

FILMES BIODEGRADÁVEIS PREPARADOS COM CARRAGENANA E EXTRATO DE FOLHAS DE OLIVEIRA¹

BIODEGRADABLE FILMS PREPARED WITH CARRAGEENAN AND OLIVE LEAF EXTRACT

Resumo: Atualmente, há uma forte tendência ao uso de embalagens biodegradáveis para substituir os plásticos convencionais. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de extrato de folhas de oliveira (OLE) em filmes à base de carragenana. A extração para obtenção do extrato foi realizada utilizando um micro-ondas e realizaram-se testes de inibição, frente à bactéria *Escherichia coli*. Os filmes foram avaliados quanto à cor, solubilidade e espessura. O efeito protetor de filmes contra a atividade antimicrobiana na embalagem de carne de cordeiro também foi avaliado. A atividade antimicrobiana do extrato foi de 100% para *E. coli*. A incorporação do OLE na matriz de carragenana provocou mudanças nas suas propriedades. A adição do extrato nos filmes de carragenana provocou o aumento da espessura de 0,032 para 0,048 mm, diminuição da solubilidade em 7,26% e provocou alterações na cor na ordem de 64,72%. Conclui-se que os filmes biodegradáveis a base de carragenana incorporados com extratos

¹Thamiris Renata Martiny
Guilherme Luiz Dotto
Caroline Costa Moraes
Gabriela Silveira da Rosa

de folhas de oliveira apresentam-se como uma promissora embalagem ativa de alimentos.

Palavras-chave: Antimicrobiano; Carne de cordeiro; Embalagem ativa.

Abstract: Currently, there is a strong trend towards the use of biodegradable packaging to replace conventional plastics. Therefore, the objective of this work was to evaluate the effect of the addition of olive leaf extract (OLE) on carrageenan based films. The extract extraction was performed using a microwave and inhibition tests against Escherichia coli bacteria were carried out. The films were evaluated for color, solubility and thickness. The protective effect of antimicrobial activity films against lamb meat packaging was also evaluated. The antimicrobial activity of the extract was 100% for E. coli. The incorporation of OLE in the carrageenan matrix caused changes in its properties. The addition of the extract in the carrageenan films caused the increase of the thickness of 0.032 to 0.048 mm, decrease of solubility in 7.26% and caused changes in color on the order of 64.72%. It is concluded that the biodegradable films based on carrageenan incorporated with extracts of olive leaves present as a promising active food packaging.

Keywords: Active packaging; Antimicrobial; Lamb meat.

1. INTRODUÇÃO

Para a distribuição e comercialização de produtos no mercado é indispensável o uso de embalagens. A ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) define que embalagem para alimentos é aquela que está em contato direto com os mesmos, destinada a armazená-los desde sua produção até ao seu consumo, com o objetivo de protegê-los contra agentes externos, contaminações, alterações e adulterações (ANVISA, 2001). Grande parte dos resíduos sólidos municipais é

constituída por embalagens, sendo assim, relevante e sustentável o desenvolvimento de pesquisas no âmbito dos polímeros biodegradáveis, com o objetivo de produzir embalagens biodegradáveis, que vem com a tarefa de reduzir o acúmulo de lixo e os impactos ambientais (CASTRO; POUZADA, 2002).

O desenvolvimento de embalagens biodegradáveis a partir de biopolímeros incorporando compostos bioativos obtidos de materiais considerados resíduos vem se tornando promissor. Dentre os polímeros naturais utilizados para o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis, a carragenana se destaca devido à sua excelente capacidade de formação de filme (ABDOU; SOROUR, 2014). Carragenana é a denominação dada à família de polissacarídeos extraídos das algas vermelhas. Como o ágar e o alginato, as carragenanas são parte de um grupo de substâncias complexas biopoliméricas chamadas ficocolóides. É o terceiro hidrocolóide (gomas solúveis em água) mais importante na indústria alimentar, antecedem a gelatina e o amido (CARLUCCI *et al.*, 1997; WEBBER *et al.*, 2012).

