

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA**  
**E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**TESE**

**Elaboração e caracterização de filmes de amido e polpa de acerola por  
*casting*, extrusão termoplástica e termoprensagem**

**MÔNICA GUIMARÃES FARIAS**

**2016**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA  
E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE AMIDO E  
POLPA DE ACEROLA POR *CASTING*, EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA  
E TERMOPRENSAGEM**

**MÔNICA GUIMARÃES FARIAS**

*Sob a Orientação do pesquisador*  
**Dr. Carlos Wanderlei Piler de Carvalho**

*e Co-orientação da pesquisadora*  
**Dra. Melicia Cintia Galdeano**

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Tecnologia de Alimentos.

Seropédica, RJ  
Abril de 2016

664  
F224e  
T

Farias, Mônica Guimarães, 1965-

Elaboração e caracterização de filmes de amido e polpa de acerola por *casting*, extrusão termoplástica e termoprensagem / Mônica Guimarães Farias – 2016.

188 f.: il.

Orientador: Carlos Wanderlei Piler de Carvalho.

Tese (doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Bibliografia: f. 123-154.

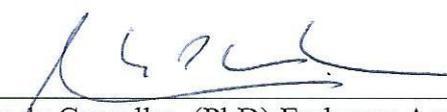
1. Tecnologia de alimentos – Teses. 2. Polissacarídeos – Teses. 3. Essências e óleos essenciais – Teses. 4. Cravo-da-índia – Teses. 5. Amido – Teses. 6. Acerola – Teses. 7. Biopolímeros – Teses. 8. Compostos bioativos – Teses. I. Carvalho, Carlos Wanderlei Piler de, 1966-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

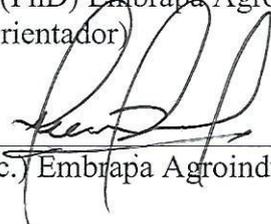
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DE ALIMENTOS

MÔNICA GUIMARÃES FARIAS

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de Concentração em Tecnologia de Alimentos.

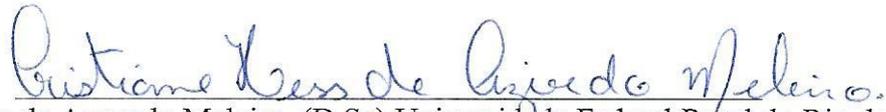
TESE APROVADA EM 06/04/2016

  
\_\_\_\_\_  
Carlos Wanderlei Piler de Carvalho. (PhD) Embrapa Agroindústria de Alimentos  
(Orientador)

  
\_\_\_\_\_  
José Luis Ramirez Ascheri. (D.Sc.) Embrapa Agroindústria de Alimentos

  
\_\_\_\_\_  
Farayde Matta Fakouri. (D.Sc.) Universidade Federal da Grande Dourados

  
\_\_\_\_\_  
Renata Valeriano Tonon (D.Sc.) Embrapa Agroindústria de Alimentos

  
\_\_\_\_\_  
Cristiane Hess de Azevedo Meleiro. (D.Sc.) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela presença constante em minha vida, por me segurar pelas mãos e fazer meus passos bem mais firmes;

À UFRRJ pela oportunidade, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos;

À Embrapa Agroindústria de Alimentos, pelo suporte ao acesso dos laboratórios e aos pesquisadores, técnicos e auxiliares que tanto colaboraram na realização deste projeto;

À CAPES pela concessão da bolsa de doutorado;

Ao meu orientador, PhD. Carlos Wanderlei Piler de Carvalho e coorientadores D.Sc. Melicia Cintia Galdeano e D.Sc. José Luiz Ramirez Ascheri, pelos ensinamentos, paciência, dedicação, apoio e pela valiosa orientação prestada no decorrer de todos esses anos, por acreditar na minha capacidade, obrigada pela amizade e incentivo;

As pesquisadoras Cristina Takeiti, Farayde Fakhouri e Edla Lima, Janine Passos, Otniel, Ana Paula;

Ao Dr. Ronel Godoy, Dr. Sidney Pacheco, Dra. Manoela, Luzimar e Vanessa pelos ensinamentos, disponibilização do laboratório e amizade;

À meus pais, por toda confiança, orgulho e principalmente por todo amor e apoio que recebi durante toda a minha vida. Merecedores da minha admiração e respeito, serão para sempre meu maior exemplo;

Aos meus irmãos Ana, Alessandra e Edmilsom, obrigada pelo amor, amizade, carinho, incentivo, enfim, por fazerem parte da minha vida;

Ao Carlos, por todo amor, apoio e incentivo, estando sempre ao meu lado desde o início dessa caminhada, pela paciência e por entender todas as minhas falhas;

Aos amigos mais do que especiais Davy Hidalgo, Elizabete Costa, Carla Teba, Jhony Chavez e Amanda Mattos, não só pelas noites e dias de ajuda, mas pelo companheirismo, amizade e apoio prestado. Muito obrigada!!!

À equipe técnica, Adriana Mingueta, Mariana Mattos, Neury e Francisco que de forma direta ou indireta contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho;

Ao Samer, do Senai de Vassouras, por todo auxílio, técnica e boa vontade;

A todas as pessoas que talvez eu possa ter esquecido, mas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

***O meu muito obrigada de coração!!!***

*“O êxito da vida não se mede somente pelo caminho que você conquistou, mas sim pelas dificuldades que superou no caminho”.*

*Abraham Lincoln*

## RESUMO

FARIAS, Mônica Guimarães. **Elaboração e caracterização de filmes de amido e polpa de acerola por *casting*, extrusão termoplástica e termoprensagem.** 2016. 170p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

O impacto ambiental gerado pelo uso contínuo de material inerte, oriundo exclusivamente de derivados de petróleo, tem favorecido o aumento nas pesquisas visando o desenvolvimento de filmes para embalagem a base de biopolímeros, pois estes em condições de compostagem são reincorporados ao ambiente. Além disso, os filmes a base de biopolímeros podem desempenhar funções de suporte de nutrientes, preservação de bioativos, melhoria das características nutricionais e sensoriais dos alimentos, elevando sua qualidade e vida útil. Neste contexto, os polissacarídeos apresentam-se como alternativa, pois são capazes de formar matrizes poliméricas contínuas. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar filmes flexíveis biodegradáveis ativos a partir de amido, incorporados de polpa de acerola e óleo essencial de cravo (OEC) como aditivos antioxidantes, antimicrobianos, fontes de vitamina C e carotenoides, elaborados pelos processos de *casting*, extrusão e termoprensagem. Nos filmes por *casting*, as soluções filmogênicas foram elaboradas em concentrações fixas de amido de mandioca (4%), polpa de acerola (34,54%) e concentrações variadas de glicerol (30; 22,5; 15; 7,5 e 0%) e OEC (0; 7,5; 15; 22,5 e 30%) em relação ao peso do amido. Sendo, os aditivos glicerol e OEC representados por 30% na base de amido. Uma etapa deste estudo consistiu em avaliar a capacidade antimicrobiana do OEC e dos filmes compostos adicionados deste. Esta avaliação foi realizada por meio do teste de difusão em ágar com as bactérias *Staphylococcus aureus* do grupo Gram-positivo e *Salmonella typhimurium* do grupo Gram-negativo e dos fungos *Penicillium sp.* e *Aspergillus flavus*. Os filmes formados foram visualmente transparentes e homogêneos. A substituição do glicerol por OEC não provocou diferença estatisticamente significativa nas propriedades de espessura, atividade de água ( $A_w$ ) e permeabilidade ao vapor de água (PVA). A redução do teor de glicerol, proporcional à elevação da concentração de OEC, aumentou o teor de sólidos totais, vitamina C, carotenoides totais,  $\beta$ -caroteno, atividade antioxidante e a redução do teor de umidade. A redução do teor de glicerol até 15% favoreceu o aumento da tensão e deformação nos ensaios de tração e de perfuração, bem como do módulo de elasticidade, após este limite, foi evidenciada uma redução drástica nestas propriedades. A função desejabilidade foi utilizada no processo de otimização para seleção do filme ideal (elevado teor de vitamina C, carotenoide e  $\beta$ -caroteno, maior resistência e deformação nos ensaios de tração e perfuração, elevada capacidade antioxidante e médio módulo de elasticidade) elaborado por *casting*, para reprodução por extrusão e prensagem. O bioplástico extrusado e prensado obtido nas mesmas condições (concentração de amido, polpa, glicerol e OEC), que o formado por *casting*, foi flexível, visualmente homogêneo e apresentou menores valores para deformação na tração, força na perfuração, teor de vitamina C, carotenoides,  $\beta$ -caroteno e capacidade antioxidante por DPPH. Foram analisadas as perdas de bioativos entre cada etapa dos processos *casting* e extrusão, separadamente. Possivelmente, a incorporação de óleo essencial de cravo conferiu um pronunciado efeito protetor dos bioativos da polpa de acerola nos biofilmes de amido de mandioca, alterando as propriedades físico-químicas e mecânicas.

**Palavras chave:** filmes ativos, polissacarídeo, *Malpighia glabra* L., óleo essencial de cravo.

## ABSTRACT

FARIAS, Mônica Guimarães. **Elaboration and characterization of starch films with acerola pulp for *casting*, thermoplastic extrusion and thermopressing.** 2016. 170p. Thesis (Doctor of Science and Technology) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

Due to the environmental impact generated by the continued use of inert material derived exclusively from petroleum, there was an increase in research aimed at developing of films for packaging based on biopolymers, because they are degraded in composting conditions, not harm the environment. Films produced by biopolymer based perform support nutrients functions, preservation of bioactive, improved nutritional and sensory food characteristics of bringing with their quality and shelf life. In this context, the polysaccharides as an alternative because they are able to form solid polymeric matrices. The objective of this study was to develop and characterize flexible biodegradable films from natural polymers from renewable sources (starch), incorporated acerola pulp and clove essential oil (OEC) as antioxidant additives, antimicrobials, sources of vitamin C and carotenoids, prepared by *casting* process, aiming the choice of the best formulation for production of bioplastics by extrusion and pressing process. The filmogenic solutions were prepared at fixed concentrations of cassava starch (4%), acerola pulp (34.54%) and varying concentrations of glycerol (30; 22,5; 15; 7,5 and 0%) and OEC (0; 7,5, 15, 22,5 and 30%). One step of this study was to evaluate the bacteriostatic ability of the OEC and composite films with him against the bacteria *Staphylococcus aureus* of Gram-positive group and *Salmonella tiphymurium* of the Gram-negative group, and the fungus *Penicillium sp.* and *Aspergillus flavus*. All formed films were visually transparent and homogeneous. The substitution of glycerol for OEC caused no statistically significant difference in the properties of thickness, water activity (AW) and to water vapor permeability (WVP). The reduced glycerol content, proportional to the increase in concentration of OEC, increased total solids, vitamin C, carotenoids,  $\beta$ -carotene and antioxidant activity by DPPH and ABTS and the reduction of the moisture content. The reduction of the glycerol content until 15% favored increased stress and strain at tensile and puncture and young modulus, after this limit has shown a drastic reduction in these properties. The desirability function used in the optimization process for selecting the best film produced by *casting*, to reproduce by extrusion and pressing. The extruded and compressed bioplastic obtained under the same conditions (starch concentration, pulp, glycerol and OEC) that formed by *casting*, was flexible, visually homogeneous and showed lower values for total solids, tensile deformation, puncture force, vitamin C, carotenoids and  $\beta$ -carotene contents, and higher values in moisture and antioxidant activity by DPPH. Losses of bioactive were analyzed between each step of the *casting* process and extrusion, separately. Therefore, the incorporation of pulp acerola and clove essential oil in cassava starch biofilms gave a pronounced protective effect of the bioactive, altering the physical, chemical and mechanical properties.

**Keywords:** active films, polysaccharide, *Malpighia glaba* L., clove essential oil.

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b>	Faixa de ocorrência da temperatura de gelatinização de alguns amidos	10
<b>Tabela 2.</b>	Composição centesimal da acerola em 100g de polpa .....	15
<b>Tabela 3.</b>	Concentração de ácido ascórbico de algumas frutas .....	16
<b>Tabela 4.</b>	Composição de carotenoides em acerola e polpas de acerola brasileiras	17
<b>Tabela 5.</b>	Composição e parte da planta utilizada para extração do óleo essencial de cravo-da-índia .....	22
<b>Tabela 6.</b>	Principais constituintes do óleo de cravo .....	22
<b>Tabela 7.</b>	Perfil das suspensões de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e água .....	46
<b>Tabela 8.</b>	Parâmetros utilizados no processo de concentração laboratorial da polpa <i>in natura</i> .....	47
<b>Tabela 9.</b>	Desenho experimental do processo de elaboração do filme de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo por <i>casting</i> .....	49
<b>Tabela 10.</b>	Formulação utilizada para a produção do <i>pellet</i> .....	53
<b>Tabela 11</b>	Caracterização química do amido de mandioca .....	63
<b>Tabela 12.</b>	Caracterização físico-química da polpa de acerola .....	64
<b>Tabela 13.</b>	Identificação dos componentes do óleo essencial de cravo .....	65
<b>Tabela 14.</b>	Teor de umidade das polpas utilizadas na elaboração dos filmes por <i>casting</i> e por extrusão .....	66
<b>Tabela 15</b>	Teor de vitamina C, carotenoides e de $\beta$ -caroteno das matérias-primas utilizadas no processo de <i>casting</i> e de extrusão .....	68
<b>Tabela 16.</b>	Capacidade antioxidante da polpa de acerola <i>in natura</i> ( <i>casting</i> e extrusão), da polpa concentrada e do OEC <sup>a</sup> pelos métodos DPPH e ABTS .....	70
<b>Tabela 17.</b>	Temperaturas <i>onset</i> ( $T_0$ ), de pico ( $T_p$ ) e entalpia de gelatinização ( $\Delta_{H_{gel}}$ ) do amido de mandioca nativo .....	72
<b>Tabela 18.</b>	Espessura dos filmes elaborados por <i>casting</i> .....	86
<b>Tabela 19.</b>	Teor de umidade e sólidos totais dos filmes elaborados por <i>casting</i> .....	87
<b>Tabela 20.</b>	Permeabilidade ao vapor de água dos filmes elaborados por <i>casting</i> .....	88
<b>Tabela 21.</b>	Atividade de água dos filmes produzidos por <i>casting</i> .....	89
<b>Tabela 22.</b>	Resultados de tensão, deformação e módulo de elasticidade no teste de tração dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e óleo essencial de cravo (OEC) elaborados por <i>casting</i> .....	90

<b>Tabela 23.</b>	Força e deformação no teste de perfuração dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e óleo essencial de cravo (OEC) .....	93
<b>Tabela 24.</b>	Teor de vitamina C dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e óleo essencial de cravo (OEC) .....	94
<b>Tabela 25.</b>	Teor de carotenoides totais dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e óleo essencial de cravo .....	95
<b>Tabela 26.</b>	Teor de $\beta$ -caroteno dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e óleo essencial de cravo .....	96
<b>Tabela 27.</b>	Atividade antioxidante (métodos DPPH e ABTS) dos filmes de amido de mandioca e polpa de acerola com glicerol e óleo essencial de cravo .....	97
<b>Tabela 28.</b>	Condições de desejabilidade (di) das variáveis respostas durante a otimização da produção dos filmes a base de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo por <i>casting</i> .....	100
<b>Tabela 29.</b>	Espessura, teor de umidade, teor de sólidos totais e atividade de água (Aa) dos filmes elaborados por <i>casting</i> e por extrusão .....	101
<b>Tabela 30.</b>	Permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes elaborados por <i>casting</i> e por extrusão .....	102
<b>Tabela 31.</b>	Propriedades mecânicas (tração) dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e óleo essencial de cravo (OEC) processados por extrusão e por <i>casting</i> .....	103
<b>Tabela 32.</b>	Força e deformação no teste de perfuração dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e óleo essencial de cravo (OEC) elaborados por extrusão e termoprensagem .....	104
<b>Tabela 33.</b>	Teor de vitamina C, carotenoides totais e $\beta$ -caroteno dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo (OEC) .....	105
<b>Tabela 34.</b>	Resultados experimentais das análises de DPPH e ABTS dos filmes de amido de mandioca e polpa de acerola e óleo essencial de cravo .....	106
<b>Tabela 35.</b>	Resultados experimentais das análises de IC 50% e $\mu$ M trolox das matérias-primas no processo de <i>casting</i> e extrusão pelo método DPPH e ABTS .....	107
<b>Tabela 36.</b>	Efeito da concentração da polpa <i>in natura</i> (polpa extrusada) no teor de umidade e bioativos .....	108
<b>Tabela 37.</b>	Resultados experimentais das análises do teor de vitamina C dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e óleo essencial de cravo (OEC) processados por <i>casting</i> .....	109
<b>Tabela 38.</b>	Resultados experimentais das análises de determinação de teor de bioativos dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e óleo essencial de cravo (OEC) processados por extrusão e termoprensagem .....	111
<b>Tabela 39.</b>	Medida dos halos de inibição para os filmes elaborados com o óleo essencial de cravo e controle .....	114

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Molécula de glicose .....	7
<b>Figura 2.</b>	Estrutura química da amilose e respectiva conformação helicoidal ...	8
<b>Figura 3.</b>	Estrutura química da amilopectina e seu formato de ramificações ....	8
<b>Figura 4.</b>	Influência do tratamento hidrotérmico em excesso de água sobre o estado do amido .....	9
<b>Figura 5.</b>	Representação dos padrões de cristalinidade dos grânulos de amido	11
<b>Figura 6.</b>	Ilustração esquemática de uma endoterma típica obtida em DSC .....	12
<b>Figura 7.</b>	Representação esquemática do comportamento do radical DPPH .....	19
<b>Figura 8.</b>	Fórmula estrutural da molécula de glicerol .....	25
<b>Figura 9.</b>	Curva característica da relação resistência a tração <i>versus</i> deformação .....	34
<b>Figura 10.</b>	Representação esquemática do teste de perfuração na ruptura dos filmes .....	35
<b>Figura 11.</b>	Espectro eletromagnético .....	36
<b>Figura 12.</b>	Estádios de desenvolvimento da <i>Artemia salina</i> : náuplio (a) e metanáuplio (b) .....	38
<b>Figura 13.</b>	Redução da banda de absorção do radical DPPH .....	43
<b>Figura 14.</b>	Rotoevaporador a vácuo JKARV10 .....	47
<b>Figura 15.</b>	Rotoevaporador à vácuo industrial .....	48
<b>Figura 16.</b>	Fluxograma do esquema de elaboração dos filmes .....	48
<b>Figura 17.</b>	Câmaras herméticas a vácuo usadas no condicionamento dos filmes	50
<b>Figura 18.</b>	Extrusora monorosca Brabender .....	51
<b>Figura 19.</b>	Formulação de amido e polpa de acerola .....	52
<b>Figura 20.</b>	Extrusora de rosca dupla Clextral Evolun HT25 .....	53
<b>Figura 21.</b>	Prensa hidráulica SKAY.....	54
<b>Figura 22.</b>	Esquema do equipamento utilizado para teste de permeabilidade ao vapor de água .....	56
<b>Figura 23.</b>	Analisador de textura Texture Analyzer TA XT Plus .....	58
<b>Figura 24.</b>	Incubação dos cistos de <i>Artemia salina</i> em condições de aeração constante e iluminação artificial .....	60
<b>Figura 25.</b>	Concentrações com nauplios de <i>Artemia salina</i> .....	61
<b>Figura 26.</b>	Distribuição granulométrica, em volume, das partículas do amido de mandioca .....	67

<b>Figura 27.</b>	Distribuição granulométrica, em volume, das partículas da polpa de acerola .....	68
<b>Figura 28.</b>	Difratograma de raios X do amido de mandioca .....	71
<b>Figura 29.</b>	Termograma do amido de mandioca nativa .....	72
<b>Figura 30.</b>	Micrografias do amido de mandioca obtidas através de microscopia eletrônica de varredura (MEV) do amido de mandioca: a, 600x; b, 1000x; c, 1500x; d, 2500x; e, 2500x; f, 4000x .....	74
<b>Figura 31.</b>	Curva de Tempo <i>versus</i> Viscosidade da suspensão de amido de mandioca com polpa de acerola e glicerol .....	75
<b>Figura 32.</b>	Curva de Tempo <i>versus</i> Viscosidade da suspensão de amido de mandioca .....	75
<b>Figura 33.</b>	Imagens do fenômeno de gelatinização do amido de mandioca e a sua interação com a polpa de acerola e glicerol .....	76
<b>Figura 34.</b>	Pellet de amido de mandioca e polpa de acerola (A), e pellet de amido de mandioca, polpa de acerola e glicerol (B) .....	78
<b>Figura 35.</b>	Imagem digitalizada de filmes de amido de mandioca e polpa de acerola sem glicerol (A), e filme de amido de mandioca, polpa de acerola e glicerol (B) .....	79
<b>Figura 36.</b>	Difratogramas de amido de mandioca, filme de amido de mandioca e polpa de acerola (T1) e amido de mandioca, polpa de acerola e glicerol (T2), com 3 dias e 9 dias .....	83
<b>Figura 37.</b>	Filmes elaborados pela técnica <i>casting</i> (T1: 4% de amido, 34,54% de polpa de acerola, 30% de glicerol, 0% de OEC; T2: 4% de amido, 34,54% de polpa de acerola, 22,5% de glicerol, 7,5 de OEC; T3: 4% de amido, 34,54% de polpa de acerola, 15% de glicerol, 15% de OEC; T4: 4% de amido, 34,54% de polpa de acerola, 7,5% de glicerol, 22,5% de OEC; T5: 4% de amido, 34,54% de polpa de acerola, 0% de glicerol, 30% de OEC) .....	84
<b>Figura 38.</b>	Filme elaborado <i>casting</i> (T2) .....	85
<b>Figura 39.</b>	Filme elaborado por extrusão termoplástica .....	99
<b>Figura 40.</b>	Resultado do método de difusão em ágar dos filmes elaborados com OEC por <i>casting</i> e extrusão. a) 7,5% OEC (extrusado); b) 7,5% OEC ( <i>casting</i> ), c) 15% OEC ( <i>casting</i> ), d) controle (filme sem OEC), perante os fungos: A) <i>Penicillium sp</i> ; B) <i>Aspergillus flavus</i> .....	115
<b>Figura 41.</b>	Resultado do método de difusão em ágar para o OEC a) 100%; b) 15%, c) 7,5%, d) controle (papel sem óleo), perante os fungos: A) <i>Penicillium sp</i> ; B) <i>Aspergillus flavus</i> . .....	115
<b>Figura 42.</b>	Resultado do método de difusão em ágar dos filmes elaborados com OEC (7,5%) por <i>casting</i> , perante as bactérias: A) <i>Salmonella tiphymurium</i> e B) <i>Staphylococcus aureous</i> .....	117
<b>Figura 43.</b>	Resultado do método de difusão em ágar dos filmes elaborados com OEC (7,5%) por <i>extrusão</i> , perante os as bactérias: A) <i>Salmonella tiphymurium</i> e B) <i>Staphylococcus aureous</i> .....	118

<b>Figura 44.</b>	Halo de inibição do OEC perante as bactérias A) <i>Staphylococcus aureus</i> ; B) <i>Salmonella tiphy murium</i> .....	118
<b>Figura 45.</b>	Crescimento de <i>Penicillium sp.</i> em filmes com concentrações variadas de OEC. T1) sem OEC; T2) 7,5% de OEC; T3) 15% de OEC; T4) 22,5% de OEC; T5) 30% de OEC e Ext) extrusado com 7,5% de OEC .....	119

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>1</b>
2.1	Objetivo geral .....	1
2.2	Objetivos específicos .....	2
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>3</b>
3.1	Filmes biodegradáveis .....	3
3.1.1	Embalagens ativas .....	4
3.2	Polímeros naturais renováveis utilizados na elaboração de bioplásticos .....	6
3.2.1	Amido .....	7
3.2.1.1	Cristalinidade do amido .....	10
3.2.1.2	Propriedade térmica do amido .....	11
3.2.2	Amido de mandioca .....	13
3.2.3	Processabilidade do amido para produção de filmes .....	13
3.3	Componentes utilizados na elaboração de filmes .....	14
3.3.1	A acerola .....	14
3.3.1.1	Considerações nutricionais sobre a acerola .....	15
3.3.2	Óleos essenciais (antimicrobianos naturais) .....	19
3.3.2.1	Cravo-da-índia .....	21
3.4	Utilização de plastificantes em filmes .....	23
3.5	Utilização de vitamina C e carotenoides em filmes .....	26
3.6	Utilização de óleo essencial de cravo em filmes .....	27
3.7	Técnicas de produção de filmes .....	28
3.7.1	Comportamento reológico das soluções filmogênicas .....	30
3.8	Propriedades dos filmes .....	31
3.8.1	Aspecto visual .....	31
3.8.2	Espessura .....	31
3.8.3	Atividade de água .....	32
3.8.4	Permeabilidade ao vapor de água .....	32
3.8.5	Propriedades mecânicas .....	33

3.8.5.1	Teste de tração .....	34
3.8.5.2	Teste de perfuração .....	35
3.8.6	Cristalinidade .....	36
3.8.7	Atividade antimicrobiana .....	37
3.8.8	Toxicidade dos filmes .....	38
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>39</b>
4.1	Materiais .....	39
4.2	Métodos .....	39
4.2.1	Caracterização da matéria-prima .....	39
4.2.1.1	Umidade .....	39
4.2.1.2	Cinza .....	39
4.2.1.3	Matéria graxa .....	40
4.2.1.4	Proteína .....	40
4.2.1.5	Carboidratos .....	40
4.2.1.6	Determinação dos sólidos solúveis .....	40
4.2.1.7	Determinação dos sólidos totais da polpa .....	40
4.2.1.8	Determinação do pH .....	40
4.2.1.9	Teor de vitamina C .....	41
4.2.1.10	Teor de carotenoides e $\beta$ -caroteno .....	41
4.2.1.11	Determinação da atividade antioxidante .....	41
4.2.1.11.1	Obtenção dos extratos .....	42
4.2.1.11.2	Determinação da atividade antioxidante pela captura do radical livre ABTS <sup>+</sup> .....	42
4.2.1.11.3	Determinação da atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH <sup>+</sup> .....	43
4.2.1.12	Identificação da composição química do óleo essencial de cravo .....	44
4.2.1.13	Tamanho de partícula do amido e da polpa .....	44
4.2.1.14	Cristalinidade do amido .....	44
4.2.1.15	Calorimetria diferencial de varredura (DSC) .....	45
4.2.1.16	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	45
4.2.1.17	Reologia das soluções filmogênicas .....	45
4.2.2	Processamento da Polpa .....	46

4.2.2.1	Concentração da Polpa .....	46
4.2.2.1.1	Escala Laboratorial .....	46
4.2.2.1.2	Escala Piloto .....	47
4.2.3	Elaboração dos filmes .....	48
4.2.3.1	Preparo dos filmes por <i>casting</i> .....	49
4.2.3.2	Preparo dos filmes por extrusão .....	50
4.2.3.2.1	Ensaio preliminares em extrusora monorosca .....	50
4.2.3.2.2	Preparo dos filmes por extrusão em extrusora dupla rosca .....	52
4.2.4	Caracterização dos filmes .....	55
4.2.4.1	Aspecto visual .....	55
4.2.4.2	Espessura .....	55
4.2.4.3	Opacidade .....	55
4.2.4.4	Atividade de Água dos Filmes .....	55
4.2.4.5	Permeabilidade ao vapor de água .....	56
4.2.4.6	Teor de vitamina C .....	57
4.2.4.7	Determinação de Carotenoides totais e $\beta$ -caroteno .....	57
4.2.4.8	Propriedades Mecânicas .....	57
4.2.4.9	Determinação da atividade antioxidante total .....	58
4.2.4.9.1	Obtenção dos extratos .....	58
4.2.4.9.2	Determinação da atividade antioxidante pela captura do radical livre ABTS .....	58
4.2.4.9.3	Determinação da atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH .....	58
4.2.4.10	Cristalinidade dos Filmes .....	58
4.2.4.11	Determinação da Atividade Antimicrobiana do Óleo Essencial de Cravo .....	59
4.2.4.11.1	Bactérias Gram-positivo e Gram-negativo .....	59
4.2.4.11.2	Fungos .....	59
4.2.4.12	Toxicidade dos Filmes .....	60
4.2.5	Análises Estatísticas dos Resultados .....	62
4.2.5.1	Otimização ou desejabilidade .....	62
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>63</b>
5.1	Caracterização das matérias primas .....	63
5.1.1	Composição química .....	63

5.1.1.2	Teor de umidade e sólidos totais das polpas utilizadas .....	66
5.1.2	Tamanho de partículas .....	67
5.1.3	Teor de vitamina C, carotenoides e de $\beta$ -caroteno .....	68
5.1.4	Capacidade antioxidante total .....	69
5.1.5	Cristalinidade do amido de mandioca .....	70
5.1.6	Temperatura de gelatinização do amido de mandioca .....	71
5.1.7	Microestrutura .....	73
5.1.8	Caracterização reológica .....	75
5.2	Resultados Preliminares .....	77
5.2.1	Caracterização dos filmes obtidos nos resultados preliminares .....	77
5.2.1.1	Análise visual .....	77
5.2.1.2	Espessura .....	79
5.2.1.3	Ensaio mecânicos .....	80
5.2.1.3.1	Tensão na ruptura no teste de tração .....	80
5.2.1.3.2	Deformação na ruptura no teste de tração .....	80
5.2.1.3.3	Força de ruptura no teste de perfuração .....	81
5.2.1.3.4	Deformação no teste de perfuração .....	82
5.2.1.4	Medida de opacidade .....	82
5.2.1.5	Cristalinidade dos filmes .....	83
5.3	Caracterização dos filmes obtidos por <i>casting</i> .....	84
5.3.1	Aspecto visual .....	84
5.3.2	Espessura .....	85
5.3.3	Umidade e sólidos totais .....	87
5.3.4	Permeabilidade ao vapor de água .....	88
5.3.5	Atividade de água .....	89
5.3.6	Propriedades mecânicas .....	90
5.3.6.1	Tensão, deformação e módulo de elasticidade na tração .....	90
5.3.6.2	Força e deformação na perfuração.....	93
5.3.8	Teor de vitamina C .....	94
5.3.9	Teor de carotenoides totais .....	95
5.3.10	Teor de $\beta$ -caroteno .....	96

5.3.11	Capacidade antioxidante dos filmes pelos métodos DPPH e ABTS .....	97
5.4	Caracterização dos filmes obtidos por extrusão e termoprensagem .....	99
5.4.1	Espessura, umidade, teor de sólidos totais e atividade de água .....	101
5.4.2	Permeabilidade ao vapor de água (PVA) .....	102
5.4.3	Propriedades mecânicas .....	102
5.4.3.1	Propriedades de tração .....	102
5.4.3.2	Força e deformação na perfuração .....	104
5.4.4	Teores de vitamina C, carotenoides totais e de $\beta$ -caroteno .....	105
5.4.5	Capacidade antioxidante dos filmes pelos métodos DPPH e ABTS .....	106
5.5	Percentual de redução entre os processos .....	107
5.5.1	Concentração.....	107
5.5.1.2	Perdas na etapa de concentração da polpa .....	108
5.5.2	Redução no processo de <i>casting</i> .....	109
5.5.3	Redução durante o processo de extrusão termoplástica e termoprensagem	110
5.6	Atividade antimicrobiana dos filmes .....	113
5.7	Bioensaio pelo teste da <i>Artemia salina</i> para determinação da toxicidade	119
5.8	Sugestão de Aplicação .....	120
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>121</b>
<b>7</b>	<b>SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS</b> .....	<b>122</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>123</b>
	<b>APÊNDICE</b> .....	<b>155</b>

# 1 INTRODUÇÃO

A questão do impacto ambiental associado ao alto custo de reciclagem das embalagens plásticas tem favorecido o aumento das pesquisas sobre filmes obtidos de polímeros naturais, que além de desempenharem funções de conservação do alimento, podem ser usados como suporte de nutrientes e/ou aditivos, tais como: antioxidantes, vitaminas, agentes antimicrobianos e aromas, que melhoram e modificam as características nutricionais e sensoriais dos alimentos. Os filmes obtidos com polímeros naturais apresentam as vantagens de serem produzidos a partir de componentes biodegradáveis e não gerarem resíduos sólidos na natureza, podendo ser facilmente degradados no ambiente pela ação de microrganismos. A substituição de materiais oriundos exclusivamente de derivados de petróleo é uma tendência mundial. O amplo uso do amido como principal constituinte de filmes é devido à sua abundância, disponibilidade e baixo custo relativo. O amido tem sido incorporado em materiais sintéticos há quase quarenta anos, desde as décadas 70 e 80 do último século, porém em baixos teores. Esses materiais são conhecidos com o nome de biofragmentáveis. No entanto, por conta do impacto das embalagens biofragmentáveis no ambiente, mais recentemente, as pesquisas são voltadas à elaboração de embalagens de fonte 100% renovável. Já a acerola (*Malpighia glaba*), se destaca como excelente fonte de vitamina C, antioxidante e pigmentos naturais agregando valor nutricional, quando incorporada na elaboração de outros produtos.

Avanços tecnológicos, como a transição da técnica de produção de filmes por *casting* para processo contínuo de produção via extrusão termoplástica por sopro, vem permitindo processar o amido, resultando em materiais biodegradáveis de maior aplicação industrial e em escala comercial.

A partir da extrusão termoplástica de materiais à base de amido é possível obter filmes biodegradáveis em larga escala, o que possibilita a utilização desses materiais em embalagens para produtos alimentícios.

A utilização do óleo essencial de cravo é um aditivo interessante, que pode ser incorporado aos filmes, pois possui a capacidade de inibir o crescimento de microrganismos objetivando a segurança, a melhoria da qualidade e as propriedades sensoriais, por meio da incorporação de substâncias inibitórias na formulação da solução formadora de embalagem, caracterizando as embalagens ativas. A adição de substâncias antimicrobianas possibilita a redução da taxa de crescimento de microrganismos, permitindo a extensão da fase “lag” do microrganismo alvo, prolongando a vida útil do alimento. Essa área possui um grande potencial para novas pesquisas. A proposta de combinar amido e acerola em um filme flexível, associado ao óleo essencial de cravo é o principal objetivo deste trabalho.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Desenvolver filmes ativos a partir de amido de mandioca, glicerol e polpa de acerola, incorporados de óleo essencial de cravo utilizando as técnicas de *casting* e de extrusão termoplástica associada à termoprensagem.

## 2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito do processamento pela técnica *casting*, por extrusão e termoprensagem no teor de vitamina C, carotenoides e  $\beta$ -caroteno dos filmes;
- Determinar o efeito do processamento na capacidade antioxidante dos filmes;
- Caracterizar os filmes quanto às propriedades mecânicas (ensaios de tração e perfuração);
- Avaliar o efeito antimicrobiano dos filmes produzido por *casting*, extrusão termoplástica e termoprensagem;
- Avaliar a toxicidade do óleo essencial de cravo e do filme obtido por extrusão e termoprensagem.

## 3 REVISÃO DE LITERATURA

### 3.1 Filmes Biodegradáveis

O aumento pela procura de alimentos microbiologicamente seguros, maior praticidade, pequenos volumes, prazo de validade maior, conscientização ambiental e aspectos negativos do material polimérico derivado do petróleo estão forçando a pesquisa por novos produtos para acondicionamento (GALGANO et al. 2015).

Os plásticos biodegradáveis, introduzidos na década de 1980, vieram de encontro à produção de plásticos oriundos do petróleo, assim como a redução dos efeitos ambientais devido ao aumento no volume de material destinado aos aterros (GIRONI; PIEMONTE, 2010). O problema da eliminação de resíduos sólidos urbanos com o aumento da quantidade de materiais plásticos aterrados, aumenta anualmente, pois a reciclagem de materiais plásticos oriundos de embalagem, para aplicação em alimentos, torna-se impraticável economicamente, devido à contaminação por alimentos e substâncias biológicas (SIRACUSA et al., 2012).

Desta forma, conforme estabelecido pela Norma ASTM D 883, polímeros biodegradáveis são aqueles que apresentam quebra de ligações químicas em suas cadeias poliméricas através de agentes biológicos, levando a uma fragmentação ou desintegração dos mesmos. Sendo definido mais especificamente como "material biodegradável" aquele material capaz de ser degradado enzimaticamente por organismos vivos (bactérias, leveduras, fungos), tendo os produtos finais do processo de degradação (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O e biomassa (sob condições aeróbicas) e hidrocarbonetos, metano e biomassa (sob condições anaeróbicas) (DOI; FUKUDA, 1994). Assim, a única via de degradação capaz de remover completamente um polímero ou seus produtos de degradação do ambiente é a biodegradação (KROCHTA; MULDER-JOHNSTON, 1997).

Preocupações com o meio ambiente e a percepção de que as fontes de petróleo são finitas, têm atraído a atenção nas últimas décadas, para os polímeros oriundos de fontes renováveis (YU; DEAN; LI, 2006). Segundo Soroudi e Jakubowicz (2013), os produtos oriundos de fontes renováveis apresentam aceitabilidade comercial e ambiental que derivam do envolvimento de recursos renováveis, capacidade de reciclagem e biodegradabilidade. A crescente demanda por soluções mais sustentáveis se reflete na crescente capacidade de produção de bioplásticos. Em 2012 a capacidade de produção chegou a 1,4 milhões de toneladas (*European Bioplastics*, 2014). De acordo com as estimativas de mercado, a capacidade de produção até 2017 chegará a mais de 6 milhões de toneladas.

A função principal das embalagens de alimentos é a de manter a qualidade, segurança e prolongar a vida útil dos alimentos durante o armazenamento e transporte, impedindo o contato com fatores ou condições desfavoráveis (microrganismos, contaminantes químicos, oxigênio, umidade, luz, entre outros). Sendo assim, os materiais de embalagem devem fornecer proteção física e condições físico-químicas adequadas aos produtos, sendo essenciais na obtenção de uma vida útil satisfatória e na manutenção da qualidade e segurança do alimento (RHIM; PARK; HA, 2013).

Algumas técnicas são utilizadas com o intuito de aumentar a vida útil das frutas e hortaliças, como o aumento da umidade relativa do ar, diminuição da temperatura e o uso de embalagens com características específicas. As embalagens têm o objetivo de proteger o produto contra perda de massa excessiva através da transpiração, assim como reduzir as trocas gasosas com o meio, diminuindo o seu metabolismo e aumentando a vida útil, além de evitar danos físicos e mecânicos durante a movimentação, transporte e distribuição. Considerando o

exposto, tem-se procurado diferentes tipos de embalagens que protejam os alimentos da forma mais natural possível sem prejudicar o meio ambiente (MALI, 2010).

O uso de amido para produzir bioplásticos teve início nos anos 70 (CURVELO et al., 2001). O amido possui vantagens por ser barato, abundante, biodegradável, renovável e possuir comportamento termoplástico. Por esta razão, é um dos biopolímeros mais utilizados para elaboração de filmes e revestimentos, o que contribui para uma menor poluição ambiental (LAROTONDA et al., 2004; MALI et al., 2005; HENRIQUE et al., 2008; ALMEIDA, 2010).

A funcionalidade e o desempenho dos filmes e revestimentos dependem de suas propriedades de barreira e mecânicas, o que por sua vez dependem da composição do filme, seu processo de formação e o método de aplicação para o produto, como também, dos efeitos das propriedades intrínsecas de seus componentes (cristalinidade, hidrofobicidade, tamanho molecular e forma tri-dimensional) (RODRÍGUEZ et al., 2006).

Os nichos de mercado de polímeros biodegradáveis na área de embalagens incluem sacos de compostagem para resíduos ou alimentos, sacolas e aplicações de serviços de alimentação (copos de uso único compostáveis, canudos, pratos, talheres e recipientes) (LUCKACHAN e PILLAI, 2011). O mercado Europeu já comercializa, filmes de amido de milho (produtos de confeitaria, embalagens de manteiga e margarina (blend 90% amido/10% ácido polilático), filmes a base de amido de milho, amido de milho e trigo, batata e trigo (sacos de lixo) (BASTIOLI, 2000; HAUGAARD, 2001), com amido de batata, ácido polilático e polihidroxi-alcanoato como embalagem de alimentos que necessitam do controle de trocas gasosas (VILPOUX; AVEROUS, 2003), embalagens biodegradáveis tipo bandejas a base de PLA (Ácido Polilático) para utilização em alimentos.

Ressalta-se dentre algumas das possíveis aplicações dos filmes a base de amido, a aplicação como embalagem para frutas e legumes. Os filmes biodegradáveis ativos deverão ter amplo campo de atuação no futuro, ao desempenharem funções como: controle da entrada de O<sup>2</sup> (em alimentos facilmente oxidáveis), retenção de aditivos, sequestro de etileno, ação antimicrobiana (BRODY, 2002). Muitas pesquisas vêm sendo realizadas neste sentido, como a melhora das propriedades de barreira, mecânicas, suporte de aditivos e ainda a garantia de que o agente ativo adicionado ao filme não prejudique a inocuidade do produto embalado.

