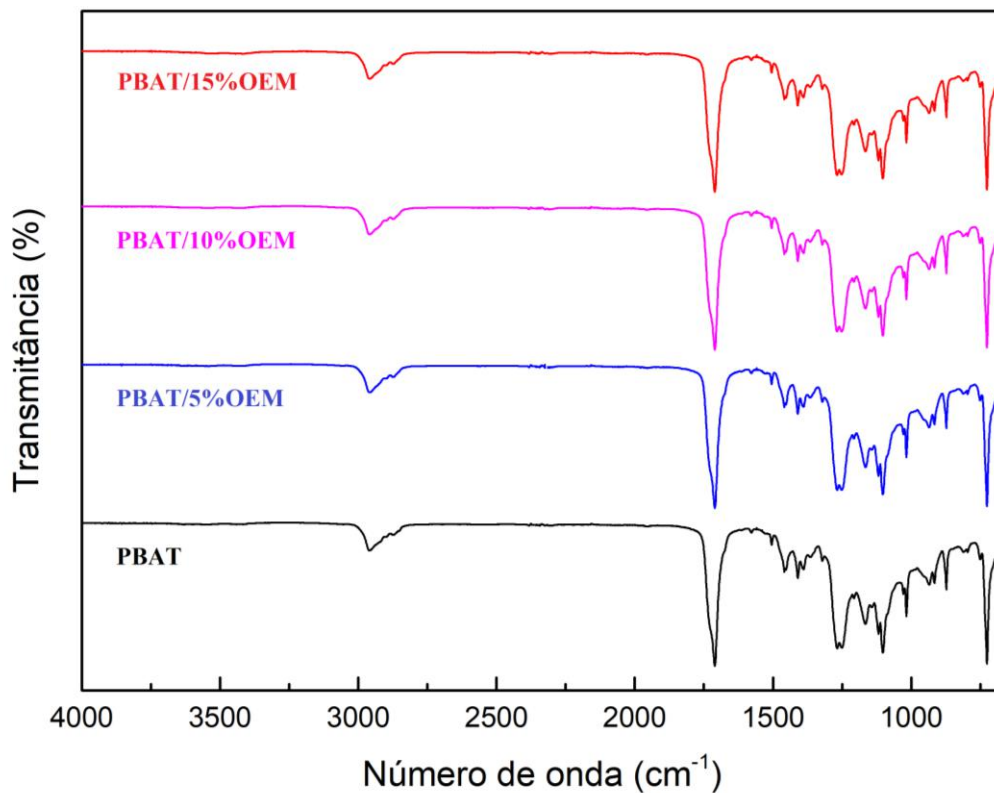
Para superar essa dificuldade, foi realizada uma PCA com os dados espectrais para confirmar a incorporação do óleo na matriz polimérica. As componentes principais 1 (PC 1), 2 (PC 2) e 3 (PC 3) explicaram, respectivamente, 50, 26 e 16 % da variabilidade dos dados, totalizando 92 %.

Figura 2. Espectro de FTIR do PBAT.



Fonte: Autores (2022).

Figura 3. Espectro de FTIR dos filmes PBAT, PBAT/5%OEM, PBAT/10%OEM e PBAT/15%OEM.