Com o objetivo de prolongar a vida útil, manter a qualidade dos alimentos e reduzir o uso de aditivos alimentares sintéticos, muitos estudos avaliaram a incorporação de antioxidantes e antimicrobianos naturais, extraídos de plantas, em filmes biodegradáveis (LEUSCHNER; ZAMPARINI, 2002; PROESTOS *et al.*, 2005; SCHMIDT; TAYLOR; DAVIDSON, 2013; SINGH *et al.*, 2003). Os filmes biodegradáveis se tornam uma embalagem biodegradável ativa, quando agentes antimicrobianos ou antioxidantes são adicionados em sua formulação (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002; LÓPEZ-RUBIO *et al.*, 2004; ROBERTSON, 2013; THEODORE P LABUZA, 1989).

O uso integral de resíduos da indústria alimentícia, principalmente frutas e vegetais, é atrativo devido ao alto teor de compostos bioativos. A indústria do azeite gera em grande quantidade, como subproduto, as folhas de oliveira, estas podem representar entre 5% e 10% em peso, da azeitona que entra para o processamento (BOUDHRIOUA *et al.*, 2008; EL; KARAKAYA, 2009; HERRERO; CIFUENTES; IBAÑEZ, 2006), sendo assim interessante o uso das folhas.

O extrato das folhas de oliveira (OLE) é um dos extratos vegetais com potencial para a aplicação em filmes biodegradáveis, uma vez que, historicamente, as folhas

de oliveira já são usadas para fins medicinais, como o combate a febres, além disso, reconhecidamente possuem compostos com potencial antioxidante e antimicrobiano, como a oleuropeína (BENAVENTE-GARCÍA *et al.*, 2000; LEE; LEE, 2010; LIU; MCKEEVER; MALIK, 2017; PEREIRA *et al.*, 2007; SUDJANA *et al.*, 2009). Os municípios da região da Campanha Gaúcha vêm se destacando pelos seus olivais. O município de Pinheiro Machado já possui uma área plantada de cerca de 150 hectares e juntamente com os municípios de Bagé, Aceguá, Candiota, Hulha Negra e Caçapava do Sul, lançaram recentemente o projeto “Olivais do Pampa”, com o objetivo de fomentar essa cultura (BAGÉ, 2016; PINHEIRO, 2016).

Face ao contexto apresentado, o desenvolvimento de filmes biodegradáveis a partir de carragenanas e extrato de folhas de oliveira podem apresentar um grande potencial na diversificação da formulação dos filmes, para aplicação como embalagens biodegradáveis ativas economicamente viáveis e complementares a reciclagem.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi desenvolver e caracterizar filmes biodegradáveis de carragenana incorporados com extrato de folhas de oliveira.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Obter extratos de folhas de oliveira; Verificar a ação antimicrobiana do extrato; Caracterizar os filmes biodegradáveis obtidos quanto à espessura, cor, aspecto visual e solubilidade; Aplicar os filmes produzidos como embalagem de carne de cordeiro e avaliar sua ação no que diz respeito à atividade antimicrobiana.

3. METODOLOGIA

O desenvolvimento do trabalho foi conduzido nos laboratórios de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, da UNIPAMPA (Universidade Federal do Pampa), Bagé, Rio Grande do Sul, Brasil e no Departamento de Engenharia de Biorecursos da Universidade McGill, Quebec, Canadá.

3.1 MATÉRIA-PRIMA

As folhas de oliveira (*Olea europaea* L.) (Figura 1), utilizadas para obtenção dos extratos, foram cedidas pela estância Guarda Velha, localizada no município de Pinheiro Machado, Rio Grande do Sul, do cultivar Arbequina (31°30'04.0"S, 53°30'42.0"W).