### **3.1.1 Embalagens ativas**

Em virtude de o Brasil situar-se em terceiro lugar mundial como produtor de frutas, com uma produção de 41,5 milhões de toneladas, onde 5,7% é colhido (FAO, 2014). Entretanto, cerca de 30% desta produção é representada por desperdício em perdas pós-colheita (inadequação da colheita e do transporte; ausência de classificação no beneficiamento dos frutos e de cadeia de frio; embalagens e falta de tratamentos auxiliares (reguladores vegetais) e a aplicação de fungicidas que evitem doenças pós-colheita (CHITARRA e CHITARRA, 2005; VAL, 2012).

Algumas das principais doenças pós-colheita de frutas é a antracnose e a podridão do pedúnculo (REZENDE e FANCELLI, 1997). A antracnose pode causar lesões na casca e afetar a polpa, fatos que comprometem a aparência, causando grandes prejuízos na comercialização. Por esta razão, para a inibição do desenvolvimento destes fungos é recomendado o uso de fungicidas. No entanto, o não controle de dosagens, do período de carência e o uso de princípios ativos não registrados para a cultura oferecem risco a saúde humana e danos irreparáveis ao ambiente (OLIVEIRA, 2013).

Sendo assim, na manutenção da qualidade de frutas e hortaliças, algumas das principais formas utilizadas são o uso de recobrimentos poliméricos, refrigeração, atmosfera

modificada e irradiação (HENRIQUE et al., 2008; ALMEIDA, 2010). Atualmente, alguns métodos alternativos estão sendo usados como uma alternativa viável para manutenção de qualidade destes produtos como a aplicação de ceras e de óleos essenciais extraídos de plantas.

A contínua procura por métodos de conservação que provoquem menos alterações nas qualidades sensoriais e físico-químicas dos alimentos e que contenham uma quantidade mínima de aditivos vem incentivando a indústria a buscar e investir em novos métodos tecnológicos visando à qualidade e proteção do alimento. Com isso houve uma mudança, especificamente no que se refere à embalagem para alimentos, que antes exerciam somente a função de barreira de forma passiva, hoje já podem atuar como fator ativo na segurança alimentar, na conservação e na manutenção da qualidade.

Embalagens ativas apresentam um conceito inovador definido como uma embalagem onde o produto e o meio ambiente interagem para prolongar a vida útil ou melhorar a segurança e as propriedades sensoriais, mantendo a qualidade do produto. Para tanto, têm sido desenvolvidas embalagens alimentícias com sistemas de atmosfera modificada, controle e absorção de umidade, incorporação de aditivos antimicrobianos e antioxidantes (SUPPAKUL et al., 2003; BRAGA e PERES, 2010; WU et al., 2010; HEMPEL et al., 2013; GOMEZ-ESTACA et al., 2014).

A embalagem antimicrobiana é um tipo promissor de embalagem ativa que apresenta a substância antimicrobiana incorporada e ou imobilizada no material da embalagem, sendo capaz de inibir ou eliminar microrganismos deterioradores e ou patogênicos (SOARES, 2009), atuando como mais uma barreira (VERMEIREN et al., 1999).

A liberação de aditivos por intermédio de embalagens ativas aumenta a segurança do consumidor, pois esses compostos, em vez de serem diretamente adicionados ao alimento, são liberados de forma controlada em menores quantidades, e apenas onde sua presença é requerida (SOARES et al., 2002). Essas embalagens, elaboradas com filmes ativos, com o tempo de armazenamento, podem continuar inibindo os microrganismos, dependendo da temperatura de estocagem (SUPPAKUL et al., 2011). Têm sido publicados diversos estudos sobre a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de plantas contra patógenos de origem alimentar. Diversas pesquisas focam na incorporação desses óleos em filmes comestíveis, como um meio eficaz de controle de microrganismos deteriorantes e patogênicos, aumentando a vida útil dos produtos e a segurança do alimento (DU et al., 2011; MORADI et al., 2012; AGUIRRE et al., 2013; SOUZA et al. 2013).

Em embalagens antimicrobianas, o agente antimicrobiano pode ser incorporado na elaboração do material de embalagem (DEVLIEGHERE et al., 2004). Essas embalagens têm sido utilizadas em uma variedade de produtos, como pães, biscoitos, bolos, pizzas, massas frescas, queijos, carnes, frutas, entre outros. As substâncias químicas com atividade antimicrobiana, geralmente incorporadas no material de embalagem, são ácidos e sais orgânicos (sorbato de potássio e cálcio, ácido propiônico, ácido acético, benzoato de sódio, sulfitos, nitritos e antibióticos). Os agentes antimicrobianos podem ser incorporados inicialmente dentro do material de embalagem e migrar para o alimento por meio de difusão, sendo um aspecto importante o controle da liberação e da migração da quantidade de substância antimicrobiana (HAN, 2000).

A oxidação é também um importante fator de deterioração e redução da vida útil dos alimentos. Além de alterar o gosto (rancificação) e a qualidade nutritiva (perda de vitaminas e ácidos graxos essenciais) dos alimentos, a oxidação resulta em compostos reativos e tóxicos que representam um perigo para os consumidores (LAGUERRE et al., 2007).

Uma das tecnologias mais promissoras para preservar alimentos sensíveis à oxidação são as embalagens ativas antioxidantes (LEE, 2005). Esse sistema consiste na incorporação de

substâncias antioxidantes em filmes plásticos, papéis ou sachês, de onde serão liberadas para proteger os alimentos da degradação oxidativa, inibindo as reações de oxidação ao reagirem com radicais livres e peróxidos e, conseqüentemente, estendendo a sua vida útil (MIN e KROCHTA, 2007). As embalagens antioxidantes apresentam potencial para aplicações comerciais, entretanto, é necessário que elas satisfaçam critérios de segurança dos alimentos. A difusão dos antioxidantes para os alimentos causa preocupações aos consumidores no que diz respeito à sua segurança (VERMEIREN et al., 1999). Por essa razão, existe crescente preferência pelo uso de substâncias antioxidantes naturais (YANISHLIEVA-MASLAROVA, 2001). Alguns antioxidantes naturais que podem ser utilizados em embalagens para alimentos incluem ácidos fenólicos (á-tocoferol), ácidos orgânicos (ácido ascórbico), extrato de plantas (alecrim, canela, cravo, chá e outros) e poliaminas (espermina e espermidina). Ácidos ascórbico, cítrico, caféico e N-acetilcisteína são exemplos de agentes antioxidantes e têm sido incorporados em revestimentos ativos (SOARES et al., 2008).

Foram relatadas diversas pesquisas sobre a aplicação de embalagens ativas antioxidantes e o seu efeito sobre a oxidação em alimentos (SILVA, 2009; MALI et al., 2010; SOUZA et al., 2011). Salmieri e Lacroix (2006) desenvolveram filmes à base de alginato e policaprolactona incorporados com óleos essenciais de orégano, segurelha e canela e avaliaram as suas propriedades antioxidantes por meio do teste colorimétrico do N, N-dietil-p-fenilenediamina (DPD). Os resultados demonstraram as melhores propriedades antioxidantes para os filmes a base de orégano.

A investigação sobre a utilização de filmes ativos como materiais de embalagem é continua devido ao grande potencial desses filmes em melhorar e manter a qualidade do alimento, possibilitar o alimento seguro e aumentar a vida útil, além de agir como uma barreira contra a difusão (umidade, gases e voláteis). Filmes ativos podem servir como suporte para uma ampla gama de aditivos alimentares, incluindo agentes antioxidantes, vitaminas e corantes (CAGRI; RYSER, 2004), o que tem sido crescente para a indústria alimentar.

Filmes ativos elaborados à base de biopolímeros podem atuar como barreira ao vapor de água, a gases, proteção mecânica contra deterioração e ainda possibilitar a incorporação de aditivos funcionais, como antioxidantes e agentes antimicrobianos, além de estender a vida útil dos alimentos (CHEN, KUO e LAI, 2010).

A incorporação de agentes antimicrobianos, como os óleos essenciais, em filmes ou revestimentos pode aumentar a funcionalidade destes contra danos causados por microrganismos e ainda estender a vida pós-colheita e a qualidade dos alimentos (ANTUNES et al., 2012).

### **3.2 Polímeros Naturais Renováveis Utilizados na Elaboração de Bioplásticos**

Na formação de um filme biopolimérico são necessários uma macromolécula e um plastificante a fim de formar uma matriz coesa e contínua (DENAVI et al., 2009). As macromoléculas mais utilizadas são os polissacarídeos (alginato, pectina, amido, celulose, quitosana) e as proteínas (colágeno, glúten e zeína, gelatina, caseína) (LUCKACHAN; PILLAI, 2011) ou a combinação desses materiais (DONHOWE, FENNEMA, 1992).

Ainda assim, na formação dos filmes à partir dos biopolímeros, algumas propriedades são vantajosas e outras ainda necessitam de mais pesquisas para serem melhoradas. Segundo Guilbert et al. (1997), os filmes desenvolvidos a partir de polissacarídeos e proteínas possuem uma elevada PVA, entretanto os polissacarídeos apresentam efetiva barreira à migração de óleos e gorduras e as proteínas efetiva barreira a gases (KROCHTA, 2002, TANADA-

PALMU et al., 2005). Já os filmes elaborados a partir de lipídios, apesar de sua excelente propriedade de barreira ao vapor de água, podem oxidar, modificando as características sensoriais (GUILBERT et al., 1997).

O amido é um dos polímeros naturais mais utilizados atualmente na elaboração de bioplásticos biodegradáveis devido à sua propriedade termoplástica, abundância e baixo custo (CHIVRAC et al., 2010; KECHICHIAN et al., 2010; MALI, 2004).

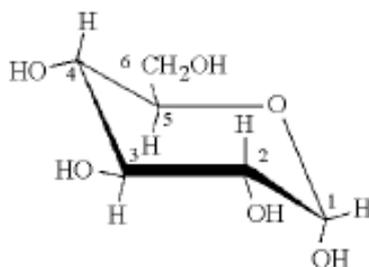
A força coesiva de um filme é relacionada à estrutura química do polímero, natureza do solvente, presença de aditivos, como agentes de ligações cruzadas, e condições do meio durante a produção dos filmes. O grau de coesão influencia a resistência, a flexibilidade e a permeabilidade dos filmes (GONTARD; GUILBERT, 1996; KESTER; FENNEMA, 1986).

### 3.2.1. Amido

O amido é a maior fonte de reserva de polissacarídeo, presente nos cloroplastos das folhas e nos amiloplastos dos órgãos de reserva (sementes, raízes, rizomas e tubérculos). Em seu estado nativo se compõe por grânulos semicristalinos insolúveis em água que, ao microscópio, apresentam-se brilhantes com dimensões que variam de acordo com a sua origem botânica (GUILBOT & MERCIER, 1985). É o biopolímero mais abundante no mundo após a celulose (BAYER e LAMED, 1992), além da grande produção mundial e do baixo custo.

De acordo com a Legislação Brasileira (BRASIL, 1978), os polissacarídeos de reserva podem ser denominados amidos ou fécula, sendo a fécula a substância extraída das raízes, tubérculos e rizomas e amido as extraídas dos grãos dos cereais.

O amido é um polissacarídeo natural encontrado na forma de grânulos em cereais, raízes, tubérculos e leguminosas (HUANG, 2006). Esses grânulos são formados essencialmente por dois polímeros de glicose (Figura 1): a amilose e a amilopectina, com estruturas e funcionalidades diferentes. Os teores destas duas frações tendem a variar de acordo com a fonte botânica do amido. O amido de mandioca apresenta teores em torno de 17 a 20% de amilose (SARMENTO, 1997) e amilopectina em torno de 80 a 83% (MAMADOU, 1994). A proporção entre essas duas frações, a distribuição de moléculas de amilose no interior dos grânulos de amido, bem como a estrutura molecular dos polissacarídeos de amido individuais determinam a estrutura e funcionalidade do amido (GENKINA et al., 2014).

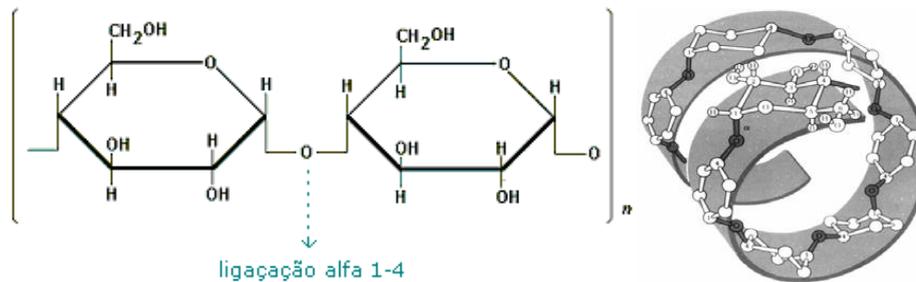


**Figura 1.** Molécula de glicose.

A amilose é uma macromolécula linear, formada por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas  $\alpha(1-4)$ . As cadeias de amilose apresentam tamanho médio de  $10^3$  unidades de glicose, massa molar variando entre  $1,5 \times 10^5$  e  $10^6$  Da e grau de polimerização

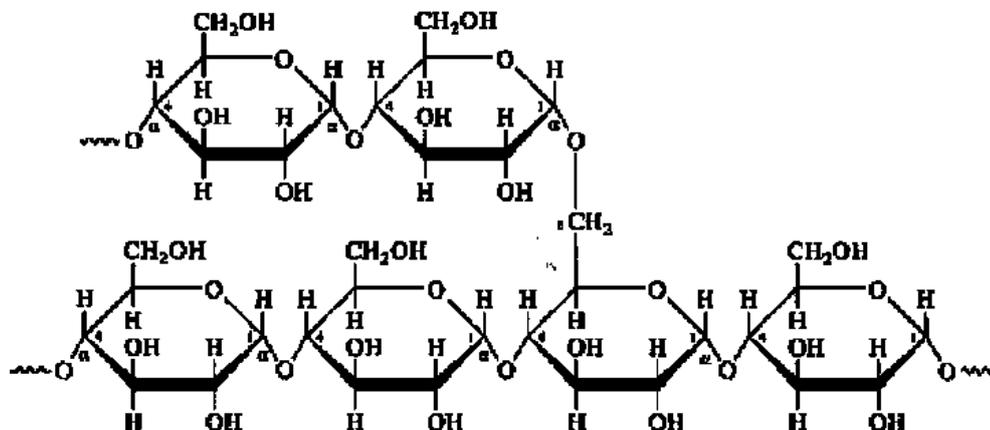
de 200 a 300, de acordo com a fonte do amido. Apresenta comportamento instável em soluções aquosas diluídas formando um retículo (retrogradação). Embora considerada fração linear existem evidências de ramificações ou outros tipos de ligações glicosídicas ao longo da cadeia (BILIADERIS, 1991).

As moléculas de amilose (Figura 2) apesar de apresentarem forma retilínea, devido às ligações  $\alpha(1-4)$ , assumem uma estrutura enrolada em duplas hélices, contendo cerca de 6 (seis) moléculas de glicose a cada passo. Os diversos grupos hidroxilas presentes ficam voltados para a parte externa, explicando algumas complexações existentes com outras moléculas como iodo, álcool e lipídios (IMBERTY et al., 1991).



**Figura 2.** Estrutura química da amilose e respectiva conformação helicoidal  
 FONTE: Maia et al., 2000.

Amilopectina é uma macromolécula altamente ramificada (Figura 3) formada por um esqueleto linear de D-glicospiranoses unidas por ligações  $\alpha(1-4)$  e ramificações da ordem de 6% da massa molar. As ramificações são cadeias curtas de  $\alpha$ -D-glicopiranoses unidas ao esqueleto linear por ligações  $\alpha(1-6)$  ((BILIADERIS, 1991, LEHNINGER, 1995). Sua massa molecular é de 5000-30000 kg/mol (DAMAGER et al, 2010). As cadeias de amilopectina apresentam conformação em forma de hélices duplas, sendo denominados em referência a sua estrutura, modelos em cachos ou "modelos em clusters" (IMBERTY et al., 1991).



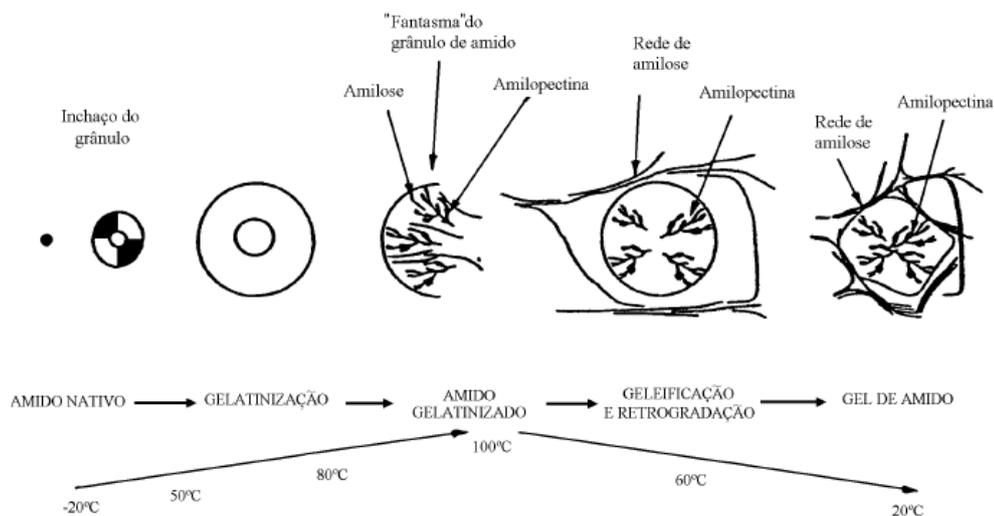
**Figura 3.** Estrutura química da amilopectina e seu formato de ramificações.

A amilose e a amilopectina estão associadas entre si por ligações de hidrogênio, sendo depositadas em sucessivas camadas superpostas em torno de um núcleo, o hilo (CIACO; CRUZ, 1982; BILIADERIS, 1991), conferindo ao amido o caráter semicristalino, com áreas mais ordenadas (cristalinas) onde se concentra a amilopectina e áreas amorfas, onde as cadeias poliméricas estão menos ordenadas, sendo constituída pela amilose (IMBERTY et al., 1991; GALLIARD & BOWLER, 1987).

Devido às suas estruturas cristalinas, os grânulos de amido proporcionam padrões específicos de cristalinidade (A, B, C ou V). O padrão A é característico do amido de cereais, o padrão B de tubérculos, de frutas, de milho com alto teor de amilose e dos amidos retrogradados, o padrão C, uma mistura de A e B, característico do amido de leguminosas (CARVALHO, 2012) e o padrão V é atribuído a um amido complexado a um lipídio.

Quando o amido é aquecido na presença de excesso de água, a estrutura do grânulo torna-se menos ordenada, o grânulo aumenta até que sua estrutura finalmente se desintegre e a amilose e a amilopectina sejam liberadas na suspensão aquosa. A proporção entre esses polissacarídeos afeta a arquitetura do grânulo de amido, as propriedades de pasta, a gelificação e os atributos texturais, podendo afetar sua aplicação (THOMAS; ATWELL, 1999).

Durante o aquecimento dos grânulos as ligações de hidrogênio presentes nas áreas amorfas são rompidas, permitindo o intumescimento granular. As ligações de hidrogênio, presentes na área micelar, possibilitam que o grânulo permaneça intacto até que estas ligações se rompam em algum ponto. Nessa condição, a expansão dos grânulos torna-se irreversível e a ordem estrutural desaparece, podendo ser caracterizada por uma endoterma obtida através de calorimetria diferencial exploratória de varredura (DSC), pela perda da birrefringência e pelo desaparecimento da cristalinidade evidenciada pela difração de Raios X (GARCIA, 1997; COSTA, 2008). Caso os grânulos continuem a se expandir, a amilose é lixiviada para a fase aquosa (BILIADERIS, 1991) (Figura 4). Após a gelatinização, as moléculas de amilose, devido à sua linearidade, aproximam-se suficientemente, ficando lado a lado, para formar ligações de hidrogênio entre as hidroxilas de polímeros adjacentes (fenômeno de retrogradação). Ocorre a redução do volume livre, diminuindo a afinidade do polímero pela água, podendo o amido gelatinizado (Tabela 1) formar filmes estáveis e flexíveis (WURZBURG, 1986).



**Figura 4.** Influência do tratamento hidrotérmico em excesso de água sobre o estado do amido (Fonte: Bornet, 1992).

**Tabela 1.** Faixa de ocorrência da temperatura de gelatinização de alguns amidos.

<b>Amido</b>	<b>Intervalo de temperatura de gelatinização (°C)</b>
Batata	56-66
Mandioca	58-70
Milho	62-72
Sorgo	68-75
Trigo	52-63
Arroz	61-77
Milho ceroso	63-72

Fonte: BOBBIO e BOBBIO, 1995.

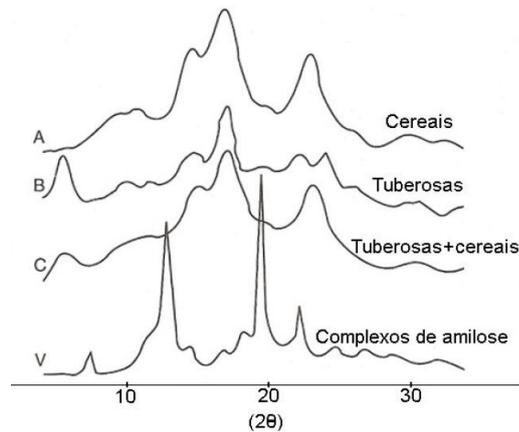
As propriedades mecânicas dos filmes de amido dependem da proporção de amilose e amilopectina (LOURDIN et al., 1995). O principal componente responsável pela capacidade de formação de filmes de amido é a amilose, devido à linearidade de suas moléculas. O teor de amilose é normalmente responsável pela resistência física do filme (THOMAS; ATWELL, 1999).

### **3.2.1.1 Cristalinidade do amido**

Macromoléculas e polímeros podem formar cristais da mesma forma que compostos inorgânicos e minerais. Para que um polímero cristalize, é necessário que ele apresente certas características moleculares, como um alto nível de organização das unidades repetitivas (monômeros), tanto do ponto de vista de composição quanto de estereoquímica. As regiões cristalinas dos polímeros agem como reforçadoras da estrutura, porém um excesso de cristalinidade pode resultar em fragilidade (NETO, 2003).

A técnica de difratometria de raios X permite realizar estudos morfológicos em materiais, determinando sua estrutura cristalina e o percentual de cristalinidade. Quando os raios X interagem com um material cristalino eles geram um padrão de difração, com picos que são mais intensos, pontiagudos e estreitos, sendo que cada substância cristalina tem seu padrão em um plano de uma estrutura. As partes amorfas geram picos mais largos e menores. Tal técnica é empregada para estudar o caráter cristalino do amido (THERMO ARL, 1999; THOMAS; ATWELL, 1999; NETO, 2003).

Os grânulos de amido possuem regiões cristalinas e amorfas. Essa cristalinidade relativa do amido se deve principalmente às cadeias de amilopectina e encontra-se entre 15 a 45%. Como já mencionado, os padrões de cristalinidade dos amidos podem ser classificados em tipos A, B, C e V (Figura 5) (YONEMOTO; CALORI-DOMINGUES; FRANCO, 2008). Estes padrões são obtidos pela avaliação quantitativa das intensidades dos picos e do ângulo de difração  $2\theta$  do difratograma.



**Figura 5.** Representação dos padrões de cristalinidade dos grânulos de amido.  
 FONTE: Liu (2005).

O padrão A é característico de amido de cereais e apresenta picos intensos nos espaços interplanares 15, 17, 18 e 23 em  $2\theta$ . O padrão B é encontrado em amidos de tubérculos e raízes com picos principais em 5, 6, 15, 17, 18 e 23 em  $2\theta$  e o C pode ser encontrado em amidos de tubérculos tropicais e leguminosas como ervilha, com picos intensos em 5,5, 15, 17, 22 e 23 em  $2\theta$  (MARCON, 2009). O padrão C de acordo com alguns autores é uma associação dos tipos A e B, pois os perfis de raios X do tipo C apresentam regiões características de ambos simultaneamente. Este padrão geralmente pode ser encontrado em leguminosas (ELFSTRAND et al., 2004; PEREZ; BALDWIN; GALLANT, 2009).

O padrão V é obtido quando o amido é recristalizado na presença de ácido graxo ou de álcool de cadeia longa. Esse padrão é atribuído a um amido complexado a um lipídio. Este tipo é parcialmente resistente a digestão enzimática e pode ser encontrado em amido de arroz, aveia, milho e trigo (THOMAS; ATWELL, 1999).

Modificações na estrutura cristalina dos grânulos de amido podem influenciar nas suas propriedades funcionais como inchamento do grânulo, desenrolamento e dissociação da dupla hélice, perda da birrefringência óptica e solubilidade do amido (YONEMOTO; CALORI-DOMINGUES; FRANCO, 2008).

A cristalinidade exerce importante função na estrutura do grânulo e em suas características físico-químicas, como a susceptibilidade a enzimas e a insolubilidade em água fria (TANG et al., 2006). O polimorfismo dos padrões de amido é influenciado por condições ambientais, tamanho das cadeias de glicose, concentração de amido na solução, presença de outros solventes e moléculas orgânicas (JAYAKODY, 2001).

### 3.2.1.2 Propriedade térmica do amido

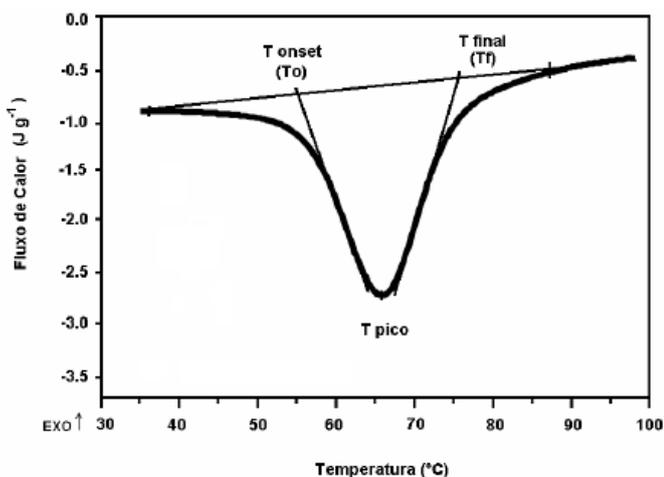
Em amidos, a análise por DSC permite verificar com precisão sua temperatura de gelatinização, como também transições térmicas de primeira (fusão) e segunda (transição vítrea) ordem. As temperaturas de transição do amido e entalpia de gelatinização, medidas por DSC, podem relatar as características do grânulo de amido e o seu grau de cristalinidade (LACERDA, 2006).

É uma técnica que permite avaliar as variações de entalpia ocorridas com a amostra durante um processo de aquecimento ou resfriamento, através da diferença de energia

fornecida à amostra e a um material de referência enquanto são submetidas a uma programação controlada de temperatura (LACERDA, 2006). As vantagens em se utilizar o DSC são a rapidez de medidas, a obtenção de dados múltiplos em um único termograma e o uso de uma pequena quantidade de amostra, gerando resultados precisos (MURPHY e MARKS, 1998).

Quando uma transição térmica ocorre, a energia absorvida ou liberada pela amostra é suprida por um aumento ou decréscimo da energia fornecida à mesma pelo calorímetro, para manter o balanço de temperatura. O registro desse balanço de energia é feito na forma de um pico; a área sob o pico é diretamente proporcional à mudança na entalpia ( $\Delta H$ ) e a sua direção indica se o evento térmico é endotérmico (WENDLANT, 1986; PEREIRA, 2004) (Figura 6).

Através desta análise pode-se acompanhar os efeitos de calor associados com alterações físicas ou químicas da amostra, como transições de fase (ebulição, fusão, sublimação, congelamento, inversões de estruturas cristalinas) ou reações de desidratação, de dissociação, de decomposição, de óxido-redução entre outras. Normalmente, transições de fase, reduções, desidratações, algumas reações de decomposição produzem efeitos endotérmicos, já oxidação, cristalização e certas reações de decomposição produzem efeito exotérmico (IONASHIRO, 2005).



**Figura 6.** Ilustração esquemática de uma endoterma típica obtida em DSC ( $T_0$ , temperatura *onset*,  $T_p$ , temperatura de pico e  $T_f$ , temperatura final).

FONTE: Adaptado de ALTAY e GUNASEKARAN (2006)

A temperatura de pico ( $T_p$ ) indica a medida da qualidade cristalina. A entalpia de gelatinização ( $\Delta H_{gel}$ ) indica a medida total da qualidade e quantidade de cristalinidade, como também é um indicador da perda da ordem molecular dentro do grânulo. No caso do amido retrogradado, o valor da entalpia fornece uma medida da quantidade de energia de transformação que ocorre durante a fusão da amilopectina recristalizada bem como médias precisas da temperatura de transição do evento endotérmico (SINGH et al., 2003). A fusão endotérmica dá informações da estabilidade, heterogeneidade, grau e perfeição da estrutura, que é fortemente ligada com a cristalinidade (ELFSTRAND et al., 2004).

### 3.2.2 Amido de mandioca

A mandioca (*Manihot esculenta Crantz*), da família das Euforbiáceas é uma planta perene, arbustiva, sendo a raiz sua parte mais importante. Em média, as raízes de mandioca apresentam 34 % de carboidratos, 62 % de umidade, 1,3 % de fibras, e 1,1 % de cinzas (FRAIFE-FILHO e BAHIA, 2009).

Nos países em desenvolvimento, o cultivo da mandioca é de grande relevância econômica como principal fonte de carboidratos. O Brasil, é um dos maiores produtores mundiais, com produção de 23 milhões de toneladas de raízes frescas (IBGE, 2014) e 473,72 mil toneladas de amido de mandioca em 2013 (CEPEA/ABAM, 2014), situando-se entre os nove primeiros produtos agrícolas do País, em termos de área cultivada, e o sexto em valor de produção (EMBRAPA, 2011).

Dos diversos subprodutos provenientes das raízes de mandioca (mais de 150), os mais conhecidos são: polvilho azedo, polvilho doce (amido ou amido) e a farinha. A indústria alimentícia representa 69% do consumo total de amido, o restante vem sendo aplicado nas indústrias têxtil, celulósica, farmacêutica, de cosméticos e em lamas para perfuração de poços de petróleo (MOORE, 2001).

Por conta do amplo cultivo nacional da mandioca, seu amido vem sendo bastante estudado por pesquisadores brasileiros para a produção de embalagens biodegradáveis (MALI et al., 2010; SOUZA et al., 2011; FARIAS et al. 2012; ROCHA et al., 2014).

Segundo Cereda (1994), a diferença na denominação relacionada ao amido de mandioca também conhecido como amido, polvilho doce ou goma, não se refere à composição química, mas à origem e à utilização funcional ou tecnológica do produto amiláceo. O amido de mandioca é um pó fino, branco, inodoro e insípido, obtido através das raízes de mandioca devidamente lavadas, descascadas, trituradas, desintegradas, purificadas, peneiradas, centrifugadas, concentradas, desidratadas e secadas. A coloração indica o grau de envelhecimento, qualidade e a sanidade da mandioca utilizada do processamento (ABAM, 2013).

### 3.2.3 Processabilidade do amido para produção de filmes

Devido ao crescente mercado de produtos biodegradáveis, o amido, na indústria de polímeros é considerado uma das principais matrizes atualmente estudadas. O amido pode ser processado como os materiais termoplásticos, sendo denominado amido termoplástico (TPS). Seus grânulos são gelatinizados na presença de um plastificante que combinado com energia térmica e mecânica, no processo de extrusão e termoprensagem, produz um material amorfo capaz de escoar (HERNANDEZ e KROCHTA, 2008; TAGHIZADEH; SARAZIN; FAVIS, 2013). Segundo Mościcki et al. (2012), quimicamente na obtenção do amido termoplástico, a estrutura granular semicristalina do amido é perdida, obtendo-se um comportamento similar ao de um polímero sintético fundido. É necessário a adição de um plastificante e de água, tendo a água adicionada a formulação, a função de desestruturar o grânulo de amido, rompendo as ligações de hidrogênio entre as cadeias de amilose e amilopectina, dando origem a um produto plástico.

O amido termoplástico depende da origem dos grânulos e das condições de processamento (temperatura, tamanho da partícula, configuração dos parafusos, tipo de canhão na extrusora, taxa de alimentação do material, tipo de matriz, quantidade de água no sistema e teor de plastificante) (CARVALHO, 2012).

As propriedades mecânicas de um material termoplástico à base de amido estão relacionadas à quantidade de água presente na mistura, já que esta permite abaixar a temperatura de transição vítrea e a do ponto de fusão.

Vários autores têm apontado que apesar da facilidade de preparação, os filmes à base de amido apresentam alguns fatores limitantes, tais como baixa resistência à água (WANG et al., 2003) e a pobre propriedade mecânica (JENSEN, 2007), sendo necessária a adição de compostos plastificantes (PERESSINI et al., 2003; BRAVIN; PERESSINI; SENSIDONI, 2006).

A tecnologia de extrusão termoplástica é um sistema que combina trabalho mecânico, calor e pressão, que modifica a estrutura do material, gerando novas formas e texturas. É um processo tecnológico não poluente recomendado na elaboração de bioplásticos pela semelhança e capacidade produtiva com a indústria de polímeros sintéticos (SHEN et al., 2010; BERRIOS, et al., 2013). Alguns autores relatam a utilização de matérias-primas diversas no processo de extrusão como o amido de mandioca (MÜLLER; LAURINDO; YAMASHITA, 2011), blendas de amido termoplástico com poli (L-ácido lático) (SHIRAI et al., 2014) e zeína (WANG; RAKOTONIRAINY; PADUA, 2003).

Existe uma grande diversidade de produtos obtidos a partir do TPS onde são utilizados diferentes amidos nativos, como sacos descartáveis, recipientes, vasos, garfos, facas e sacos de lixo (MA et al., 2009).

### 3.3 Componentes Utilizados na Elaboração de Filmes

#### 3.3.1 A Acerola

A acerola, também conhecida como Cereja das Antilhas ou Cereja de Barbados é uma planta frutífera, pertencente à família *Malpighaceae*, originada das Antilhas, norte da América do Sul e América Central (PIMENTEL, 2002), que vem apresentando boa adaptação em diversos países sendo, sobretudo, cultivada no Brasil, Porto Rico, Cuba e Estados Unidos (COELHO et al., 2003). Sua classificação botânica ainda é bastante discutida. *Malpighia glabra* L., *Malpighia puniceifolia* L. e *Malpighia emarginata* D.C. são comumente utilizados para designar a acerola. Entretanto, estudos demonstraram que *M. glabra* e *M. puniceifolia* referem-se à mesma espécie, a qual produz frutos pequenos, insípidos e sem muito suco, distintos da acerola que é cultivada (OLIVEIRA et al., 2003). Conforme Asenjo (1980), a acerola corresponde à espécie *M. emarginata*, o que é confirmado pelo Comitê Internacional de Recursos Genéticos de Plantas, que a partir de 1986 adotou essa denominação de espécie (IBPGR, 1986).

O interesse pela acerola surgiu a partir 1940, quando foi descoberto que na porção comestível do fruto havia altos teores de vitamina C (800 a 4000 mg 100g<sup>-1</sup>) (ARAÚJO; MINAMI, 1994). Foi introduzida no Brasil em 1955, pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, no próprio Estado, a partir de sementes trazidas de Porto Rico (ASENJO, 1995). A aceroleira pode florescer e frutificar várias vezes durante o ano, com uma produção de três ou mais safras anuais. A partir do 3º ou 4º ano do plantio, plantas adultas chegam a produzir acima de 40 kg de frutos/planta/ano, que corresponde a uma produtividade em torno de 16 t ha<sup>-1</sup> (RITZINGER; RITZINGER, 2004). A formação dos frutos se processa rapidamente entre 21 e 25 dias após a antese. O fruto da aceroleira é uma drupa, carnosa, variando na forma, tamanho e pesa de 2 a 10 g (NEVES, 2007). Sua polpa (mesocarpo) carnuda e suculenta é recoberta por uma casca (epicarpo) de proteção muito fina e delicada, que amadurece rapidamente. Seu endocarpo normalmente é constituído de três caroços triangulares,

alongados, com textura de pergaminho e superfície reticulada, podendo ou não conter uma semente cada (MARQUES; FERREIRA; FREIRE, 2007; RITZINGER; RITZINGER, 2011).

O mesocarpo ou polpa representa 70 a 80% do peso total do fruto (FREITAS et al., 2006). As variedades são divididas em doces e ácidas. Apesar dos doces serem mais agradáveis ao consumo *in natura*, são as ácidas que despertam o maior interesse comercial, pelo fato de apresentarem maior teor de ácido ascórbico (SANTOS; SIQUEIRA; BORBA, 2006).

A acerola já há algum tempo é uma alternativa comercial altamente viável no mercado fruticultor, gerando uma superprodução que vem justificando estudos direcionados ao desenvolvimento de novos produtos a partir desta matéria-prima, que concentra na fruta *in natura* e na polpa, sua maior forma de consumo (NOGUEIRA, 2002).

### 3.3.1.1 Considerações nutricionais sobre a acerola

Pelo seu potencial como fonte natural de vitamina C e sua capacidade de aproveitamento industrial, a aceroleira tem atraído o interesse dos fruticultores e passou a ter importância econômica em várias regiões do Brasil (NOGUEIRA, 2002).

Além de excelente fonte de vitamina C, a acerola contém altos teores de provitamina A, contém vitaminas do grupo B como tiamina (B1), riboflavina (B2), piridoxina (B6) e niacina, e apresenta em sua composição ferro, cálcio, fósforo e sódio (Tabela 2) (FOLEGATTI; MATSUURA, 2003).

A acerola é também fonte de carotenoides, antocianinas e pigmentos antioxidantes que, quando combinados, são responsáveis pela coloração vermelha dos frutos (HWANG et al., 2007). Alguns carotenoides podem ser convertidos em vitamina A, e como tal, desempenham um importante papel na prevenção da síndrome xerofáltica (RAMALHO, 2001).

**Tabela 2.** Composição centesimal da acerola em 100g de polpa.

<b>Composição</b>	<b>Concentração</b>
Umidade (g)	91,1
Proteína (g)	0,63
Carboidratos (g)	6,98
Extrato etéreo (g)	0,19
Fibras dietética total (g)	0,60
Ácido Ascórbico (mg)	2329,0
β-caroteno (mg)	0,408
Cálcio (mg)	8,7
Fósforo (mg)	16,2
Tiamina (mg)	0,028
Riboflavina (mg)	0,079
Niacina (mg)	0,034
Ferro (mg)	0,7

Miller et al. (1961) citado por Tocchini et al. (1995).

O ácido ascórbico (ou vitamina C) é o aditivo mais extensivamente adicionado aos alimentos por dois propósitos: como suplemento vitamínico e como protetor antioxidante, melhorando a qualidade dos alimentos (BASTOS et al., 2009). Na Tabela 3 pode-se observar a concentração de ácido ascórbico de algumas frutas, mostrando que a acerola é uma boa fonte.

**Tabela 3.** Concentração de ácido ascórbico de algumas frutas

<b>Frutas</b>	<b>Ácido ascórbico (mg/100g)</b>
Abacate	15
Abacaxi	27,2
Acerola	1000-4676
Amora	210
Banana	10
Cabeludinha	706-2417
Camu-camu	2000-5000
Caju	147-548
Goiaba	30-486
Laranja	37-80
Limão	23-60
Manga	30-147
Mamão	36-109
Melão	12,5-58,7
Morango	41-81
Pêssego	18,7-26,8
Tangerina	15-56

Adaptado de Silva (2000) e Figueiredo (1998)

Existem numerosos procedimentos analíticos para detectar o ácido ascórbico, mas nenhum é totalmente satisfatório, seja por sua falta de especificidade ou porque a maioria dos alimentos possui numerosas substâncias interferentes. Para a quantificação do ácido ascórbico, é necessário primeiramente extraí-lo dos tecidos utilizando soluções ácidas para prevenir a oxidação da vitamina. As perdas da vitamina C podem ser atribuídas à oxidação enzimática; à degradação térmica; às reações químicas onde o ácido ascórbico atua como antioxidante; à difusão (principalmente em processos de inativação enzimática ou de branqueamento) ou à irradiação. É extremamente sensível a todos estes fatores, podendo ser utilizada como parâmetro ou marcador, para avaliar as condições de manuseio, estocagem e processamento de alimentos (UDDIN et al., 2002).

A capacidade antioxidante das frutas varia segundo o seu conteúdo de vitamina C, vitamina E, carotenoides (VON LINTIG, 2010). Polpas de acerola tem mostrado ser uma boa fonte de  $\beta$ -caroteno (DIAS, DE CAMÕES e OLIVEIRA, 2009; SEGANTINI et al., 2012).