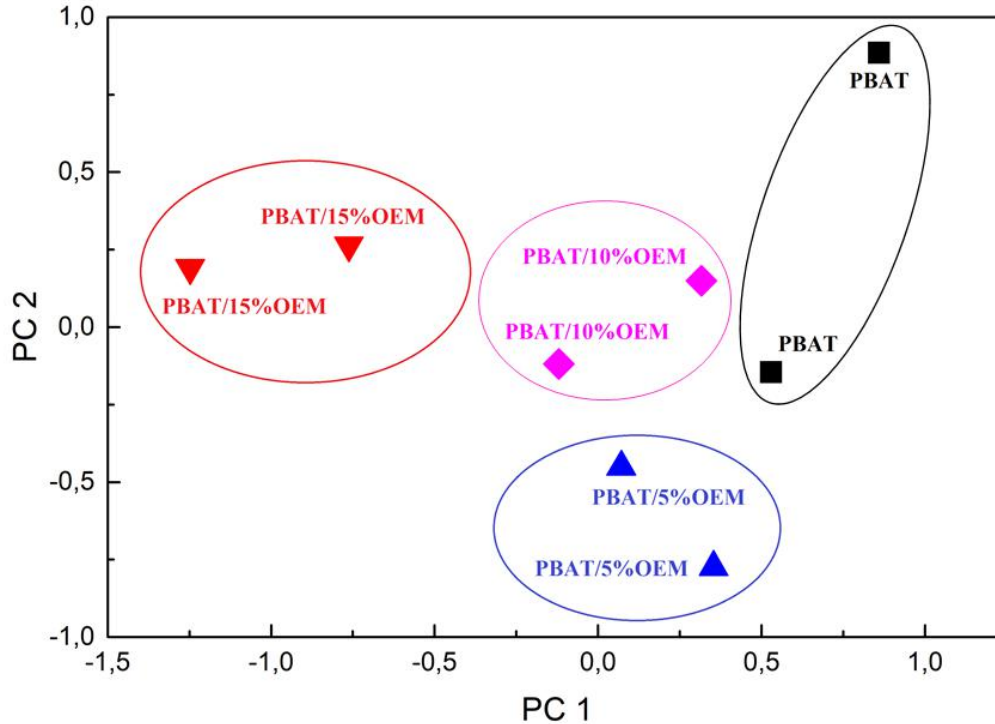


Fonte: Autores (2022).

O gráfico dos escores de PC 2 *versus* PC 1 pode ser visto na Figura 4. É possível observar a formação de 4 grupos, sendo que as amostras de PBAT/15%OEM estão mais afastadas das demais. Além disso, se observamos somente PC 1, é possível ordenar as amostras em ordem crescente do teor de OEM, a partir do filme não aditivado, da direita para a esquerda.

As bandas responsáveis por essa classificação, indicadas pelos pesos de PC 1, foram: 1710, 1374, 986, 886 e 726 cm^{-1} , sendo que três delas (1374, 986 e 886 cm^{-1}) estão presentes exclusivamente no espectro do OEM.

Figura 4. Escores de PC2 versus PC1.



Fonte: Autores (2022).

3.3 Permeabilidade do vapor de água

Os resultados do ensaio de PVA estão apresentados na Tabela 2, na qual se pode observar que a incorporação de 5 % (m/m) de OEM não alterou significativamente a permeabilidade da matriz polimérica. Porém, para as outras duas composições aditivadas, PBAT/10%OEM e PBAT/15%OEM, houve um aumento considerável na permeabilidade: de 82,44 e 96,80 %, respectivamente.

Tabela 2. Resultados do ensaio de PVA.

Filme	PVA ($\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$)
PBAT	$(1,88 \pm 1,91) \cdot 10^7$
PBAT/5%OEM	$(1,89 \pm 1,68) \cdot 10^7$
PBAT/10%OEM	$(3,43 \pm 1,07) \cdot 10^7$
PBAT/15%OEM	$(3,70 \pm 5,63) \cdot 10^7$

Fonte: Autores (2022).

Isso porque a presença do aditivo pode promover um aumento da mobilidade das cadeias poliméricas e do volume livre, aumentando a permeabilidade (Amaral, 2014; Martelli et al., 2006). Tanto é que, em estudos anteriores, foi observado que o OEM aumentou a permeabilidade de polímeros biodegradáveis (Pires, 2016) e da membrana plasmática de células de leveduras (Hammer et al., 2004).

3.4 Ensaio mecânico de tração

Os resultados do EMT estão dispostos na Tabela 3. As propriedades mecânicas avaliadas foram tensão na força máxima e módulo elástico.