Figura 1: Ilustração das folhas de oliveira coletadas.



Fonte: Autores (2018).

3.2 PROCESSAMENTO DAS FOLHAS DE OLIVEIRA

Inicialmente, as folhas coletadas passaram por um pré-tratamento que consistiu da higienização com água corrente, solução comercial de hipoclorito de sódio 2% a 2,5% e água destilada esterilizada. Em seguida procedeu-se com a secagem das folhas em estufa (ETHIK, Brasil) a 40°C por 24 h. Decorrido o tempo de secagem as folhas foram submetidas ao processo de moagem obtendo-se dessa forma um pó das folhas, que foi submetido ao peneiramento para padronização granulométrica, foi utilizada a peneira de 60 mesh.

3.3 OBTENÇÃO DO EXTRATO DE FOLHAS DE OLIVEIRA

A extração foi assistida por micro-ondas e foi realizada em uma unidade de micro-ondas Mini-WAVE (fechada) (SCP Science, Canadá). A frequência e potência de irradiação foram de 2,45 GHz e 1000 W. A extração foi realizada com uma quantidade de 0,5 g de material moído em 25 mL de água. A aplicação de micro-ondas foi realizada por 2 minutos, a uma temperatura de 100°C e com pH da água em 6,0. Após o processo de extração, o extrato contendo o solvente e a mistura em pó das folhas foi submetido à filtração a vácuo utilizando papel de filtro Whatman (Sigma Aldrich, St. Louis, USA). O extrato fluido final obtido foi liofilizado, obtendo-se assim o extrato em pó.

3.4 ANÁLISE DO POTENCIAL DE INIBIÇÃO MICROBIANA DOS EXTRATOS

Para esta análise foi utilizada a linhagem bacteriana *E. coli* ATCC 11229. Os caldos utilizados para a cultura bacteriana foi o nutriente e de *Müller-Hinton* (HIMEDIA, Índia). Todos os materiais empregados nas análises microbiológicas foram esterilizados em autoclave. A atividade antimicrobiana foi determinada por análises de inibição pelos extratos obtidos e foram feitas pelo método do cultivo em placas de Elisa adaptado em relação ao descrito na norma M7-A6 da NCCLS (2003).

Incluíram-se amostras controle – sem extrato – adicionadas de volume idêntico do mesmo, de água esterilizada. A inibição ou atividade antimicrobiana dos extratos foi quantificada por meio das diferenças de absorvância entre as duas leituras das amostras contendo o extrato, em relação às médias de absorvância das amostras controle. A Equação 1 foi utilizada para a calcular a inibição.

$$I = \left[1 - \left(\frac{A_{2e} - A_{1e}}{A_{2c} - A_{1c}} \right) \right] \cdot 100 \quad (1)$$

em que, I é a inibição (%), A é a absorvância, o subíndice 1 refere-se às leituras no tempo igual a 0 h, o subíndice 2 refere-se às leituras no tempo igual a 16 h, o subíndice e refere-se às amostras contendo extratos, o subíndice c refere-se às médias das absorvâncias para as amostras controle.

3.5 ELABORAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

Os filmes biodegradáveis foram preparados segundo a técnica de *casting*, que consiste na disposição de uma solução filmogênica sobre placas de Petri, que posteriormente é desidratada.

Para o preparo da solução filmogênica foi pesado 0,5 g de carragenana e 0,3 g de plastificante, que foram homogeneizados, com 50 mL de água destilada, sob agitação com aquecimento a 70 °C e 1100 rpm, por 15 min em agitador magnético com aquecimento (QUIMIS – Q261M23, Brasil). Após resfriamento, foi incorporado 0,5 g do extrato de folhas de oliveira à solução. As soluções filmogênicas foram vertidas em placas de acrílico e submetidas à secagem em estufa com ventilação forçada, à temperatura de 40°C por 24 h. A formulação dos filmes biodegradáveis de carragenana produzidos está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1: Formulação dos filmes biodegradáveis de carragenana produzidos.