Os carotenoides são pigmentos naturais, bioativos, sendo alguns deles com atividade pró-vitamínica A, responsáveis pelas cores que variam do amarelo ao laranja ou vermelho de muitas frutas e hortaliças (cenoura, manga, mamão, laranja tomates, abóbora melancia, goiaba, caqui, banana, tangerina, melão, milho, espinafre, brócolis e couve). Em frutas e

vegetais as fontes de pró-vitamina A mais comum são o  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno e a  $\beta$ -criptoxantina (Tabela 4). A exigência mínima para um carotenoide possuir atividade pró-vitamínica A é ter um anel  $\beta$ -ionona não substituído e cadeia poliênica com mínimo 11 carbonos e o  $\beta$ -caroteno apresenta duas dessas estruturas, enquanto todos os demais carotenoides pró-vitamina A apresentam apenas uma. Deste modo, o  $\beta$ -caroteno é o metabólito vegetal mais importante como fonte de vitamina A, equivalendo a duas moléculas de retinol (THURNHAM, 2007). Basicamente, a estrutura da vitamina A (retinol) é a metade da molécula do  $\beta$ -caroteno, com uma molécula de água adicionada no final da cadeia poliênica. Na acerola, o  $\beta$ -caroteno é a fonte de carotenoide predominante, com um teor de 11000  $\mu\text{g}/100\text{g}$  de polpa (FARIAS et al., 2012).

**Tabela 4.** Composição de carotenoides em acerola e polpas de acerola brasileiras

Fruta	Região	Variedade	Estádio	$\alpha$ -caroteno $\mu\text{g}/\text{g}$	$\beta$ -caroteno $\mu\text{g}/\text{g}$	$\beta$ -criptoxantina $\mu\text{g}/\text{g}$	Luteína $\mu\text{g}/\text{g}$	Violaxantina $\mu\text{g}/\text{g}$
Acerola	SP	<i>Malpighia glaba</i>	-	tr	4,0	0,5	nq	nq
Acerola	PE	<i>Malpighia glaba</i>	-	0,1	26	3,6	nq	nq
Acerola	CE	<i>Malpighia glaba</i>	-	tr	22	2,1	nq	nq
Acerola	SP	quintal	Parcial/ maduro	0,5	5,4	0,5	1,6	0,3
Acerola	SP	quintal	maduro	1,1	12	1,1	1,3	0,6
Acerola	SP	Olivier	Parcial/ maduro	0,3	12	0,3	0,7	0,7
Acerola	SP	Olivier	maduro	0,7	38	1,2	1,1	3,1
Acerola	SP	Waldy Cati 30	-	0,2	6,2	0,5	1,0	tr
Polpa congelada		Média 4 marcas	-	0,3	11	0,7	0,9	0,1

nq: não quantificado/ tr: traços/ Fonte: Amaya. et al (2001).

Silva et al. (2014) obteve na quantificação para  $\beta$ -caroteno na polpa de acerola liofilizada 2623,57  $\mu\text{g}/100\text{g}$ . Mezadri et al. (2005) encontraram, em acerolas provenientes de Itajaí (SC), como carotenóides majoritários o  $\beta$ -caroteno (100,2-783,4  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ),  $\beta$ -criptoxantina (16,4-417,5  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ), luteína (78,2-144,7  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) e violaxantina (17,6- 395,3  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ), verificando o maior nível em frutas maduras.

Lima et al. (2003), determinando por CLAE o teor de polifenóis e carotenóides totais em acerola em três estádios de maturação de duas estações diferentes, encontraram os carotenóides totais em equivalente de  $\beta$ -caroteno, a variação dos teores, no estádio maduro, na estação seca de 9,4 a 30,9  $\mu\text{g}/\text{g}$  e na estação de chuvas de 14,1 a 40,6  $\mu\text{g}/\text{g}$ .

As substâncias ativas presentes em frutos são capazes de atuar na prevenção de várias doenças. Dentre as propriedades biológicas dessas substâncias, destaca-se sua ação antioxidante (GUTIÉRREZ et al., 2008), fitoquímicos com ação antioxidante, dentre os quais se destacam três grandes grupos: ácido ascórbico e fenólicos como antioxidantes hidrofílicos e carotenoides como antioxidantes lipofílicos (HALLIWELL, 1996). Gardner et al. (2000) observaram que tanto a vitamina C quanto os polifenóis totais em sucos de frutas, estão

fortemente relacionados com a capacidade antioxidante. Jayaprakasha e Patil (2007) relatam que alguns extratos de frutas cítricas podem exibir propriedades antioxidantes comparáveis com antioxidantes comerciais sintéticos. Assim a polpa de acerola com relação à todas as propriedades relacionadas anteriormente, pode ser promissora na elaboração de filmes ativos para embalar frutas e hortaliças, preservando e ou mantendo os bioativos, como também retardando a senescência destes.

O interesse dos consumidores e da comunidade científica em relação aos antioxidantes naturais tem aumentado, particularmente em relação àqueles encontrados em frutas e vegetais (RENAUD et al., 1998).

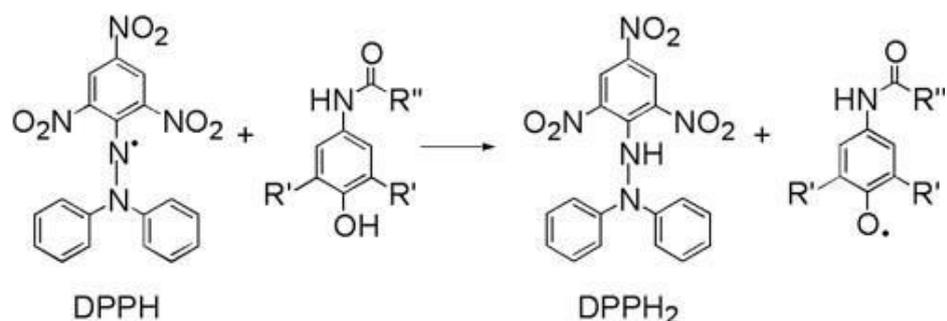
Segundo a *Food and Drug Administration* (FDA), antioxidantes são substâncias usadas para preservar alimentos através do retardo da deterioração, rancidez e descoloração decorrente da autooxidação (ADEGOKE et al., 1998). Tais compostos atuam sequestrando as espécies reativas de oxigênio e complexando/quelando os íons metálicos (MELO et al., 2008; RETO et al., 2008). Para Krinsky (1994), antioxidante é um composto que protege o sistema biológico contra o efeito nocivo de processos ou reações que podem causar oxidação excessiva. A definição nacional está descrita no decreto n. 50.040 de 1961 e descreve antioxidante como a substância que retarda o aparecimento de alterações oxidativas nos alimentos (ANVISA, 2006).

A presença de antioxidantes sintéticos em alimentos é questionável devido aos riscos potenciais, e a necessidade de estritos controles legais. Uma abordagem alternativa que está sendo amplamente estudada é o uso de recursos naturais antioxidantes, particularmente extratos de plantas, tocoferol e óleos essenciais de ervas e especiarias (AL MALAIKA, ASHLEY e ISSENHUTH, 1994; JIPA et al., 2005; SÁNCHEZ, 2010; DOPICO-GARCIA et al., 2011). Os antioxidantes podem ser classificados em produtos que atuam sobre a formação do  $O^2$ , que reagem com  $O^2$ , que atuam de forma competitiva em cadeia ou que atuam sobre os peróxidos, decompondo-os, de forma a produzirem compostos que não mais participam da reação em cadeia de radicais livres (RAMALHO e JORGE, 2006).

Os antioxidantes mais comumente utilizados em aplicações alimentares são os antioxidantes fenólicos sintéticos, como o Butil Hidroxianisol (BHA), Butil Hidroxitolueno (TBHQ), ou substâncias bioativas tais como aminoácidos, aminas, ou carotenoides, bem como ácido ascórbico ou vitamina C (GENEMA, 2002).

Há diversas metodologias para determinação da atividade antioxidante de produtos. Estes métodos divergem quanto ao princípio de atuação: ORAC e TRAP (captura do radical peroxila), FRAP e CUPRAC (poder de redução do metal), ABTS, DPPH (captura da radical hidroxila (método de desoxirribose), captura do radical orgânico), TBARS, oxidação do LDL, co-oxidação do caroteno (quantificação de produtos formados durante a peroxidação de lipídios) (FRANKEL e MEYER, 2000; SÁNCHEZ-MORENO, 2002; ARUOMA, 2003; GÜLÇİN et al., 2012). Os mais utilizados são ABTS, FRAP, DPPH e ORAC (PÉREZ-JIMÉNEZ e SAURA-CALIXTO, 2006).

Um dos métodos mais utilizados para verificar a atividade antioxidante de compostos puros consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) (BRAND-WILLIAMS et al., 1995), de coloração púrpura, que absorve em um comprimento de onda de 515 nm. O DPPH é um radical livre que pode ser obtido diretamente por dissolução do reagente em meio orgânico. Por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar (R.), o DPPH é reduzido formando 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H), de coloração amarela com conseqüente desaparecimento da banda de absorção, sendo a mesma monitorada pelo decréscimo da absorbância (OLIVEIRA et al., 2009) (Figura 7).



**Figura 7.** Representação esquemática do comportamento do radical DPPH utilizado na determinação da atividade antioxidante de OEs.

Este ensaio é comumente utilizado para avaliar a capacidade antioxidante de ervas, sementes, farelo e grãos, legumes, frutas, ácido linoleico e óleos em diferentes sistemas de solventes como: etanol, solução aquosa de acetona, metanol, álcool e benzeno (CHENG et al., 2006). O método DPPH quando em comparação com outros métodos, têm como principais vantagens a sensibilidade, boa estabilidade, simplicidade e viabilidade (JIN et al., 2006). Segundo Deng et al. (2011), os resultados utilizando este método têm sido reportados de diferentes maneiras, sendo que a maior parte dos estudos exprimem como o valor IC<sub>50</sub>, definido como a quantidade de antioxidante necessária para reduzir a concentração inicial de DPPH em 50%. Este valor é calculado através da representação gráfica da percentagem de inibição contra a concentração da substância utilizada. Outro método muito utilizado para medição de atividade antioxidante é através da captura do radical 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (ABTS), que pode ser gerado através de uma reação química, eletroquímica ou enzimática. Com essa metodologia, pode-se medir a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica (KUSKOSKI et al., 2005).

### 3.3.2 Óleos essenciais (antimicrobianos naturais)

De acordo com ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), óleos essenciais são definidos como produtos voláteis de origem vegetal, obtidos de partes de plantas por processo físico (destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou outro método adequado). De forma geral, são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, odoríferas e líquidas. Também podem ser chamados de óleos voláteis, etéreos ou essências. A principal característica dos óleos essenciais é o aroma agradável e intenso da maioria dos óleos voláteis (SIMÕES e SPITZER, 1999; ALMEIDA, 2006).

Os óleos essenciais são líquidos oleosos, aromáticos, obtidos a partir de material vegetal (flores, brotos, sementes, folhas, galhos, cascas, ervas, madeira, frutos e raízes) (SÁNCHEZ et al., 2010; SANTOS e NOVALES, 2011), cujos componentes incluem hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis simples, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, ácidos orgânicos fixos e outros em diferentes concentrações, nos quais, um composto farmacologicamente ativo é majoritário. Esses compostos e suas porcentagens presentes variam de acordo com a espécie considerada, as condições de coleta, extração e as partes da planta utilizadas. Parece que existe uma relação entre a estrutura química do componente mais abundante do óleo essencial e seu efeito antifúngico (AMARAL e BARA, 2005; COSTA et al., 2011).

Os óleos essenciais e extratos, no Brasil, estão inclusos na classe de aditivos como aromatizantes naturais. Entretanto, excluem-se do regulamento da ANVISA (Agência

Nacional de Vigilância Sanitária), as matérias de origem vegetal ou animal que possuam propriedades aromatizantes intrínsecas, quando não são utilizadas exclusivamente como fonte de aromas (ANVISA, 2007).

Os óleos essenciais são substâncias naturais voláteis de origem vegetal classificados como GRAS (*Generally Regarded as Safe*), o que os tornam atrativos por não apresentarem efeito tóxico, mesmo quando empregados em concentrações relativamente elevadas (PEREIRA et al., 2006).

Há décadas vem sendo utilizado farmacologicamente com fins medicinais, perfumaria, cosméticos, e adicionados aos alimentos na forma de ervas e especiarias, o que tem estimulado a busca por substâncias biologicamente ativas e eficazes, especialmente sobre microrganismos. Apresentam-se como substâncias chave para a pesquisa de novos medicamentos, pelo fato de serem naturais, biodegradáveis, geralmente com baixa toxicidade aos mamíferos e por atuarem sobre várias moléculas-alvo ao mesmo tempo, quando comparado a fármacos sintéticos (FIGUEIREDO et al., 2008). Em torno de 3000 óleos essenciais são conhecidos, sendo que aproximadamente 300 são usados comercialmente no mercado de sabor e fragrâncias (BURT, 2004).

Existe uma forte discussão sobre o aspecto seguro de aditivos químicos, devido a esses terem sido considerados responsáveis por muitos atributos carcinogênicos e teratogênicos como também pela sua toxicidade residual. Por essas razões, no passado, houve uma intensificação na demanda por aditivos naturais (SKANDAMIS et al., 2001). Este aumento da procura por ingredientes antimicrobianos naturais foi devido conscientização dos consumidores quanto aos riscos à saúde, em potencial, associados ao uso de componentes químicos, apesar da sua eficiência (MOREIRA et al., 2005).

Eles podem ser obtidos por prensagem, fermentação, ou por extração, sendo o método de destilação à vapor o mais comumente utilizado para fins de produção comercial (VAN DE BRAAK e LEIJTEN, 1999).

Estes óleos apresentam uma solubilidade limitada em água, sabor geralmente acre e picante e são geralmente incolores ou amarelados quando recém extraídos. Em geral, pouco estáveis na presença luz, calor, ar, umidade e metais (TAVARES, 2007). Seu aroma se deve a uma complexa mistura de substâncias voláteis, terpenos, sesquiterpenos e derivados oxigenados (DIAZ-MAROTO et al., 2002).

São muitos os fatores que podem influenciar na composição química dos óleos essenciais, alterando sua efetividade em relação aos microrganismos. Tais como a genética da planta, manejo de cultivo, região, variações climáticas, época, horário de colheita, técnica empregada para a extração do óleo e o seu armazenamento (COSTA et al., 2005; OUSSALAH et al., 2007; SANTOS et al., 2009; OLIVEIRA, 2011).

A indústria de alimentos utiliza os óleos essenciais principalmente como aromatizantes. Embora, estes representem uma fonte alternativa natural antimicrobiana e antioxidante (HYLDGAARD et al., 2012) podendo ser utilizados na conservação de alimentos. No entanto, a identificação dos compostos antimicrobianos mais ativos presentes nos OEs é complexa, tendo em vista que, alguns podem apresentar mais de quarenta e cinco compostos diferentes, com variações percentuais dependente da época da colheita e do método de extração, entre outros (ESPINA et al., 2011).

A possibilidade dos óleos essenciais em proteger os alimentos de microrganismos patogênicos e deteriorantes tem sido relatada em diversas pesquisas (ROJAS-GRAU et al., 2007). No entanto, para obtenção do potencial efetivo da atividade antimicrobiana na aplicação direta no alimento seria necessária uma concentração bastante elevada do óleo essencial, que ocasionaria sabor e odor inapropriado ao produto (GUTIEREZ et al., 2009).

Diversos estudos evidenciaram a efetividade dos óleos essenciais na inibição do crescimento microbiano (BURT, 2004; TAJKARIMI et al., 2010). No entanto, o complexo mecanismo de ação dos óleos essenciais sobre os microrganismos ainda não foi totalmente elucidado. Sabe-se que vários de seus compostos possuem atividade antimicrobiana, atuando na permeabilidade da membrana citoplasmática, causando perdas de constituintes celulares, prejudicando sistemas enzimáticos, inativando ou destruindo o material genético de bactérias (SIKKEMA et al., 1995; COX et al., 2000; BURT, 2004; TAJKARIMI et al., 2010) e causando lise da parede celular (OLIVEIRA et al., 2011) do microrganismo. Um outro mecanismo seria os danos às proteínas da membrana, interrupção da força motriz de prótons (ULTEE e SMID, 2001), do fluxo de elétron, do transporte ativo e da coagulação dos conteúdos celulares (BURT, 2004).

Para Walsh et al. (2003), os compostos fenólicos presentes nos óleos essenciais têm como sítio de ação a membrana celular da célula microbiana, onde acumulam-se causando desarranjo na função e na estrutura da membrana. Assim, penetram na célula exercendo atividade inibitória no citoplasma celular, provocando lise e liberação do ATP intracelular.

Apesar de ainda não haver consenso sobre o mecanismo de ação dos óleos essenciais, para Burt (2004), é muito provável que a atividade antibacteriana dos óleos essenciais não aconteça por apenas um mecanismo de ação, devido ao grande número de compostos químicos presentes, pois, existem vários alvos na célula como: alterações da membrana plasmática, perturbações sobre a força próton motriz, no fluxo de elétrons, no transporte ativo e coagulação do conteúdo da célula. Estes mecanismos podem ocorrer sinergicamente ou em cadeia (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

Além dos efeitos antimicrobianos, os diferentes compostos presentes nos OEs, juntos produzem um arranjo de antioxidantes que, através de diferentes mecanismos de ação, conferem também um sistema de defesa efetivo contra o ataque dos radicais livres (SHAHIDI, 1997).

### 3.3.2.1 Cravo-da-índia

*Eugenia caryophyllata* (cravo-da-índia) pertence à família *Myrtaceae*. É uma planta de porte arbóreo, aromática, podendo atingir 10 metros de altura. O fruto é do tipo baga, de formato alongado, suculentos, vermelhos e comestíveis (AFONSO, 2012). Os cravos-da-índia utilizados na culinária são os botões florais (MARTINS et al., 1998). É uma especiaria nativa da Indonésia (Moluku das ilhas da Indonésia) e cultivada em muitas partes do mundo como Tanzânia, Madagascar, Sri Lanka, Índia, China, Indonésia, Malásia, Brasil, República de Malgaxe, Jamaica e Guiné (TRAJANO et al., 2010; SINGH et al., 2012), sendo o estado da Bahia o único produtor no Brasil desta especiaria de forma comercial (OLIVEIRA et al., 2009).

O cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) contém de 14 a 20% de óleo volátil nos botões florais secos, sendo constituído de eugenol (70 a 95%), acetato de eugenol e  $\alpha$ -cariofileno (5 a 8%) (Tabela 5).

**Tabela 5.** Composição e parte da planta utilizada para extração do óleo essencial de cravo-da-índia

Nome comum	Nome científico	Família	Parte da planta	Componente principal	Composição aproximada (%)
Cravo da Índia	<i>Eugenia caryophyllata</i>	Mirtáceas	Flor	Eugenol	70–95%
				Acetato de eugenol	5–8%

FONTE: Bauer et al (2001).

O cravo-da-índia é uma planta usada como tempero desde a antiguidade, sua espécie tem sido explorada principalmente para extração industrial do óleo essencial obtido dos botões florais, folhas e outras partes (COSTA, 2011).

Segundo Araújo (2005), Oliveira et al., (2009) e Costa et al., (2011), diversos estudos comprovam a capacidade do óleo essencial de cravo como antioxidante natural, anestésico local e também sua capacidade biológica como desinfetante, germicida e fungicida, sendo uma alternativa no tratamento pós-colheita, capacidade antimicrobiana frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e ação anti-inflamatória.

**Tabela 6.** Principais constituintes do óleo de cravo

Componentes	Botões florais secos (%)
Eugenol	88,38
$\beta$ -Cariofileno	0,64
Acetato de eugenila	10,98

FONTE: Oliveira et al. (2009).

O eugenol, principal constituinte do óleo de cravo (Tabela 6), quimicamente designado como 4-alil-2-metoxifenol, apresenta variações na concentração de fenilpropanóides de acordo com a porção do vegetal utilizado e a região de cultivo (AFONSO et al., 2012). Possui ponto de fusão a  $-9\text{ }^{\circ}\text{C}$  e ebulição em  $253\text{ }^{\circ}\text{C}$ , instabilidade diante do contato prolongado com o ar com aumento da viscosidade e alteração de cor do amarelado para avermelhado. Este composto apresenta baixa solubilidade em água, sendo solúvel em clorofórmio, álcool etílico, gordura e éter. Sua alta lipossolubilidade possibilita uma fácil absorção através das membranas lipídicas e rápido acesso ao local de ação. É capaz de penetrar nas membranas biológicas e atingir alvos intracelulares como as mitocôndrias, onde inibe a oxidação da nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida (NADH), diminuindo os níveis de adenosina trifosfato ATP (LINARD, 2008).

O eugenol possui diversas ações farmacológicas comprovadas, sendo utilizado em práticas odontológicas (antisséptico tópico), analgésico, anestésico local, anti-inflamatório, cicatrizante, diminuição de bactérias presentes na boca, ação bactericida aos cimentos

obturadores de canais, tratamento de algumas enfermidades infecciosas na cavidade bucal (ESCOBAR, 2002).

Os alimentos, com sua composição intrínseca excelente para o desenvolvimento de microrganismos, quando associado a práticas não adequadas no processamento e/ou no armazenamento, proporcionam condições favoráveis para o crescimento de microrganismos, de espécies patogênicas, ou mesmo indesejáveis ao alimento e a saúde do consumidor. Diante disso e na busca por alternativas naturais de preservação dos alimentos, a uso de óleos essenciais nos alimentos torna-se um potencial sistema de bioconservação, prolongando a vida útil e a manutenção da qualidade em relação a suas características microbiológicas (TRAJANO et al., 2009).

A ação isolada de compostos como o eugenol oriundo de diferentes espécies vegetais foi bem relatada na literatura no controle de microrganismos (FARIA et al., 2006), sendo um poderoso composto frente as linhagens de *Escherichia coli* (ZAGO et al. (2009).

Scherer et al. (2009) observaram a redução significativa da taxa de crescimento dos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella Enteritidis*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus epidermidis* quando testado para o óleo essencial de cravo-da-índia, evidenciando a acentuada atividade antimicrobiana. Para Burt (2004), há uma maior susceptibilidade dos microrganismos Gram-positivos em relação aos Gram-negativos, embora alguns resultados diferentes possam ter sido relatados.

De acordo com Carvalho et al., (2009), o óleo essencial de cravo mostrou ser promissor no controle do *Rhizopus spp.*, quando comparados aos fungicidas químicos utilizados em fruticultura. Pereira et al. (2006), observaram que o óleo essencial de cravo é um fungicida natural eficaz. Os autores concluíram, também, que o eugenol inibe completamente o desenvolvimento de *Aspergillus flavus* e *A. versicolor*. De acordo com Hoffmann et al. (1999), o óleo essencial de cravo é excelente inibidor de crescimento de microrganismos, como levedura e bactérias, na concentração de 10%, comprovando sua eficiência antimicrobiana.

Segundo Barbosa (2010), o eugenol possui o seguinte mecanismos de ação: a) inibe a produção de amilase e protease para os *B. cereus*, b) degradação da parede celular e lise celular.

Além dos efeitos antimicrobianos, o cravo-da-índia também apresenta importante atividade antioxidante. Gülçin et al. (2012) avaliaram *in vitro* a atividade antioxidante do OE de cravo-da-índia, evidenciando sua eficiência, incluindo redução dos radicais DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) e ABTS (2,2'-azinobis), índice de peróxidos, capacidade quelante de metais, comparado com os compostos antioxidantes convencionais como BHA (butil hidroxianisol), BHT (butil hidroxitolueno),  $\alpha$ -tocoferol, podendo ser usado para minimizar ou evitar a oxidação lipídica em produtos alimentares.

### 3.4 Utilização de Plastificante em Filmes

Plastificantes são moléculas geralmente pequenas (baixa massa molar), pouco voláteis, com um ponto de ebulição alto, miscível e que competem com as ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas polímero-polímero (BANKER et al., 1996; CRUZ, 2000; MANGAVEL et al., 2003). Quando adicionados a outro material altera suas propriedades físicas e/ou mecânicas (BANKER et al., 1996).

Filmes compostos essencialmente por amido são muito quebradiços, com isso se torna essencial à adição de plastificantes, compostos estes que melhoram sua flexibilidade (MALI, 2004).

McHugh e Krochta (1994) afirmam que polióis como sorbitol, glicerol, polietilenoglicol são plastificantes efetivos devido à sua habilidade em reduzir as ligações de hidrogênio internas, ao mesmo tempo em que aumentam os espaços intermoleculares.

Os plastificantes devem ter compatibilidade com o biopolímero. Devem possuir pouca ou nenhuma migração para a superfície do material, alta resistência à extração por água, óleos e solventes, baixa toxicidade e resistência térmica (KESTER e FENNEMA, 1986). Os mais usados em combinação com os filmes de amido são os polióis (glicerol e sorbitol), sacarose, ureia e polietilenoglicol (GENNADIOS, 1992).

Os plastificantes possuem a capacidade de evitar as rachaduras do filme durante o manuseio e armazenagem (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1993), diminuindo possíveis descontinuidades e zonas quebradiças (KROCHTA et al., 1994), além de melhorar a adesividade do filme (LIN et al., 2000).

Quando são incorporados no processamento de plásticos visam aumentar a flexibilidade, reduzir a viscosidade do material fundido, diminuir a temperatura de transição vítrea e a rigidez do material (BENGTSSON et al., 2003). Segundo Janjarasskul e Krochta (2010), o aumento da flexibilidade é causado pela redução das ligações de hidrogênio ao longo das cadeias poliméricas, aumentando assim o espaçamento intermolecular.

São considerados três hipóteses para explicar o fenômeno da plastificação. A primeira, que o plastificante atua como um lubrificante interno, reduzindo o atrito intermolecular, possibilitando maior mobilidade entre as cadeias. Uma segunda, baseia-se no efeito de solvatação dos sítios polares das cadeias poliméricas, reduzindo a atração intermolecular. E a terceira, considera que o movimento das moléculas plastificantes, com baixa massa molar, aumenta o volume livre do polímero, permitindo maior espaço para o movimento das cadeias (STEVENS, 1993).

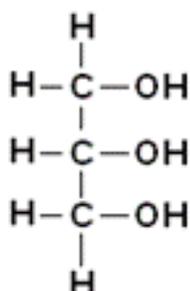
Tem sido demonstrado que os plastificantes reduzem a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) e de fusão ( $T_m$ ) do amido, por facilitarem a mobilidade, através da redução das forças intermoleculares de coesão na estrutura do sistema (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1993; MARZINOS et al., 2002). Este efeito sobre a  $T_g$  pode, em alguns casos, permitir um processamento mais fácil do material (MANGAVEL et al., 2003). Entretanto, devido ao caráter higroscópico dos plastificantes hidrofílicos, as propriedades de barreira ao vapor de água dos filmes são prejudicadas e tornam-se dependentes das condições ambientais (DOLE et al., 2004; MALI et al., 2004).

Água também é considerada um plastificante em filmes hidrofílicos, resultando em produtos com alto brilho (LIU et al., 2006). Porém, quando a plastificação é feita exclusivamente pela água, existe um aumento da cristalinidade com o aumento da umidade. Entretanto, quando o glicerol é empregado sob umidade constante e controlada, a velocidade de recristalização é reduzida, isto porque as interações amido-glicerol, provavelmente, atuam reduzindo o número de interações amido-amido (RINDLAV-WESTLING et al., 1998).

Os plastificantes adicionados aos polímeros atuam como solventes, uma vez que suas moléculas começam a penetrar na fase polimérica, modificando seu arranjo conformacional. Sendo o plastificante compatível com o polímero, toda a estrutura deste interage com as moléculas do plastificante e provocando a separação entre as cadeias poliméricas, ocasionando o aumento da mobilidade. Os grupos polares do plastificante interagem com os grupos polares do polímero, enquanto que os grupos apolares atuam como espaçadores entre os dipolos, resultando em liberdade molecular e mantendo-se a coesão global da estrutura (MALI et al., 2010).

O glicerol (Figura 8) é o plastificante mais comumente utilizado na produção de biofilmes de amido. Desde 1959, é reconhecido como substância atóxica, permitido como aditivo em alimentos, e também considerado como substância “GRAS” (*Generally Regraded*

as Safe) pelo *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos (MORRISON, 1994). No Brasil, seu uso em produtos alimentícios é assegurado pela Resolução de n. 386, de 5 de agosto de 1999 (BRASIL, 1999).



**Figura 8.** Fórmula estrutural da molécula de glicerol.  
FONTE: Mota (2009).

O glicerol apresenta uma infinidade de aplicações, sendo utilizado na indústria cosmética, farmacêutica, alimentícia e química. O crescente aumento na produção mundial de biodiesel gera um aumento considerável na disponibilidade da glicerina, podendo esta ser purificada e utilizada pelos diferentes segmentos da indústria. As principais aplicações do glicerol podem estar: i) na indústria química, como, por exemplo, insumo para a síntese de resinas, ésteres e plásticos, responsáveis pelo consumo de 18 % do glicerol disponível; ii) na indústria farmacêutica, como componente de cápsulas, medicamentos, cremes e pomadas, onde seu consumo é de aproximadamente 7 %; iii) em cosméticos por ser atóxico, não irritante, insípido e inodoro, têm sido amplamente utilizado como emoliente e umectante em cremes para a pele, loções pós-barba, desodorantes, batons e maquiagens em geral. Essas aplicações correspondem a 40% de seu consumo; iv) na indústria alimentícia, cerca de 24 % do glicerol é utilizado na composição de umectantes, além de conservar por mais tempo bebidas e alimentos, tais como refrigerantes, balas, bolos, pastas de queijo e de carne e ração animal seca; v) em outros usos (cerca de 11 %), no processamento de tabaco, a fim de tornar as fibras do fumo mais resistentes e evitar o ressecamento das folhas, na composição dos filtros de cigarros e como veículo de aromas; e vi) na indústria têxtil para amaciar e aumentar a flexibilidade das fibras (ARRUDA, 2007).

A Europa e os Estados Unidos são, atualmente, os principais centros produtores de glicerina proveniente do biodiesel. Em 2000, a produção mundial de glicerol foi de 800 mil t. e, no mesmo ano, a produção advinda do biodiesel (Europa e EUA) foi de 80 mil t/ano, sendo que, em 2002, esta produção atingiu cerca de 200 mil t/ano. Naturalmente, a forte expansão que hoje se verifica na indústria de biodiesel causará uma eventual redução no valor comercial da glicerina que, mais barata, poderá ser absorvida pelo mercado como insumo para uma variedade de aplicações até hoje não exploradas por razões fundamentalmente econômicas.

Os plastificantes, dependendo da concentração utilizada, podem causar um efeito chamado antiplastificante, isto é, ao invés de aumentar a flexibilidade e hidrofiliidade, apresentam um efeito contrário (GAUDIN et al., 1999, 2000). Isto ocorre geralmente, quando são empregadas pequenas concentrações de plastificante (abaixo 20 g/100 amido), então o

plastificante interage com a matriz polimérica, mas não em quantidade suficiente para aumentar a mobilidade molecular, aumentando apenas o grau de interações e a rigidez da matriz, fenômeno fortemente dependente das condições de armazenamento (MALI et al., 2005; SHIMAZU; MALI; GROSSMANN, 2007).

O uso de glicerol é estrategicamente interessante, como um dos co-produto principal de produção de biodiesel. Ao encontrar novas alternativas para sua utilização colabora-se para o desenvolvimento de práticas sustentáveis. Os grupos hidroxilas presentes no glicerol são responsáveis pelas interações inter e intramoleculares nas cadeias poliméricas, proporcionando filmes com uma estrutura mais flexível (SOUZA et al., 2010). Deste modo, a associação de amido de mandioca com plastificantes como o glicerol pode promover alterações nos materiais, o que justifica o estudo deste aditivo para desenvolver um potencial alternativo e ecológico para o plástico sintético.

Geralmente, o segundo componente principal de um filme à base de amido é o plastificante. Os agentes plastificantes são comumente utilizados para a produção do amido termoplástico, que inclui água e glicerol (ALVES et al., 2007) e também outros polióis.

### **3.5 Utilização de Vitamina C e Carotenoides em Filmes**

Uma das tecnologias mais promissoras para preservar alimentos sensíveis à oxidação são as embalagens ativas antioxidantes (OLIVEIRA et al., 2008; SOUZA et al., 2011; SANTANA et al., 2012). Diversos antioxidantes vêm sendo estudados para esta finalidade. O interesse em fontes naturais de compostos antioxidantes é justificado pelos questionáveis efeitos danosos à saúde dos compostos sintéticos (JARDINI e MANCINI-FILHO, 2007). Assim, o uso de polpa de acerola como fonte de vitamina C e carotenoides pode ser promissor.

Baldwin et al. (1996) observaram em filmes à base de celulose com a adição de vários antioxidantes, incluindo o ácido ascórbico, a redução do escurecimento e o da perda de água de maçãs cortadas. Do mesmo modo, Perez-Gago et al. (2006) relataram uma redução substancial do escurecimento de maçãs minimamente processadas ao usar um concentrado de cera de abelha e proteínas do trigo no revestimento contendo ácido ascórbico. Os autores observaram uma melhoria significativa da eficiência de agentes antioxidantes quando incorporados à formulação.

Souza et al. (2011) trabalhando com filmes elaborados com amido de mandioca, sacarose e açúcar invertido como plastificantes e polpas de manga e acerola, observaram redução da oxidação do azeite de dendê embalado com esses filmes, constatado pelo baixo índice de peróxido, dienos conjugados e teores de hexanal.

Zhong et al. (2011), utilizaram amido de kudzu, ácido ascórbico (0,5%) e agentes tenso ativos, foi observado redução na formação de estruturas cristalinas, maior flexibilidade, menor força na tração, nos filmes formados.

Tapia et al. (2008) observaram que o ácido ascórbico (1%) incorporado em filmes de alginato e gellan ajudou a preservar o teor de ácido ascórbico natural em mamão minimamente processado, contribuindo assim para manter a qualidade nutricional do fruto durante o armazenamento.

McHugh e Senesi (2000), observaram redução significativa da umidade perdida, em maçãs frescas cortadas, quando foram embaladas com filmes de purê de maçã, cera de abelha, glicerol, pectina, ácido ascórbico e ácido cítrico.

Min e Krochta (2007) desenvolveram uma película de recobrimento à base de proteína do soro contendo ácido ascórbico para controle da oxidação em amendoim. Os resultados

demonstraram que o recobrimento retardou significativamente a oxidação lipídica em amendoins.

Rodriguez e Ca'novas (2003) preservaram fatias de pêra Anjou minimamente processadas do escurecimento de superfície usando revestimento à base metilcelulose contendo ácido ascórbico e ácido cítrico. Resultados semelhantes foram obtidos por Lee et al. (2003), que estudaram o efeito de revestimentos comestíveis com carragena e proteína do trigo concentrada em combinação com agentes anti escurecimento em fatias de maçã minimamente processada e observou que a incorporação dos ácidos ascórbico, cítrico e oxálico foi vantajoso na manutenção da cor durante duas semanas.

Segundo Krinsky e Johnson (2005), os tratamentos térmicos, em geral não são suficientes para promover a degradação total dos carotenoides, o que pode ser importante, devido ao processo de obtenção de filmes.

### 3.6 Utilização de Óleo Essencial de Cravo em Filmes

Conforme já apresentado anteriormente, a combinação de filme e agente antimicrobiano (embalagem ativa) se torna eficaz na conservação de alimentos, pois possibilita o aumento da vida útil do alimento, impedindo ou inibindo o crescimento de microrganismos indesejáveis (SUPPAKUL et al., 2003; WURLITZER, 2007). A incorporação de substâncias antimicrobianas na embalagem pode controlar a contaminação por meio da redução da taxa de crescimento populacional, permitindo estender a fase “lag” do microrganismo alvo, prolongando a vida útil e mantendo a segurança do produto (HAN, 2000).

Várias substâncias têm sido testadas na averiguação de potenciais aplicações em embalagens antimicrobianas de alimentos. Entre as substâncias testadas estão incluídos ácidos orgânicos (ácido benzoico e sorbato), enzimas (lisozima e glicose oxidase), bacteriocinas (nisina e pediocina), óleos essenciais, fungicidas (benomyl e imazalil), polímeros (quitosana), extratos naturais, antibióticos (triclosan e compostos de prata) entre outros (JOFRÉ et al., 2008; BASTARRACHEA, DHAWAN e SABLANI, 2011).

A ação antimicrobiana das especiarias e seus óleos essenciais tem sido amplamente estudada, pelo apelo do uso de substâncias naturais (ISMAIEL; PIERSON, 1990; OUSSALAH et al. 2004; NÉRIN et al. 2006; ROJAS-GRAU et al 2007; SALMIERI e LACROIX, 2006). Além do efeito antimicrobiano, alguns óleos essenciais, como o óleo cravo-da-índia, apresentam também alta atividade antioxidante, relacionada, principalmente com a presença de compostos fenólicos, como o eugenol (LEMOS et al., 2005; FARIA et al., 2006; FILGUEIRAS e VANETTI, 2006).

Diversos trabalhos vêm incorporando o óleo essencial de cravo em filmes objetivando a capacidade antimicrobiana e ou antioxidante dos produtos por eles embalados.

Além do efeito antimicrobiano, Teixeira et al. (2013) observaram forte atividade antioxidante do cravo-da-índia. Resultado similar ao encontrado em antioxidantes sintéticos como o BHT.

Hoffmann et al. (1999) observaram que o óleo essencial de cravo na concentração de 10%, inibiu completamente o crescimento de *S. aureus*, fato também constatado por López et al. (2005) ao estudarem a atividade antimicrobiana de seis óleos essenciais, comprovando a eficiência do óleo de cravo.

Gómez-Estaca et al. (2010), observaram redução acentuada do crescimento de bactérias Gram negativas na superfície de bacalhau durante armazenagem refrigerada, utilizando filme a base de gelatina e quitosana incorporada com OE de cravo.

Massilia et al., (2008) observaram que a adição de cravo ou seus compostos ativo (eugenol) em 0,5% em filmes de alginato, aumentou o seu efeito antimicrobiano, reduzindo a população de *E. coli* O157: H7 em mais de 4 log UFC/g, e estendeu a vida útil de maçãs *Fuji* pelo menos por 30 dias.

Pereira (2001) concluiu que o cravo em pó causou inibição de 100% no desenvolvimento micelial de *Rhizopus* spp.

Carvalho et al. (2009), avaliaram a eficiência de produtos alternativos, aplicados na pós-colheita, no controle da podridão-parda (*Monilinia fructicola*) e da podridão-mole (*Rhizopus* spp.) em pêssegos e concluíram que os tratamentos com óleo de cravo a 0,01%, e dióxido de cloro na dose de 0,1% reduziram a incidência e a severidade de *Rhizopus* spp.

Segundo Lara-Lledó, Olaimat e Holley (2012), algumas estratégias têm sido empregadas para incorporação de agentes antimicrobianos à filmes poliméricos. Em filmes produzidos por *casting*, o agente antimicrobiano é incorporado diretamente à solução filmogênica, já no caso da extrusão o agente antimicrobiano pode ser incorporado diretamente durante o processamento (PIRES; PETZHOLD; SANTOS, 2014).

Todos esses relatos, afirmam de forma conclusiva o potencial antimicrobiano e antioxidante do cravo-da-índia e seu óleo essencial.

### 3.7 Técnicas de Produção de Filmes

Entre uma grande variedade de técnicas, moldagem por injeção, extrusão (incluindo as técnicas de coextrusão), moldagem por sopro (extrusão-sopro e injeção-sopro), moldagem por compressão, calandragem, termoformagem à vácuo, moldagem rotacional (ou rotomoldagem) para a produção de filmes, sendo o *casting* e a extrusão as mais utilizadas.

A técnica *casting* (onde os filmes são formados pela evaporação de solvente em um suporte) vem há algum tempo sendo bastante utilizada na pesquisa de filmes biodegradáveis e/ou comestíveis à base de amido, mostrando dentro do perfil laboratorial, bons resultados (ROCHA, 2014; NASCIMENTO, 2012; FARIAS, 2012; VICENTINI; SOBRAL; CEREDA, 2002; ZHAI et al., 2003). Entretanto essa técnica apresenta algumas desvantagens como: longo tempo de secagem e dificuldade de produção de filmes de grandes dimensões. Em escala industrial, estas desvantagens tornam essa técnica impraticável (ZHAI et al., 2003).

De acordo com Fishman et al. (2000), uma solução para o problema é a utilização do processo de extrusão para a produção em escala industrial, tendo como vantagens a rapidez e menor custo de produção. Fato importante a considerar é que o processo de extrusão já é utilizado na produção de embalagens sintéticas convencionais, como as de polietileno, polipropileno, polietileno, tereftalato e outras.