Tabela 3. Resultados do ensaio mecânico de tração.

Filme	Tensão na força máxima (MPa)	Módulo elástico (MPa)
PBAT	8,35 ± 0,75 ^a	47,59 ± 1,60 ^a
PBAT/5%OEM	8,54 ± 0,33 ^a	46,87 ± 8,10 ^a
PBAT/10%OEM	6,54 ± 0,25 ^b	40,69 ± 4,41 ^b
PBAT/15%OEM	5,36 ± 0,12 ^c	32,19 ± 4,97 ^c

Letras minúsculas diferentes nas colunas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Médias com letras minúsculas iguais não diferem entre si significativamente. Fonte: Autores (2022).

Observou-se que houve uma diminuição da tensão da força máxima com o aumento do teor do OEM a partir da incorporação de 10 % (m/m) do OEM na matriz polimérica, sendo de 21,67 % para os filmes de PBAT/10%OEM e de 35,80 % para os filmes de PBAT/15%OEM. Também houve uma diminuição do módulo elástico para a mesma situação, sendo de 14,49 % para os filmes de PBAT/10%OEM e de 32,36 % para os filmes de PBAT/15%OEM.

A redução dessas propriedades mecânicas pode ser atribuída aos componentes de baixa massa molecular do OEM, que influenciam no comportamento mecânico dos polímeros ao ocupar determinados volumes entre as cadeias poliméricas, dando origem a poros (Amaral, 2014; Pires, 2016; Sánchez-Gonzalez et al., 2009, 2010). Todavia, é um resultado bastante interessante, pois indica que o OEM atuou como plastificante em duas composições (PBAT/10%OEM e PBAT/15%OEM), ao promover menor rigidez e maior flexibilidade aos materiais.

3.5 Termogravimetria

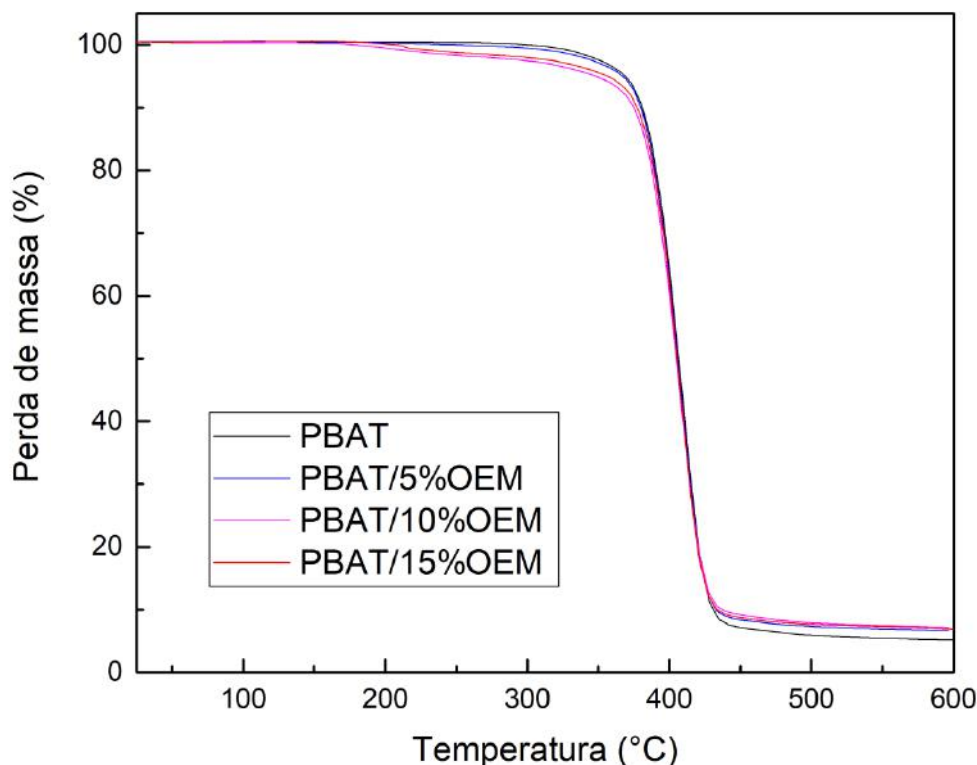
As perdas de massa em função da temperatura, para todos os sistemas, podem ser vistas na Figura 5. Observa-se que a degradação ocorreu em uma única etapa, para todos os sistemas, na faixa de 340 a 390 °C, enquanto que a taxa máxima de perda de massa se deu em torno de 372 °C. Resultados semelhantes foram observados por Bheemaneni et al. (2018), Ibrahim et al. (2011), Kuchnier (2014) e Kumar et al. (2010). Uma vez que os perfis de degradação foram semelhantes, pode-se concluir que a presença do OEM não altera a estabilidade térmica da matriz polimérica. Os resíduos para os filmes aditivados foram ligeiramente superiores ao do filme PBAT.