Filme biodegradável	Carragenana(g)	Glicerol (g)	Água (mL)	Extrato (g)
CAR/Controle	0,5	0,3	50	0
CAR/OLE	0,5	0,3	50	0,5

CAR/Controle = Filme biodegradável de carragenana; CAR/OLE = Filme biodegradável de carragenana com extrato de folha de oliveira. Fonte: Autores (2018).

3.6 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

3.6.1 Aspecto visual

Após a secagem, para cada tipo de filme produzido, foram realizadas análises visuais e táteis, com o objetivo de utilizar apenas os filmes biodegradáveis homogêneos, uma vez que filmes com características inadequadas poderiam comprometer os resultados das análises posteriores. Verificou-se a presença de partículas insolúveis nos filmes, se os mesmos apresentavam coloração e espessura uniformes e sua continuidade, avaliando-se a ocorrência de rupturas, zonas quebradiças e poros. Ainda, foi avaliada a facilidade de retirar os filmes do suporte, possibilitando seu manuseio (BERTAN, 2008).

3.6.2 Espessura

A espessura média dos filmes biodegradáveis foi obtida pela média aritmética das medidas da espessura de dez posições aleatórias nos segmentos dos filmes, com o uso de micrômetro digital (INSIZE – IP65, Ásia) (SOBRAL, 2000).

3.6.3 Análises de cor

Para a análise de cor utilizou-se o espectrofotômetro (KONICA MINOLTA – CM-2600D, Japão). Foram medidos os padrões L^* , a^* e b^* em 5 medições em pontos aleatórios dos filmes, para cada formulação. A cor dos filmes foi calculada pela Equação 2.

$$\Delta E^* = \sqrt{(L^* - L_s^*)^2 + (a^* - a_s^*)^2 + (b^* - b_s^*)^2} \quad (2)$$

L^* variando de preto (0) a branco (100); a^* do verde (-) ao vermelho (+); b^* do azul (-) ao amarelo (+); o subíndice s refere-se às amostras definidas como padrão (filmes controle).

3.6.4 Solubilidade em água

A solubilidade em água dos filmes biodegradáveis a base de carragenana foi determinada como a porcentagem de matéria solúvel para a matéria seca inicial de amostra de filme, segundo metodologia proposta por Gontard et al. (1994). As amostras dos filmes foram primeiro secas a 105°C por 24 h, para determinar a matéria seca inicial. As amostras foram recortados em discos de 2 cm de diâmetro, foram então imersas em 50 mL de água destilada e o sistema mantido sob agitação suave (100 rpm) e a 20°C, durante 24 h, utilizando-se uma incubadora *shaker* (SOLAB – SL 223, Brasil). Para determinação da matéria seca final, a amostra foi submetida à secagem (105°C por 24 h). A solubilidade em água foi calculada, a partir dos resultados em triplicata, pela Equação 3.

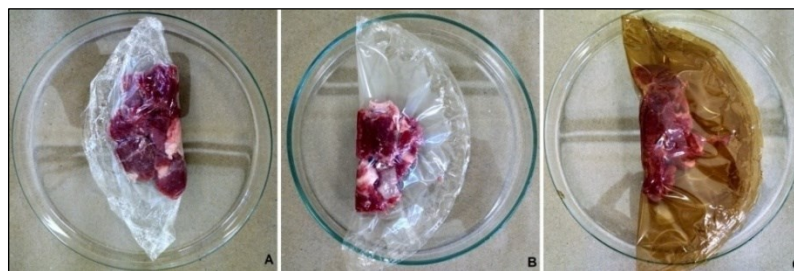
$$SA = \frac{m_i - m_f}{m_i} \cdot 100 \quad (3)$$

em que SA é a solubilidade em água (%), m_i é a massa seca inicial da amostra (g) e m_f é a massa seca final da amostra (g).