Diversos polímeros biodegradáveis têm sido processados por extrusão e a técnica tem se mostrado eficiente para estes sistemas, como exemplo, amido de mandioca (FISHMAN et al., 2000; RINDLAV-WESTLING et al., 2002; MÜLLER; LAURINDO; YAMASHITA, 2011), amido de batata (THUNWALL et al., 2008), blendas de amido termoplástico com poli (L-ácido lático) (SHIRAI et al., 2014), zeína (WANG; RAKOTONIRAINY; PADUA e WANG, 2003), gelatina (PARK et al., 2008; LIU et al., 2006).

A extrusão é um processo de tratamento térmico que por uma combinação de calor e trabalho mecânico modifica profundamente as matérias primas possibilitando novas formas e estruturas com novas características funcionais e nutricionais. O processo promove a gelatinização do amido, a desnaturação e reorientação das proteínas, a inativação enzimática, a destruição de substâncias tóxicas tais como os inibidores das proteases e a diminuição da

contagem microbiana para formar um produto de características físicas e geométricas pré-determinadas (SEBIO, 1996).

O processo de extrusão permite a termoplastificação de um material sólido pela aplicação de calor e trabalho mecânico, sendo, portanto, o principal processo para obtenção dos bioplásticos. É um processo altamente versátil, em que o extrusor pode se comportar como um trocador de calor, devido às trocas térmicas que ocorrem entre o material a ser extrusado e o equipamento. Em condições de altas temperaturas (até 250°C), altas pressões (até 25 MPa) e curto espaço de tempo (0,5 a 1 min), o extrusor desempenha também a função de um reator químico de processamento de polímeros termoplásticos ou de alimentos. A transformação do material durante o processo de extrusão ocorre em três etapas: a plastificação, onde o material sólido em qualquer estado nativo, torna-se um líquido homogêneo pela fusão, como processo físico principal; a modelagem do material em estado fundido pela passagem através da matriz; e por fim, o cozimento e a texturização do produto (COLONNA et al., 1987; OLKKU, LINKO, 1997).

O processo de extrusão de amidos causa uma ampla variedade de mudanças nas estruturas morfológica e molecular dos grânulos de amido devido à dissipação de energias térmica e mecânica (BRÜMMER et al., 2002). O amido quando convertido em material termoplástico, mantém seu caráter biodegradável e constitui uma interessante alternativa para polímeros sintéticos (TEIXEIRA, 2007).

O processo de extrusão apresenta vantagens como versatilidade, alta qualidade do produto final, baixo custo de produção, produtos com formas geométricas variadas e a não liberação ou formação de efluentes (SMITH, 1976).

O extrusor é um equipamento que consiste de um ou dois parafusos de Arquimedes que giram dentro de um cilindro encamisado subdividido em seções sob condições de alta temperatura, pressão e de forças de cisalhamento (BARUFFALD, 1998; BERRIOS et al., 2013).

O parafuso ou rosca é a parte essencial do extrusor, possibilitando uma mistura continua do material conduzindo-o pelo cilindro, gerando fricção mecânica e calor, regulando a qualidade final do produto (GUY, 1988). Divide-se em três zonas: a zona de alimentação que recebe e transporta a massa para as zonas seguintes, a zona tribológica onde o material começa a ser compactado pelo aumento da compressão e grande parte da energia mecânica é dissipada, causando aumento rápido da temperatura e a transformação da massa da forma granular para uma forma plástica e a zona reológica, onde as variáveis temperatura, pressão e taxa de cisalhamento atingem o máximo e o comportamento da massa é ditado pelas relações reológicas (HARPER, 1992). À porção final do extrusor, está acoplado a matriz e o mecanismo de corte, este sendo constituído por lâminas horizontais ou verticais (GUY, 1988).

A mistura dentro do canhão absorve calor por dissipação de energia mecânica aplicada ao parafuso. O calor pode também advir através do aquecimento elétrico ou de uma camisa de vapor ao redor do cilindro. O controle da temperatura em cada uma das zonas do extrusor pode ser feito através de serpentinas de ar comprimido ou camisas de água fria. Diversos cilindros vêm equipados, para o controle do processo, com sensores de pressão e temperatura. (BORSCHIVER et al., 2008).

Na extrusão, parâmetros como temperatura, umidade, rotação do parafuso, velocidade de alimentação, diâmetros da matriz, tempo e temperatura de secagem, entre outros fatores são aspectos importantes que devem ser monitorados cuidadosamente para se obter produtos de alta qualidade (ASCHERI, 2006; YU et al., 2006; ASCHERI, 2011).

Também, a composição da matéria-prima, o tamanho de partícula e teor de umidade influenciam diretamente na viscosidade do produto no extrusor, determinando as condições de operação e a qualidade final do produto (FELLOWS, 2006).

A umidade do material a ser extrusado pode afetar a estrutura celular e a fragilidade dos produtos obtidos (COLONNA et al., 1984; ONWULATA et al., 2001). Durante o aquecimento e cisalhamento, o aumento da umidade diminui o grau de degradação do amido (VAN DEN HEUVEL et al., 1990).

A relevância da uniformidade das partículas na extrusão está relacionada com a uniformidade no condicionamento das mesmas, isto baseado no princípio da difusividade da água, em que as partículas de menor tamanho serão as que mais rapidamente absorverão água em detrimento das outras (ASCHERI, 2011), resultando em cocção uniforme do produto. Caso contrário, o produto final poderá apresentar partículas com diferentes graus de cocção, diminuindo a qualidade do produto na aparência e na palatabilidade (ASCHERI, 1994).

A temperatura do canhão também pode influenciar muito a qualidade do produto final, pois a utilização de temperaturas elevadas provoca alto grau de cozimento do produto na saída da matriz, que pode mostrar sinais de expansão, como bolhas de ar nas peças. O excesso de calor junto a outros fatores degrada a matéria-prima a compostos de menor massa molar, como polímeros livres, amidos rompidos, oligossacarídeos e açúcares simples. Torna-se essencial a monitorização de cada zona do canhão a fim de atingir a temperatura requerida e controlar o excesso de calor (ASCHERI et al., 1995).

A velocidade no parafuso é outro fator que afeta a qualidade do produto. É proporcional à taxa de cisalhamento e uma maior velocidade do parafuso possibilita um maior grau de cozimento do material, menor tempo de resistência. A qualidade no produto final dependerá da possibilidade de utilização dos níveis ótimos destes parâmetros (ASCHERI, 2011).

A matriz pode apresentar diversas configurações, com a finalidade de moldar o produto de forma específica e funcionar como um restritor de fluxo, mantendo a pressão na zona de cocção (GUY, 1988). A mudança da matriz pode influenciar drasticamente a taxa de cisalhamento.

Vários autores já relataram a eficiência em extrusar polímeros biodegradáveis, como foi observado por Fakhoury et al. (2013) com blendas de amido e gelatina por prensagem seguida por sopro e extrusão seguida por sopro e por Krishna et al. (2012) em filmes de gelatina extrusados e prensados. Concordando com os resultados obtidos por Flores et al. (2010) e Melo et al. (2011) com filmes de amido de mandioca, goma xantana, glicerol e sorbato de potássio por extrusão e sopro e também por Fishman et al. (2000), trabalhando com filmes de amido, pectina e glicerol por moldagem e extrusão.

Müller; Laurindo; Yamashita (2011) utilizaram amido de mandioca, Shirai et al., (2014), blendas de amido termoplástico com poli (L-ácido lático) e Wang; Rakotonirainy; Padua (2003) trabalharam com zeína. Soares et al. (2013) produziram laminados de amido de mandioca, PLA e glicerol por extrusão.

### **3.7.1 Comportamento reológico das soluções filmogênicas**

Reologia pode ser definida como a ciência que estuda o comportamento mecânico dos materiais quando em processo de deformação devido a um campo de tensões. Importante nos fenômenos relacionados a transferência de massa que tem lugar nos processos industriais, as características reológicas são também imprescindíveis na otimização, no controle e nos cálculos de processos. Esses conhecimentos servem, igualmente, para o desenvolvimento de produtos e correlação de parâmetros físicos e sensoriais (BEZERRA, 2000).

A deformação ocorre no caso de a matéria estar no estado sólido e o escoamento, quando a matéria está no estado líquido. A propriedade reológica de interesse no caso dos sólidos é a elasticidade e, no caso dos líquidos, é a sua viscosidade (DINIZ, 2009).

Todos os produtos líquidos derivados de frutas são sistemas bifásicos, compostos por partículas sólidas dispersas em um meio aquoso. Alguns apresentam escoamentos newtonianos, embora a maioria flua com características pseudoplásticas, mostrando, por vezes, uma resistência inicial ao fluir e/ou uma dependência do tempo. A variabilidade do comportamento reológico está relacionada com a alteração estrutural provocada pelo cisalhamento (COSTELL e DURAN, 1982).

Em ensaios estacionários, as suspensões de amido e os géis após a gelatinização, se comportam como fluidos pseudoplásticos. Quando gel de amido ou uma suspensão é submetida a um campo de deformação em cisalhamento simples, ele apresenta uma resistência ao escoamento. A grandeza que indica tal resistência é conhecida como viscosidade em regime permanente de cisalhamento ou simplesmente viscosidade  $\eta(\dot{\gamma})$ . A viscosidade é a propriedade reológica mais importante no processamento de polímeros fundidos, pois descreve as propriedades de escoamento de um fluido, ou seja, o atrito das camadas internas dentro do fluido que impõe resistência ao escoamento (FARROS, 2008).

É importante o conhecimento das propriedades reológicas das soluções formadoras de filme para o desenho das operações de processo (PERESSINI et al., 2003; FARROS, 2008).

### **3.8 Propriedades dos Filmes**

#### **3.8.1 Aspecto visual**

Uma das mais importantes propriedades de um filme está relacionada à sua aparência e pode ser obtida por observações visuais e tácteis. O filme deve apresentar uma superfície contínua e homogênea, ou seja, não deve apresentar fissuras após o processo de secagem, nem partículas insolúveis ou poros abertos (CARVALHO, 1997). A coloração deve ser uniforme, não devendo apresentar áreas com colorações mais escuras ou mais claras.

#### **3.8.2 Espessura**

Definida como a distância perpendicular entre as duas faces de uma mesma superfície. A espessura de um filme deve ser a mais homogênea possível para evitar problemas mecânicos e de conservação. Portanto, protocolos e cuidados devem ser estabelecidos durante o processamento dos materiais, com o objetivo de garantir a homogeneidade das espessuras entre as amostras para efeito de comparação (GENNADIOS et al. 1993; SARMENTO, 1999).

É um importante parâmetro de medida, pois é a base para várias propriedades dos filmes, incluindo as mecânicas e as de permeabilidade (XIE et al., 2002). A alteração da permeabilidade ao vapor de água devido à alteração da espessura deve-se às mudanças estruturais causadas pelo inchamento da matriz hidrofóbica, podendo influenciar a permeação (PARK, CHINNAN, 1995).

### 3.8.3 Atividade de água

A atividade da água define-se como a relação entre a pressão de vapor de um alimento em relação a pressão do vapor de água pura à mesma temperatura e varia de 0 a 1. É um dos parâmetros mais importantes para a indústria de alimentos, pois através da atividade de água pode-se explicar a estabilidade do produto pela determinação da disponibilidade de água existente (água livre), visto que essa dissociação permite a previsão das condições da participação dessa água em reações químicas e enzimáticas ou do crescimento microbiano. É um parâmetro inteiramente ligado à umidade do alimento, permitindo assim determinar sua capacidade de conservação. A atividade de água de um alimento pode ser reduzida aumentando a concentração de solutos na fase aquosa dos alimentos, mediante a extração da água (liofilização) ou mediante a adição de novos solutos.

A atividade aquosa junto a temperatura, o pH e o oxigênio, são os fatores que mais influenciam na estabilidade dos produtos alimentícios. Sendo assim, quanto menor a atividade de água do filme, menor teor de água disponível para outras atividades biológicas, logo um alimento menos suscetível a degradação.

### 3.8.4 Permeabilidade ao vapor de água

Segundo a ASTM E96-95, permeabilidade ao vapor de água (PVA) é a taxa de transmissão de vapor de água por unidade de área através do filme, de espessura conhecida, induzida por um gradiente de pressão entre duas superfícies específicas, de umidade relativa e temperatura especificada (ASTM, 1990). É uma propriedade de barreira muito importante, já que a facilidade que um polímero possui de limitar as transferências entre o ambiente e seu conteúdo é definida como barreira.

A escolha do polímero apropriado depende da propriedade de barreira que esse pode oferecer. A qualidade do alimento desde o pós-colheita até o consumidor final é uma das preocupações da atualidade (MARTIN-POLO et al., 1992) e a migração de vapor de água é um dos principais fatores que podem contribuir para essa alteração, tanto sensorialmente quanto relacionado à estabilidade de estocagem (KAMPER e FENNEMA, 1984; GONTARD et al., 1994; CHEN, 1995).

O percentual de umidade pode influenciar nitidamente as reações químicas e enzimáticas, propriedades de textura e estabilidade microbiana e física dos alimentos mudando drasticamente sua qualidade durante o processamento e/ou estocagem. Com o intuito de maximizar a vida útil do produto, por vezes se torna necessário limitar a migração de umidade através embalagens capazes de inibir a transferência da molécula de água (MARTIN-POLO et al., 1992; GONTARD et al., 1996).

Carulo (2005) define o coeficiente de permeabilidade ao vapor de água como a transferência do vapor permeante através de um material. Em materiais poliméricos esta transferência ocorre por difusão molecular, conforme as seguintes etapas: movimento do permeante para a superfície da estrutura do filme e sua absorção na matriz polimérica; difusão através de “espaços livres” formados pelo movimento da cadeia polimérica do filme ou na própria fabricação; e desorção a partir da superfície do filme e sua consequente dispersão no ar. O processo de difusão em um sistema que relaciona polímero/solvente depende da natureza química, tamanho, configuração da molécula penetrante e do movimento molecular da cadeia do polímero na matriz do filme. A PVA é uma das mais importantes propriedades relacionadas a filmes destinados a embalagens de alimentos (MILTZ, 1992). A principal função de uma embalagem é impedir a transferência de umidade entre o alimento e a

atmosfera circundante ou entre dois componentes de um produto alimentício, então é interessante que a PVA seja a menor possível. Fatores como a concentração de plastificante, a morfologia e integridade do filme, características da molécula permeante, as interações entre cadeias poliméricas (mobilidade), os raios entre as zonas amorfas e cristalinas e o grau de reticulação podem afetar intensamente a permeabilidade ao vapor de água em filmes biodegradáveis (KESTER e FENNEMA, 1986; MEI e ZHAO, 2003).

Filmes de frutas exibem baixas barreiras à difusão do vapor de água, barreira eficaz semi-permeável aos gases, criando uma atmosfera modificada, quando aplicado às frutas e produtos vegetais (BALDWIN, 1994).

Um dos principais problemas enfrentados na obtenção de filmes a base de amido é a alta permeabilidade ao vapor de água. Nesse sentido, diversas pesquisas vêm incorporando outras matérias-primas, com o objetivo de reduzir essa propriedade, tentando a proximidade em valores à permeabilidade dos materiais oriundos do petróleo.

Na avaliação da PVA de filmes a base de amido, observa-se uma relação direta entre a permeabilidade ao vapor de água com a concentração do plastificante e a espessura do filme. Este fato pode ser explicado nos termos das variações no número de potenciais interações intermoleculares na estrutura do filme, pois o plastificante (glicerol) devido a sua natureza hidrófila, favorece a permeabilidade ao vapor de água, elevando a taxa da difusão da água dentro do filme, permitindo a maior mobilidade do polímero.

### 3.8.5 Propriedades Mecânicas

A resistência à tração, deformação na tração e módulo de elasticidade ou módulo de Young são parâmetros relacionados às propriedades mecânicas dos filmes com suas estruturas químicas (MCHUGH e KROCHTA, 1994). As principais propriedades mecânicas a serem avaliadas nos bioplásticos são a resistência à tração, que expressa a força máxima suportada pelo filme durante um teste de resistência, a elongação, que é a habilidade do filme em estender até a ruptura e o módulo de elasticidade (módulo de Young) que é a relação linear entre a tensão aplicada e a deformação sofrida e é determinado pela inclinação da curva de tensão *versus* deformação na região elástica (GENNADIOS et al., 1994; WARD e HARDLEY, 1998). Estes filmes devem ainda proteger o alimento quanto ao manuseio e transporte, mantendo a integridade da sua resistência à ruptura e a abrasão, sendo flexível suficiente para adaptar-se a eventuais deformações no alimento sem dano mecânico. As propriedades mecânicas refletem a capacidade dos filmes e revestimentos em manter uma boa integridade.

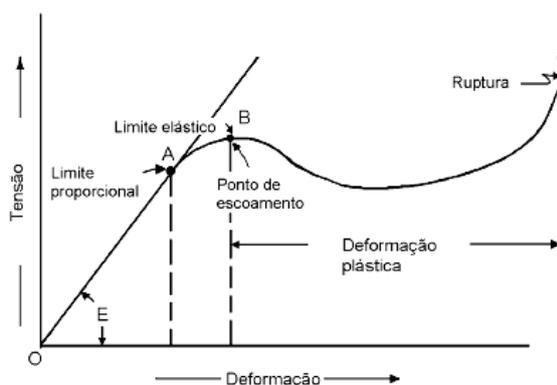
Uma alta resistência à tração é desejada em filmes à base de biopolímeros, enquanto que o valor da elongação irá depender do tipo de aplicação, já que para manter a sua integridade e propriedades de barreira, um filme deve tolerar a tensão normal encontrada durante a sua aplicação, além do transporte e manuseio (GONTARD et al., 1994).

A natureza do material utilizado, sua coesão estrutural e a afinidade do polímero em formar fortes e numerosas ligações à nível molecular entre as cadeias poliméricas irão influenciar as propriedades mecânicas dos filmes. Esta afinidade dependerá da extensão da cadeia polimérica, da sua geometria, da massa molar e da natureza e posição de grupamentos laterais (GONTARD, 1991).

Uma importante propriedade dos filmes poliméricos é sua resposta a aplicação de uma força, indicada por dois tipos principais de comportamento: o elástico e o plástico. A maioria dos filmes poliméricos sintéticos demonstra uma combinação dos comportamentos elástico e plástico, apresentando comportamento plástico após o limite elástico ter sido excedido.

### 3.8.5.1 Teste de Tração

O teste de tração expressa a resistência do material ao alongamento e ao rompimento, quando submetido à tração. Esse comportamento é registrado através de uma curva característica de tensão de tração *versus* deformação. No início, o material oferece resistência crescente à solicitação de tração, que provoca seu alongamento. A partir daí o aumento de resistência passa a ser menor para um mesmo aumento de deformação até o ponto de escoamento, a partir do qual é possível alongar o filme sem que este responda com um aumento de resistência. Continuando o alongamento, o material resiste até que ocorra sua ruptura (SARANTÓPOULOS, 2002) (Figura 9).



**Figura 9.** Curva característica da relação resistência a tração *versus* deformação  
Fonte: Miltz (1992).

A resistência à tração, geralmente expressa em MPa, N/m<sup>2</sup> ou kgf/cm<sup>2</sup>, é a relação entre a força, medida pela área transversal inicial do corpo de prova. Já o fator de ruptura, geralmente medido MPa, N/m<sup>2</sup> ou kgf/cm<sup>2</sup>, é a relação entre a força máxima de tração por unidade de largura inicial do corpo de prova. A porcentagem de alongamento (deformação na tração) é a relação entre o alongamento do corpo de prova e seu comprimento inicial, podendo ser determinada para a situação de ruptura (SARANTÓPOULOS, 2002).

As medições de tensão na ruptura e deformação na ruptura são conduzidas de acordo com o método padrão de propriedades de tração de filme plástico fino (ASTM, 1993), com a utilização de um instrumento universal de teste mecânico, o Instron ou o texturômetro.

A razão entre a tensão e a deformação dentro do limite elástico do corpo de prova é determinada através do módulo de elasticidade em que a deformação é totalmente reversível e proporcional à tração (MANO e MENDES, 1999).

Vários trabalhos mostraram a relação entre a adição de plastificantes e óleos nas propriedades de tração (ANDRADE, 2000; MALI; GROSMANN, 2003; MALI et al., 2006; GODBILLOT et al., 2006; ALVES et al., 2007; SHIMAZU; MALI; GROSSMANN, 2007). Em geral, com presença de plastificantes, ocorre uma redução na resistência, no módulo de elasticidade e o aumento da deformação, pois a presença de plastificantes diminui a densidade das interações, aumentando a mobilidade das cadeias poliméricas e consequentemente, tornando os filmes menos resistentes e mais elásticos.

Rojas et al. (2010), avaliando o efeito da incorporação de óleos essenciais nas propriedades mecânicas de biofilmes de zeína, verificou que o aumento da concentração de

óleos essenciais, possibilitou uma menor tensão máxima de ruptura e um aumento nos valores de alongação dos filmes. Desse modo, conclui-se que, um teor maior de óleos essenciais no filme, atua como um plastificante, proporcionando maior mobilidade entre as cadeias poliméricas.

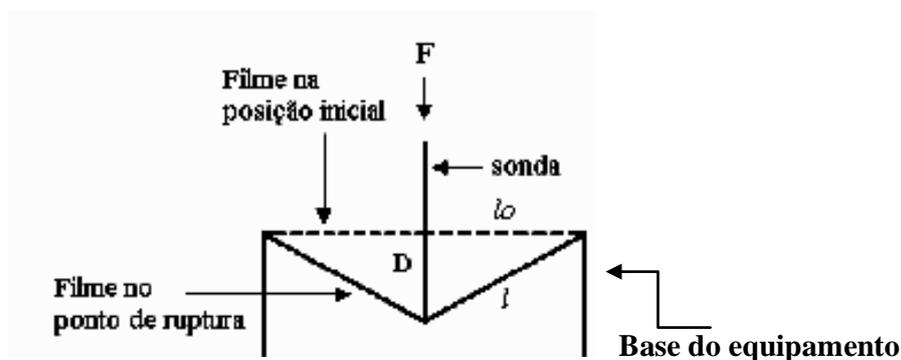
Rojas-Grau et al. (2007) constataram que a deformação de filmes com purê de maçã, alginato e glicerol aumentou em todos os filmes com a adição de óleos essenciais.

Sousa et al. (2013) evidenciaram redução da resistência e deformação na tração de filmes de amido de mandioca incorporados com óleo essencial de canela, plastificados com glicerol, quando comparados ao controle (sem o óleo).

### 3.8.5.2 Teste de Perfuração

Força de perfuração é a força necessária em Newton (N) para que um dispositivo perfure a superfície do filme.

A realização do teste compreende a perfuração do material por uma sonda cilíndrica, a qual desce perpendicularmente à superfície do filme, fixado na base do equipamento, até ocorrer o seu rompimento (Figura 10). A força aplicada pela sonda em função de seu deslocamento é registrada em um gráfico, onde a altura do pico se traduz pela força de ruptura, expressa em Newton e a medida do deslocamento da sonda entre o momento onde ele toca o filme e onde o filme se rompe, se traduz pela deformação do filme (expressa em %) (VICENTINI, 2003; PATIL et al., 2005).



**Figura 10.** Representação esquemática do teste de perfuração na ruptura dos filmes.  
FONTE: adaptado Vicentini (2003).

A deformação na perfuração está relacionada ao comprimento inicial do filme. Quando se aplica determinada força sobre a superfície do filme, este pode resistir até determinado instante, mantendo a sua estrutura por uma alongação até que esta se rompa (SOBRAL et al., 2001).

Diversos trabalhos mostraram a relação do uso de óleo essencial e plastificante na perfuração de filmes de amido/proteína (ROJAS-GRAU, 2007).

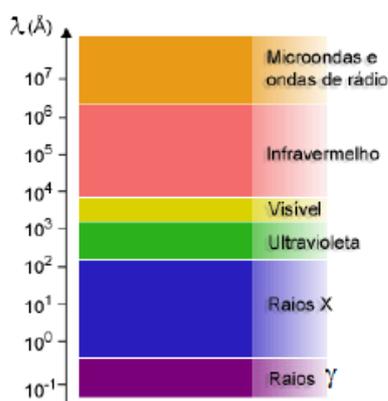
### 3.8.6 Cristalinidade

Os raios X são radiações eletromagnéticas, com comprimento de onda da ordem de  $10^{-1}$  m a  $10^{-7}$  m (Figura 11) (RUSSEL, 1994). Sua espectroscopia atômica está baseada nas medidas de emissão, absorção, espalhamento, fluorescência e difração da radiação eletromagnética (MARTINS, 1998). Sólidos e líquidos podem apresentar-se estruturados, espacialmente organizados, sendo capazes de difratar um feixe de raios X. A esta regularidade estrutural denominamos cristais, comum em produtos sólidos. Líquidos cristalinos também apresentam esta característica, como os cristais líquidos e, mesmo substâncias não cristalinas, podem apresentar algum grau de estruturação, dando origem a bandas de difração não tão bem definidas (CANEVAROLO, 2004).

Dentre as várias técnicas de caracterização de materiais, a difratometria de raios X é a mais indicada na determinação das fases cristalinas presentes em materiais poliméricos. Isto é possível porque na maior parte dos sólidos (cristais), os átomos se ordenam em planos cristalinos, separados entre si por distâncias da mesma ordem de grandeza dos comprimentos de onda dos raios X. Ao incidir um feixe de raios X em um cristal, o mesmo interage com os átomos presentes, originando o fenômeno de difração (CANEVAROLO, 2004).

Os raios X são difratados por um cristal porque os elétrons dos seus átomos absorvem a radiação e então servem como fontes secundárias que reemitem radiações em todas as direções. As ondas reemitidas reforçam-se mutuamente em algumas direções e se cancelam em outras (RUSSEL, 1994).

Segundo a lei de Bragg ( $\lambda=2d \text{ sen}\theta$ ), a difração de raios X pelos cristais resulta em um processo em que os raios X são dispersos pelos elétrons dos átomos sem mudança do comprimento de onda. Um elétron de um átomo é influenciado pelos raios X excitado em um campo flutuante, tornando-se uma fonte de ondas eletromagnéticas de mesma frequência e comprimento de onda que os raios incidentes. Desta forma, o elétron do átomo dispersa o feixe incidente combinando-se para difratar a radiação X.



**Figura 11.** Espectro eletromagnético

As vantagens da técnica de difratometria de raios X para a caracterização de fases destacam-se pela simplicidade e rapidez do método, a confiabilidade dos resultados obtidos, a possibilidade de análise de materiais compostos por uma mistura de fases e uma análise quantitativa destas fases (ALBERS et al., 2002).

A difração de raios X em filmes tem sido usada para acompanhar a estabilidade estrutural dos filmes ao longo do tempo, através da avaliação do percentual amorfo e cristalino do material.

### 3.8.7 Atividade antimicrobiana

A avaliação da atividade antimicrobiana de filmes ativos é uma técnica bastante utilizada. O método de difusão em ágar é a técnica mais difundida de avaliação da atividade antimicrobiana de OEs, sendo reconhecido como preciso e confiável, embora produza resultados qualitativos, nem sempre reprodutíveis (KALODERA et al., 1995). De acordo com este método, placas de Petri de 5 a 12 cm de diâmetro são preenchidos com 10 a 20 mL de ágar, sendo inoculado com o microrganismo a ser testado. Duas formas de incorporação do OE são possíveis, em disco de papel ou em poços perfurados no ágar. Séries de placas de Petri com discos de papel ou poços contendo diferentes concentrações do OE são incubadas. A eficácia do OE é demonstrada pelo tamanho da zona de inibição do crescimento do microrganismo em torno do disco ou poço, sendo usualmente expresso como o diâmetro dessa zona, em cm ou mm, podendo ou não ser incluída a área correspondente ao disco de papel ou poço (KALEMBA e KUNICKA, 2003).

Os testes de atividade antimicrobiana são classificados como: difusão, diluição ou bioautográficos (BURT, 2004). A literatura, embora sem padronização para avaliar a atividade antibacteriana de possíveis conservantes em relação a microrganismos com alimentos, descreve os princípios e práticas destes métodos (DAVIDSON e PARISH, 1998).

Em decorrência à volatilidade, insolubilidade em água e complexidade dos mesmos, testes e avaliações da atividade antimicrobiana de OEs são complexos. Os OEs devido à natureza hidrofóbica e a alta viscosidade, dificultam a capacidade de diluição ou causam distribuição desigual do óleo no meio (mesmo na presença de emulsificantes) (KALEMBA e KUNICKA, 2003), como também, os longos períodos de incubação, durante o período de testes, podem resultar na evaporação ou decomposição de alguns dos componentes.

O método de difusão CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) para testes de susceptibilidade antibacteriana (CLSI, 2009), utilizado na avaliação de antibióticos, foi modificado para uso com OEs. É um dos métodos mais amplamente utilizados para o ensaio de susceptibilidade microbiana, devido à simplicidade da realização e interpretação dos resultados, além de ser um método reconhecido e recomendado pelo CLSI. Esse método, modificado e padronizado por Bauer et al. (1966), baseia-se nos princípios de difusão inibitória de agentes antimicrobianos em um meio de cultura apropriado contendo o agente patógeno a avaliar. Aonde, pequenos discos de papel de filtro com 6mm de diâmetro impregnados com o óleo essencial a ser testado são dispostos em uma placa de Petri contendo ágar Mueller Hinton solidificado, e sobre o qual encontram-se inoculadas os microrganismo a serem testados, sendo em seguida incubados por 18 a 24 horas em estufas a 35 °C. Durante esse período, o agente antimicrobiano irá difundir pelo meio e atuará negativamente sobre o crescimento do microrganismo, o qual será visualmente identificado pelo aparecimento de uma área em volta do disco contendo o óleo onde as cepas não se desenvolverão, denominada halo de inibição. Quanto maior for o seu diâmetro, mais susceptível é o microrganismo (TAVEIRA et al., 2004).

No entanto, a comparação dos resultados encontrados na literatura fica dificultada, tendo em vista os fatores que podem afetar os resultados, como método de extração do óleo, volume do inóculo, fase de crescimento do microrganismo, meio de cultura, tempo de incubação, temperatura, entre outros (BURT, 2004).

### 3.8.8 Toxicidade dos Filmes

Um método que atualmente vem sendo bastante utilizado para determinação de toxicidade de materiais é o teste bioensaio com *Artemia salina* (MEYER et al., 1982).

A *Artemia salina* é um invertebrado que quando na forma de larva, possui de 8 a 10 mm de comprimento, pertence a família *Artemiidae*. É um micro-crustáceo que habita as águas salinas, conhecida como camarão de salmoura, amplamente usado como alimento para peixes. É de fácil cultivo e pode viver por meses, possuindo quatro estádios de desenvolvimento: ovo, náuplios, metanáuplios (Figura 12a e 12b) e adulto. De acordo com Meyer et al. (1982), este micro-crustáceo através de uma metodologia oficial vêm sendo utilizado na avaliação *in vivo* da toxicidade de vegetais.

É considerado um teste simples, sensível, preciso, rápido e de baixo custo. Através deste é possível determinar a DL50 (dose letal), que é a dose necessária para causar a morte de 50% de uma amostra em estudo (BEDNARCZUK et al., 2010). Segundo Klassen et al. (2001) com base na dose por unidade de superfície corporal, os efeitos tóxicos no homem estão consideravelmente nos mesmos limites que os observados nos animais de laboratório, sendo possível descobrir possíveis riscos aos humanos.



**Figura 12.** Estádios de desenvolvimento da *Artemia salina*: náuplio (a) e metanáuplio (b).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Materiais

(i) Amido de mandioca ou polvilho doce (*Manihot esculenta*, L.) foi obtida no comércio local da cidade do Rio de Janeiro, da marca Yoki<sup>®</sup> (Paranavaí, Paraná, Brasil).

(ii) Polpa de acerola integral comercial congelada marca Doce Vida (Anápolis, Goiás, Brasil).

(iii) Glicerina P.A. marca Vetek (Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil).

(iv) Óleo essencial de cravo (*Eugenia caryophyllus*) (botão) obtido pelo método de destilação por arraste a vapor da marca comercial FERQUIMA<sup>®</sup> Indústria e Comércio LTDA (Tijuco Preto, Vargem Grande Paulista, SP).

(v) Os microrganismos utilizados foram *Penicillium sp.* e *Aspergillus flavus*, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 e *Staphylococcus aureus* ATCC 13565 adquiridos da Seção de Coleção de Culturas Microbiológicas da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

(iv) Foram utilizados ovos de *Artemia salina*, cultivados no Laboratório de cereais da empresa Embrapa Agroindústria de Alimentos.

### 4.2 Métodos

#### 4.2.1 Caracterização da Matéria-Prima

##### 4.2.1.1 Umidade

A umidade da polpa de acerola foi determinada segundo técnica gravimétrica em estufa a vácuo, à temperatura de 70 °C, até a obtenção de peso constante, de acordo com método oficial 934.06 da AOAC (2010) e do amido de mandioca segundo a metodologia 934.01, da AOAC (2010). Neste avalia-se a perda de peso da amostra em estufa a 105°C até peso constante.

##### 4.2.1.2 Cinzas

O resíduo mineral fixo (cinzas) foi determinado segundo a metodologia 923.03, da AOAC (2010) que consiste na incineração do material em mufla a 550°C até obtenção de cinzas claras.

#### **4.2.1.3 Matéria graxa**

O teor de gorduras da polpa de acerola foi determinado segundo a metodologia 922.06 da AOAC (2010) e do amido de mandioca de acordo com a método 945.38 da AOAC (2010), utilizando-se um extrator soxhlet. Este consiste em filtração contínua (mínimo de 6 horas) da amostra em éter de petróleo sobre chapa aquecida. Em seguida este é evaporado e o balão levado à estufa a 105°C. O líquido resultante é considerado a fração lipídica total da amostra.

#### **4.2.1.4 Proteína**

O teor de proteína da polpa de acerola e do amido de mandioca foi determinado segundo o método 2011.11 e do método 2001.11, respectivamente, modificado, pela determinação do nitrogênio total da amostra, segundo Association of Official Analytical Chemists (2010).

#### **4.2.1.5 Carboidratos**

A fração glicídica do amido de mandioca e da polpa de acerola foi determinada por diferença entre o total (100%) e a porcentagem de umidade, extrato etéreo, proteína e cinzas.

#### **4.2.1.6 Determinação dos sólidos solúveis**

A determinação de sólidos solúveis da polpa de acerola *in natura* e da polpa concentrada foi realizada por meio de leitura direta em refratômetro Abbe de bancada Carl Zeiss (Jena, Alemanha), segundo o método analítico estabelecido pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL,2008). Os resultados foram expressos em °Brix.

#### **4.2.1.7 Determinação dos sólidos totais da polpa**

A determinação de sólidos totais da polpa de acerola *in natura* e da polpa concentrada foi determinado segundo Vasques (2003), por secagem por evaporação em banho-maria pelo período de 5 horas, seguido por secagem em estufa de 80 a 105 °C por 3 horas.

#### **4.2.1.8 Determinação do pH**

O pH da polpa de acerola *in natura* congelada foi determinado à temperatura ambiente utilizando pHmetro TEC 2MP (PHTEK, Otawa, Canadá), seguindo metodologia descrita por Silva et al., (2001).

#### 4.2.1.9 Teor de vitamina C

A determinação do teor de vitamina C, da polpa de acerola *in natura* e da polpa concentrada foi realizada por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) em um cromatógrafo Waters Alliance 2695 (Milford, EUA) com padronização externa, em coluna HPX 87H BIO RAD (7,8 x 300 mm) (Waters, Milford, EUA) de troca iônica com fase móvel de ácido sulfúrico 0,05 M; pré-coluna de mesma fase da coluna; temperatura do injetor: 5°C e detector de UV PDA 2996 Waters (243,8 nm); volume de injeção de 20 µL; tempo de corrida de 15 min; vazão de fase móvel de 1,0 mL (min)<sup>-1</sup>, conforme a metodologia descrita por Rosa et al. (2007).

No processo de extração da amostra, após a pesagem de 0,5 g foi adicionado 10 mL de solução de ácido sulfúrico 0,1 N e depositado em um banho ultrassom por 10 minutos. Após a extração em ultrassom, foi completado o volume à 25 mL com solução de ácido sulfúrico 0,1 N e filtrado o conteúdo do balão diretamente no vial, para posterior injeção no cromatógrafo.

#### 4.2.1.10 Teor de carotenoides e β-caroteno

Os teores de carotenoides totais e β-caroteno das polpas de acerola *in natura*, polpa pré-extrusão, polpa concentrada e dos filmes foram determinados por CLAE, segundo metodologia descrita por Pacheco (2009), em cromatógrafo líquido modular Waters, composto por bomba analítica 600, em desgaseificador, injetor automático 717 plus e detector de arranjo fotodiodos UV/Vis 996. Coluna YMC C<sub>30</sub> carotenoid (250 x 4,6 mm x 3 µm) a 33 °C, com eluição em gradiente de éter metil *terc*-butílico e metanol, fluxo móvel de 0,8 mL/min, volume de injeção 15 µL, fazendo-se a leitura dos carotenoides totais em espectrofotômetro UV 1800 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão), nos comprimentos de onda de 450nm, e aplicando-se os valores das leituras na equações desenvolvidas por Lichtenthaler (1987).

Utilizou-se o método descrito por Rodriguez-Amaya (2001), com modificações para a extração dos pigmentos. Aproximadamente 2 g de polpa foi utilizada para a extração dos carotenoides com acetona e celite. À medida que os carotenoides foram extraídos com acetona, essa mistura foi filtrada a vácuo em kitassato acoplado a um funil de vidro com placa sinterizada, até total remoção dos pigmentos. Logo após, o extrato filtrado foi transferido para um funil de separação contendo aproximadamente 30 mL de éter de petróleo onde se realizou a lavagem do extrato com água. Após a lavagem, os pigmentos permanentes, retidos na fase etérea, foram filtrados em funil com sulfato de sódio anidro para balão volumétrico de 10 mL, com o intuito de retirar toda a água. Em seguida, transferiu-se o extrato de carotenóides para um balão volumétrico e o volume foi aferido com éter de petróleo. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro UV/VIS, UV 1800 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão), no comprimento de onda de absorção máxima (450 nm). Em seguida foi retirada uma alíquota da solução de acordo com a tabela de absorbância. Essa alíquota foi evaporada até secagem completa com ar comprimido e ressuspensa com 200 µL de acetona. A solução foi transferida para vial com redutor de volume e depositada no cromatógrafo.

#### 4.2.1.11 Determinação da capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante da polpa de acerola foi determinada pelos métodos de captura dos radicais livres DPPH<sup>+</sup> e ABTS<sup>+</sup>, de acordo com as metodologias descritas por Brand-Williams; Cuvelier e Berset (1995) e Re et al. (1999), com modificações, respectivamente.

##### 4.2.1.11.1 Obtenção dos extratos

O procedimento utilizado para obtenção do extrato foi adaptado de Larrauri et al. (1997). Foi pesado 1,0g de amostra e adicionados 5 mL de acetona 70%, sendo homogeneizado em vortex e mantido em banho agitador por 24h à 25°C. Após esse período, a mistura foi centrifugada a 9000 rpm em uma centrífuga Universal 320R (Hettich, Tuttingen, Alemanha) por 15 minutos, filtrada em papel filtro e separado o resíduo do sobrenadante. Foi transferido o sobrenadante para um balão volumétrico de 10 mL e reservado sob refrigeração. Ao resíduo desta extração, agregou-se 5 mL de metanol 50%, homogeneizado em vortex e mantido em banho agitador à 25°C por 24h. Foi centrifugado novamente a 9000 rpm durante 15 minutos, filtrado e transferido o sobrenadante para o balão volumétrico contendo o primeiro sobrenadante e avolumado para 10 mL com água destilada. As análises foram feitas em triplicata.

##### 4.2.1.11.2 Determinação da atividade antioxidante pela captura do radical livre ABTS<sup>+</sup>

O teste da capacidade antioxidante pela captura do radical livre 2,2' azino-bis (3-ethylbenzo thiazoline-6-sulfonic acid-diammonium salt) ABTS<sup>+</sup> foi realizado segundo a metodologia descrita por Re et al. (1999). Através desta análise determina-se a capacidade antioxidante expressa como *Trolox Equivalente Antioxidant Capacity* (TEAC). Este radical de coloração verde esmeralda é quantificado à 734 nm.

Para o preparo de ABTS<sup>+</sup>, foi pesado 0,0384 g de ABTS<sup>+</sup> com 0,0066g de persulfato de potássio e avolumado a 10 mL, em balão volumétrico âmbar com água bidestilada e mantido por 16 h à temperatura ambiente em obscuridade, para completar a reação. Após, diluiu-se o ABTS<sup>+</sup> com etanol até a obtenção de uma absorbância de  $0,7 \pm 0,20$  nm, em um espectrofotômetro UV 1800 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão).