3.6 Calorimetria exploratória diferencial

As curvas de DSC foram obtidas para quantificar a cristalinidade dos filmes. A Tabela 4 mostra os resultados para T_c (temperatura de cristalização), T_m (temperatura de fusão), ΔH_m (entalpia de fusão) e X_c (grau de cristalinidade) para todos os sistemas estudados. Resultados semelhantes foram obtidos por Al-Itry et al. (2012).

Observa-se que não houve variação significativa dos parâmetros determinados com a incorporação do OEM à matriz polimérica. Este fato é interessante, pois aponta que as condições de processamento dos sistemas aditivados podem ser as mesmas do PBAT.

Figura 5. Resultados da termogravimetria dos filmes PBAT, PBAT/5%OEM, PBAT/10%OEM e PBAT/15%OEM.



Fonte: Autores (2022).

Tabela 4. Parâmetros determinados a partir das curvas de DSC.

Filme	T _c (°C)	T _m (°C)	ΔH _m (J/g)	X _c (%)
PBAT	84,1	123,2	11,8	14,8
PBAT/5%OEM	84,8	123,9	11,0	14,8
PBAT/10%OEM	83,6	121,8	10,7	15,1
PBAT/15%OEM	85,2	121,5	10,2	13,9

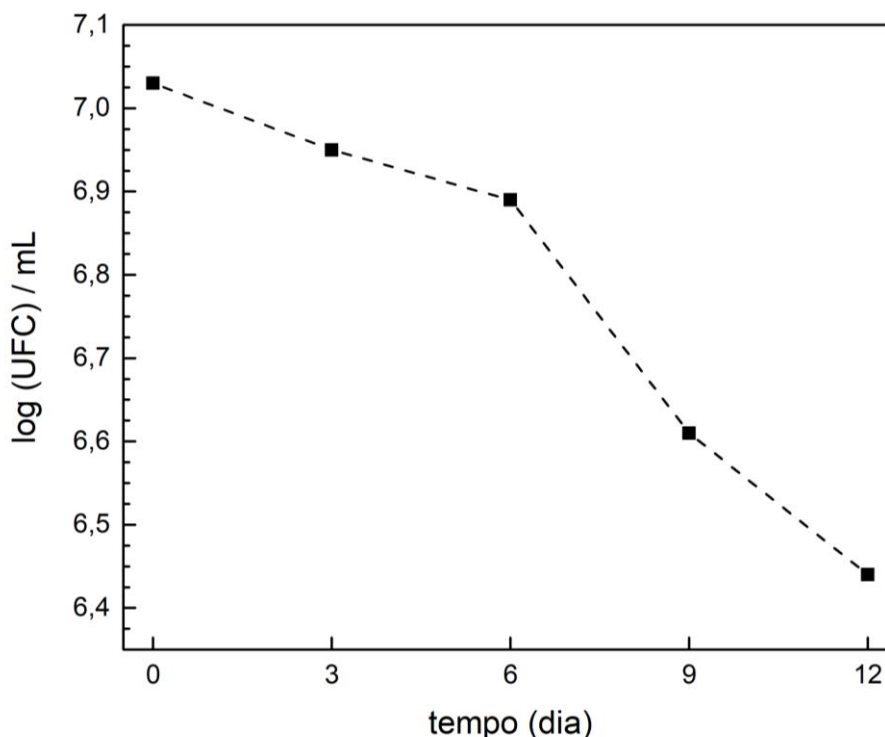
Fonte: Autores (2022).