3.7 AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

A avaliação do efeito inibitório dos filmes biodegradáveis de carragenana incorporados com extrato de folhas de oliveira foi realizada analisando o crescimento de psicrófilos. A amostra de carne de cordeiro resfriada foi adquirida no comércio local. Primeiramente, realizaram-se as análises microbiológicas (psicrófilos) da amostra de carne de cordeiro no tempo 0 h (inicial). Outras três amostras foram embaladas, com diferentes filmes - a primeira delas com o filme CAR/Controle (Filme biodegradável de carragenana), a segunda com o filme CAR/OLE (Filme biodegradável de carragenana com extrato de folha de oliveira) e a última com filme de PVC comercial. Na sequência, as amostras embaladas foram armazenadas em refrigerador por 48 h, decorrido este tempo procedeu-se com as análises microbiológicas. A Figura 2 ilustra as amostras embaladas.

Figura 2: Amostras de carne de cordeiro embaladas com diferentes filmes.



(A) Filme de PVC. (B) CAR/Controle. (C) CAR/OLE. Fonte: Autores (2018).

Para a análise de psicrófilos partindo-se das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , pipetou-se 1 mL das respectivas diluições para placas de petri, em duplicata, vertendo-se na sequência ágar PCA. Após a incubação das placas por 10 dias em estufa a 7°C realizou-se a contagem em placas, com microprocessador contador de colônias (EI, Índia). Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônia por grama de alimento (UFC/g).

4. RESULTADOS

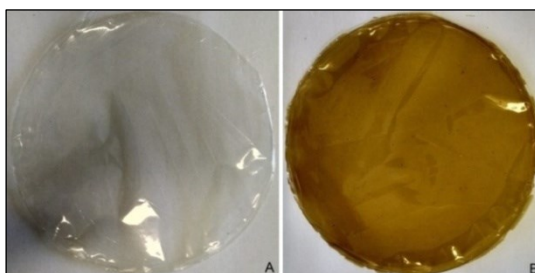
4.1 POTENCIAL DE INIBIÇÃO MICROBIANA DOS EXTRATOS

Para a atividade antimicrobiana o extrato apresentou 100% inibição frente a *E. coli*. Dominicano (2015) avaliou a eficiência da oleuropeína associada à sanitizantes comerciais a fim de verificar seu poder antimicrobiano frente às bactérias *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *E. coli*, constatou que a adição da oleuropeína nos sanitizantes aumentou o efeito germicida e a que a oleuropeína apresentou efeito antimicrobiano (redução: 91, 49%).

4.2 AVALIAÇÃO DOS FILMES

A Figura 3 ilustra o aspecto visual dos filmes biodegradáveis de carragenana com e sem a adição do extrato de folhas de oliveira.

Figura 3: Aspecto visual dos filmes biodegradáveis de carragenana produzidos.



(A) Filme biodegradável de carragenana; (B) Filme biodegradável de carragenana com extrato de folha de oliveira. Fonte: Autores (2018)

Os filmes biodegradáveis a base de carragenana apresentaram-se homogêneos, uniformes, não quebradiços, manuseáveis e foram removidos com facilidade do suporte (placa). Os filmes sem adição de extrato foram claros e transparentes e os filmes com adição de extrato apresentaram coloração marrom esverdeada.

4.3 ESPESSURA

A Tabela 2 apresenta os resultados para a espessura média dos filmes biodegradáveis de carragenana.

Tabela 2: Espessuras médias dos filmes biodegradáveis de carragenana.

Filme biodegradável	Espessura média (mm)
CAR/Controle	0,032 ± 0,004
CAR/OLE	0,048 ± 0,004

Média aritmética ± desvio médio. Fonte: Autores (2018).