Para a determinação da curva-padrão, foi utilizado o Trolox como antioxidante de referência. Foi pesado 0,05 g de Trolox 6-hydroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico acid 97% (Aldrich Chemical Co., Gillingham, Dorset, Inglaterra), foi avolumado a 10 mL, em um balão volumétrico com álcool etílico, obtendo-se uma solução de 20 µM. Logo após, foram preparadas soluções de trolox de 2,5; 2,0; 1,5; 1,0; 0,5; 0,25 e 0 µM. Imediatamente, em ambiente escuro, foi transferida uma alíquota de 10 µL de cada solução de trolox a um tubo *ependorf* e foi adicionado 990,0 mL da solução do radical ABTS<sup>+</sup>. A leitura foi realizada após 30 minutos de reação, em espectrofotômetro UV 1800 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) à 734 nm, o álcool etílico foi utilizado, como branco, para calibrar o espectrofotômetro.

A partir das absorbâncias obtidas das diferentes diluições dos extratos, foram plotadas concentrações de trolox (µM) no eixo X e as respectivas porcentagens de inibição (Equação 1) no eixo Y. As análises foram feitas em triplicata.

Desta forma, foi calculada a equação da reta, obtendo-se a Equação 2.

$$\% \text{ inibição} = \left( \frac{\text{Abs}_{\text{ABTS}^+} - \text{Abs}_{\text{amostra}}}{\text{Abs}_{\text{ABTS}^+}} \right) \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde:  $\text{Abs}_{\text{ABTS}^+}$  : absorvância do  $\text{ABTS}^+$   
 $\text{Abs}_{\text{reação}}$  : absorvância após a reação  
 $Y = a + b X$

**Equação 2**

Onde:

Y: porcentagem de inibição

a: termo independente ou valor percentual de inibição quando a concentração de trolox é zero

b: coeficiente angular da curva, representa o incremento no percentual de inibição

X: concentração de trolox

#### 4.2.1.11.3 Determinação da atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH<sup>+</sup>

O método DPPH desenvolvido por Brand-Williams; Cuvelier e Berset (1995) é baseado na captura do radical DPPH 2,2-difenil-1-picril-hidrazil, (Sigma Aldrich, Poole, Dorset, Inglaterra) de coloração violeta-escura, e os antioxidantes, promovem o decréscimo da cor e da absorvância, as leituras são feitas a 515 nm (Figura 13).

Para o preparo do radical, pesou-se 2,4 mg de DPPH e avolumou-se para 100 mL em um balão volumétrico com álcool metílico. A mistura foi homogeneizada e transferida para um frasco de vidro âmbar, obtendo uma solução de 0,06 mM. Esta solução foi preparada e utilizada no mesmo dia.

A partir do extrato, foi preparado em tubo eppendorf com no mínimo três diluições diferentes em triplicata. Em ambiente escuro, foi transferido uma alíquota de 25 µL de cada diluição do extrato com 975 µL do radical DPPH e homogeneizado. O álcool metílico foi usado como branco, para calibrar o espectrofotômetro. As leituras (515 nm) foram realizadas após 30 min. A partir das absorvâncias obtidas das diferentes diluições dos extratos, plotou-se a porcentagem de inibição no eixo Y e a concentração no eixo X mediante a Equação x. O cálculo do EC<sub>50</sub> foi determinado como a quantidade de amostra necessária para inibir 50% do radical presente na reação. As análises foram feitas em triplicata.



**Figura 13.** Redução da banda de absorção do radical DPPH

$$\% \text{ inibição do radical DPPH}^+ = \left( \frac{A_{br} - A_{ar}}{A_{br}} \right) \times 100$$

**Equação 3**

Onde:

$A_{br}$  é a absorvância do DPPH

$A_{ar}$  é a absorvância depois da reação com a amostra.

#### **4.2.1.12 Identificação da composição química do óleo essencial de cravo**

O óleo essencial de cravo foi analisado por CG/ FID e GC/ MS num Agilent 7890N e um sistema Agilent 5975C, ambos com colunas capilar de sílica fundida HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste para a GC/ FID e o hélio para a GC/ MS, com fluxo de 1,5 e 1,0 ml/ minuto, respectivamente. O modo de injeção: split de 1:20, a temperatura do injetor em 250 °C e o tempo de corrida estabelecido em 70 minutos. A temperatura do forno: taxa de 3 °C/minuto e após, mantido a 240 °C por 10 minutos. O detector de massas foi operado em modo de ionização eletrônico em 70 eV. A composição percentual foi obtido por normalização de sinal FID. A composição do óleo foi identificado por comparação dos dois espectros e os índices de massa de retenção linear com a biblioteca espectral e a literatura. As análises foram realizadas em triplicata.

#### **4.2.1.13 Tamanho de partícula do amido e da polpa**

A determinação do tamanho das partículas de amido de mandioca e da polpa de acerola separadamente foi realizada em determinador de partículas à laser Analysette 22 D-55743 (Fritsch, Idar-Oberstein, Alemanha), seguindo os procedimentos descritos por Ascheri et al. (2011), o qual utiliza o princípio da difração a laser, produzindo laser hélio-neon no comprimento de onda de 632 nm. A amostra foi adicionada lentamente sobre água destilada (dispersante), sob agitação constante e ultrassom, até que cerca de 7% de obscuridade do feixe de laser fosse alcançada para início da leitura em triplicata.

A configuração do equipamento na realização das análises de amido de mandioca foi posição da célula 100 mm, faixa de leitura de 1,83 µm a 263,81 µm. A configuração do equipamento na realização das análises da polpa de acerola integral foi posição da célula de 474 mm, faixa de leitura de 8,67 µm a 1250,45 µm.

#### **4.2.1.14 Cristalinidade do amido**

Para a determinação da cristalinidade do amido de mandioca foi utilizado um difrator de raios X D2-Phaser (Bruker, Karlsruhe, Alemanha), operando com radiação Cu (comprimento de onda de 1,506 Å) a um tempo de varredura de 8 s, um passo de 0,02, sendo alimentado com voltagem de 30 kV e corrente elétrica de 10 mA. O material foi colocado em um suporte de acrílico (aproximadamente 1g) e a região de varredura do ângulo de difração foi de 2-32° (2-theta). As análises foram realizadas em triplicata.

#### **4.2.1.15 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)**

Para avaliar as propriedades térmicas do amido de mandioca foi utilizado um DSC Q200 (TA Instruments, New Castle, EUA). As amostras foram pesadas em cápsulas de alumínio herméticas em excesso de água destilada e mantidas em repouso até o dia seguinte. A amostra foi aquecida a 10 °C/min na faixa de 5 a 110°C, resfriada a 20°C e novamente aquecida até 110°C com o intuito de verificar a fusão dos cristais de amido (Ionashiro, 2005). A entalpia foi determinada por meio da integral da área sob a curva e expressa em J/g. As análises foram feitas em triplicata.

#### **4.2.1.16 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

A análise da microestrutura do amido de mandioca foi realizada no microscópio eletrônico de varredura (MEV) TM 3000 (Hitachi, Tóquio, Japão). As amostras analisadas foram previamente secas em estufa com circulação, a uma temperatura de 60°C por 24 horas. Posteriormente, as amostras foram colocadas em suporte apropriado para a análise no MEV.

#### **4.2.1.17 Reologia das soluções filmogênicas**

O objetivo do estudo foi investigar a gelatinização do amido de mandioca em presença de glicerol e polpa de acerola.

O amido de mandioca (0,5% p/p) e glicerol (50%, sob o peso do amido) foram suspensos em água ou polpa de acerola e analisados durante o processo de gelatinização. As amostras foram: (T1) amido de mandioca e água, (T2) amido de mandioca, polpa de acerola e glicerol, (T3) amido de mandioca e polpa de acerola, (T4) amido de mandioca, água e glicerol, (T5) polpa de acerola, (T6) polpa de acerola e glicerol (Tabela 7).

Os perfis das suspensões de amido a uma concentração de 0,5% e os componentes foram medidos usando Rheoscope (Thermo Haake, Karlsruhe, Alemanha) equipado com lente 20x acoplado ao Rheometro MARS (Thermo Haake, Karlsruhe, Alemanha). Este sistema combina um viscosímetro com um microscópio óptico e uma câmara de vídeo digital. O Rheoscope foi acoplado a um banho de água Phoenix DC30 (Thermo Haake, Karlsruhe, Alemanha), o que permite o aquecimento e arrefecimento de rampa de fluido de teste durante as medições. Foi utilizada uma geometria refletiva de placas paralelas de 60 mm de diâmetro com tamanho de abertura de 0,2 mm rodando a uma velocidade de cisalhamento de 100 s<sup>-1</sup>. O perfil de temperatura seguido foi de acordo com o método descrito por Tan et al. (2008) com modificações, como se segue: início a 50 °C permanecendo por 2 min, aquecimento até 90 °C durante 14 min, mantendo a 90 °C por 8 minutos, seguido por arrefecimento a 73 °C durante 14 min. Tempo de corrida da análise, 40 minutos.

**Tabela 7.** Perfil das suspensões de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e água

<b>Amostras</b>	<b>Amido (%)</b>	<b>Água (%)</b>	<b>Glicerol (%)</b>	<b>Polpa de acerola (%)</b>
T1	0,5	99,5	0	0
T2	0,5	0	0,25	99,25
T3	0,5	0	0	99,5
T4	0,5	99,25	0,25	0
T5	0	0	0	100
T6	0	0	50	50

A viscosidade das amostras, taxa de corte, temperatura e imagens digitais foram registados e analisados para determinar as alterações dos grânulos de amido e as suas interações, em diferentes tempos.

#### **4.2.2 Processamento da Polpa**

Foram necessários testes preliminares para se avaliar a distribuição granulométrica da polpa a ser utilizada nos processo de *casting* e extrusão termoplástica, a fim de observar a necessidade de concentração da polpa *in natura*, pois a dispersão da polpa na matriz amilácea para elaboração dos filmes por *casting* requer uma granulometria extremamente fina e o aspecto visual do filme não deve ficar comprometido quanto a sua translucidez. No processo de extrusão, foi necessário a concentração da polpa *in natura* através do processo de evaporação.

##### **4.2.2.1 Concentração da Polpa**

###### **4.2.2.1.1 Escala Laboratorial**

Foram realizados testes preliminares em um rotaevaporador laboratorial digital (JKARV10) acoplado a um banho térmico (JKAHB10) e a bomba à vácuo do equipamento (Figura 14). A polpa de entrada apresentava um Brix de 6,5. O objetivo foi determinar a concentração da polpa necessária para obtenção da mistura à ser extrusada, sendo o melhor resultado (maior concentração), o parâmetro para concentração definitiva em escala industrial. Foram empregadas as seguintes condições (Tabela 8):

**Tabela 8.** Parâmetros utilizados no processo de concentração laboratorial da polpa *in natura*

Polpa <i>in natura</i> (g)	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Rpm	Polpa concentrada (°Brix)
500	0	0	60	6,5
500	4	40	60	8
500	3	60	60	21,5



**Figura 14.** Rotoevaporador a vácuo JKARV10.

Esta escala (laboratorial) foi inviável devido à necessidade de maiores quantidades para o processo de extrusão. Este teste possibilitou a visualização e a avaliação da possibilidade de concentração da polpa *in natura*, nas condições adequadas para o processo de extrusão. Sendo assim, foi iniciado o processo em escala Piloto.

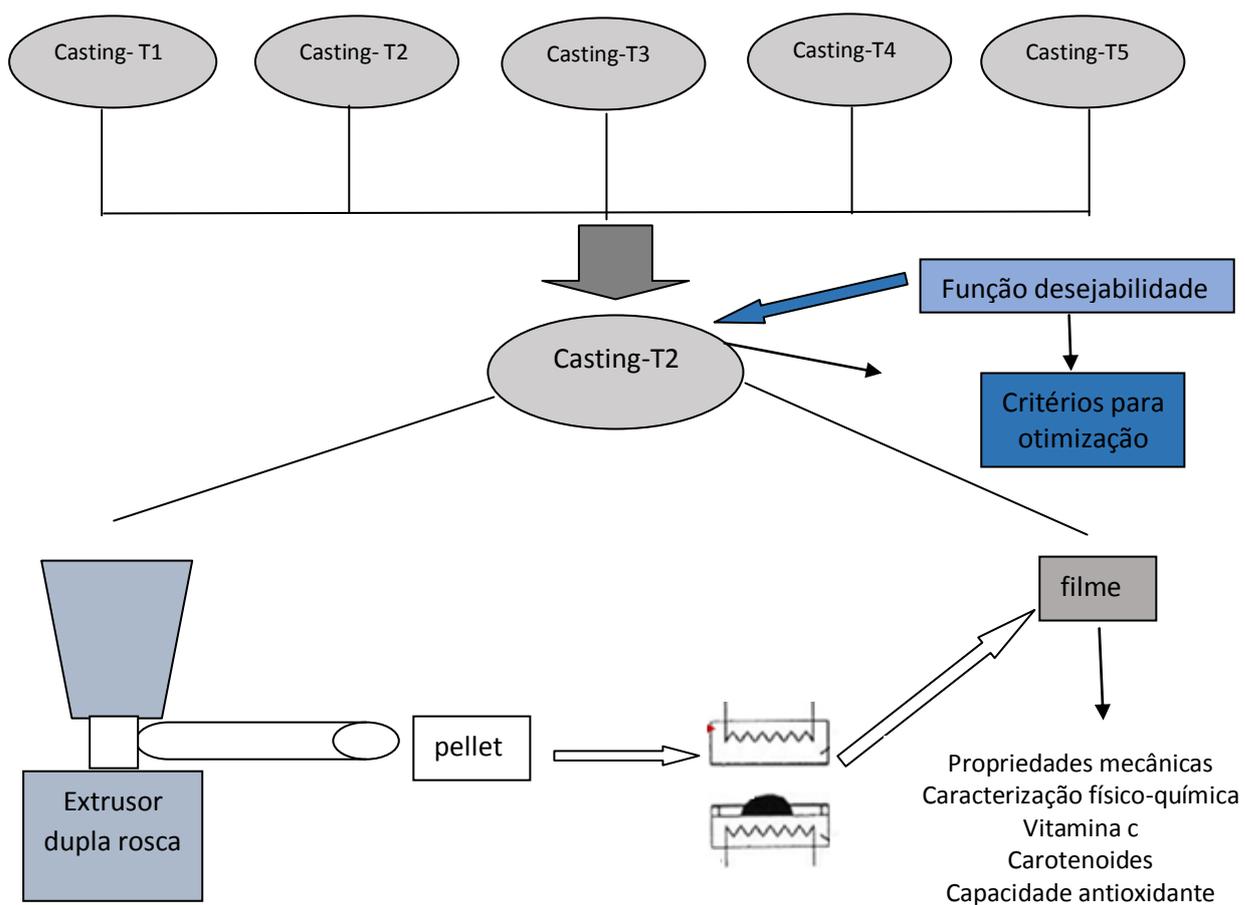
#### 4.2.2.1.2 Escala Piloto

Devido à não viabilidade do processo laboratorial (escala pequena), foi estabelecido assim a concentração em escala Piloto. O processo de concentração da polpa *in natura* em escala piloto foi realizado em um rotoevaporador à vácuo industrial (SENAI, Vassouras, RJ). A temperatura do sistema foi de 60 °C a 90 °C, durante o período de 6 horas, passando de 6,5 °Brix a 21 °Brix (Figura 15).



**Figura 15.** Rotoevaporador à vácuo industrial (SENAI, Vassouras, RJ).

#### 4.2.3 Elaboração dos filmes



**Figura 16.** Fluxograma do esquema de elaboração dos filmes por casting, extrusão e termprensagem.

#### 4.2.3.1 Preparo dos Filmes por *Casting*

Os filmes foram elaborados segundo a técnica *casting*, que consiste na formação de filmes pela desidratação de uma solução, aplicada em um suporte (GONTARD et al., 1992). O modelo experimental utilizado para a elaboração dos filmes *por casting* foi o inteiramente casualizado com 5 tratamentos, em triplicata (Tabela 9). As variáveis independentes analisadas foram teor de glicerol (%) e teor de óleo essencial de cravo (%).

O delineamento proposto foi baseado nos estudos de Farias et al. (2012). Foram consideradas neste estudo as concentrações das matérias-primas utilizadas para obtenção dos melhores resultados para as propriedades julgadas mais importantes para filmes obtidos de polímeros naturais, trabalhando com as mesmas matérias-primas (amido de mandioca, polpa de acerola liofilizada e glicerol). Diante disto, foi utilizado a polpa *in natura* em substituição à polpa liofilizada e adicionado à este delineamento o óleo essencial de cravo.

Como objetivo secundário, à avaliação da substituição total (30%) do plastificante (glicerol) de modo proporcional pelo óleo essencial de cravo, observando a possibilidade do mesmo (OEC) atuar como plastificante. E ao final, a reprodução do melhor tratamento em escala industrial (extrusão termoplástica).

A solução filmogênica foi elaborada conforme delineamento experimental apresentado na Tabela 9, em concentração fixa de amido de mandioca (4% p/p). O teor de polpa de acerola congelada (umidade de 92,72%) adicionado foi de 34,54% sobre o peso de amido. As concentrações de glicerol (30; 22,5; 15,0; 7,5 e 0%) e de óleo essencial de cravo (0, 22,5, 15, 7,5 e 30%) também variaram sobre o peso de amido.

**Tabela 9.** Desenho experimental do processo de elaboração do filme de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo por *casting*

Variáveis	Níveis				
	T1 (%)	T2 (%)	T3 (%)	T4 (%)	T5 (%)
Amido	4	4	4	4	4
Polpa	34,54	34,54	34,54	34,54	34,54
Glicerol**	30	22,5	15	7,5	0
*OEC**	0	7,5	15	22,5	30

\*Óleo essencial de cravo/ \*\* porcentagem em relação ao peso de amido

As soluções foram preparadas em condições controladas de cisalhamento e temperatura (temperatura máxima de 90°C) em um viscoamilógrafo Brabender (Duisburg, Alemanha). As soluções filmogênicas foram aquecidas sob constante agitação até 90°C, permanecendo nesta temperatura por 10 minutos e resfriadas a 50 °C.

Após o resfriamento da solução à temperatura ambiente, 41,7g de solução foram vertidas em placas *plexiglass* de 142 mm de diâmetro, onde o controle de peso foi aferido em balança semi-analítica (TECNAL, modelo B-TEC-330). As placas foram levadas para secar em estufa com circulação de ar forçada (ELKA, Alemanha) a 25 a 35 °C por 46 horas.

Após completa secagem e remoção manual das placas, os filmes foram condicionados em câmaras herméticas (Figura 17) com umidade relativa do ar controlada por meio de uma solução saturada de nitrato de magnésio  $Mg(NO_3)_2$ , sob vácuo. Nesta condição, os filmes foram mantidos por 6 dias até o equilíbrio do teor de umidade. As análises foram feitas em triplicata. Após este período os filmes foram caracterizados.



**Figura 17.** Câmara hermética a vácuo (Marconi, São Paulo, Brasil) usadas no condicionamento dos filmes.

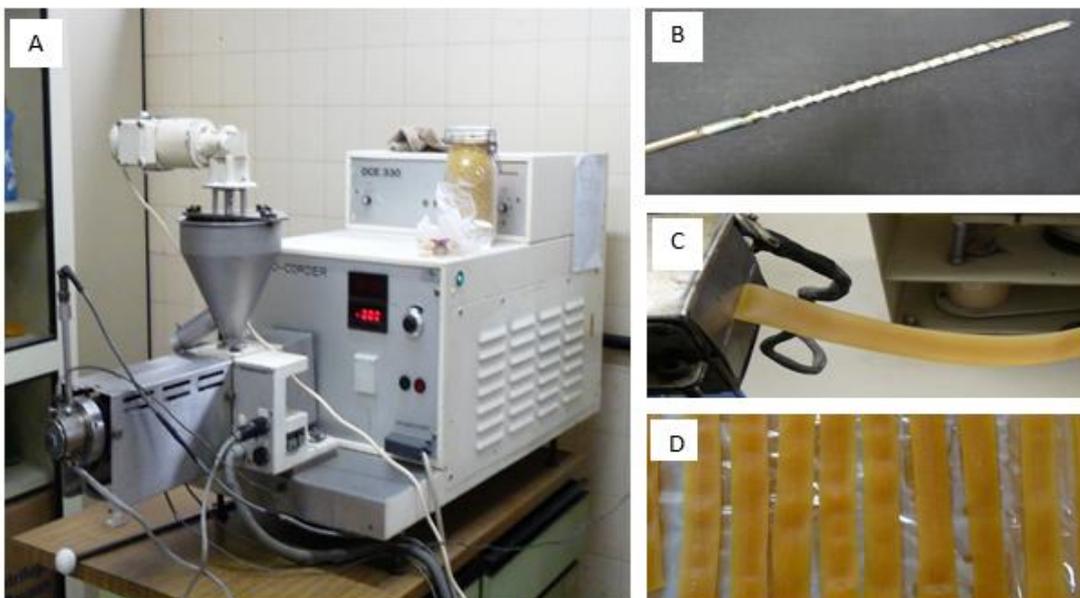
#### **4.2.3.2 Preparo dos filmes por extrusão**

##### **4.2.3.2.1 Ensaios preliminares em extrusora monorosca**

Com o intuito de testar o comportamento das matérias primas perante o processo de extrusão definitivo em uma extrusora dupla rosca foram realizados testes preliminares de extrusabilidade a fim de determinar as proporções em que as matérias-primas obteriam vazão, pressão e características desejáveis na elaboração dos filmes. Dessa forma, foram elaboradas duas formulações:

- Formulação A: amido de mandioca (70%) e polpa de acerola integral (30%)
- Formulação B: amido de mandioca (70%), polpa de acerola integral (15%) e glicerol (15%)

Esse ensaio foi conduzido em uma extrusora monorosca Brabender DSE 20DN acoplado ao Do-corder DSE 330 (Duisburg, Alemanha) (Figura 18).



**Figura 18.** Extrusora monorosca Brabender (A); configuração do parafuso (B); matriz de 25 x 1 mm (C) e material extrudado (*pellets*) (D).

Os parâmetros constantes utilizados foram taxa de compressão do parafuso 3:1, temperaturas de 50°C (zona 1), 90°C (zona 2) e 60°C (zona 3), rotação do parafuso de 100 rpm, matriz laminar de 25 x 1 mm e umidade inicial da matéria-prima de 35% nas duas formulações.

As amostras foram condicionadas a 35% de umidade, calculada de acordo com a Equação 4:

$$U_f = U_a \times P_a + U_p \times P_p / P_a + P_p \quad \text{Equação 4}$$

Sendo:

$U_f$  = umidade final da mistura (%)

$U_a$  = umidade inicial do amido (%)

$P_a$  = peso do amido (g)

$U_p$  = umidade inicial da polpa (%)

$P_p$  = peso da polpa (g)

A umidade inicial das amostras foi calculada tendo em vista a umidade inicial do amido de mandioca e da polpa de acerola pré-determinada segundo metodologia da AOAC 934.01 e 934.06 da AOAC (2010), respectivamente. Após o ajuste de umidade, as amostras foram homogeneizadas mecanicamente, em uma masseira M5A (Guangzhou, Guangdong, China) e em seguida, reservadas até sua posterior utilização (Figura 19). Foram preparados 1000g de cada amostra para a extrusão.



**Figura 19.** Formulação de amido e polpa de acerola (A); formulação de amido, polpa de acerola e glicerol (B).

O produto extrusado (*pellet*) foi coletado, quando as zonas apresentaram equilíbrio de temperatura e homogeneidade do material na saída.

Após extrusão, as amostras (*pellets*) foram condicionadas sob congelamento à temperatura de -8 a -20 °C. Após o descongelamento à temperatura ambiente, estas foram dimensionadas em fitas de aproximadamente 5g. Essas fitas foram depositadas entre duas folhas de Teflon® e então termoprensadas em uma prensa hidráulica (Figura 20) em temperatura estabelecida de 90 °C por 60 segundos sob pressão de 5,5 toneladas para os 2 tratamentos. Para facilitar a remoção do filme prensado do revestimento (Teflon), este foi depositado no interior da câmara frigorífica de congelamento a temperatura de -8 a -20 °C por 1 min, antes da sua completa retirada do substrato. Após a obtenção dos filmes, estes foram depositados em câmara tipo B.O.D (*Biochemical oxygen demand*), Hydrosan (Hydrosan, Belo Horizonte, MG) com umidade relativa de 41% ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ) e temperatura de 30°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) por 48 h até completa secagem.

Após secagem, os filmes foram acondicionados em câmara hermética (Figura 23) com umidade relativa do ar controlada por meio de uma solução saturada de nitrato de magnésio ( $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ), sob vácuo. Nesta condição, os filmes foram mantidos por 6 dias até o equilíbrio do teor de umidade. Somente após este período os filmes foram caracterizados. Os filmes obtidos nos ensaios preliminares foram caracterizados quanto à espessura, tração, perfuração, opacidade, e difração de raios X.

#### 4.2.3.2.2 Preparo dos filmes por extrusão em extrusora dupla rosca

O melhor filme obtido por *casting*, segundo a ferramenta desejabilidade (ver item 4.2.6.1) foi utilizada para o processamento por extrusão. O processo de extrusão foi realizado em uma extrusora dupla rosca Evolum HT025 Clextral (Clextral, Firminy, França) (Figura 20), com 10 zonas de aquecimento, utilizando as seguintes condições de 7,9 kg/h vazão de sólido, 15,17 L/h vazão de líquido, velocidade da rosca (250 rpm), diâmetro das roscas de 25 mm, comprimento do parafuso de 110 cm, e temperatura das últimas duas zonas de aquecimento de 60 a 90°C, equipada com uma matriz laminar de 3 cm de largura por 1 mm de espessura obtendo-se extrusados em formato de fita (*pellet*) (Figura 20D). O plastificante, a polpa e óleo essencial de cravo foram homogeneizados previamente e então adicionados ao

material sólido (amido) no interior da extrusora através do bombeamento na 3ª zona de aquecimento, controlado por uma bomba de líquidos automática.

O perfil de temperatura empregado nas dez zonas de aquecimento foram: 40, 50, 60, 80, 95, 110, 120, 120, 80 e 65°C e a velocidade dos parafusos foi de 250 rpm.

Foram realizados testes preliminares com as vazões: de sólidos de 13,58; 11,64 e 4,85 kg/h e de líquido de 15,14 e 7,5 L/h e as rotações de 100, 200 e 300 rpm. Nestas condições não foram obtidos resultados satisfatórios. A formulação utilizada está apresentada da Tabela 10.

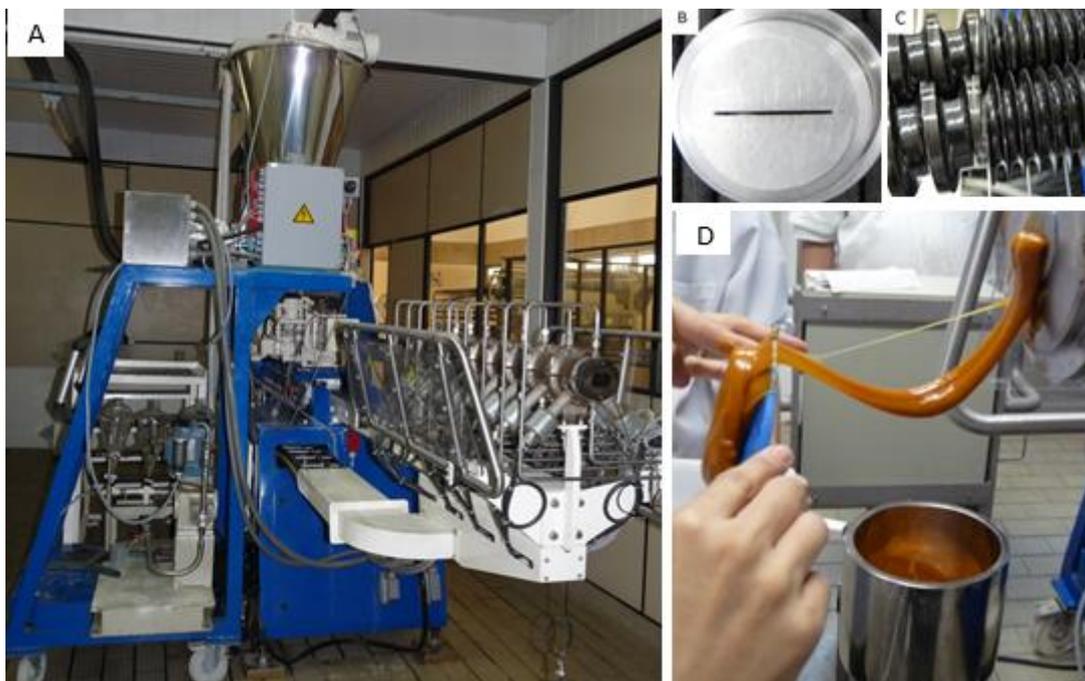
**Tabela 10.** Formulação utilizada para a produção do *pellet*.

Formulação	Teor (%)
Amido	4,0
Polpa	34,54**
Glicerol	22,5**
OEC*	7,5**

\* óleo essencial de cravo

\*\* porcentual em relação ao peso de amido

Os *pellets* obtidos foram condicionados para posterior prensagem. As análises e o processo de extrusão foram realizados na Embrapa Agroindústria de Alimentos.



**Figura 20.** Extrusora de rosca dupla Cletral Evolun HT25 (Firminy, França) (A); matriz laminar: 30 x 1 mm; (B) configuração dos parafusos (C); *pellet* extrusado (D).

Para a obtenção do filme flexível, os *pellets* (Figura 20) obtidos por extrusão foram cortados no comprimento médio de 30 cm, embalados em sacos de polietileno e acondicionados em câmara frigorífica de congelamento a temperatura de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Após o descongelamento, as fitas foram subdivididas manualmente em pedaços de 8g, com 2cm de comprimento e 1cm de largura. Este pedaço, foi disposto no centro de uma prensa termo-hidráulica manual Skay Máquinas e Equipamentos Hidráulicos (São José do Rio Preto, SP) (Figura 21) de 30 t dotada de placas de aquecimento e resfriamento inferior e superior revestidas de Teflon®.

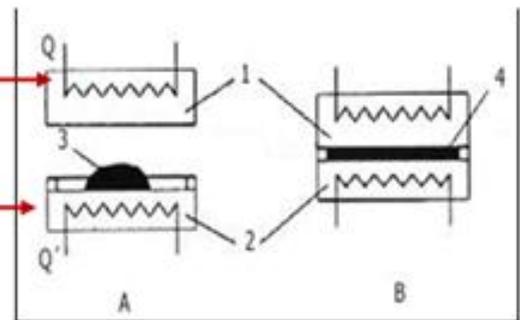
Foram realizados testes preliminares de prensagem com as pressões 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 5 toneladas, nos tempos de 10, 20, 30 e 60 segundos e nos tempos de resfriamento: 1, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30 minutos. A melhor avaliação tátil, visual e de despreendimento dos filmes do suporte foi a escolhida como parâmetro. Sendo a melhor condição de processo de prensagem, ou seja, a selecionada, a pressão de 0,5 t por 20 segundos e 25 minutos de resfriamento. Não foram obtidos resultados satisfatórios nas outras condições, como falta de homogeneidade bolhas e dificuldade no descolamento do suporte.

Para facilitar a remoção do filme prensado do revestimento, este foi depositado no interior da câmara frigorífica de congelamento a temperatura de  $-8$  a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 25 min.

Após a obtenção dos filmes, estes foram condicionados em câmara hermética (Figura 17) com umidade relativa do ar controlada por meio de uma solução saturada de nitrato de magnésio  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ , sob vácuo. Nesta condição, os filmes foram mantidos por 6 dias até o equilíbrio do teor de umidade. Após, foram utilizados nas análises posteriores. A Figura 21b mostra o princípio para a obtenção dos filmes por termoprensagem.



**Figura 21a.** Prensa hidráulica SKAY



**Figura 21b.** Figura esquemática da obtenção de filmes por termoprensagem (A: placa aberta; B: placa fechada; 1 e 2 placa superior e inferior aquecida; 3: *pellet* (5g); 4: formação do filme).

## 4.2.4 Caracterização dos Filmes

### 4.2.4.1 Aspecto visual

Análises visuais e táteis foram realizadas, com o intuito de utilizar apenas os filmes que fossem homogêneos (sem a presença de partículas insolúveis, sem a presença de rupturas e coloração uniforme) e possibilitassem o manuseio (facilidade em retirar os filmes do suporte). Os filmes que não apresentaram tais características foram descartados.

### 4.2.4.2 Espessura

A espessura dos filmes foi determinada em micrômetro digital modelo Fowler IP 54 (Fowler, Newton, EUA), com sensibilidade de  $\pm 0,001$  mm, segundo método descrito por CAO; FU; HE (2007), em dez pontos aleatórios em diferentes partes do filme. A espessura final do corpo-de-prova foi a média aritmética das 10 medidas. A resposta obtida foi relativa à média aritmética de três filmes de cada tratamento.

### 4.2.4.3 Opacidade

A opacidade aparente dos filmes foi determinada com o auxílio de um espectrofotômetro Femto modelo 700 Plus (Femto Ind. Com. Instrumentos Ltda, São Paulo, Brasil). Os filmes foram dimensionados em forma retangular (4 x 1 cm) e inseridos ao interior da cubeta do espectrofotômetro. A cubeta vazia (ar) foi usada como referência. O comprimento de onda utilizado foi de 600 nm e a absorvância do filme foi observada no equipamento e a opacidade calculada de acordo com o trabalho de Han e Floros (1997), onde essa medida é relacionada à espessura do filme e expressa em  $\text{mm}^{-1}$  de acordo com a Equação 5. Pelo menos cinco corpos-de-prova foram testados.

$$\text{Opacidade} = A_{600} / X$$

**Equação 5**

Onde:

$A_{600}$  é a absorvância a 600 nm

X é a espessura do filme (mm)

### 4.2.4.4 Atividade de água dos filmes

A determinação da atividade de água ( $A_a$ ) foi realizada pela leitura direta utilizando-se um AquaLab Lite 2T, da Decagon Devices Inc, (Pullman, EUA), operando-se à temperatura de 25°C. Para calibração foi utilizado água destilada e solução saturada de cloreto de lítio ( $A_a$  0,112  $\pm$  0,003). As amostras foram dimensionadas com formato circular de 35 mm de diâmetro e espessura variando de 0,175 a 0,195 mm, colocadas em cápsulas plásticas do próprio equipamento. As análises foram feitas em triplicata.

#### 4.2.4.5 Permeabilidade ao vapor de água

A transmissão do vapor da água nos filmes foi determinada gravimetricamente segundo método proposto pela ASTM (*American Society for Testing and Material*), E96-80 (2001) modificado, à temperatura de 25°C, citado por Vicentini (2003). Amostras de filmes foram dimensionadas em formato circular com 40 mm de diâmetro e aplicadas em células de permeação contendo água destilada. Estas células foram colocadas em dessecador contendo sílica gel azul de forma a assegurar um gradiente hídrico no sistema (Figura 22). Ao longo de nove dias, houve monitoramento do peso das células e filmes em intervalos de 24 h de forma a acompanhar a variação de peso no período. O fluxo de permeabilidade ao vapor de água (Fva) foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Nazan, Truhan e Sahbaz (2004). O cálculo foi feito através de regressão linear entre os pontos de ganho de peso, segundo as Equações 6 e 7. As análises foram feitas em triplicata.

$$Fva = \frac{g}{t \times A}$$

Equação 6

$$PVA = \left( \frac{g}{t \times A} \right) * \frac{x}{\Delta P}$$

Equação 7

Sendo que:

Fva é o fluxo de permeabilidade ao vapor de água;

g é o ganho de peso (g);

t é o tempo total em horas;

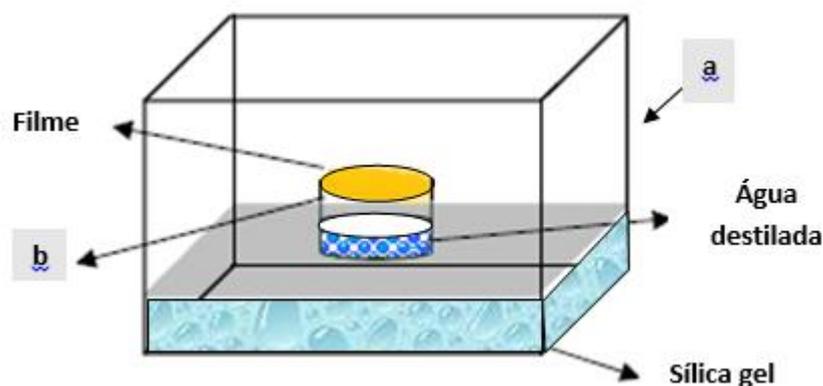
A é a área de permeação;

g/t foi calculado por regressão linear entre os pontos de ganho de peso e tempo (regime permanente);

PVA é permeabilidade ao vapor de água (gmm/m<sup>2</sup>diakPa);

x é a espessura média do filme (mm);

ΔP é a diferença de pressão de vapor do ambiente contendo sílica gel (kPa, a 25°C) e a água pura (3,167 kPa, a 25°C).



**Figura 22.** a) esquema do equipamento utilizado para teste de permeabilidade ao vapor de água; b) célula de permeação utilizada na análise.

#### 4.2.4.6 Teor de Vitamina C

A vitamina C e os carotenoides foram determinados na polpa *in natura*, na solução filmogênica, nos filmes elaborados por *casting*, na polpa concentrada, na mistura à ser extrusada, nos *pellets* e nos filmes após extrusão termoplástica e termoprensagem.

A quantificação de vitamina C foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em um cromatógrafo Waters Alliance 2695 (Milford, EUA) conforme descrito no item 4.2.1.9. As análises foram feitas em triplicata.

#### 4.2.4.7 Determinação de Carotenoides totais e $\beta$ -caroteno

As condições cromatográficas para extração e quantificação dos teores de carotenoides totais e  $\beta$ -caroteno dos filmes foram baseadas nas metodologias descritas por Pacheco (2009) e Rodriguez-Amaya (2001), com modificações, conforme descrito anteriormente no item 4.2.1.10. A extração dos carotenoides e do  $\beta$ -caroteno dos filmes seguiu também o mesmo procedimento descrito no item. As análises foram feitas em triplicata.

#### 4.2.4.8 Propriedades Mecânicas

Os filmes foram analisados quanto a performance no teste de tração e penetração em um analisador de textura Texture Analyser TA XT Plus (Stable Microsystems, Surrey, Inglaterra) (Figura 25a), operado de acordo com o método padrão ASTM D 882-83 (ASTM, 1995D). No teste de tração, os filmes foram dimensionados em corpos de prova com 50 mm de comprimento e 15 mm de largura, armazenados por 48 h a 25°C e umidade relativa de 60%. Estes corpos de prova foram fixados nas garras do equipamento com distância inicial entre elas de 30 mm e a velocidade de tração de 1 mm/s. A tensão na ruptura foi determinada pela relação entre força e área da seção transversal inicial do filme. A deformação na ruptura foi determinada pela curva de tensão *versus* deformação (deformação linear  $[(l - l_0) / l_0]$ ). O módulo de Young ou de elasticidade foi determinado na região linear do gráfico da curva de tensão em função da deformação. Foram realizadas ao menos 15 replicatas para cada amostra.

Nos testes de perfuração foram determinadas a força e a deformação na ruptura, de acordo com Vicentini (2003). Os corpos de prova foram dimensionados com 20 mm de comprimento e 20 mm de largura, fixado no equipamento em plataforma móvel com abertura de 10 mm e perfurado por um probe com ponta de esfera com cinco mm de diâmetro, com velocidade de deslocamento de 1 mm/s (Figura 25b). As curvas de força x deformação foram obtidas por meio do programa Texture Exponent 32 (Stable Microsystems, Surrey, Inglaterra), foi possível determinar a força na perfuração (F) e o deslocamento do probe (D). A deformação na ruptura por perfuração ( $\Delta l / l_0$ ) foi calculada de acordo com a Equação 8 (GONTARD et al., 1992). Os resultados foram analisados, através do programa Texture Exponent 32, versão 6.0.

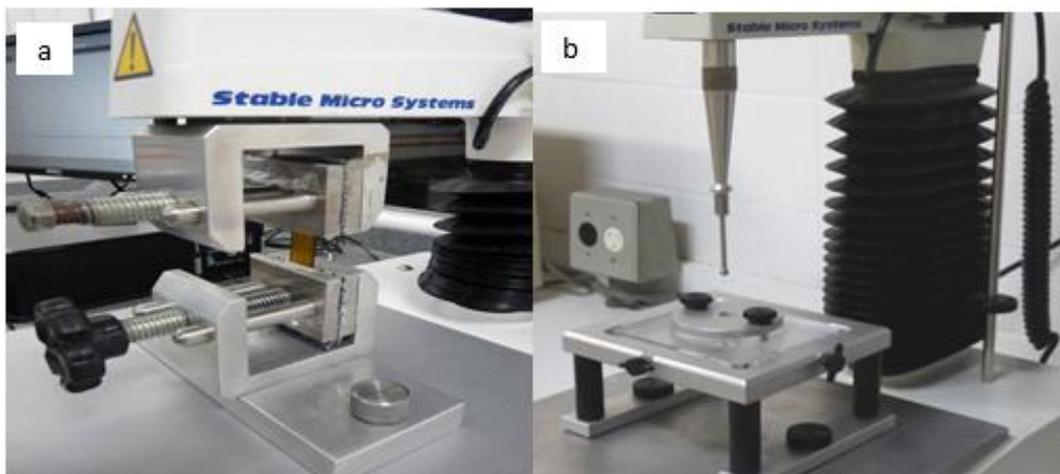
$$\frac{\Delta L}{l_0} = \frac{(\sqrt{D^2 + l_0^2} - l_0)}{l_0}$$

**Equação 8**

Sendo:

$l_0$  o comprimento inicial do filme, igual ao raio da célula de medida (5 mm)

$D$  o deslocamento, obtido diretamente da curva de força em função do deslocamento.