3.7 Atividade antimicrobiana do filme PBAT/15%OEM

Os resultados da avaliação da atividade do filme PBAT/15%OEM frente à *Escherichia coli*, inoculada no queijo muçarela, podem ser vistos na Figura 6. Para o padrão de contagem das células viáveis (entre 30 e 300 UFC), foram utilizadas as placas provenientes da inoculação da 5ª diluição (1:100.000).

Nos 6 primeiros dias do armazenamento, a redução da carga microbiana não foi muito evidente, porém, ela passou a ser acentuada nas leituras seguintes (9 e 12 dias). Ao término do teste, a população bacteriana foi reduzida de $1,08 \cdot 10^7$ para $2,75 \cdot 10^6$ UFC/mL, ou seja, de aproximadamente 75 %. Essa inibição pode ser explicada pela exposição do microrganismo ao OEM, que exsudou da matriz polimérica, migrando gradualmente para o alimento (Silva et al., 2019). É importante ressaltar que, para o filme PBAT (controle do experimento), a quantidade de colônias, com o decorrer do tempo, se tornou cada vez maior, o que é natural em alimentos contaminados por microrganismos.

Figura 6. Resultados da avaliação da atividade do filme PBAT/15%OEM frente à *Escherichia coli*.



Fonte: Autores (2022).

4. Considerações Finais

A caracterização do OEM determinou a composição majoritária desse óleo [aromadendreno (20,45 %), α -guaieño (14,23 %), α -terpineol (9,15 %) e 2-metilisoborneol (7,88 %)] e indicou que ele apresentou potencial inibidor frente à bactéria *Escherichia coli*, com um halo de inibição 15 mm.

A incorporação do OEM na matriz de PBAT foi eficiente, sendo comprovada pela análise quimiométrica dos dados obtidos pela técnica de FTIR, com absorções nos seguintes números de onda: 1374, 986 e 886 cm^{-1} .

A propriedade de barreira avaliada concluiu que a adição de 5 % (m/m) do OEM não alterou significativamente essa propriedade, enquanto que as demais composições estudadas promoveram o seu aumento: 82,44 % para o filme PBAT/10%OEM e 96,80 % para o filme PBAT/15%OEM.

Os resultados do EMT revelaram que a adição de 5 % (m/m) do OEM não alterou significativamente as propriedades mecânicas avaliadas, enquanto que houve uma diminuição dessas propriedades para as demais composições, sendo essas reduções de: 21,67 % (PBAT/10%OEM) e 35,80 % (PBAT/15%OEM), no caso da tensão na força máxima, e 14,49 % (PBAT/10%OEM) e 32,36 % (PBAT/15%OEM), no caso do módulo elástico.

A TGA indicou que a presença do OEM na matriz polimérica não interferiu significativamente em sua estabilidade térmica para as proporções estudadas, preservando a degradação em uma única etapa iniciada em torno de 361 °C, ou seja, a mesma para o PBAT não aditivado. Por sua vez, os resultados do DSC também mostraram que a presença do OEM nos filmes aditivados não alterou significativamente os parâmetros avaliados, em comparação com o PBAT não aditivado.