A partir dos resultados apresentados na Tabela 2 constatou-se que a adição do extrato de folhas de oliveira nos filmes biodegradáveis de carragenana provocou um incremento na espessura dos filmes. Este resultado já era esperado, devido ao aumento de massa da solução filmogênica por causa da incorporação do extrato (SOBRAL, 2000). Para filmes de carragenana (2,6 %) Rhim(2012) obteve 0,0582 mm de espessura e 0,0643 mm pra filmes compostos com ágar/carragenana (50:50) incorporados com nanocompósitos de argila. As medidas de espessura obtidas no presente estudo estão coerentes àquelas encontradas na literatura. As diferenças nas espessuras encontradas na literatura para as obtidas devem-se a diferenças metodológicas na preparação, composição e proporções das soluções filmogênicas.

4.4 COR

A Tabela 3 apresenta os resultados para os parâmetros L^* , a^* e b^* para os filmes biodegradáveis formulados com carragenana e para a diferença de cor ΔE , entre os filmes biodegradáveis adicionados de extrato em relação ao filme biodegradável controle.

Tabela 3 - Análise de cor dos filmes biodegradáveis a base de carragenana.

Filme biodegradável	L^*	a^*	b^*	ΔE
CAR/Controle	94,49 ± 0,21	-0,145 ± 0,03	3,32 ± 0,31	
CAR/OLE	71,41 ± 0,92	7,78 ± 0,43	63,26 ± 1,59	64,72

Média aritmética ± desvio médio. Fonte: Autores (2018).

A adição de extrato na formulação do filme de carragenana diminui sua transparência. Como mostra a Tabela 3, a adição do extrato diminui o parâmetro L^* , ou seja, diminui sua transparência. Já os parâmetros a^* e b^* aumentaram com a adição do extrato, ficando ambos positivos, o que indica a predominância do componente vermelho e amarelo, respectivamente. O aumento significativo de b^* pode estar ligado aos compostos fenólicos presentes no extrato de folha de oliveira,

que podem absorver luz de baixo comprimento de onda, comportamento similar observado por Shojaee-aliabadi; Hosseini; Amin (2013) para filmes de carragenana incorporados com óleos essenciais. Os filmes incorporados com extrato diferiram-se do controle em 64,72%. Esses autores encontraram para filmes de carragenana (1%) plastificados com glicerol, mesma formulação do filme CAR/Controle, $L^* = 88,41$, $a^* = -0,27$ e $b^* = 0,86$.

4.5 SOLUBILIDADE EM ÁGUA

A solubilidade do Car/Controle foi de 82,60% e do Car/OLE foi de 76,60%. A adição do extrato na formulação dos filmes diminuiu a solubilidade. Segundo Zactiti (2004) esta alta solubilidade é uma característica de filmes formados a partir de hidrocolóides, por serem altamente hidrofílicos, especialmente polissacarídeos e proteínas.

4.6 AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS DE CARRAGENANA

Quanto às análises de inibição frente aos psicrófilos os resultados estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - População de psicrófilos inicial e após 2 dias de armazenamento com os filmes de carragenana.

Amostras embaladas pelos diferentes filmes	UFC.g ⁻¹	
	Inicial	2 dias de embalagem
Carne de cordeiro fresca	1,10.10 ⁵ ± 4,0	-
CAR/Controle	-	27,6.10 ⁵ ± 6,0
CAR/OLE	-	5,51.10 ⁵ ± 5,5
Filme de PVC	-	23,9.10 ⁵ ± 5,5

Média aritmética ± desvio médio. Fonte: Autores (2018).

Pela análise da Tabela 4 pode-se observar que o crescimento dos microorganismos psicrófilos foi menor na carne de cordeiro embalada com o filme

biodegradável CAR/OLE, este foi aproximadamente menor 5 vezes quando comparado as amostras embaladas com o CAR/Controle e com o filme de PVC.