**Figura 23.** Analisador de textura Texture Analyzer TA XT Plus (Surrey, Inglaterra) equipado com geometria para realização dos ensaios de tração (a) e perfuração (b).

#### 4.2.4.9 Determinação da Atividade Antioxidante Total

##### 4.2.4.9.1 Obtenção dos extratos

Procedimento utilizado para obtenção do extrato dos filmes e produtos estão descritos no item 4.2.1.11.1.

##### 4.2.4.9.2 Determinação da atividade antioxidante pela captura do radical livre ABTS<sup>+</sup>

O teste da atividade antioxidante pela captura do radical ABTS<sup>+</sup> dos filmes e dos produtos estão descritos no item 4.2.1.11.2.

##### 4.2.4.9.3 Determinação da atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH<sup>+</sup>

O teste da atividade antioxidante pela captura do radical ABTS<sup>+</sup> dos filmes e dos produtos estão descritos no item 4.2.1.11.3.

#### 4.2.4.10 Cristalinidade dos Filmes

A determinação do perfil de cristalinidade dos filmes foi realizada em um difrator de raios X D2-Phaser (Bruker AXS, Rheinfelden, Alemanha) equipado com uma fonte de

radiação tipo Cu K $\alpha$  de 0,154 nm operando a 30 kV e 10 mA, conforme a metodologia descrita por Wu, Y.; Chen, Z.; Li, X.; Wang, Z. (2010). Os difratogramas foram obtidos na faixa angular de 2 a 32° (2 theta) no passo de 0,02 mm a 4 s para cada passo, com a fenda de divergência com largura de 0,6 mm, a fenda de recepção de 0,6 mm e a fenda de espalhamento de 0,2 mm. As análises foram feitas em triplicata.

#### **4.2.4.11 Determinação da Atividade Antimicrobiana do Óleo Essencial de Cravo (OEC) e dos Filmes**

##### **4.2.4.11.1 Bactérias Gram-positivo e Gram-negativo**

Neste trabalho foi testado a capacidade antimicrobiana do óleo essencial de cravo e dos filmes em células bacterianas de *Salmonellas tiphymurium* do grupo Gram-positivo e células bacterianas *Staphylococcus aureous* do grupo Gram-negativo.

O método empregado foi o descrito por Harris et al. (1989), com modificações, o qual consiste na fixação de um papel filtro impregnado com o antimicrobiano ou na abertura de um poço, devidamente preenchido com o antimicrobiano em questão, na superfície do meio de cultura sólido previamente semeado com a bactéria teste. A inibição do crescimento bacteriano é visualizada pela formação de um halo de inibição em torno do disco ou do poço.

No preparo do inóculo, uma alçada da cultura pura foi transferida para um tubo contendo 5 mL de caldo BHI (*Brain and Heart Infusion*). O mesmo foi incubado por 24 horas a 37°C para *Salmonella tiphymurium* e a 35°C para *Staphylococcus aureous*. Após a incubação, 1 mL deste conteúdo foi transferido para outro tubo com 9 mL de solução peptonada 0,1%. Procedeu-se sucessivas diluições até a obtenção da diluição de 10<sup>-4</sup>UFC.

Na semeadura das placas estéreis, um inóculo de 1mL das culturas bacterianas da maior diluição (10<sup>-4</sup>) de *Salmonella tiphymurium* e *Staphylococcus aureous*, foram semeados individualmente, por *pour plate* ou plaqueamento em profundidade. Foi utilizado TSA (*Soybean Casein Digest Agar*) como meio de cultura.

O óleo essencial de cravo e os filmes, em forma de discos, com diâmetro de 2,5 cm foram depositados assepticamente sobre a superfície dos meios inoculados, onde foram aderidos, individualmente, sendo pressionados levemente sobre a superfície do meio. As placas foram incubadas a 35 e 37°C para *Staphylococcus aureous* e *Salmonella tiphymurium*, respectivamente, por 24 horas. Após a incubação, as placas foram observadas quanto à homogeneidade e inibição do crescimento. O diâmetro do halo foi medido com auxílio de um paquímetro. Os testes foram realizados em triplicata e os resultados apresentados correspondem aos valores médios.

##### **4.2.4.11.2 Fungos**

O efeito antimicrobiando *in vitro* em fungos dos filmes produzidos com OEC e dos OEC puro e diluído foi determinado pelo método de difusão em poços. Neste estudo foi testado a sensibilidade dos fungos *Penicillium sp* e *Aspergillus flavus* de acordo com método descrito por Silva et al. (2010), com adaptações, que consistiu na perfuração do poço e preenchimento com 15  $\mu$ L do óleo essencial de cravo nas concentrações definida ou na fixação de um filme em forma de disco (diâmetro de 30 mm) na superfície do meio de cultura sólido (DBA) previamente semeado com os fungos analisados. A inibição ou não do

crescimento fungico foi visualizado pela formação ou não do halo de inibição em torno do disco ou do poço.

As culturas fúngicas foram filtradas em gase e diluídas em solução peptonada com Twin 80. Estas culturas foram incubadas por 24 horas a 25°C. Procedeu-se a diluição até a obtenção de uma suspensão padronizada ( $10^5$  UFC).

As placas foram semeadas com um inóculo de 0,1mL de cada cultura de fungos *Penicillium sp.* e *Aspergillus flavus* sendo semeado com swab estéril na superfície das placas contendo DBA (Agar Batata Dextrose) solidificado, onde foram aderidos, pequenos discos de filme com 6 mm de diâmetro, individualmente, e discos de papel filtro com 15µL do óleo essencial (puro, 7,5%, 15% e controle (sem o óleo)), sendo pressionados levemente sobre a superfície do meio. As placas foram então incubadas a 25°C por 120 horas, e a leitura dos halos de inibição foi feita com a utilização de um paquímetro. Os testes foram realizados em triplicata e os resultados apresentados correspondem aos valores médios.

Como controle foi utilizado o filme com a mesma concentração de polpa e glicerol, mas sem o agente antimicrobiano. A avaliação foi feita no 1º, 3º e 6º dias. A eficiência do agente antimicrobiano foi avaliada pela formação de halo ao redor dos filmes.

#### 4.2.4.12 Toxicidade dos Filmes

A toxicidade dos filmes produzidos por extrusão e do OEC foram determinadas pelo bioensaio com *Artemia salina* (T.A.S.). Através deste estudo foi possível determinar a DL50 em *Artemia salina* para o óleo essencial de cravo e do filme contendo 7,5% deste óleo.

O teste de toxicidade com náuplios de *Artemia salina* foi realizado de acordo com metodologia adaptada de Meyer et al. (1982). A concentração da solução salina utilizada para eclodir os ovos de *Artemia salina* foi de 3,5%, onde foram incubados 50 mg de cistos de *Artemia salina*, em condições de aeração constante e iluminação artificial durante 48 horas (Figura 24).



**Figura 24.** Incubação dos cistos de *Artemia salina* em condições de aeração constante e iluminação artificial.

Após 48 horas, as larvas foram expostas a diferentes concentrações para o óleo (10, 50, 100, 500 e 1000 µg/mL) e para o filme extrusado (10, 50, 100, 500, 1000 e 3000 µg/mL), por 24 horas. Então, 10 náuplios de *Artemia salina* foram transferidos para tubos de ensaio contendo 5 mL de salina artificial (Figura 25). O óleo essencial (0,5g) foi diluído em solução de DMSO (dimetil sulfóxido) à 2%. O controle negativo (branco) foi realizado com solução salina artificial. A contagem dos náuplios mortos e vivos foi realizada após 24 horas de exposição. Sendo considerados vivos todos aqueles que apresentassem qualquer tipo de movimento quando observados próximos a uma fonte luminosa por 10 segundos.



**Figura 25.** Concentrações com náuplios de *Artemia salina*.

Foram obtidos os gráficos das curvas de sobreviventes de seis pontos contendo dez náuplios eclodidos em cada tubo de ensaio. Os resultados foram submetidos ao tratamento estatístico utilizando a regressão linear, o qual forneceu os valores de DL50 em 24 h. A DL50 foi calculada a partir do gráfico do percentual de animais sobreviventes contra as doses ensaiadas. Todos os testes foram realizados em triplicata. Os dados foram calculados conforme a fórmula de Abbott (Equação 9).

As concentrações da curva foram 10, 50, 100, 500 e 1000 ppm para o óleo essencial de cravo e 10, 50, 200, 500, 1000 e 3000 ppm para o extrato do filme extrusado.

$$\% \text{ Sobrevivência} = \left( \frac{\text{sobreviventes do controle} - \text{sobreviventes do teste}}{\text{sobreviventes do controle}} \right) * 100 \quad \text{Equação 9}$$

Onde:

% sobrevivência = média de indivíduos vivos por concentração após 24h.

#### 4.2.5 Análises Estatísticas dos Resultados

Os dados foram avaliados e interpretados estatisticamente utilizando-se o programa Statistica versão 7.0 (Tulsa, EUA) para calcular as análises de variância (ANOVA). O teste de Tukey foi utilizado para determinar diferenças entre os tratamentos no intervalo de 95% de confiança.

##### 4.2.5.1 Otimização ou desejabilidade

Para definição da melhor condição de elaboração dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo-da-índia obtidos por *casting* para serem reproduzidos por extrusão termoplástica, foi utilizada a ferramenta estatística denominada otimização ou desejabilidade. Esta ferramenta auxilia na escolha das propriedades indicadas como relevantes e dos parâmetros considerados ideais para o processo. A importância, como também a significância obtida através da análise de variância (ANOVA) de cada propriedade em relação ao produto avaliado foi utilizado como critério de seleção. Dessa forma, são definidos os valores de desejabilidade (D) restrito ao intervalo de 0 a 1. Sendo, 0 (para o mínimo aceitável), 0,5 (para o valor médio aceitável) e 1,0 (para o valor desejável). Quanto maior o valor de D mais conveniente será a resposta do sistema, sendo que o valor máximo de D é a solução otimizada do sistema.

Para a obtenção de um filme ideal foram consideradas as variáveis respostas que apresentaram diferença significativa (ANOVA,  $p \leq 0,05$ ): teor de vitamina C, teor de carotenoides totais e de  $\beta$ -caroteno, força de tração e de perfuração, alongação na tração e na perfuração, módulo de elasticidade e atividade antioxidante total. Para isto, o filme escolhido deve possuir maiores teores possíveis de vitamina C, carotenoides,  $\beta$ -caroteno, atividade antioxidante (TEAC). Por outro lado, um mediano valor de módulo de elasticidade são desejáveis para a elaboração de um bom filme. Já as propriedades que não apresentaram diferença significativa não foram consideradas como parâmetro para escolha, pois não faria diferença selecionar qualquer um dos tratamentos com referência à essas propriedades. Assim, foram adotados critérios com base nas restrições citadas para os valores mínimos, intermediários e máximos de cada resposta para encontrar os valores operacionais ótimos das variáveis independentes que satisfaçam simultaneamente os requisitos necessários às variáveis respostas (função desejabilidade). Desta forma, foi selecionado o tratamento 2, como sendo o desejável (7,5% de OEC, 22,5% de glicerol). Este tratamento escolhido foi processado em escala piloto (extrusão termoplástica e termoprensagem) e avaliado.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização das matérias primas

#### 5.1.1 Composição Química

Os valores de composição química do amido de mandioca estão apresentados na Tabela 11.

O amido geralmente é extraído por processos que permitem o carreamento de substâncias contaminantes como proteínas, lipídios e cinzas. Além do método de extração, a fonte botânica também apresenta importante influência no teor final destes componentes. A quantificação destas substâncias determina o seu grau de pureza. Muito embora presentes em pequenas quantidades, estas substâncias podem interferir nas propriedades físico-químicas e funcionais do amido (LEONEL; CEREDA 2002).

**Tabela 11.** Caracterização química do amido de mandioca (*Manihot esculenta* L.).

Determinação	Teor (b.s.)
Umidade (%)	9,75 ±0,15
Proteína (%)	ND
Matéria graxa (%)	ND
Cinzas (%)	0,15 ± 0,00
Carboidratos (%)	90,10 ±0,21

b.s.: base seca / ND: não detectado

O teor de umidade do amido de mandioca foi de 9,75% estando dentro dos limites de tolerância, para este parâmetro, segundo a Instrução Normativa n.23 de 14 de dezembro de 2005, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2005), que considera como aceitáveis valores de umidades menores do que 14%. E também se encontra em conformidade com os exigidos pela RDC n. 263 de 22 de setembro de 2005, da ANVISA, que estabelece como valor máximo permitido, em amido ou amido de mandioca, 18 % de umidade (BRASIL, 2005).

Os resultados de umidade são úteis para controlar o processo de secagem do amido, sendo que a determinação da umidade nas amostras estudadas foi um parâmetro importante ser determinado, para que todos os resultados das análises subsequentes pudessem ser expressos em base seca.

Nunes, Santos e Cruz (2009), estudando amidos de três diferentes variedades de mandioca encontraram teores de umidade entre 11,47 e 12,11%.

O teor de cinzas do amido foi 0,15%. A determinação das cinzas é útil para controlar a presença de resíduos de casca, ou seja, impurezas, no processamento do amido (MARCON, 2009). O conhecimento destas impurezas associadas ao amido isolado reside na influência que essas exercem em seu comportamento. O alto teor de cinzas pode indicar a presença de sais

associados às moléculas de amilose e amilopectina, do que surgem comportamentos característicos na pasta, o mesmo ocorrendo com o teor de lipídio e proteína (AMANTE, 1986). De um modo geral, quando os valores de cinza obtidos são consideravelmente baixos, indica eficiência do processo de separação na extração do amido.

Segundo a Instrução Normativa n. 23 de 14 de dezembro de 2005, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2005) que estabelece como valor máximo de cinzas 0,20 %, para amidos comerciais, assim como a RDC n.263 de 22 de setembro de 2005, da ANVISA, que os valores de cinzas permitidos são até 0,50 % (BRASIL, 2005), o amido de mandioca utilizado neste estudo apresentou percentual dentro do limite aceitável.

Nesse estudo não foi detectado a presença de lipídios ou proteínas no amido de mandioca, evidenciando método de extração rigoroso. Segundo Peroni (2003), a quantidade de outros constituintes no amido como, lipídios, cinzas e proteínas dependem da origem botânica e do método de extração. Quanto menor o teor destas substâncias melhor a qualidade do amido.

Os valores de composição química da polpa de acerola estão apresentados na Tabela 12.

A variação na composição físico-química de frutas e seus derivados, como polpa de frutas é decorrente de muitos fatores, tais como variedade, grau de maturação, local de plantio, época de plantio e colheita, entre outros (FOLEGATTI e MATSUURA, 2003).

**Tabela 12.** Caracterização físico-química da polpa de acerola (*Malpighia emarginata* DC.).

Determinação	Valores obtidos
Umidade (%)	92,72 ±0,15
Proteína (g)	0,40 ±0,01
Matéria graxa (%)	0,24 ±0,01
Cinzas (%)	0,29 ±0,01
Carboidratos (g)	6,35±0,02
Sólidos solúveis (°Brix)	6,6 ±0,15
pH	3,14 ±0,02

Média±desvio-padrão

Segundo os padrões de identidade e qualidade para polpas de frutas aprovados pela Instrução Normativa n. 01, de 7 de janeiro de 2000 (BRASIL, 2000), polpa de acerola é definida como “o produto não fermentado e não diluído, obtido da parte comestível da acerola (*Malpighia spp.*) por meio do processo tecnológico adequado, com teor mínimo de sólidos totais. Esta Instrução Normativa estabelece que a polpa de acerola deve conter os teores mínimos de sólidos solúveis de 5,5 °Brix e pH de 2,8. De acordo com os dados obtidos, pode-se concluir que a polpa de acerola utilizada no estudo, atendeu a legislação brasileira.

Os resultados obtidos neste estudo estão na faixa dos valores encontrados para polpa de acerola por Mercali et al. (2011) para umidade (92%) e pH (3,28) e um pouco abaixo para sólidos solúveis (7,8 °Brix). Provavelmente essa diferença em relação aos sólidos solúveis se deva ao diferente estágio de maturação da fruta. Valores também semelhantes ao encontrado por Canuto et al. (2010) para proteínas (0,43-1,32 %) e inferiores para cinzas (0,43-0,45 %) e matéria graxa (0,92 %).

Pereira (2013), trabalhando com a polpa *in natura* na concentração de 7,5 °Brix encontrou os seguintes valores para umidade (92,10%), cinzas (0,32%), extrato etéreo (0,10%), proteínas (0,99%). Valores estes, semelhantes com o presente estudo para umidade e cinzas e acima para extrato etéreo e abaixo para proteínas provavelmente esta variação pode ser decorrente de fatores como variedade, grau de maturação, local de plantio e colheita (SILVA, 2000).

Tendo como base a polpa com concentração de 6,6 °Brix, que foi a concentração encontrada para o produto *in natura*, os valores de umidade (92,72%) e cinzas (0,29%) encontrados estão de acordo com os apresentados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos, TACO (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011), para polpa de acerola congelada, com 93,6% para umidade e 0,3% para cinzas. Com relação às gorduras, apesar de a tabela TACO apresentar traços, foram encontrados 0,24%. Já em relação ao teor de proteínas (0,40%), houve uma grande diferença em relação ao presente na TACO (0,60%). Esta variação, segundo Silva (2000), pode ser decorrente de fatores como variedade, grau de maturação, local de plantio e colheita.

Os componentes da caracterização química do óleo essencial de cravo (OEC) estão apresentados na Tabela 13. Através da análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas foi possível separar e identificar seis constituintes do óleo essencial de cravo.

**Tabela 13.** Identificação dos componentes do óleo essencial de cravo.

Identificação	Teor (%)
Eugenol	82,1 ± 0,2
( <i>E</i> )-cariofileno	5,9 ± 0,1
$\alpha$ -humuleno	0,7 ± 0,0
<i>trans</i> -calameno	0,2 ± 0,0
Acetato de eugenila	10,3 ± 0,1
Óxido de cariofileno	0,7 ± 0,0

Média±desvio-padrão

O OEC do presente estudo apresentou como compostos majoritários, o eugenol (82,1 %), o  $\beta$ -cariofileno (5,9%) e o acetato de eugenila (10,3%). Resultado similar enfatizado por Singh et al. (2012), que comprovaram que entre os vários constituintes identificados no óleo de cravo, o eugenol, o acetato de eugenil e o  $\beta$ -cariofileno representam os principais componentes. Resultados semelhantes (82 a 88%) foram também obtidos por Ugaldea (2014), Costa et al. (2011), Arenas et al. (2011), Silvestri et al. (2010) e Oliveira et al. (2009).

Dzamic et al. (2009) identificaram 16 componentes no óleo essencial de cravo, sendo o eugenol (78,57%),  $\beta$ -cariofileno (15,56%) e  $\alpha$ -humuleno (1,88%) como os principais componentes

Trajano et al. (2010) identificaram 18 compostos químicos do óleo essencial extraído das folhas de *E. caryophyllata*. O eugenol (74%) foi o composto majoritário, seguido pelos  $\alpha$ -humuleno (9,62%), D-cadineno (4,64%), trans- $\beta$ -cariofileno (4,69%) e óxido de cariofileno (1,63%). Outros compostos, como eucaliptol (0,96%),  $\gamma$ -cadineno (0,86%), humuleno (0,83%), e torreiol (0,62%) foram encontrados em percentual menor.

As diferenças existentes entre os componentes do OEC deste estudo e dos demais, provavelmente se deve ao processo de destilação, secagem, região de plantio, temperatura, tempo de armazenamento e parte da planta utilizada (LEUSCHNER e ZAMPARINI, 2002; QIU et al., 2010).

### 5.1.1.2 Teor de umidade e sólidos totais das polpas utilizadas

Em virtude da grande quantidade necessária de polpa *in natura* para o processo de extrusão, as polpas utilizadas nos processos de *casting* e extrusão foram adquiridas em momentos distintos, logo pertencem à lotes diferentes, embora sejam do mesmo produtor, com isso os teores de umidade e sólidos totais diferem entre si.

Com relação à umidade e sólidos totais da polpa concentrada, o processo de concentração foi necessário, devido ao alto teor de umidade da massa à ser extrusada com a adição da polpa *in natura* no estado original (Tabela 14). Portanto, foi necessário reduzi-lo para que se pudesse adicionar todo o volume de polpa com o aporte de vitamina C desejado, sem o excesso de água no sistema, o que impossibilitaria a processabilidade no extrusor. O aumento do teor de sólidos permitiu ser adicionada uma alta dosagem para extrusão.

**Tabela 14.** Teor de umidade das polpas utilizadas na elaboração dos filmes por *casting* e por extrusão.

Matéria-prima	Umidade (%)	Sólidos totais (%)
Polpa <i>casting</i>	92,72±0,02 <sup>a</sup>	7,28±0,02 <sup>a</sup>
Polpa pré-extrusão	93,48±0,02 <sup>c</sup>	6,52±0,02 <sup>c</sup>
Polpa concentrada	81,21±0,03 <sup>b</sup>	18,79±0,03 <sup>b</sup>

Média±desvio-padrão / Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Os valores de umidade para as polpas utilizadas na elaboração dos filmes (*casting*, concentrada e extrusada) foram de 92,72; 81,21 e 93,48%, respectivamente. Todas as polpas utilizadas neste estudo estão dentro da faixa de umidade da Tabela TACO (2006) que é de 92 a 93,6%.

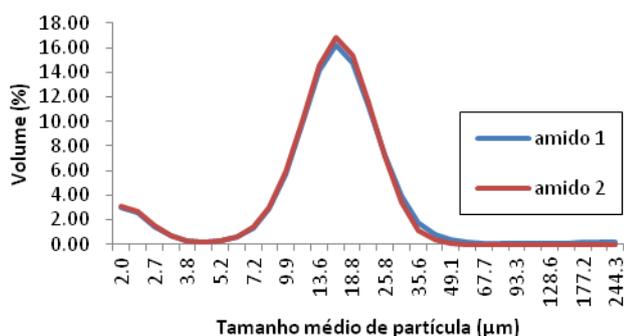
Valor semelhante ao presente estudo (94,91%) foi encontrado por Salgado et al. (1999) para umidade na polpa de acerola industrializada.

Os valores de sólidos totais encontrados neste estudo para as polpas utilizadas na elaboração dos filmes (*casting*, concentrada e extrusada) foram de 7,28; 18,79 e 6,52%, respectivamente. Todas, estão dentro da faixa descrita (6,4 a 8,0 %) na TACO (2006). Valor semelhante à esse estudo foi encontrado por Salgado et al. (1999) para sólidos totais (5,09%) para polpa de acerola industrializada.

### 5.1.2 Tamanho de partícula

A distribuição do tamanho das partículas do amido de mandioca e da polpa de acerola podem ser vistas nas Figuras 26 e 27, respectivamente.

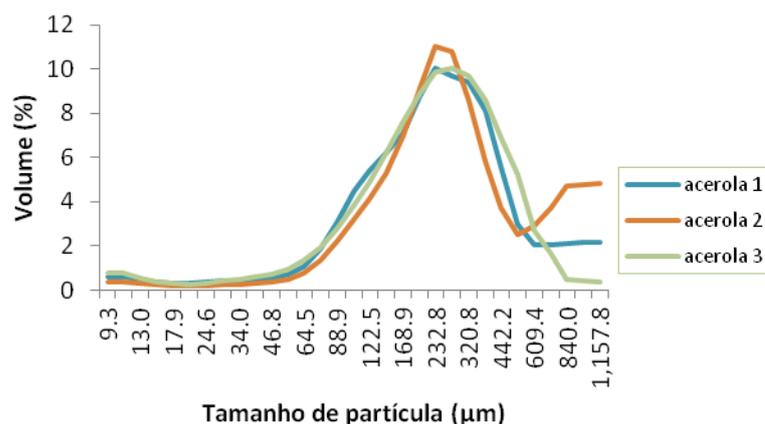
O amido de mandioca apresentou distribuição do tamanho das partículas variando de 6  $\mu\text{m}$  a 35  $\mu\text{m}$ , com maior volume de partículas em 18,8  $\mu\text{m}$ . Segundo Vieira (2004), o tamanho dos grânulos e sua distribuição estão entre os fatores que influenciam as propriedades funcionais dos amidos.



**Figura 26.** Distribuição granulométrica, em volume, das partículas do amido de mandioca

Defloor et al. (1998) e Cereda (2001) relataram os diâmetros médios dos grânulos do amido de mandioca variam de 3 a 32 e de 5 a 35  $\mu\text{m}$  de diâmetro com a média de 20  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Valores aproximados aos resultados obtidos neste estudo.

Na Figura 27, está representado o resultado médio da distribuição do tamanho de partículas da polpa de acerola. Pode-se observar que a polpa apresentou um maior volume de partículas em torno de 233  $\mu\text{m}$ . O tamanho das partículas encontradas na polpa de acerola *in natura* variou da seguinte forma: partículas com tamanho entre 65 a 442  $\mu\text{m}$ . Comportamento semelhante foi observado no suco de lima ácida orgânica integral (Viana, 2010), sendo que neste a maior concentração de partículas ficou acima de 200  $\mu\text{m}$ .



**Figura 27.** Distribuição granulométrica, em volume, das partículas da polpa de acerola.

Carvalho et al. (2006), ao trabalhar com suco de limão integral (*Citrus limon*, L.), observaram que o mesmo apresentava uma ampla distribuição de tamanho de partículas, de pequeno tamanho com 5 µm, como também partículas de maiores dimensões (8%) entre 500 e 600 µm.

Não foram encontrados relatos de trabalhos técnico científicos relacionados à análise quanto ao tamanho de partícula para polpa de acerola.

### 5.1.3 Teor de vitamina C, carotenóides totais e de β-caroteno

Os diferentes períodos de aquisição das polpas (lotes diferentes), justificam as análises individuais. De acordo com a Tabela 15, observa-se que os teores obtidos de vitamina C, carotenoides e β-caroteno para polpa *casting*, polpa pré-extrusão e polpa concentrada, respectivamente. Através de análise estatística, as matérias-primas diferiram significativamente entre si ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 15.** Teor de vitamina C, carotenoides e de β-caroteno das matérias-primas utilizadas no processo de *casting* e de extrusão.

Matéria-prima	Vitamina C (mg/100g)*	Carotenoides totais (µg/100g)*	β-caroteno (µg/100g)*
Polpa <i>casting</i>	1866,830 <sup>b</sup>	2550,500 <sup>b</sup>	1888,000 <sup>b</sup>
Polpa pré-extrusão	1352,157 <sup>a</sup>	1417,000 <sup>a</sup>	1067,5 <sup>a</sup>
Polpa concentrada	4399,867 <sup>c</sup>	6125,500 <sup>c</sup>	4409,0 <sup>c</sup>

\*base úmida/ Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Oliveira et al. (2012), obtiveram o teor máximo de vitamina C de 1667 mg/100g em polpas congeladas, concordando com a faixa dos teores encontrados neste estudo. Porém, valores inferiores aos encontrados foram relatados por Araujo et al. (2006) e Mendes et al. (2009), com valores variando de 470,24 a 1.119 mg/100g. Enquanto Souza et al. (2012), encontraram 821,12 mg/100g e Temóteo et al. (2012) obtiveram 1083,34 mg/100g. As diferenças nos resultados relatados ao deste trabalho, segundo Tomás-Barberan (2001) dependem de fatores intrínsecos (gênero, espécie, cultivar) e extrínsecos (condições ambientais, cultivo, manejo, condições de armazenamento, sensibilidade dos processos de extração e de determinação utilizados).

Agostini-Costa et al. (2003) obtiveram 7100  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  de  $\beta$ -caroteno na polpa de acerola recém-processada, entretanto foi observada uma redução de 20% no conteúdo de carotenoides totais, já no quarto mês de estocagem, justificando parte das variações encontradas na literatura, outras diferenças referem-se à safra, localidade de colheita e a variedades. Lima et al. (2005) determinaram o teor de  $\beta$ -caroteno em acerola, encontrando variações entre 940 e 3090  $\mu\text{g}/100\text{g}$  (estação seca) e 1410 a 4060  $\mu\text{g}/100\text{g}$  (estação de chuvas) no estádio maduro, concordando com os valores obtidos neste estudo.

#### 5.1.4 Capacidade antioxidante total

A capacidade antioxidante total pelo método DPPH<sup>+</sup> e ABTS<sup>+</sup> das polpas de acerola e o OEC estão apresentadas na Tabela 16.

Em relação ao método DPPH<sup>+</sup>, as substâncias antioxidantes presentes nos extratos reagem com o DPPH, que é um radical livre e dessa forma, estabiliza-o. O extrato que apresenta alto potencial em sequestrar radicais livres tem baixo valor de IC<sub>50</sub> (concentração necessária para inibir 50% do radical livre formado). Dessa forma, uma pequena quantidade de extrato é capaz de decrescer a concentração inicial do radical DPPH<sup>+</sup> em 50%, ou seja, quanto menor o valor do IC<sub>50</sub>, maior será a capacidade antioxidante do extrato analisado.

Observa-se que a maior atividade antioxidante obtida foi da polpa concentrada com um valor de IC<sub>50</sub> de 9,87 mg, seguido pela polpa *casting* com 14,92 mg. A diferença de valores entre essas duas polpas *in natura* (14,92 e 16,44 mg), como já foi relatado se deve à diferença de lotes, cultivares, condições climáticas e outros. De acordo com estes dados, fica evidenciado através dos resultados expressos tanto em IC<sub>50</sub> DPPH e também por  $\mu\text{M}$  trolox no teste de DPPH, que a polpa concentrada, apresenta a maior capacidade antioxidante em comparação às outras duas polpas utilizadas, fato justificado pelo próprio processo de concentração, promovendo a concentração dos bioativos antioxidantes vitamina C e carotenoides, logo aumentando a capacidade antioxidante da mesma.

**Tabela 16.** Capacidade antioxidante da polpa de acerola *in natura* (*casting* e extrusão), da polpa concentrada e do OEC<sup>a</sup> pelos métodos DPPH<sup>+</sup> e ABTS<sup>+</sup>.

Amostra	DPPH		ABTS	
	IC <sub>50</sub> mg/g	µM trolox/g amostra	IC <sub>50</sub> mg/g	µM trolox/g amostra
Polpa <i>casting</i> *	14,92±0,54 <sup>b</sup>	38,83 ± 4,32 <sup>a</sup>	19,92±0,43 <sup>b</sup>	52,34± 5,41 <sup>b</sup>
Polpa pré-extrusão*	16,44±0,47 <sup>c</sup>	41,64 ± 0,59 <sup>a</sup>	32,27±0,65 <sup>c</sup>	40,42± 0,65 <sup>a</sup>
Polpa concentrada*	9,87±0,25 <sup>a</sup>	74,08 ± 2,61 <sup>b</sup>	16,43±0,44 <sup>a</sup>	78,42± 5,62 <sup>c</sup>
OEC* <sup>a</sup>	0,58±0,02	1311,86 ± 45,47	0,33±0,02	2063,1 ± 55,75

\*base úmida / <sup>a</sup> óleo essencial de cravo/ IC<sub>50</sub>: quantidade de amostra necessária para inibir 50% do radical livre presente/ Média±desvio padrão / Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

Resultado superior para IC<sub>50</sub> DPPH (0,00174 mg/mL) foi relatado por Vieira et al. (2011) para polpas de acerola. Porém, concordando com os resultados de ABTS em TEAC (52 a 3690 µM trolox/g amostra) do mesmo autor. Estas diferenças provavelmente se devem à complexidade desse grupo de compostos, aos métodos de extração e/ou à metodologia de quantificação empregada (BALASUNDRAM et al., 2003). Como também, segundo Wojdylo et al. (2008) possam ser justificadas às variações das condições climáticas, grau de maturação da fruta e solo, que afetam seu conteúdo em compostos fenólicos. Os resultados deste estudo foram semelhantes a vários estudos prévios que observaram que a polpa de acerola apresenta elevada capacidade antioxidante (KUSKOSKI et al. 2005; MELO et al. 2008; ROCHA, 2013).

Para o OEC, o resultado para IC<sub>50</sub> pelo método DPPH foi de 0,58 mg/g, sendo inferior ao obtido por Ugalde (2014) (0,011 µg/mL) e superior ao encontrado por Vanin (2014) (367,5 µg/mL), utilizando a mesma metodologia. Dessa forma, observa-se-se que o OEC possui potencial para ser utilizado como antioxidante (UGALDE; VANIN, 2014). As diferenças encontradas entre este estudo e de outros relatados provavelmente se devem à fatores como método de extração, condições e temperatura de armazenamento, partes da planta utilizada, clima, entre outros.

Em relação ao método ABTS, as polpas *casting*, pré-extrusão e concentrada obtiveram 19,92; 32,27 e 16,43 mg/g para o IC<sub>50</sub> e 52,34; 40,42 e 78,42 µM trolox, respectivamente. Diversos autores avaliaram a capacidade antioxidante de polpas e sucos de frutas. Kuskoski et al. (2005), determinaram a capacidade antioxidante pelo método ABTS das polpas de amora, uva, açaí, goiaba, morango, acerola, abacaxi, manga, graviola, cupuaçu e maracujá, encontrando valores de TEAC variando de 2,0 e 67,6 µMol TEAC g/amostra, concordando com a faixa de variação dos resultados apresentados deste trabalho nos mesmos parâmetros.

O mesmo fica evidenciado com relação ao OEC, em que em uma concentração de 0,33 mg é comparável à 2063,1 µM trolox de um potente antioxidante sintético tido como referência (trolox).

### 5.1.5 Cristalinidade do amido de mandioca

A cristalinidade parcial dos grânulos de amido possibilita padrões específicos de difração de raios X. Segundo Zobel (1964), o que define os padrões de cristalinidade são a

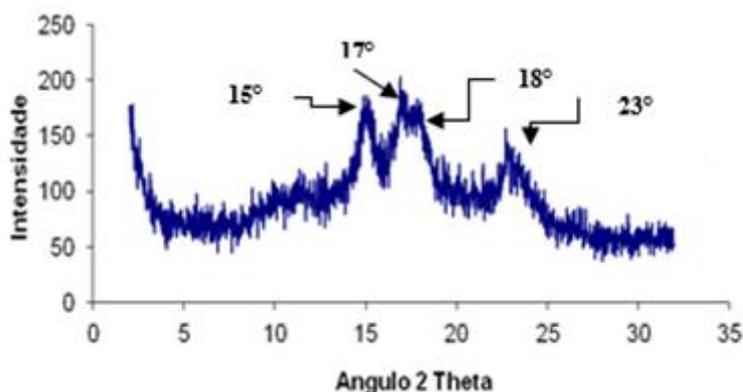
intensidade relativa das linhas de difração dos raios X e os espaços interplanares (d). Esta análise é muito útil na identificação da natureza botânica de amidos (TAKO e HIZURUKI, 2002).

Na Figura 28 pode-se observar no difratograma de raios X, o padrão de cristalinidade do amido de mandioca do presente estudo, em que são evidenciados os picos de maior intensidade em  $2\theta$  de  $15^\circ$ ;  $17^\circ$ ;  $18^\circ$ ,  $23^\circ$  e  $27^\circ$ . Marcon et al. (2009) e Shin (2005) sugerem que os grânulos de amido que apresentam características do tipo A são os que apresentam os picos principais em 15; 17; 18 e 23 em  $2\theta$ ; tipo B, em 5,6; 15; 17; 18 e 23 em  $2\theta$  e tipo C, uma mistura dos tipos A e B com picos em 5,5; 15; 17; 22 e  $23^\circ$  em  $2\theta$ . Portanto, com base nesta classificação, os grânulos de amido de mandioca apresenta padrão semelhante ao tipo A.

Na literatura, os amidos de mandioca são classificados em diversos tipos. Lacerda (2006) descreve o perfil de cristalinidade do amido de mandioca como tipo A, Teixeira et al. (2009) classifica como tipo B, Marcon et al. (2009) classifica como tipo C e Costa (2010) classifica como tipo A. Marengo et al. (2012), Huang et al. (2007) e Zobel (1998) observaram picos para amidos de mandioca próximos de  $2\theta$  em  $15,3^\circ$ ;  $17,3^\circ$ ;  $18,3^\circ$ ;  $22^\circ$  e  $23,5^\circ$  e caracterizaram os amidos como padrão de cristalinidade tipo C.

No presente estudo, o índice de cristalinidade dos grânulos de amido de mandioca foi de 41,7%. Segundo Cheethan e Tao (1998), o índice de cristalinidade relativa de amidos nativos varia de 15 a 45 %, dependendo da espécie vegetal.

Buléon et al. (1998), Ferrini (2006) e Srichuwong et al. (2005) encontraram valores de índice de cristalinidade de 24,0 %, 25,24 % e de 31,0 %, respectivamente para amido de mandioca. Valores abaixo dos obtidos neste estudo.

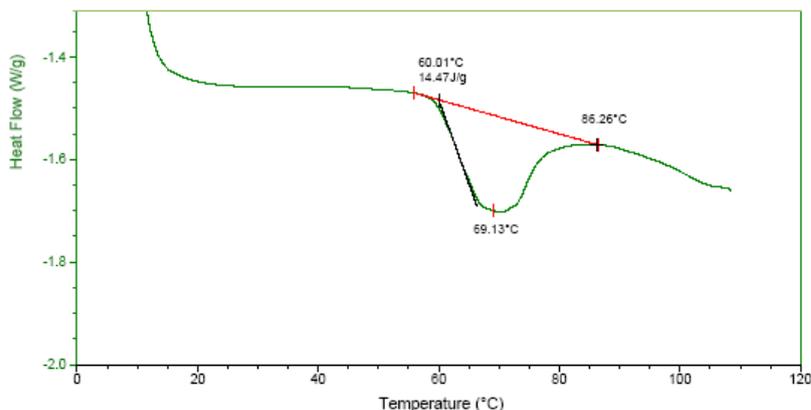


**Figura 28.** Difratograma de raios X do amido de mandioca

### 5.1.6 Temperatura de gelatinização do amido de mandioca

Como já descrito na revisão de literatura no item 3.2.1, uma das propriedades do amido de mandioca é a gelatinização. Suspensões de amido quando aquecidas em excesso de água possibilitam uma transição de primeira ordem, irreversível, sendo que nessa etapa ocorre o rompimento, a expansão e a hidratação dos grânulos e ainda a solubilização das moléculas de amido. Essa transição pode ser caracterizada por uma endoterma obtida através de calorimetria diferencial de varredura (DSC).

A Figura 29 mostra o termograma do amido de mandioca nativa para verificação da gelatinização total do amido. As temperaturas *onset* ( $T_0$ ) e de pico ( $T_p$ ) e a entalpia de gelatinização ( $\Delta H_{gel}$ ) do amido de mandioca nativa estão representadas na Tabela 17.



**Figura 29.** Termograma do amido de mandioca nativo.

**Tabela 17.** Temperaturas *onset* ( $T_0$ ), de pico ( $T_p$ ) e entalpia de gelatinização ( $\Delta H_{gel}$ ) de amido de mandioca nativa

Amostra	$T_0$ (°C)	$T_p$ (°C)	$\Delta H_{gel}$ (J g <sup>-1</sup> )
Amido de mandioca	60,01	69,13	14,47

Segundo os dados, na gelatinização do amido deste estudo a temperatura inicial ( $T_0$ ), de pico ( $T_p$ ) e a entalpia de gelatinização ( $\Delta H_{gel}$ ) foram de 60,01°C; 69,13°C e 14,47 Jg<sup>-1</sup>, respectivamente. Valores similares foram observados por Lacerda (2006), com a temperatura de pico de 63,43 °C e a entalpia de 12,89 Jg<sup>-1</sup>.

Grânulos de cereais (cristalinidade tipo A) e tubérculos nativos (cristalinidade tipo B) possuem diferentes características de gelatinização. Os tubérculos iniciam a gelatinização em temperatura ( $T_0$ ) menor, mas possuem altas temperaturas de pico ( $T_p$ ). Grânulos de amido nativo tipo B tem entalpia ( $\Delta H_{gel}$ ) menor do que do tipo A (SINGH et al. (2003).