Por fim, o teste de atividade antimicrobiana concluiu que o filme PBAT/15%OEM foi capaz de inibir o crescimento da bactéria *Escherichia coli* em contato com uma amostra de queijo muçarela, indicando que o OEM é um promissor agente antimicrobiano para o preparo de embalagens ativas alimentícias.

A fim de complementar o nosso estudo, como perspectiva futura, é válida a realização de um ensaio de opacidade,

para avaliar a influência do OEM nessa propriedade óptica da matriz polimérica. Também é interessante realizar um ensaio de ângulo de contato, para verificar se houve mudança significativa na hidrofobicidade/hidrofilicidade da superfície do polímero após a aditivação com o óleo. E, por fim, é válido realizar um minucioso estudo do mecanismo de exsudação do OEM, através de ensaios em diferentes meios (aquoso, etanólico e oleoso), uma vez que o efeito antimicrobiano se deu pelo contato entre o corpo de prova e a amostra do alimento.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE), pelo financiamento da pesquisa.

À Central Analítica do Departamento de Química Fundamental (DQF) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e Ao Laboratório de Polímeros e Nanoestruturas (LPN) do Departamento de Energia Nuclear (DEN) da UFPE.

Ao Laboratório de Materiais Poliméricos e Caracterização (LMPC) e ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos, ambos do Departamento de Engenharia Química (DEQ) da UFPE.

Ao Laboratório de Combustíveis (LAC) e ao Laboratório de Petroquímica (LPQ), ambos do Instituto de Pesquisa em Petróleo e Energia (LITPEG) da UFPE.

Referências

- Al-Itry, R., Lamnawar, K., & Maazouz, A. (2012). Improvement of thermal stability, rheological and mechanical properties of PLA, PBAT and their blends by reactive extrusion with functionalized epoxy. *Polymer Degradation and Stability*, 97(10), 1898-1914. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2012.06.028>
- Amaral, F. G. (2014). *Desenvolvimento de filme comestível a base de fécula de açafrão (Curcuma longa L.) e lipídios* [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Goiás]. Centro de Recursos Computacionais da UFG. https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/71/o/Dissertação_Fernanda_amaral_corrigida_katiuchia_2014.pdf
- American Society for Testing and Materials. (1995). *Standard test methods for water vapor transmission of materials* (ASTM E96:1995).
- American Society for Testing and Materials. (2018). *Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting* (ASTM D882:2018).
- Battisti, R., Fronza, N., Vargas Júnior, Á., Silveira, S. M., Damas, M. S. P., & Quadri, M. G. N. (2017). Gelatin-coated paper with antimicrobial and antioxidant effect for beef packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 11, 115-124. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.01.009>
- Bheemaneni, G., Saravana, S., & Kandaswamy, R. (2018). Processing and characterization of poly (butylene adipate-co-terephthalate) / wollastonite biocomposites for medical applications. *Materials Today: Proceedings*, 5(1), 1807-1816. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.11.279>
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- Comin, V. M., Lopes, L. Q. S., Quatrin, P. M., Souza, M. E., Bonez, P. C., Pintos, F. G., Raffin, R. P., Vaucher, R. A., Martinez, D. S. T., & Santos, R. C. V. (2016). Influence of Melaleuca alternifolia oil nanoparticles on aspects of Pseudomonas aeruginosa biofilm. *Microbial Pathogenesis*, 93, 120-125. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.01.019>
- D'Arrigo, M., Ginestra, G., Mandalari, G., Furneri, P. M., & Bisignano, G. (2010). Synergism and postantibiotic effect of tobramycin and Melaleuca alternifolia (tea tree) oil against Staphylococcus aureus and Escherichia coli. *Phytomedicine*, 17 (5), 317-322. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.07.008>
- Dannenber, G. S., Funck, G. D., Cruxen, C. E. S., Marques, J. L., Silva, W. P., & Fiorentini, Â. M. (2017). Essential oil from pink pepper as an antimicrobial component in cellulose acetate film: potential for application as active packaging for sliced cheese. *LWT: Food Science and Technology*, 81, 314-318. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.002>
- Debiagi, F., Kobayashi, R. K. T., Nakazato, G., Panagio, L. A., & Mali, S. (2014). Biodegradable active packaging based on cassava bagasse, polyvinyl alcohol and essential oils. *Industrial Crops and Products*, 52, 664-670. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.11.032>
- Dominguez, R., Barba, F. J., Gómez, B., Putnik, P., Kovačević, D. B., Pateiro, M., Santos, E. M., & Lorenzo, J. M. (2018). Active packaging films with natural antioxidants to be used in meat industry: a review. *Food Research International*, 113, 93-101. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.073>
- Fráguas, R. M., Simão, A. A., Faria, P. V., Queiroz, E. R., Oliveira Junior, Ê. N., & Abreu, C. M. P. (2015). Preparo e caracterização de filmes comestíveis de quitosana. *Polímeros*, 25(Suppl.), 48-53. <https://doi.org/10.1590/0104-1428.1656>
- Grando, T. H., Baldissera, M. D., Gressler, L. T., Sá, M. F., Bortoluzzi, B. N., Schafer, A. S., Ebling, R. C., Raffin, R. P., Santos, R. C. V., Stefani, L. M., Vaucher, R., Leal, M. L. R., & Monteiro, S. G. (2016). Melaleuca alternifolia anthelmintic activity in gerbils experimentally infected by Haemonchus contortus. *Experimental Parasitology*, 170, 177-183. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2016.09.004>