Alguns estudos também tiveram sucesso na elaboração de embalagens biodegradáveis ativas na aplicação em alimentos. Na contramão ao uso de polímeros biodegradáveis Camo; Beltrán; Roncalés(2008) incorporaram extrato de orégano em filmes de matriz polimérica de poliestireno (polímero sintético) e avaliaram a aplicação dessa embalagem ativa no armazenamento de carne de cordeiro, obtiveram sucesso no aumento da vida de prateleira das amostras.

Diferentemente de algumas pesquisas que utilizaram um conservante químico (sorbato de potássio), para conferir a atividade antimicrobiana adicional, ou polímero sintético na formulação dos filmes, o presente estudo utilizou o extrato de folhas de oliveira (produto natural), que da mesma forma promoveu efeito inibitório quando aplicado em filmes biodegradáveis a base de carragenana, avaliada a armazenagem de carne de cordeiro.

5. CONCLUSÕES

O desenvolvimento dessa pesquisa permitiu a elaboração e a caracterização de filmes biodegradáveis ativos, bem como sua aplicação no acondicionamento de carne de cordeiro. Obteve-se extrato de folhas de oliveira por extração assistida por micro-ondas, com comprovada atividade antimicrobiana. Os resultados apontam que a adição de extrato de folhas de oliveira em filmes biodegradáveis a base carragenana promove alterações nas propriedades dos filmes e confere atividade antimicrobiana aos mesmos.

A caracterização dos filmes biodegradáveis de carragenana demonstrou que estes, foram flexíveis e manuseáveis e que a adição de extrato de folhas de oliveira alterou a espessura, os parâmetros de cor e a solubilidade.

A análise de cor revelou que os filmes preparados com extrato possuem uma tendência a coloração vermelha e amarela e diferem-se do controle em torno de 64,72%. As espessuras dos filmes controle e preparados com extrato foram de 0,032e 0,048 mm, respectivamente. A solubilidade dos filmes controle e preparados com extrato foram de 82,60% e 76,60%, respectivamente. As análises das

propriedades antimicrobianas dos filmes biodegradáveis de carragenana quando aplicados na embalagem de amostras de carne de cordeiro tiveram como resultado que os filmes produzidos com extrato apresentaram efeito inibitório na contagem de psicrófilos.

Agradecimentos

À FAPERGS, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia da Unipampa e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da UFSM.

REFERÊNCIAS

- ABDOU, E. S.; SOROUR, M. A. Preparation and characterization of starch / carrageenan edible films. *International Food Research Journal*, v. 21, n. 1, p. 189–193, 2014.
- APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. H. Review of antimicrobial food packaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 3, p. 113–126, 2002.
- BAGÉ. Prefeitura Municipal de Bagé. Disponível em: <<http://www.bage.rs.gov.br/>>. Acesso em: 13 dez. 2016.
- BENAVENTE-GARCÍA, O. *et al.* Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chem.*, v. 68, p. 457–462, 2000.
- BERTAN, L. C. Desenvolvimento e caracterização de biofilmes ativos à base de polímeros de fontes renováveis e sua aplicação no acondicionamento de pães de forma. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2008.
- BOUDHRIOUA, N. *et al.* Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. v. 9, p. 412–419, 2008.
- CAMO, J.; BELTRÁN, J. A.; RONCALÉS, P. Extension of the display life of lamb with an antioxidant active packaging. v. 80, p. 1086–1091, 2008.
- CARLUCCI, M. J. *et al.* Derivatives : Correlation Between Structure and Biological Activity. v. 20, p. 97–105, 1997.
- CASTRO, A. G.; POUZADA, A. S. *Embalagens para indústria alimentar*. 1. ed. Lisboa: Instituto Piaget, 2002.
- DOMINCIANO L. C. C. Avaliação da oleuropeína e de sanitizantes químicos, isolados ou associados, para eliminação de biofilmes de *Lysteria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em superfícies inertes. Universidade de São Paulo, 2015.
- EL, S. N.; KARAKAYA, S. Olive tree (*Olea europaea*) leaves: Potential beneficial effects on human health. *Nutrition Reviews*, v. 67, n. 11, p. 632–638, 2009.
- GONTARD, N.; GUILBERT, S. Bio-packaging: Technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. In: Food packaging and preservation. Mathouthi, M. ed. Blackie Academic & Professional, Glasgow, p. 159-181, 1994.
- HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; IBAÑEZ, E. Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae - A review. *Food Chemistry*, v. 98, n. 1, p. 136–148, 2006.
- LEE, O. H.; LEE, B. Y. Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresource Technology*, v. 101, n. 10, p. 3751–3754, 2010.