Diversos estudos buscam elucidar o que ocorre durante o aquecimento de dispersões de amido em relação ao conteúdo de amilose e amilopectina. Silva e Cabello (2006) observaram que no amido de mandioca esses teores variaram de 17,17 a 19,67% para amilose e 80,33 a 82,83% para amilopectina.

Sabe-se que a amilopectina exerce papel principal na cristalinidade dos grânulos de amido. Altas temperaturas de transição têm sido mencionadas como resultado do alto grau de cristalinidade, que fornece estabilidade estrutural aos grânulos e maior resistência à gelatinização. Assim, a presença de amilose baixa o ponto de fusão das regiões cristalinas e a

energia para iniciar a gelatinização, pois as longas cadeias de amilopectina requerem uma maior temperatura para dissociar completamente do que aquela requerida pra cadeias mais curtas das duplas hélices. Esta correlação indica que o amido com alto conteúdo de amilose tem maior região amorfa e perde região de cristalinidade a menor temperatura de gelatinização (SINGH et al., 2003).

Geralmente, segundo Elfstrand et al. (2004), durante a análise de DSC das dispersões de amido/água, uma larga distribuição na transição endotérmica indica heterogeneidade cristalina, onde menos cristais estáveis derretem em uma temperatura baixa e os cristais restantes derretem a temperaturas mais altas, o que indica uma dependência entre o comprimento das cadeias e as temperaturas de transição e entalpia de fusão. Cadeias externas mais longas de moléculas de amilopectina fornecem altos valores de entalpia de fusão.

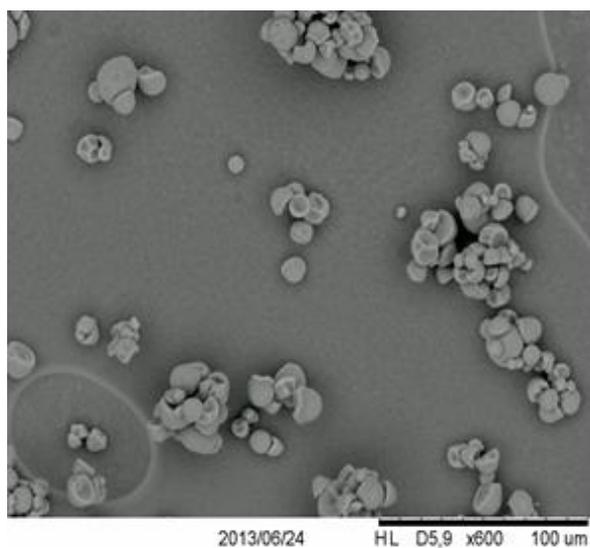
De acordo com Yoo e Jane (2002), a ocorrência de uma única endoterma no gráfico apresentado pelo DSC dos amidos indica que não há amilose complexada com lipídios. A presença desta, provocaria uma fusão com uma endoterma na faixa de temperatura de 91-100°C. Fato já esperado, pois amidos de raízes e tubérculos apresentam quantidades muito baixas de lipídios. Como mencionado anteriormente, não foi detectado a presença de matéria graxa no amido de mandioca (Tabela 11). O valor desta endoterma foi de 14,47 kJ kg<sup>-1</sup>, superior a endoterma do amido de mandioca encontrado por Peroni (2003), de 13,73 kJ kg<sup>-1</sup>. Possivelmente essa diferença de entalpia seja devido ao aumento da entalpia necessária ao evento, sugerindo um aumento nas características cristalinas do material, o que poderia ser justificado pela diferença nos conteúdos de amilose e amilopectina do amido de mandioca utilizadas, pois a sua cristalinidade está associada com a presença da amilopectina, sendo necessária maior energia à medida que o teor de amilopectina é maior do que o amido obtido por Peroni. E o amido, mesmo sendo da mesma espécie, depende da qualidade do solo, chuvas, plantio e outros.

### 5.1.7 Microestrutura

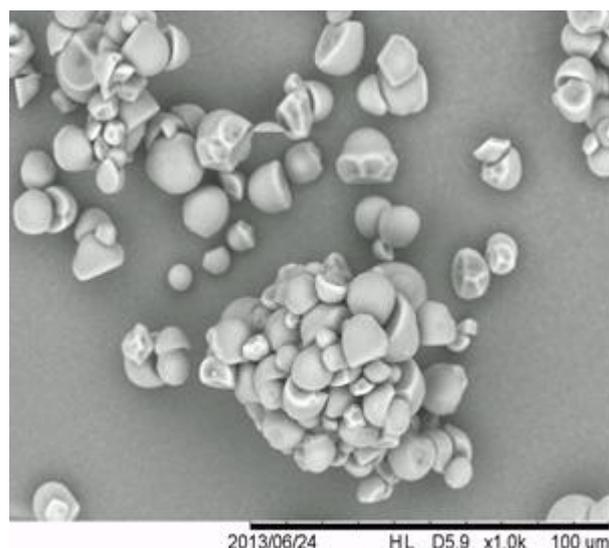
Os grânulos de amido de mandioca nativo observados por MEV têm sua morfologia externa apresentada na Figura 30, onde os grânulos podem ser observados com um aumento de 600, 1000, 1500, 2500 e 4000 vezes.

Os grânulos apresentaram morfologia arredondada, as vezes truncadas, alguns aglomerados, e alguns grânulos côncavo-convexos característicos, características também observadas por Henrique et al. (2008), e Jane et al. (1994). Segundo Amante (1986), o tamanho e a forma dos grânulos de amido variam com a espécie e a distribuição de tamanho varia com o estágio de desenvolvimento da planta e forma de tuberização, podendo ainda se diferenciar entre variedades.

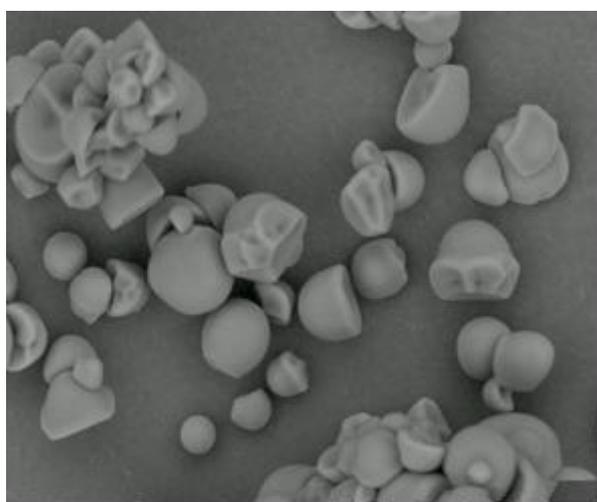
Sriroth et al. (1999), observaram a influência do tempo de colheita da mandioca com relação a estrutura dos grânulos de amido em diferentes cultivares. Foi evidenciado através da análise de tamanho de grânulos de amido, que a distribuição de tamanho dos grânulos foi afetada pela idade da raiz. Leonel (2007), analisando amido de diferentes fontes botânicas, observou amidos com uma estrutura muito semelhante à observada neste trabalho.



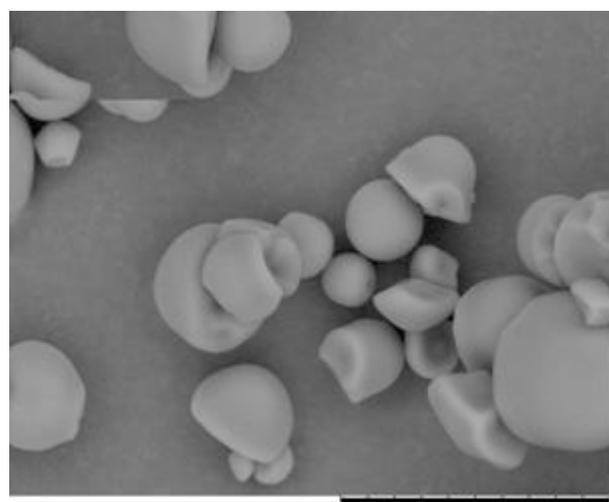
a-600x



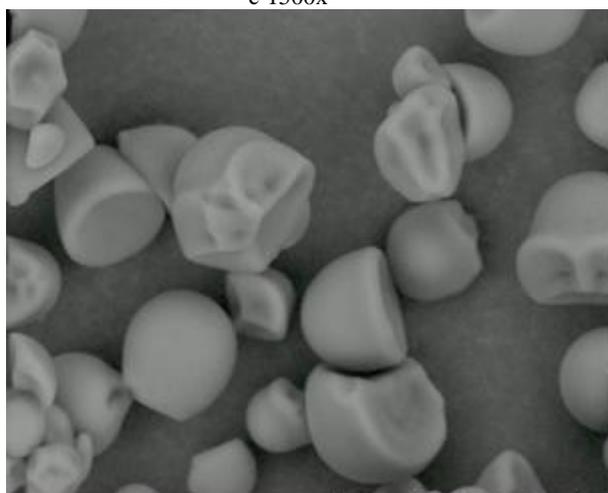
b-1000x



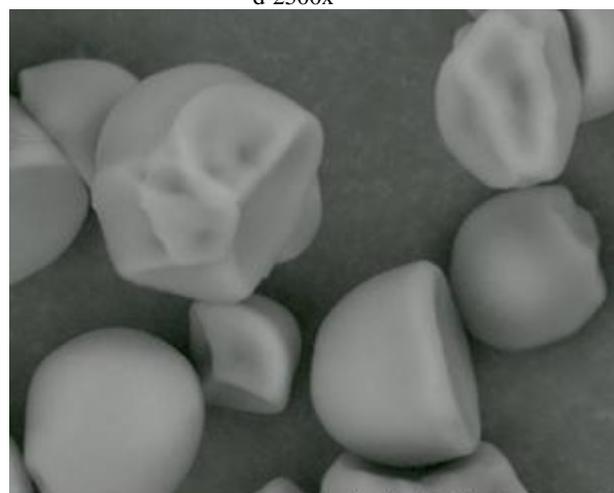
c-1500x



d-2500x



e-2500x

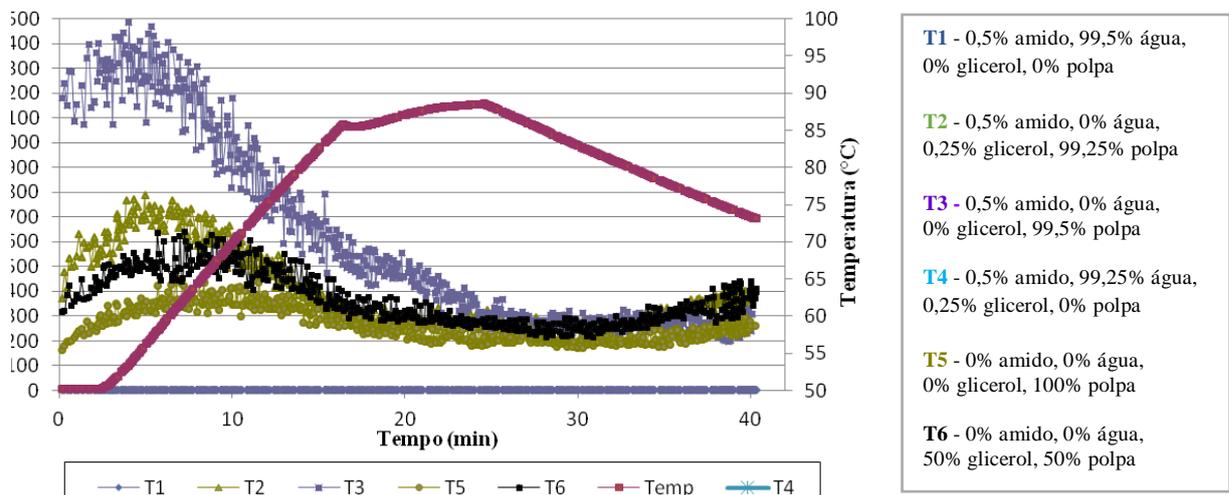


f-4000x

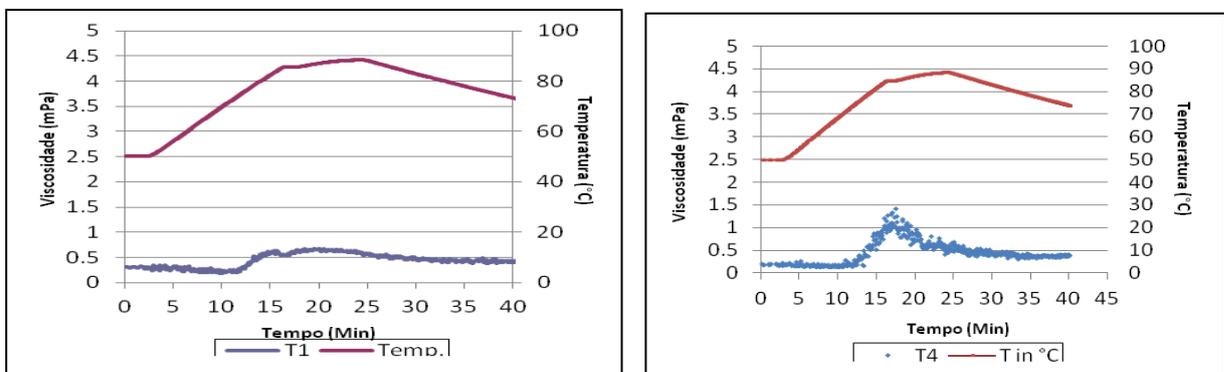
**Figura 30.** Micrografias do amido de mandioca obtidas através de microscopia eletrônica de varredura (MEV) do amido de mandioca: **a.** 600x; **b.** 1000x; **c.** 1500x; **d.** 2500x; **e.** 2500x; **f.** 4000x.

O comportamento da viscosidade das amostras (T1) amido de mandioca e água, (T2) amido de mandioca, polpa de acerola e glicerol, (T3) amido de mandioca polpa de acerola, (T4) amido, água e glicerol, (T5) polpa de acerola, (T6) polpa de acerola e glicerol. sob variadas condições de temperatura é apresentado na Figura 31. Pode-se observar que na presença de polpa, as amostras T2, T3, T5 e T6, evidenciaram um aumento na viscosidade durante os primeiros 5 minutos à 50 °C e após, diminuindo progressivamente até os 30 min de análise enquanto a temperatura aumentava para 83°C, mostrando ligeira recuperação enquanto a temperatura diminuía. Este efeito provavelmente surgiu como resultado de uma organização inicial das cadeias poliméricas sob cisalhamento.

Destas amostras, para T2 (amido, polpa e glicerol) e T6 (polpa e glicerol), ficou evidenciado que a presença de glicerol pouco influenciou no aumento da viscosidade, provavelmente o pouco aumento da viscosidade constatado foi devido ao amido, mesmo em baixa concentração que interagiu com a polpa. Nas amostras T3 (amido e polpa) e T5 (polpa), a interação entre o amido e a polpa influenciando o aumento da viscosidade ficou ainda mais evidente, pois o aumento é drástico na amostra (T3) com a adição de apenas 0,5% de amido no perfil da viscosidade em relação à mesma amostra sem o amido (T5).

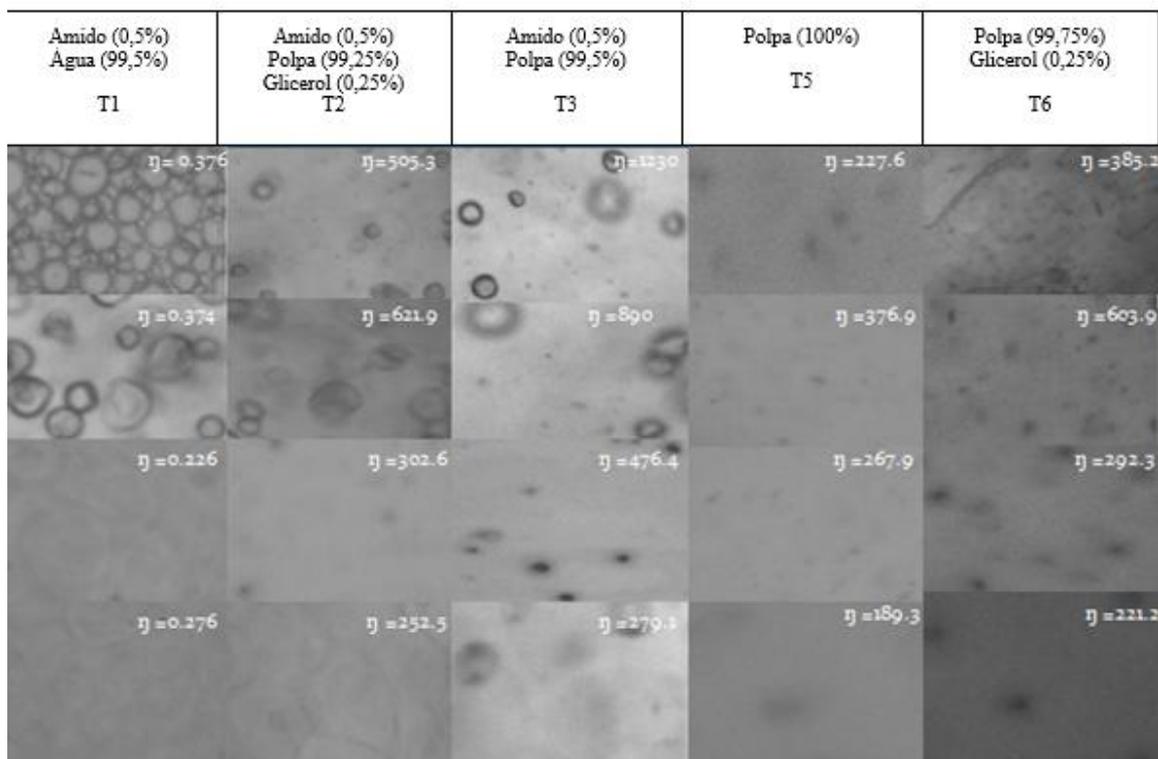


**Figura 31.** Curva de Tempo versus Viscosidade da suspensão de amido de mandioca com polpa de acerola e glicerol: (T1) amido de mandioca e água, (T2) amido de mandioca, polpa de acerola e glicerol, (T3) amido de mandioca polpa de acerola, (T4) amido, água e glicerol, (T5) polpa de acerola, (T6) polpa de acerola e glicerol.



**Figura 32.** Curva de Tempo versus Viscosidade da suspensão de amido de mandioca : amido de mandioca e água (T1), amido de mandioca, água e glicerol (T4).

As amostras T1 (amido de mandioca e água) e T4 (amido de mandioca, água e glicerol) apresentaram viscosidade muito baixa ao longo de todo perfil de temperatura. Isto pode ser atribuído ao baixo teor de amido presente nas amostras (0,5%), sendo insuficiente para que os grânulos ao incharem contribuíssem para o aumento da viscosidade. Na Figura 32, ficou evidenciado (T4) apenas um pico de aumento de viscosidade em torno de 1,4 mPa aos 18 min de análise aos 83 °C. Isto se deve provavelmente à fusão do glicerol (T4).



**Figura 33.** Imagens do fenômeno de gelatinização do amido de mandioca e a sua interação com a polpa de acerola e glicerol.

As imagens do processo de aquecimento das amostras em excesso de água de forma a mostrar o fenômeno de gelatinização do amido das amostras estão apresentadas na Figura 33, nos tempos 1, 11, 19 e 29 min e temperaturas de 50, 71, 86 e 84 °C. Os amidos foram caracterizados pela presença de formas arredondadas contrastantes (grânulos), no início da análise, particularmente quando processado com água. Provavelmente, devido à diluição, formas de amido foram escassas, quando misturado com glicerina e polpa de acerola. Não foram observadas formas claras para a polpa e água, enquanto que quando o glicerol foi adicionado pronunciadas estruturas longas e finas foram sendo evidenciadas, provavelmente devido à presença de fibras (hidrocolóides) opticamente melhoradas pelo glicerol.

Por aquecimento contínuo e cisalhamento, grânulos de amidos expandiram até o desaparecimento da sua forma inicial após 15-20 minutos, dependendo da presença do agente plastificante. Um trabalho semelhante foi realizado por Tan et al. (2008), com os amidos de cereais. Eles observaram que os grânulos maiores absorveram plastificante antes dos grânulos menores, o que também foi observado neste estudo.

A polpa de acerola contém uma concentração substancial de hemiceluloses (Farias et al., 2012) o que tem contribuído para aumentar a viscosidade em baixa temperatura no estudo. Sabe-se que a hemicelulose, como a pectina, é utilizada como agente espessante e que as longas moléculas podem entrelaçar a baixa temperatura (BEMILLER, 2001).

De acordo com Pelegrine (1999), como a maioria das polpas de frutas apresenta-se na forma de sólidos dispersos em meios líquidos, a temperatura torna-se um dos fatores que mais afetam sua viscosidade. Um aumento da temperatura faz com que a viscosidade da fase líquida diminua, aumentando o movimento das partículas em suspensão, causando um decréscimo na viscosidade da polpa. Segundo Queiroz (1998) e Silva (2000), considerando que os fatores teor de sólidos e temperatura afetam o comportamento reológico das polpas de frutas, pode-se atribuir seu comportamento incomum às fibras longas presentes nesse material, não fragmentadas por ocasião do despulpamento. Essas fibras se entrelaçariam durante a deformação, formando fios que dificultariam o escoamento do material, opondo forças de arraste ao movimento, aumentando a viscosidade no início da análise (T5).

Azoubel et al. (2005) avaliaram o efeito da concentração sobre a viscosidade do suco de caju, à 30°C, para teores de sólidos solúveis na faixa de 5,5 a 25 °Brix, observando que houve um aumento da viscosidade em função do conteúdo de sólidos. De acordo com Constenla, Lozano e Crapiste (1989), a viscosidade da solução é uma função das forças intermoleculares e interações entre água e soluto que acabam por restringir o movimento molecular. Quanto mais solutos estão dissolvidos na solução, maior é a viscosidade, devido a um aumento nas ligações de hidrogênio entre as moléculas de água e soluto.

De acordo com Torley e Van Der Molen (2005) tipos diferentes de açúcares divergem no seu efeito sobre a gelatinização do amido, e as suas misturas têm um efeito que é em grande parte proporcional à concentração dos açúcares presentes. Parece que as vitaminas e hidrocolóides de polpa de acerola afetaram a gelatinização do amido. Este efeito foi reduzido pela presença de glicerina, que pode formar ligações fortes com moléculas de água evitando a solubilização de hidrocolóides.

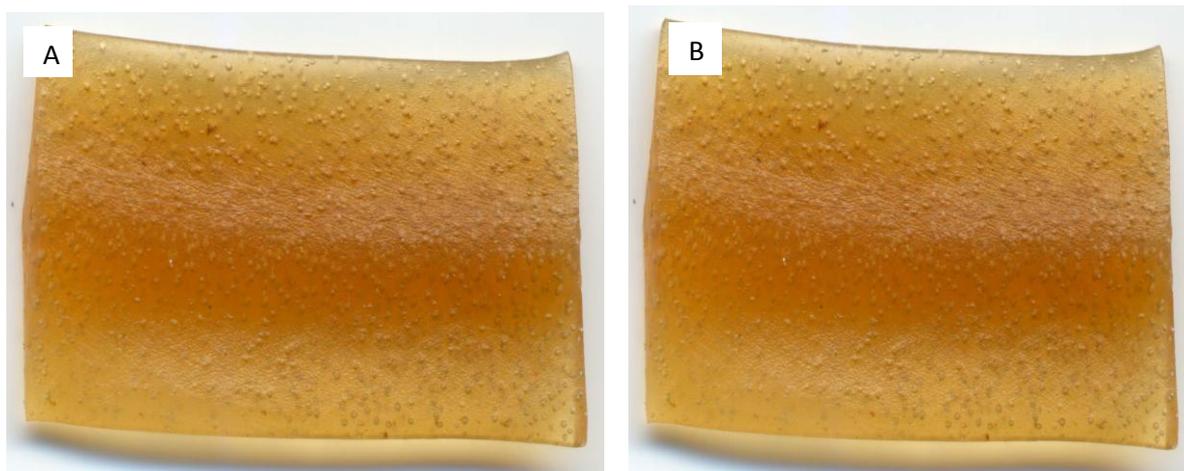
## **5.2 Resultados Preliminares**

### **5.2.1 Caracterização dos filmes obtidos em extrusora monorosca e termoprensagem**

Foram realizados testes preliminares com o objetivo de avaliar o comportamento das matérias-primas utilizadas, em um sistema mais simples de extrusão de rosca simples na formação de filmes. A principal limitação deste sistema é a incorporação de líquidos, neste caso proveniente da polpa. Dessa forma, não foi possível adicionar maior teor de polpa ao amido, o que poderia ser resolvido com o uso do sistema de extrusão de dupla rosca, já que este permite bombeamento de líquidos.

#### **5.2.1.1 Análise visual**

Foram obtidos *pellets* com aproximadamente 1 mm de espessura e 25 mm de largura (Figura 34). À base amido de mandioca adicionou-se o percentual de polpa de acerola e glicerol, conforme o item 4.2.4.1 Baseado nos resultados obtidos dos ensaios preliminares pôde-se concluir que a formulação contendo amido de mandioca (70%), polpa de acerola (15%) e glicerol (15%) foi a formulação que originou filmes com melhor aspecto visual, melhor comportamento táctil e mecânico.



**Figura 34.** *Pellet* de amido de mandioca e polpa de acerola (A), e *pellet* de amido de mandioca, polpa de acerola e glicerol (B).

Os *pellets* foram prensados e os filmes resultantes (Figura 35), apesar de mostrarem-se de fácil manuseio e com boa transparência e translucidez, apresentaram-se com uma aparência pouco uniforme, rugoso nas extremidades, com flexibilidade variável de acordo com a presença do plastificante, com presença microbolhas. Observa-se que os filmes são translúcidos e que aquele sem glicerol apresentou coloração mais escura que o filme com glicerol. Isso pode ser atribuído simplesmente ao maior teor de polpa nos filmes sem glicerol.

De acordo com Sebio (2007), o fenômeno de plastificação hipoteticamente pode ter ocorrido devido ao teor de glicerol, água, cisalhamento e temperatura serem fatores que provocariam a fusão da matriz polimérica conduzindo à formação de uma pasta plástica viscosa e homogênea ou o alinhamento das moléculas ou agregados poliméricos devido ao escoamento progressivo laminar formando camadas paralelas superpostas. E até mesmo, o resfriamento da pasta polimérica na matriz comprida, fixa as estruturas e dá um formato final plastificado.



**Figura 35.** Imagem digitalizada dos filmes de amido de mandioca e polpa de acerola sem glicerol (A), e filme de amido de mandioca, polpa de acerola e glicerol (B).

### 5.2.1.2 Espessura

A espessura dos filmes elaborados no ensaio preliminar (extrusora monorosca), de acordo com as diferentes concentrações propostas foram  $0,347^a \pm 0,05$  mm para o filme de amido de mandioca e polpa de acerola (A) e  $0,377^b \pm 0,09$  mm para o amido de mandioca com polpa de acerola e glicerol (B). No presente trabalho, a variação de percentuais dos componentes da formulação resultou em materiais com diferentes espessuras (teste de tukey,  $p \leq 0,05$ ). Isto é importante para permitir a comparação das diversas propriedades dos filmes elaborados, uma vez que se sabe que a espessura apresenta forte interferência na resposta. Desta forma, as possíveis diferenças encontradas nas respostas podem ser devidas não só a formulação, mas ao efeito da diferença na espessura dos filmes.

Wang et al. (2010) com filmes produzidos com variável teor de purê de cenoura, carboximetilcelulose (CMC), amido de milho, gelatina e glicerol, verificaram que a espessura dos filmes variou de 0,099 a 0,238 mm. No entanto estes autores não relacionaram a variação da composição com o aumento da espessura, não sendo possível identificar o componente da mistura que levou a essas diferenças.

Sothornvit (2007) estudando filmes exclusivamente elaborados com purê de manga, obteve a espessura média de 0,170 mm, resultado inferior a espessura dos filmes obtidos no presente estudo, provavelmente devido ao maior teor de amido utilizado.

A interação de polpa de acerola e glicerol deve ter provocado um pequeno aumento na espessura dos filmes, o que também foi observado por vários autores (SHIMAZU et al., 2007; FAKHOURI, 2003). Estes últimos, trabalhando com filmes de gelatina plastificados com triacetina, verificaram o aumento da espessura em função do aumento do plastificante.

Por outro lado, Laohakunjit e Noomhorm (2004) em estudo de filmes de amido de arroz, observaram que a espessura não sofreu influência da concentração de glicerol, mas foi influenciada pela concentração de amido.

### 5.2.1.3 Ensaios mecânicos

#### 5.2.1.3.1 Tensão na ruptura no teste de tração

De acordo com os resultados nos testes preliminares da análise de tensão na ruptura no teste de tração os valores médios obtidos para os filmes de amido de mandioca com adição de polpa de acerola foi de  $11,88 \pm 0,09$  MPa (A) e para os filmes de amido de mandioca com adição de polpa de acerola e glicerol (B) foi  $0,696 \pm 0,03$  MPa. Observa-se que adição de glicerol à formulação, provocou uma redução drástica da tensão na ruptura dos filmes, conforme pode ser visto na formulação B. Isso porque o glicerol possui a capacidade de reduzir as interações entre as cadeias poliméricas, aumentando o espaço entre as cadeias, promovendo maior mobilidade molecular (MALI et al., 2010) reduzindo a tensão na ruptura dos filmes.

Resultado similar foi obtido por Wang et al. (2010) trabalhando com filmes de purê de cenoura, carboximetilcelulose (CMC), amido de milho, gelatina e glicerol. Os autores encontraram resultados variando de 5,06 a 11,73 MPa e observaram a melhora na tensão na tração com a elevação da concentração de amido de milho e a redução da tensão da mesma com o aumento do teor de glicerol nos filmes.

Ziani et al. (2008) elaboraram filmes de quitosana sem glicerol e verificaram que a ausência deste plastificante favoreceu o aumento da tensão na tração. Assim, a presença de glicerol em filmes de quitosana resultou em uma diminuição da tensão na tração em torno de 65%. Lima et al. (2007) verificaram que a tensão na tração para filmes de alginato puro aumentou de 18 para 49 MPa com a redução na concentração de sorbitol de 30 para 0%.

Sothornvit e Pitak (2006) trabalhando com filmes com farinha de banana observaram que o aumento da concentração de farinha de banana ajudou a melhorar a resistência dos filmes, o que o autor atribuiu ao maior teor de polissacarídeos presente na estrutura do filme.

Romero-Bastida et al. (2005), estudando filmes com amido de banana e manga adicionados de 50% de glicerol encontraram 25 e 19 MPa de tensão na tração, respectivamente. McHugh e Olsen (2004) analisando filmes de purês de maçã, pêsego, cenoura e brócolis sem a adição de glicerol relataram valores de 0,7; 1,8; 5,3 e 0,7 MPa, respectivamente.

Sothornvit e Rodsamran (2007) trabalhando com filmes de purê de manga obtiveram 1,2 MPa de tensão na tração, da mesma maneira que Rojas-Grau et al. (2007) que encontrou 2,90 MPa em filmes de purê de maçã, alginato e glicerol.

#### 5.2.1.3.2 Deformação na ruptura no teste de tração

De acordo com os resultados preliminares da análise de deformação na tração, os valores obtidos para os filmes de amido de mandioca com adição de polpa de acerola foi de  $1,83 \pm 0,02\%$  (A) e para os filmes de amido de mandioca com adição de polpa de acerola e glicerol foi  $3,52 \pm 0,07\%$ . (B). Nota-se que a presença de glicerol (ensaio B), aumentou a deformação na tração dos filmes, devido a capacidade do glicerol em reduzir as interações entre as cadeias poliméricas, promovendo o aumento do espaço entre as cadeias, maior mobilidade molecular (MALI et al., 2010) favorecendo o aumento da deformação.

Wang et al. (2010) trabalhando com filmes compostos de purê de cenoura, CMC, amido de milho, gelatina e glicerol, observaram que a concentração de CMC, amido de milho ou gelatina não apresentaram efeito significativo sobre a deformação na tração, mas a elevação da concentração de glicerol provocou o aumento. Os autores comprovaram que a adição de glicerol aos filmes aumentou a sua extensibilidade e reduziu a sua força mecânica.

Resultado semelhante ao presente estudo também foi encontrado por Vicentini (2003) trabalhando com filmes de amido de mandioca. A autora observou que a deformação aumentou linearmente de 3,28 para 7,34% e de 2,64 para 4,03% com incremento da concentração de glicerina e sorbitol, respectivamente.

Observa-se no presente estudo que a presença de glicerol favoreceu o aumento da deformação na tração dos filmes, isto provavelmente se deve a capacidade do glicerol em reduzir as interações entre cadeias poliméricas, diminuindo assim a resistência do filme e aumentando a flexibilidade (SOTHORNVIT e KROCHTA, 2000, 2001). Resultados semelhantes também foram relatados por Park et al. (1993) para os filmes à base de celulose, Gontard et al. (1993) para filmes de glúten de trigo e Sothornvit e Pitak (2006) trabalhando com filmes de banana.

McHugh e Olsen (2004) analisando filmes de purês de maçã, pêssego, cenoura e brócolis sem a adição de glicerol relataram valores de 11,8; 23; 7,3 e 4,1%, respectivamente, resultados superiores ao obtido no presente estudo. Possivelmente essa menor deformação nos filmes de acerola se relacione ao menor conteúdo de glicerol presente neste filme.

Romero-Bastida et al. (2005) estudando filmes com amido de banana e manga adicionados de 50% de glicerol encontraram 40 e 30% de deformação na tração, respectivamente e também encontraram valores maiores para os filmes adicionados com plastificante.

Sothornvit e Rodsamran (2008) trabalhando com filmes de purê de manga obtiveram 18,5% como resultado para deformação na tração, resultado superior ao valor obtido no presente estudo, isso possivelmente se deve ao alto teor de amido (70%) dos filmes de acerola em relação aos filmes de manga (4%), já que o teor de polissacarídeo segundo os autores aumenta a resistência e reduz a deformação dos filmes.

### **5.2.1.3.3 Força de ruptura no teste de perfuração**

Os valores obtidos de força de ruptura na perfuração para os filmes de amido de mandioca com adição de polpa de acerola (A) foi de  $61,84 \pm 2,54$  N e para os filmes de amido de mandioca com adição de polpa de acerola e glicerol (B) foi  $3,94 \pm 0,72$  N. Observa-se que com a presença de glicerol houve uma redução da força na ruptura dos filmes.

O mesmo efeito também foi relatado por Sobral et al. (1998); Monterrey-Quintero e Sobral (2000) e confirmado por Mali (2002), que elaborou filmes com 3,3% de amido de cará e espessura de 0,07 mm. Este autor observou que o aumento da concentração de glicerina de 1,3 para 2% causou a redução da força na ruptura da perfuração de 8,02 para 6,03N. O mesmo foi verificado por Vicentini (2003) quando observou que o incremento de glicerina, sorbitol e dietilenoglicol de 10 para 25% provocou uma redução linear da força de ruptura na perfuração de 7,25 para 4,28 N, de 10,04 para 8,45 N e de 7,02 para 4,16 N, respectivamente.

O efeito do plastificante reduzindo a força de ruptura na perfuração também pode ser explicado conforme descrito acima: à capacidade do plastificante em reduzir as interações entre cadeias poliméricas, diminuindo assim a resistência do filme e aumentando a flexibilidade (SOTHORNVIT e KROCHTA, 2000, 2001).

#### 5.2.1.3.4 Deformação no teste de perfuração

Os valores de deformação na ruptura obtidos para os filmes de amido de mandioca com adição de polpa de acerola (A) foram de  $4,183^a \pm 0,17$  % e para os filmes de amido de mandioca com adição de polpa de acerola e glicerol (B) foi  $4,354^b \pm 0,58$  %. Nota-se que a redução da concentração de polpa e a adição de glicerol favoreceram o aumento da deformação na perfuração dos filmes (formulação B). Possivelmente devido a redução das interações e ao aumento do espaço entre as cadeias poliméricas, promovendo maior deformação.

No presente estudo foi evidenciada a capacidade do plastificante em aumentar a deformação na ruptura dos filmes no teste de perfuração. O que também foi comprovado por Vicentini (2003); Monterrey e Sobral (1999).

Rojas-Grau et al. (2007) obteve 51,06% de deformação na perfuração em filmes elaborados com purê de maçã, alginato e glicerol. Este resultado é bastante superior ao obtido no presente estudo. Esta diferença pode ser devida ao menor teor de amido deste estudo em relação ao presente, uma vez que maior teor de amido confere maior resistência e menor deformação do que os filmes sem adição de amido, como nos filmes de purê de maçã.

#### 5.2.1.4 Medida de opacidade

Os resultados experimentais da análise de opacidade dos filmes de amido de mandioca e polpa de acerola (T1) e dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e glicerol (T2) elaborados neste estudo foram de  $1,57^a \pm 0,11$  e  $1,89^b \pm 0,03$ , respectivamente. Foi evidenciado diferença na opacidade dos filmes (teste de tukey,  $p \leq 0,05$ ), possivelmente relacionada à diferença nas espessuras  $0,347^a$  (A) e  $0,377^b$  mm (B). Segundo Davaço (2006) o grau de transparência do filme tem relação direta com a estrutura química e à massa molecular do material, portanto dependerá da estrutura do polímero utilizado (a cristalinidade é diretamente proporcional a opacidade) e de sua espessura (MALI, 2004; CRIPPA, 2006). Fato justificado neste estudo pela maior opacidade no filme com maior espessura

Os valores deste estudo para análise de opacidade foram similares aos encontrados por Ramos et al. (2006), os quais trabalharam com filmes de gelatina com 50% de glicerol (1,47), para filmes sintéticos de polipropileno orientado sem glicerol (1,67) e para filmes de poliéster sem glicerol (1,51) e também por Jongjareonrak et al. (2006), os quais trabalharam com filmes de gelatina com 50% de glicerol (1,82).

Cao et al. (2007), utilizando filmes de isolado proteico de soja e gelatina, observaram que os valores variaram de 1,184 a 5,676.

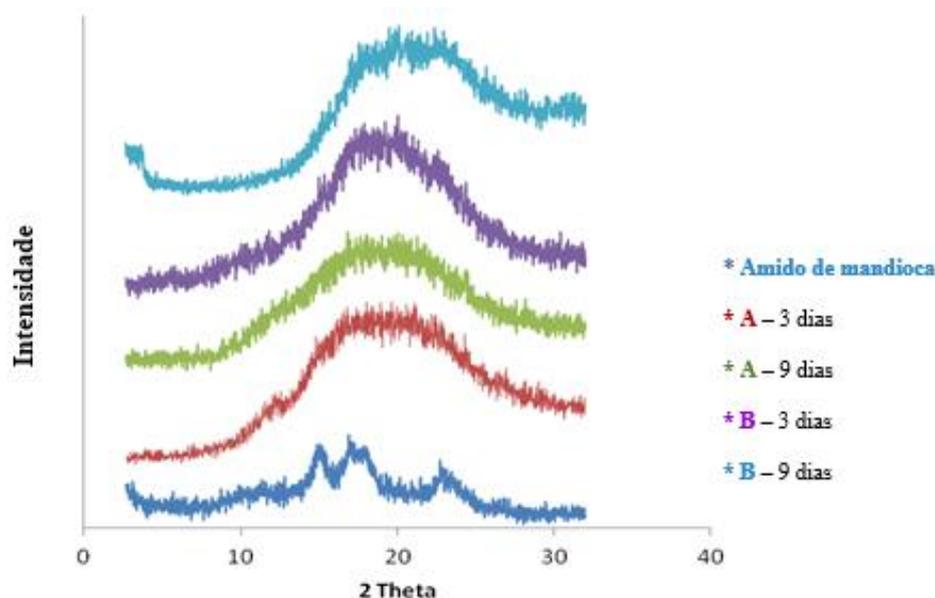
Mali (2004) observou, em filmes de amido de inhame, que a opacidade sofreu influencia do efeito linear da espessura e da interação do teor de glicerol com a concentração de amido. O aumento da espessura provocou a elevação da opacidade dos filmes.

Sobral et al. (2004) observaram, em filmes constituídos de proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas do músculo de tilápia-do-Nilo, que o aumento da concentração de glicerol provocou a redução da diferença de cor e da opacidade dos filmes, talvez pelo efeito da diluição provocado pelo glicerol, por ser um produto incolor e transparente (PASCHOALICK et al., 2003).

### 5.2.1.5 Cristalinidade dos filmes

Os resultados preliminares da análise de difração de raios X do amido de mandioca nativo, dos filmes elaborados com amido de mandioca e polpa de acerola (A), dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e glicerol (B), com 3 dias e dos filmes (A) e (B) com 9 dias de condicionamento em condições de umidade e temperatura controladas, estão dispostos na Figura 36.

Como já comentado anteriormente, o padrão de cristalinidade dos grânulos de amido de mandioca nativo apresentou picos de maior intensidade em  $2\theta$  de  $15^\circ$ ;  $17^\circ$ ;  $18^\circ$ ,  $23^\circ$  e  $27^\circ$ . Este padrão é semelhante ao da difração do amido tipo A de acordo com Marcon et al. (2009).