- Graziano, T. S., Calil, C. M., Sartoratto, A., Franco, G. C. N., Groppo, F. C., & Cogo-Müller, K. (2016). *In vitro* effects of *Melaleuca alternifolia* essential oil on growth and production of volatile sulphur compounds by oral bacteria. *Journal of Applied Oral Science*, 24(6), 582-589. <https://doi.org/10.1590/1678-775720160044>
- Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (2004). Antifungal effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53(6), 1081-1085. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh243>
- Haute, S. van, Raes, K., Devlieghere, F., & Sampers, I. (2017). Combined use of cinnamon essential oil and MAP/vacuum packaging to increase the microbial and sensorial shelf life of lean pork and salmon. *Food Packaging and Shelf Life*, 12, 51-58. <https://doi.org/10.1016/j.foodpack.2017.02.004>
- Ibrahim, N. A., Rahim, N. M., Yunus, W. Z. W., & Sharif, J. (2011). A study of poly vinyl chloride / poly(butylene adipate-co-terephthalate) blends. *Journal of Polymer Research*, 18(5), 891-896. <https://doi.org/10.1007/s10965-010-9486-1>
- Kuchnier, C. N. (2014). *Estudo do efeito de aditivo extensor de cadeia multifuncional em blendas de PLA/PBAT* [Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas]. Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações. https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/CAMP_3104e6f3097a79fc99e53ed71f5baeb
- Kulkarni, A., Jan, N., & Nimbarte, S. (2012). Monitoring of antimicrobial effect of GC-MS standardized *Melaleuca alternifolia* oil (tea tree oil) on multidrug resistant uropathogens. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 2(2), 6-14. <https://doi.org/10.9790/3008-0220614>
- Kumar, M., Mohanty, S., Nayak, S. K., & Parvaiz, M. R. Effect of glycidyl methacrylate (GMA) on the thermal, mechanical and morphological property biodegradable PLA/PBAT blend and its nanocomposites. (2010). *Bioresource Technology*, 101(21), 8406-8415. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.05.075>
- Martelli, S. M., Moore, G., Paes, S. S., Gandolfo, C., & Laurindo, J. B. (2006). Influence of plasticizers on the water sorption isotherms and water vapor permeability of chicken feather keratin films. *LWT: Food and Science Technology*, 39(3), 292-301. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.12.014>
- Pires, V. G. A. (2016). *Incorporação de nanoemulsões de óleos essenciais de melaleuca, copaíba e limão em filmes de alginato de sódio para utilização como curativo* [Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista]. Repositório Institucional da UNESP. <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/138091>
- Sánchez-Gonzalez, L., González-Martínez, C., Chiralt, A., & Cháfer, M. (2010). Physical and antimicrobial properties of chitosan-tea tree essential oil composite films. *Journal of Food Engineering*, 98(4), 443-452. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.01.026>
- Sánchez-Gonzalez, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A., & Cháfer, M. (2009). Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2102-2109. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.05.006>