LEUSCHNER, R. G. K.; ZAMPARINI, J. Effects of spices on growth and survival of *Escherichia coli* 0157 and *Salmonella enterica* serovar enteritidis in broth model systems and mayonnaise. *Food Control*, v. 13, n. 6–7, p. 399–404, 2002.

LIU, Y.; MCKEEVER, L. C.; MALIK, N. S. A. Assessment of the antimicrobial activity of olive leaf extract against foodborne bacterial pathogens. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, n. FEB, p. 1–8, 2017.

LÓPEZ-RUBIO, A. *et al.* Overview of active polymer-based packaging technologies for food applications. *Food Reviews International*, v. 20, n. 4, p. 357–387, 2004.

NCCLS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard. NCCLS document M7-A6 (ISBN 1-56238-486-4), Pennsylvania: NCCLS, 2003.

PEREIRA, A. P. *et al.* Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. *Molecules*, v. 12, p. 1153–1162, 2007.

PINHEIRO. Prefeitura Municipal de Pinheiro Machado. 2016. Disponível em: <<http://www.pinheiromachado.rs.gov.br/portal1/municipio/>>. Acesso em 13 dez. 2016.

PROESTOS, C. *et al.* RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, n. 4, p. 1190–1195, 2005.

RHIM, J. W. Physical-Mechanical Properties of Agar/Carrageenan Blend Film and Derived Clay Nanocomposite Film. *Journal of Food Science*, v. 77, n. 12, 2012.

ROBERTSON, G. L. *Food Packaging: principles and practice*. 2. ed. Flórida: CRC Press, 2013.

SCHMIDT, S. E.; TAYLOR, T. M.; DAVIDSON, P. M. Chemical Preservatives and Natural Antimicrobial Compounds. *Food Microbiology*. Washington: ASM Press, 2013. p. 765–801. Disponível em: <<http://www.asmscience.org/content/book/10.1128/9781555818463.chap30>>.

SHOJAEI-ALIABADI, S.; HOSSEINI, H.; AMIN, M. International Journal of Biological Macromolecules Characterization of antioxidant-antimicrobial χ -carrageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 52, p. 116–124, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.08.026>>.

SINGH, A. *et al.* Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs. *LWT - Food Science and Technology*, v. 36, n. 8, p. 787–794, 2003.

SOBRAL, P. J. A. Influência da espessura sobre certas propriedades de biofilmes à base de proteínas miofibrilares. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 35, n. 6, p. 1251–1259, 2000.

SUDJANA, A. N. *et al.* Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 33, n. 5, p. 461–463, 2009.

THEODORE P LABUZA, W. B. Application of ‘active packaging’ technologies for the improvement of shelf-life and nutritional quality of fresh and extended shelf-life foods. *Bibliotheca nutritio et dieta*, v. 43, p. 1–69, 1989.

WEBBER, V. *et al.* Optimization of the extraction of carrageenan from *Kappaphycus alvarezii* using response surface methodology. *Food Science and Technology (Campinas)*, v. 32, n. 4, p. 812–818, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612012000400026&lng=en&nrm=iso&tlng=en>.

ZACTITI, E. M. Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis de alginato de cálcio sem e com sorbato de potássio. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2004.