- Scheibel, J. M., Menezes, F. C., Reginatto, C. L., Silva, C., Moura, D. J., Rodembusch, F., Bussamara, R., Weibel, D. E., & Soares, R. M. D. (2021). Antibiotic-loaded wound dressings obtained from the PBAT-gentamicin combination. *Journal of Applied Polymer Science*, 138(27), e50633. <https://doi.org/10.1002/app.50633>
- Siddique, S., Parveen, Z., Firdaus-e-Bareen, Chaudhary, M. N., Mazhar, S., & Nawaz, S. (2017). The essential oil of *Melaleuca armillaris* (Sol. ex Gaertn.) Sm. leaves from Pakistan: a potential source of eugenol methyl ether. *Industrial Crops & Products*, 109, 912-917. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.048>
- Silva, C. S., Figueiredo, H. M., Stamford, T. L. M., & Silva, L. H. M. (2019). Inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oil in ground beef. *International Journal of Food Microbiology*, 293, 79-86. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.01.004>
- Silverstein, R. M., Webster, F. X., & Kiemle, D. F. (2007). *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos* (7a ed.). LTC.
- Siyamak, S., Ibrahim, N. A., Abdolmohammadi, S., Yunus, W. M. Z. W., & Rahman, M. Z. A. (2012). Effect of fiber esterification on fundamental properties of oil palm empty fruit bunch fiber/poly(butylene adipate-co-terephthalate) biocomposites. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(2), 1327-1346. <https://doi.org/10.3390/ijms13021327>
- Souza, C. F., Baldissera, M. D., Santos, R. C. V., Raffin, R. P., & Baldisserotto, B. (2017). Nanotechnology improves the therapeutic efficacy of *Melaleuca alternifolia* essential oil in experimentally infected *Rhombia quelen* with *Pseudomonas aeruginosa*. *Aquaculture*, 473, 169-171. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.02.014>
- Souza, M. E., Clerici, D. J., Verdi, C. M., Fleck, G., Quatrin, P. M., Spar, L. R., Bonez, P. C., Santos, C. F., Antoniazzi, R. P., Zanatta, F. B., Gundel, A., Martinez, D. S. T., Vaucher, R. A., & Santos, R. C. V. (2017). Antimicrobial activity of *Melaleuca alternifolia* nanoparticles in polymicrobial biofilm *in situ*. *Microbial Pathogenesis*, 113, 432-437. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.11.005>
- Tranchida, P. Q., Shellie, R. A., Purcaro, G., Conte, L. S., Dugo, P., Dugo, G., & Mondello, L. (2010). Analysis of fresh and aged tea tree essential oils by using GCxGC-qMS. *Journal of Chromatographic Science*, 48(4), 262-266. <https://doi.org/10.1093/chromsci/48.4.262>
- Wang, H., Wei, D., Zheng, A., & Xiao, H. (2015). Soil burial biodegradation of antimicrobial biodegradable PBAT films. *Polymer Degradation and Stability*, 116, 14-22. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2015.03.007>
- Weng, Y.-X., Jin, Y.-J., Meng, Q.-Y., Wang, L., Zhang, M., & Wang, Y.-Z. (2013). Biodegradation behavior of poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT), poly(lactic acid) (PLA), and their blend under soil conditions. *Polymer Testing*, 32(5), 918-926. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2013.05.001>