**Figura 36.** Difratogramas de amido de mandioca, filme de amido de mandioca e polpa de acerola (A) e amido de mandioca, polpa de acerola e glicerol (B), com 3 dias e 9 dias.

Pode-se observar através da análise de difração de raios X realizada, que o amido de mandioca nativo evidenciou picos característicos da presença de cristais de amilose e amilopectina.

Os difratogramas obtidos para os filmes (A e B) (Figura 38) não apresentaram nenhum padrão de cristalinidade no tempo 3 dias, ou seja, nenhuma cristalinidade residual foi observada, indicando que durante o processamento os cristais nativos foram completamente fundidos. Isto justifica que a combinação da temperatura, da pressão e do cisalhamento utilizados foram suficientes para romper a estrutura dos grânulos de amido. Porém, foi evidenciado um aumento no perfil de cristalinidade no filme B no tempo 9 dias, demonstrando 6,7% de aumento da zona cristalina, passando de 27,8 % a 34,5 %, nos tempos 3 e 9 dias, respectivamente. Isso indica um certo grau de envelhecimento, tendo em vista que filmes de amido tendem a cristalizar durante o envelhecimento, ocasionando um aumento da rigidez do mesmo (JIMÉNEZ et al., 2012).

Em filmes de amido de milho puro, há evidências que o processo de recristalização também contribuiu para a redução da capacidade de estiramento, aumento da rigidez e da dureza do filme (MALI et al., 2010). Além disso, ocorrem outras implicações práticas como o decréscimo da permeabilidade aos gases (MAIA; PORTE; SOUZA, 2000), da PVA. Isto acontece porque uns números maiores de interações acontecem e reforçam as ligações de hidrogênio entre as cadeias do amido (GARCIA; MARTINO; ZARITZKY, 2000).

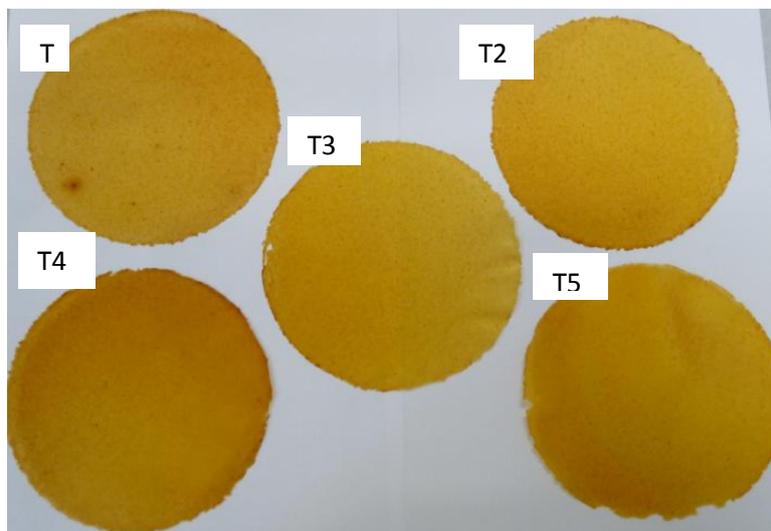
Foi observado neste estudo que a região cristalina do amido se situa no intervalo de 20°, fato também relatado anteriormente por Chen, Kuo e Lai, (2009); Famá, Rojas, Goyanes e Gerschenson (2005).

### 5.3 Caracterização dos filmes obtidos por *casting*

#### 5.3.1 Aspecto visual

Inicialmente foram realizados ensaios, utilizando-se a técnica laboratorial de *casting* para seleção do teor de plastificante e das concentrações de OEC para serem usados na técnica piloto de extrusão e termoprensagem. Os biofilmes produzidos por *casting* apresentaram bom aspecto visual, visualmente transparentes, homogeneidade, brilho e flexibilidade sendo facilmente removidos das placas de secagem. Não foi evidenciada a presença de rachaduras, partículas insolúveis ou de bolhas visíveis nos filmes, com exceção do filme (T5) que foi elaborado sem plastificante, tornando-se frágil e quebradiço, provavelmente este efeito tenha sido resultado da ausência do plastificante na matriz amilácea (JANGCHUD e CHINNAN, 1999). Os biofilmes elaborados com 7,5% de glicerol e 22,5% de OEC (T4) formaram uma matriz mais rígida, apresentando maior dificuldade de descolamento da placa.

Na Figura 37 é apresentado o aspecto visual dos filmes elaborados por *casting* e na Figura 38 do filme T2.



**Figura 37.** Filmes elaborados pela técnica *casting* (T1: 4% de amido, 34,54% de polpa de acerola, 30% de glicerol, 0% de OEC; T2: 4% de amido, 34,54% de polpa de acerola, 22,5% de glicerol, 7,5 de OEC; T3: 4% de amido, 34,54% de polpa de acerola, 15% de glicerol, 15% de OEC; T4: 4% de amido, 34,54% de polpa de acerola, 7,5% de glicerol, 22,5% de OEC; T5: 4% de amido, 34,54% de polpa de acerola, 0% de glicerol, 30% de OEC).

Em função da análise visual dos filmes elaborados por *casting* (aspecto homogêneo, ausência de bolha, rachaduras, fissuras, partículas insolúveis, boa maleabilidade e fácil descolamento das placas) e através da propriedade *desejabilidade* (filme desejável, nas condições pré-estabelecidas como ideais (Figura 38) discutido *a anteriori* no item 4.2.6.1 foi selecionado o tratamento ideal ou desejável para reprodução em escala industrial, ou seja, por extrusão termoplástica.



**Figura 38.** Filme elaborado *casting* (ensaio 2)

### 5.3.2 Espessura

Os resultados de espessura para as formulações de filmes elaborados por *casting* com amido de mandioca e polpa de acerola com diferentes teores de glicerol e OEC estão apresentados na Tabela 18.

As espessuras dos filmes elaborados por *casting* nas diferentes formulações variaram de 0,175 mm a 0,195 mm. A incorporação dos diferentes teores do aditivo (OEC) na matriz plastificada com glicerol em diferentes concentrações não resultou em alteração significativa ( $p \leq 0,05$ ) na espessura dos biofilmes, quando comparados ao filme sem OEC. Não foi evidenciado diferença estatisticamente significativa entre as médias dos tratamentos.

**Tabela 18.** Espessura dos filmes elaborados por *casting*.

Ensaio	Glicerol (%)	OEC* (%)	Espessura (mm)
1	30	0	0,175 ± 0,01 <sup>a</sup>
2	22,5	7,5	0,185 ± 0,01 <sup>a</sup>
3	15	15	0,178 ± 0,01 <sup>a</sup>
4	7,5	22,5	0,181 ± 0,01 <sup>a</sup>
5	0	30	0,195 ± 0,01 <sup>a</sup>

\* óleo essencial de cravo / Média±desvio-padrão / Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

O controle da espessura é importante para a uniformidade dos filmes, para a repetitividade das medidas das propriedades e validação das comparações entre as propriedades dos filmes. Variações na espessura de um material podem afetar suas propriedades mecânicas e de barreira, comprometendo o desempenho da embalagem (SARANTÓPOULOS, 2002; OLIVEIRA et al.,1996). É um parâmetro que influencia as propriedades dos filmes (CUQ et al., 1996<sup>a</sup>).

Valores de espessura estatisticamente iguais para todos os tratamentos também foi observado por Souza et al. (2012) em filmes de amido de mandioca (4%), contendo polpas de manga e de acerola (0 a 20%) plastificadas com sacarose e açúcar invertido (0,7 e 1,4%, respectivamente) e por Moradi et al. (2012) em filmes de quitosana com óleo essencial de tomilho e extrato de semente de uva. Os autores obtiveram valores de espessura inferiores (0,123 a 0,140 mm e 0,07 e 0,08 mm, respectivamente) às relatadas neste estudo. Esta diferença possivelmente se deva a menor massa de solução filmogênica (28,06 a 40,83 g) com relação a utilizada neste estudo (41,7 g). Segundo Andrade (2013), a concentração das matérias-primas utilizadas pode interferir na espessura dos filmes formados, pois soluções mais viscosas tendem a formar filmes mais espessos.

Valores inferiores para espessura também foram obtidos por Almeida et al. (2013) (0,020 a 0,078 mm) para filmes compostos por blenda de amido de batata e celulose bacteriana e por Rojas-Grau et al. (2007) em filmes elaborados com purê de maçã, alginato, glicerol e óleos essenciais de orégano, capim-limão e canela. Os autores observaram que a presença dos óleos não causou efeito significativo na espessura dos filmes.

Shimazu et al. (2007), em filmes elaborados por *casting* com amido de mandioca (3% amido/ solução filmogênica) e teores de glicerol (0, 5, 10, 15, 30 e 40%/ amido), observaram a variação na espessura dos filmes com o aumento gradual proporcional ao aumento do plastificante. Resultado contrário ao deste estudo, provavelmente devido à substituição do glicerol pelo OEC na mesma proporção, mantendo assim a mesma massa constante de "plastificante" em todos os tratamentos.

### 5.3.3 Umidade e sólidos totais

Os resultados da análise de umidade para as formulações de filmes elaborados por *casting* com amido de mandioca e polpa de acerola com diferentes teores de glicerol e OEC estão apresentados na Tabela 17. As variações nos teores de umidade nos diversos tratamentos foram de 11,84% a 15,16%.

Embora os valores sejam próximos, foi constatada diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos. Sendo assim, ficou evidenciado que os tratamentos 4 e 5; 2 e 3; 1 e 2 são similares entre si.

Pode-se observar que o decréscimo da concentração do glicerol influenciou a redução da umidade dos filmes. Já o aumento proporcional do teor de OEC provavelmente não atuou na redução da umidade dos filmes elaborados por *casting*, possivelmente devido a sua hidrofobicidade. Segundo Mali et al. (2004), a interação entre os aditivos incorporados e o tipo de plastificante utilizado pode influenciar no aumento ou redução da umidade dos filmes de amido. Fato também observado neste estudo, com o aumento da concentração do glicerol, tendo em vista a constância do teor de polpa em todos os tratamentos.

Os teores de umidade dos filmes sem OEC (controle) foram semelhantes aos obtidos por Machado et al. (2012) com valores de umidade entre 15,50 e 18,78%, para filmes de amido de mandioca com nano celulose e extrato de erva-mate.

As variações nos teores de sólidos totais dos filmes elaborados por *casting* variaram de 84,83 a 88,16% (Tabela 19).

**Tabela 19.** Teor de umidade e sólidos totais dos filmes elaborados por *casting*.

Ensaio	Glicerol (%)	OEC* (%)	Umidade (%)	Sólidos Totais (%)
1	30	0	15,16±0,17 <sup>cd</sup>	84,84±0,17 <sup>ab</sup>
2	22,5	7,5	14,33±0,21 <sup>bc</sup>	85,67±0,21 <sup>bc</sup>
3	15	15	13,70±0,05 <sup>b</sup>	86,30±0,05 <sup>c</sup>
4	7,5	22,5	12,35±0,47 <sup>a</sup>	87,65±0,47 <sup>d</sup>
5	0	30	11,84±0,68 <sup>a</sup>	88,16±0,68 <sup>d</sup>

\* óleo essencial de cravo / Média±desvio-padrão / Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre alguns tratamentos (Tabela 18). Os tratamentos 1 e 2; 2 e 3; 4 e 5 foram semelhantes entre si. Nota-se que o decréscimo da concentração do glicerol provocou a elevação do teor de sólidos totais dos filmes (ensaio 1 e 5). Possivelmente este aumento do teor de sólidos totais com a redução do glicerol esteja relacionado à alta hidrofobicidade do glicerol. Por ele ser bastante hidrofílico, retém mais água no sistema. Assim a umidade do filme é maior e conseqüentemente o teor de sólidos é menor. A alta hidrofobicidade do glicerol também foi constatado por Mali et al., (2004); Shimazu; Mali; Grossmann, (2007).

Sothornvit e Rodsamran (2008) constataram o teor de sólidos totais médio de 92,04% em biofilmes obtidos a partir de purê de manga sem adição de plastificantes. Valor este superior ao encontrado nesse estudo, provavelmente isso se deva à ausência do plastificante, reduzindo a hidrofilicidade do filme (retendo menos água), elevando assim, a concentração de sólidos totais (MALI, 2010).

### 5.3.4 Permeabilidade ao vapor de água

De acordo com os resultados de PVA dos filmes elaborados por *casting* nas diferentes formulações, não houve diferença significativa (Tukey,  $p \leq 0,05$ ) entre eles (Tabela 20). O valor da permeabilidade ao vapor de água variou de 0,36 a 0,39  $\text{g}\cdot\text{mm}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{kPa}^{-1}$  dependendo da formulação.

**Tabela 20.** Permeabilidade ao vapor de água dos filmes elaborados por *casting*

Ensaio	Glicerol (%)	OEC* (%)	PVA ( $\text{g}\cdot\text{mm}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{kPa}^{-1}$ )
1	30	0	$0,36 \pm 0,03^a$
2	22,5	7,5	$0,39 \pm 0,02^a$
3	15	15	$0,36 \pm 0,03^a$
4	7,5	22,5	$0,36 \pm 0,01^a$
5	0	30	$0,37 \pm 0,01^a$

\* óleo essencial de cravo / Média  $\pm$  desvio-padrão / Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Os valores encontrados no presente trabalho foram menores que os valores de PVA encontrados por Martelli et al. (2013) em filmes à base de purê de banana ( $3,03 \text{ g}\cdot\text{mm}/\text{m}^2\cdot\text{h}\cdot\text{kPa}$ ), Rojas-Graü et al. (2006) em filmes de purê de maçã ( $7,04 \text{ g}\cdot\text{mm}/\text{m}^2\cdot\text{h}\cdot\text{kPa}$ ) e Azeredo et al. (2009) em filmes de purê de manga ( $2,66 \text{ g}\cdot\text{mm}/\text{m}^2\cdot\text{h}\cdot\text{kPa}$ ). Possivelmente, o menor valor da PVA obtido neste estudo se deva a presença de fibras insolúveis presentes na polpa de fruta, provocando alterações na estrutura e diminuição dos espaços livres na matriz polimérica dificultando a passagem do vapor, acarretando a redução nos valores de PVA (MULER et al., 2008). Outra explicação para isto pode estar relacionada à presença de material hidrofóbico (OEC) nos filmes que dificulta a permeação de vapores de água (PETERSSON e STADING; LODHA e NETRAVALI, 2005) resultando em menores valores de PVA.

Zhang e Han (2006) também obtiveram menor PVA (em relação aos filmes do presente estudo) em filmes de amido de ervilha, plastificados com glicose ou frutose. Isto pode ser justificado pela compatibilidade estrutural de mono ou dissacarídeos com o amido

promovendo a redução do volume livre e da movimentação das cadeias, resultando em menor permeabilidade.

Souza et al. (2012) trabalhando com filmes de amido de mandioca, polpas de manga e acerola, plastificada com sacarose e açúcar invertido, observaram um aumento nos valores de PVA em baixos percentuais de incorporação da polpa e a redução da permeabilidade com a incorporação de altos percentuais.

Os valores obtidos para os filmes do presente estudo foram maiores que os observados para filmes de polietileno de alta densidade (0,00079 g.mm/m<sup>2</sup>.h.kPa) e de baixa densidade (0,00310 g.mm/m<sup>2</sup>.h.kPa) (CUQ; GONTARD; GUILBERT, 1995). De acordo com Garcia; Martino; Zaritzky (2006), como a PVA depende da relação de componentes hidrofílicos-hidrofóbicos dos filmes, uma vez que a transferência de vapor de água geralmente ocorre através da porção hidrofílica do filme, substâncias pécticas e celulose presentes na polpa de acerola explicam a alta PVA dos biofilmes à base de frutas.

Embora os valores dos materiais produzidos neste estudo sejam extremamente superiores aos observados nos filmes sintéticos, sua indicação poderia ser para aplicação em produtos que não necessitem de elevada barreira ao vapor de água.

### 5.3.5 Atividade de água

Os valores de atividade de água obtidos para os filmes de amido de mandioca e polpa de acerola com concentrações variadas de glicerol e OEC elaborados por *casting* variaram de 0,63 a 0,64 (Tabela 21).

**Tabela 21.** Atividade de água dos filmes produzidos por *casting*.

Ensaio	Glicerol (%)	OEC* (%)	Atividade de água
1	100	0	0,63± 0,02 <sup>a</sup>
2	75	25	0,64± 0,02 <sup>a</sup>
3	50	50	0,63± 0,02 <sup>a</sup>
4	25	75	0,63± 0,03 <sup>a</sup>
5	0	100	0,64± 0,01 <sup>a</sup>

\* óleo essencial de cravo / Média±desvio padrão / Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

A comparação das médias, mostra semelhança entre os tratamentos, constatando que variações na concentração de OEC e glicerol, não influenciaram na atividade de água dos filmes desse estudo.

Resultado semelhante foi observado por Dantas et al. (2015) em filmes elaborados por *casting*, contendo amido de mandioca (4,5%), glicerol (1%) e polpas de manga, acerola e

seriguela (5 a 10%), os quais obtiveram valores para atividade de água, ligeiramente superiores ao deste estudo (0,66 a 0,70).

Farias et al. (2012), obtiveram resultados inferiores para atividade de água (0,50 a 0,56) em filmes elaborados por *casting*, compostos por amido de mandioca, polpa de acerola liofilizada e glicerol. Possivelmente essa diferença se deva à diferença de umidade relativa durante o armazenamento entre os estudos (UR de 53 e 60%), como também as características das matérias-primas (polpa liofilizada e *in natura*).

### 5.3.6 Propriedades Mecânicas

#### 5.3.6.1 Tensão, deformação e módulo de elasticidade na tração

Os parâmetros medidos em tensão na ruptura são resistência à tração na ruptura, alongação na ruptura e módulo de elasticidade ou de Young. Resistência à tração na ruptura exprime a tensão máxima desenvolvida em um filme durante o testes de tração (GENNADIOS et al., 1994). A alongação na ruptura é definida como a capacidade máxima de estiramento do filme antes da ruptura (PEREDA, AMICA e MARCOVICH, 2012). O módulo de elasticidade ou de Young é um indicador da rigidez dos filmes. Quanto maior o valor do módulo de Young, mais rígido é o material (ANDRADE, 2013).

De acordo com os resultados de tensão no teste de tração (Tabela 22), os valores obtidos para os filmes de amido de mandioca e polpa de acerola com concentrações variadas de glicerol e OEC elaborados por *casting* variaram de 0,116 a 8,198 MPa.

**Tabela 22.** Resultados de tensão, deformação e módulo de elasticidade no teste de tração dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e óleo essencial de cravo (OEC) elaborados por *casting*.

Ensaio	Glicerol (%)	OEC (%)	Tensão na Ruptura (MPa)	Deformação na Ruptura (%)	Módulo de Elasticidade (MPa)
1	30	0	4,079±0,06 <sup>b</sup>	11,305±1,05 <sup>b</sup>	278,18±33,54 <sup>a</sup>
2	22,5	7,5	5,399±0,61 <sup>c</sup>	11,318±0,67 <sup>b</sup>	375,34±91,62 <sup>a</sup>
3	15	15	8,198±1,38 <sup>d</sup>	9,258±6,25 <sup>b</sup>	932,20±171,14 <sup>b</sup>
4	7,5	22,5	2,979±0,18 <sup>b</sup>	0,058±0,02 <sup>a</sup>	398,37±233,96 <sup>a</sup>
5	0	30	0,116±0,01 <sup>a</sup>	0,118±0,02 <sup>a</sup>	298,61±15,31 <sup>a</sup>

\* óleo essencial de cravo / Média±desvio padrão / Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

No teste de tensão na tração foi evidenciada diferença significativa (p ≤ 0,05) entre os tratamentos. Foi constatado semelhança apenas entre os tratamentos 1 e 4.

Observa-se que as variações da concentração de OEC e do plastificante influenciaram nas propriedades de força na tração. A maior força foi obtida em filmes contendo proporção equimolar de glicerol e de OEC. Os menores valores foram em filmes sem plastificante, mas contendo alto teor de OEC (30%). Fato justificado através da perda de mobilidade macromolecular, ocasionada pelo elevado teor do óleo essencial de cravo, reduzindo a tensão e a deformação na tração dos filmes (SOUZA et al., 2013). Pois, talvez o óleo essencial esteja apresentando efeito antiplastificante na concentração utilizada, fato já evidenciado em alguns estudos com plastificantes como glicerol e sorbitol (MALI et al., 2010). Os autores avaliando filmes de amido de mandioca, glicerol, óleo essencial de canela, obtiveram resultados tendenciosos aos encontrados neste estudo, com a presença do óleo essencial, foi observada a redução da tensão e deformação dos filmes com relação ao controle.

Rojas et al. (2007), em filmes elaborados com purê de maçã (38° Brix), alginato, glicerol e óleo essencial de erva-cidreira, canela, orégano e citral, obtiveram os valores para tensão na tração variando de 2,47 a 2,84 MPa. Os autores observaram que a incorporação do óleo essencial causou uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) na tensão dos filmes. Efeito similar foi observado no presente trabalho em condições de alta concentração de OEC (acima de 22,5%). No entanto, em baixos teores de OEC (menores que 15%) foi observado efeito contrário; isto é, um aumento da tensão até 15% da concentração e após essa concentração, uma redução drástica da tensão. Os valores do presente estudo também foram superiores, demonstrando serem filmes mais resistentes. Com relação ao teor de glicerol, nota-se que a redução deste em substituição pelo OEC proporcionalmente, isto até 15%, favoreceu a elevação da tensão na tração. Após a concentração de OEC ficar superior à de glicerol, a resistência voltou a diminuir. Fato este, também constatado por Souza et al. (2013), em que os filmes produzidos mostraram uma superfície comprometida, tornando-se cada vez mais frágil com o aumento do teor de óleo essencial na formulação. Sendo necessário variar o teor de plastificante de acordo com a aumento de teor do óleo. A tensão variou de 191,27 a 264,03 % nos filmes com o óleo e do controle (sem o óleo- 123,61 %), evidenciando que o aumento do teor do óleo reduziu o parâmetros, indicando perda de mobilidade macromolecular.

Na análise de deformação (Tabela 21) dos filmes elaborados por *casting* conforme as variadas concentrações de óleo essencial de cravo e glicerol, os resultados variaram de 0,058 a 11,318%. Foi evidenciado diferença significativa entre alguns tratamentos ( $p \leq 0,05$ ). De acordo com a comparação das médias, houve semelhança entre os tratamentos 1, 2, 3 e entre 4 e 5.

Pode-se observar uma redução da deformação dos filmes com a redução da concentração de glicerol (ensaios 1 e 5) e com um aumento do teor de OEC. Fato também evidenciado por Souza et al. (2013) utilizando óleo essencial de canela, que observou a redução deste parâmetro com o aumento da concentração do óleo (2,05 a 2,32 MPa) em relação ao controle (sem o óleo - 3,96 MPa).

O efeito plastificante do glicerol já foi demonstrado em diversos outros trabalhos (ZIANI et al., (2008); PALMU; VICENTINI, (2003). O glicerol rompe algumas ligações intermoleculares, resultando em maior mobilidade do sistema e consequentemente permitindo maior deformação dos filmes (MALI et al.; GUERREIRO et al.; AZEREDO et al., 2010).

Os baixos valores de deformação em filmes com maiores teores de OEC indica um baixo efeito plastificante do óleo essencial frente ao glicerol, uma vez que neste estudo, o aumento do glicerol está diretamente relacionado à redução do teor de OEC da formulação.

Dantas et al. (2015) obtiveram resultados superiores, ao observado neste estudo, para deformação (14,77 a 34,78%) em filmes de amido de mandioca (4,5%) contendo glicerol (1%) e polpas de manga, acerola e seriguela (5 a 10%). Essa diferença possivelmente ocorreu devido à maior concentração de polpa utilizada neste estudo. Segundo Souza et al. (2011), a

incorporação de polpas aumenta a resistência dos filmes, deixando-os mais rígidos, reduzindo, portanto, sua capacidade de deformação. Os autores ainda acrescentam que a incorporação de polpas de frutas em filmes altera substancialmente as propriedades mecânicas dos mesmos, devido à formação de uma nova matriz, gerada a partir de interações da água com as fibras e dos componentes da própria matriz com as polpas.

Resultados também superiores (56,96 a 58,33 %) foram obtidos por Rojas et al. (2007) em filmes elaborados a base de purê de maçã, alginato glicerol e óleos essenciais. Os autores observaram que o percentual de deformação aumentou em todos os filmes contendo óleo essencial em relação ao controle (51,06%). Efeito contrário foi evidenciado neste estudo, onde houve uma redução gradual até 15% da concentração de óleo essencial e, após essa concentração, a deformação foi reduzida vertiginosamente.

Os valores do módulo de elasticidade (ou de Young) para os filmes elaborados por *casting* conforme as variadas concentrações de óleo essencial de cravo e glicerol variaram de 278,18 a 932,20 MPa. De acordo com a análise estatística foi evidenciado diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre alguns tratamentos. Foi evidenciado semelhança entre os tratamentos 1, 2, 4 e 5. Somente o ensaio 3 diferiu dos demais (Tabela 20).

Somente no tratamento 3 foi evidenciada maior tensão na tração e módulo de elasticidade. Os demais são iguais entre si. Tal fato pode estar relacionado as interações glicerol e óleo essencial quando em proporções equimolar, favorecendo o aumento das ligações de hidrogênio entre as cadeias, resultando em uma matriz mais resistente. Resultado controverso ao encontrado aqui foi relatado por Mali et al. (2005), que constataram que filmes de amido de mandioca adicionados de plastificante resultou em filmes com menor módulo de elasticidade, isto é, menor rigidez e, portanto, mais flexíveis. No entanto, os resultados do presente estudo são semelhantes aos relatos feitos por Sothornvit e Pitak (2007) em filmes de farinha de banana e por Mali et al. (2005a) em filmes de amido de inhame. Dessa forma, fica evidente a influência da composição da matéria-prima sobre esses parâmetros dos filmes.

Os resultados deste estudo foram superiores para tensão, deformação e inferior quanto ao módulo de elasticidade nos filmes elaborados por *casting* (ensaio 2) no teste de tração (5,399 MPa, 11,318% e 375,34 MPa, respectivamente) (Tabela 20), aos resultados, obtidos por Martelli, Barros e Assis (2014) em filmes elaborados com purê de banana e glicerol com valores de (3,20 MPa, 24,00% e 21,00 MPa). Essas diferenças possivelmente se justificam pela presença do óleo essencial nos filmes deste estudo, que favorecem a redução da mobilidade macromolecular, consequentemente, maior resistência à ruptura, menor deformação e maior rigidez da matriz polimérica (filme) (SOUZA, et al. (2013).

Ainda em comparação ao Ensaio 2 no teste de tração (5,399 MPa, 11,318% e 375,34 MPa, respectivamente) (Tabela 20), Azeredo et al. (2009) obtiveram valores superiores para tensão e alongação (8,76MPa e 43,30%) em filmes de purê de manga reforçado com nanofibras de celulose e similar em relação ao módulo de elasticidade (322,05MPa). Fato justificado pelos autores pelo alto teor de fibras advindas do purê de manga e nano fibras de celulose, aliado à isso a presença do óleo essencial nos filmes deste trabalho, ambos favoreceram a redução da mobilidade molecular, conferindo maior resistência e menor deformação (SOUZA et al. 2013).

Rojas-Grau et al. (2007) obtiveram resultado inferior ao deste trabalho para tensão na tração (2,47 a 2,84 MPa) deformação (56,96 a 58,33%) e para o módulo de elasticidade (5,75 a 6,86 MPa) ao estudarem filmes a base de purê de maçã e óleos essenciais (orégano, canela, capim limão) e também quando comparados ao controle (2,90 MPa, 51,06% e 7,07, respectivamente) (sem o óleo). Essa redução é mais uma vez enfatizada pela incorporação de óleo essencial utilizado pelos autores em relação ao controle e em relação ao presente

trabalho, como também ao maior teor de sólidos solúveis 38° Brix (favorecendo a redução das propriedades de resistência e módulo de elasticidade).

### 5.3.6.2 Força e deformação na perfuração

De acordo com os resultados experimentais da análise de força no teste de perfuração, os valores obtidos para os filmes de amido de mandioca e polpa de acerola com concentrações variadas de glicerol e OEC elaborados por *casting* variaram de 0,493 a 16,563 N (Tabela 23). Na mesma Tabela estão também os resultados de deformação no teste de perfuração (variaram de 4,041 a 4,641%).

**Tabela 23.** Força e deformação no teste de perfuração dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e óleo essencial de cravo (OEC).

Ensaio	Glicerol (%)	OEC*	Força (N)	Deformação (%)
1	30	0	12,540±0,54 <sup>b</sup>	4,641±0,05 <sup>b</sup>
2	22,5	7,5	13,357±0,52 <sup>bc</sup>	4,538±0,09 <sup>b</sup>
3	15	15	16,563±4,38 <sup>c</sup>	4,506±0,01 <sup>b</sup>
4	7,5	22,5	0,635±0,03 <sup>a</sup>	4,060±0,01 <sup>a</sup>
5	0	30	0,493±0,09 <sup>a</sup>	4,041±0,00 <sup>a</sup>

\* óleo essencial de cravo / Média±desvio padrão / Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

De acordo com a análise estatística, houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre diversos tratamentos. No teste de força na ruptura, observou-se que os tratamentos 1 e 2; 2 e 3; 4 e 5 são similares entre si. Já, para o teste de deformação na ruptura, a similaridade de resposta foi entre os tratamentos 1, 2 e 3 e os tratamentos 4 e 5.

Com relação à força no teste de perfuração houve um aumento da força com a redução da concentração de glicerol em substituição por OEC, até a equiparação das concentrações (15%). Após a concentração de OEC ficar superior à de glicerol, a força de perfuração reduziu drasticamente, demonstrando ser um filme mais frágil, mostrando mais uma vez o forte efeito plastificante do glicerol frente ao óleo essencial. Como já discutido anteriormente, o glicerol age reduzindo ligações intermoleculares resultando em redução da força necessária para romper o filme.

Quanto à deformação dos filmes no teste de perfuração, nota-se uma redução gradual do percentual de deformação com a redução do teor de glicerol e aumento de OEC em substituição por glicerol. O efeito do plastificante (glicerol) em aumentar a deformação na ruptura no teste de perfuração também foi encontrado por diversos autores (VICENTINI, 2003; SOBRAL et al., 1998; MONTERREY-QUINTERO; SOBRAL, 2000; MONTERREY e SOBRAL, 1999), fato justificado, pois a presença de plastificantes diminui a densidade das interações polímero-polímero, aumentando a mobilidade das cadeias poliméricas e consequentemente, tornando os filmes menos resistentes e mais elásticos.

### 5.3.8 Teor de vitamina C

Os valores de vitamina C obtidos para os filmes de amido de mandioca e polpa de acerola com variadas concentrações de glicerol e OEC e elaborados por *casting* foram de 3404,908 a 5117,464 mg/100g (b.s.). Na Tabela 24 encontra-se a análise estatística aplicada aos dados experimentais.

De acordo com a análise estatística foi constatado diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) nas médias de Vitamina C entre os tratamentos. Comparando essas médias, observa-se semelhança entre os tratamentos 1 e 2; 3, 4 e 5.

**Tabela 24.** Teor de vitamina C dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e óleo essencial de cravo (OEC).

Ensaio	Glicerol (%)	OEC (%)*	Vitamina C (mg / 100g)
1	30	0	3404,908± 258,18 <sup>a</sup>
2	22,5	7,5	3435,258± 56,80 <sup>a</sup>
3	15	15	4622,998± 434,20 <sup>b</sup>
4	7,5	22,5	4645,206± 161,57 <sup>b</sup>
5	0	30	5117,464± 49,40 <sup>b</sup>

\* óleo essencial de cravo / Média±desvio padrão / Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Observa-se que o teor de vitamina C dos filmes aumentou com a elevação da concentração de OEC. A elevação do teor de vitamina C não deveria ocorrer, pois a concentração de polpa de acerola desse estudo foi constante em todos os tratamentos. Possivelmente tal fato tenha sido devido à presença de OEC, que comprovadamente, em vários estudos foi evidenciado como um potente antioxidante natural, tendo o eugenol, que é um fenol, como componente majoritário. Para este composto, a atividade como antioxidantes tem sido relatada próxima a do  $\alpha$ -tocoferol (Ruberto e Baratta, 2000 e Sacchetti et al., 2005) ou a vitamina C (KIM e LEE, 2004). Sendo assim, ele atuou como antioxidante atuando sinergicamente com a vitamina C da polpa, que também possui capacidade antioxidante, preservando o bioativo (vitamina C), isto é, se oxidando no lugar do bioativo, tendo em vista o aumento proporcional da concentração de OEC com o teor de vitamina C. Essa atuação justifica-se principalmente pela presença de grupo hidroxila no anel benzenico (SHAHIDI, JANITHA, e WANASUNDARA, 1992).

Neste estudo, o teor de vitamina C na ausência de OEC, deveria ser mantido constante e/ou reduzido, de acordo com as condições. Segundo Uddin et al. (2002), as perdas da vitamina C podem ser atribuídas à oxidação; à degradação térmica, às reações químicas onde o ácido ascórbico atua como antioxidante; à difusão (processos de inativação enzimática ou de branqueamento) ou à irradiação. Sendo extremamente sensível a todos estes fatores, a vitamina C geralmente é utilizada como marcador, na avaliação das condições de manuseio, estocagem e processamento de alimentos.

Baldwin et al. (1996) observaram que a adição de vários antioxidantes, incluindo o ácido ascórbico, reduziu o escurecimento e retardou a perda de água de maçã cortada de

forma mais eficaz do que uma solução aquosa de antioxidantes. Perez-Gago et al. (2006) relataram uma redução substancial do escurecimento de maçãs minimamente processadas utilizando concentrado de cera de abelha e proteínas do trigo no revestimento contendo ácido ascórbico, cisteína ou 4-hexilresorcinol.

Assim, o uso de OEC nos filmes foi importante para manutenção de altos teores de vitamina C nos filmes. Portanto, filmes incorporados com polpas de frutas e óleos essenciais, além de proporcionarem cor e alta ação antioxidante devido aos pigmentos e fenólicos presentes na polpa e no óleo (SOUZA et al. 2011), resultaram em filmes com flavor característico pela incorporação simultânea de compostos voláteis. Estes resultados comprovam o bom potencial de filmes incorporados com polpa de acerola e óleo essencial de cravo.

Não foram encontrados na literatura trabalhos relativos a determinação de vitamina C em filmes contendo polpas de fruta e óleo essencial para análise comparativa.

### 5.3.9 Teor de carotenoides totais

Os valores de carotenoides totais obtidos para os filmes elaborados por *casting* de amido de mandioca e polpa de acerola com variadas concentrações de glicerol e OEC variaram de 6750,897 a 10585,907  $\mu\text{g}/100\text{g}$  (b.s.) (Tabela 25). De acordo com a análise estatística foi constatado que houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos. Comparando essas médias, observa-se a semelhança apenas entre os tratamentos 3 e 4. Os tratamentos 1, 2, 5 são diferentes entre si e dos demais.

**Tabela 25.** Teor de carotenoides totais dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e óleo essencial de cravo (OEC).

Ensaio	Glicerol (%)	OEC*	Carotenoides totais ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )
1	30	0	6750,897 $\pm$ 255,35 <sup>a</sup>
2	22,5	7,5	8821,723 $\pm$ 222,77 <sup>b</sup>
3	15	15	9551,981 $\pm$ 68,68 <sup>c</sup>
4	7,5	22,5	9656,431 $\pm$ 120,64 <sup>c</sup>
5	0	30	10585,907 $\pm$ 207,53 <sup>d</sup>

\* óleo essencial de cravo/ Média $\pm$ desvio padrão / Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Observa-se a tendência de elevação do teor de carotenoides totais dos filmes com o aumento da concentração de OEC.

Tendo em vista a concentração da polpa de acerola constante em todos os ensaios, o aumento no teor de carotenoides não deveria acontecer. Fato sugestivo ao potencial antioxidante natural, relativo ao óleo essencial de cravo presente, sendo o eugenol, um fenol,

principal responsável por essa atividade antioxidante. Dessa forma, provavelmente houve uma atuação sinérgica do óleo com os carotenoides da polpa que também possui potencial antioxidante, preservando o bioativo (carotenoide). O aumento proporcional da concentração de OEC com o teor de carotenoide evidencia este processo. Portanto, os compostos antioxidantes presentes podem ser responsáveis pela ação protetora do processo de oxidação.

A utilização combinada de polpa de acerola e OEC nos filmes foi relevante na manutenção de teores elevados de carotenoides nos filmes, demonstrando ser uma interação interessante a obtenção de filmes incorporados com polpas de frutas e óleos essenciais. Pois estes, possibilitam o efeito adicional protetor antioxidante de bioativos, flavor e cor adequado às certas aplicações e além da proteção física.

Não foi encontrado na literatura trabalhos referentes a determinação de carotenoides presentes em filmes incorporados com óleo essencial.

### 5.3.10 Teor de $\beta$ -caroteno

O teor de  $\beta$ -caroteno nos filmes de amido de mandioca e polpa de acerola elaborados por *casting* conforme as variadas concentrações de óleo essencial de cravo e glicerol variaram de 5031,150 a 7554,340  $\mu\text{g}/100\text{g}$  (b.s.). Na Tabela 26 encontra-se a análise estatística aplicada aos dados experimentais.

**Tabela 26.** Teor de  $\beta$ -caroteno dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e óleo essencial de cravo (OEC).

Ensaio	Glicerol (%)	OEC*	$\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )
1	30	0	5031,15 $\pm$ 125,87 <sup>a</sup>
2	22,5	7,5	6501,999 $\pm$ 222,04 <sup>b</sup>
3	15	15	6884,812 $\pm$ 101,98 <sup>cd</sup>
4	7,5	22,5	7002,748 $\pm$ 141,21 <sup>d</sup>
5	0	30	7554,340 $\pm$ 95,28 <sup>e</sup>

\* óleo essencial de cravo / Média $\pm$ desvio padrão / Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Foi constatada diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos. Comparando as médias, nota-se que apenas os tratamentos 3 e 4 são similares. Os tratamentos 1, 2 e 5 são diferentes dos demais.

O mesmo comportamento observado para a vitamina C e para os carotenoides totais também foi observado aqui: aumento do teor de  $\beta$ -caroteno conforme elevação da concentração de OEC para os filmes elaborados por *casting*, evidenciando a provável atuação

sinérgica antioxidante dos compostos (polpa e OEC), preservando o bioativo proporcionalmente presente filmes com o aumento da concentração de OEC.

Em filmes biodegradáveis a ação conjunta da capacidade antioxidante e suporte de pigmentos, parece ser bastante interessante com a obtenção de filmes incorporados com polpas de frutas e óleos essenciais. Pois estes, possibilitam o efeito adicional ao da embalagem convencional.

Não foi encontrado na literatura trabalhos referentes a determinação de  $\beta$ -caroteno em filmes incorporados com óleo essencial.

### 5.3.11 Capacidade antioxidante dos filmes pelos métodos DPPH e ABTS

Os resultados da capacidade antioxidante (métodos DPPH e ABTS) dos filmes de amido de mandioca e polpa de acerola elaborados por *casting* conforme as variadas concentrações de óleo essencial de cravo e glicerol estão apresentadas na Tabela 27. Pelo método DPPH os valores, para o IC<sub>50</sub>, variaram de 4,173 a 4,901 mg/g.

**Tabela 27.** Capacidade antioxidante (métodos DPPH e ABTS) dos filmes de amido de mandioca e polpa de acerola com glicerol e óleo essencial de cravo (OEC).

Ensaio	DPPH	ABTS	
	IC <sub>50</sub> mg/g (b.s.)	IC <sub>50</sub> mg/g (b.s.)	$\mu$ M trolox/g amostra (b.s.)
1	4,901 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>	9,332 $\pm$ 0,47 <sup>c</sup>	51,01 $\pm$ 2,80 <sup>a</sup>
2	4,818 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	8,710 $\pm$ 0,48 <sup>b</sup>	73,57 $\pm$ 1,80 <sup>a</sup>
3	4,706 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>	8,696 $\pm$ 0,38 <sup>b</sup>	77,61 $\pm$ 1,25 <sup>a</sup>
4	4,564 $\pm$ 0,19 <sup>b</sup>	7,243 $\pm$ 0,21 <sup>b</sup>	105,69 $\pm$ 3,63 <sup>b</sup>
5	4,173 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>	4,138 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	142,32 $\pm$ 9,16 <sup>c</sup>

b.s.: base seca/ Média $\pm$ desvio padrão / Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). T1: 30% de glicerol e 0% de OEC; T2: 22,5% de glicerol e 7,5% de OEC; T3: 15% de glicerol e 15% de OEC; T4: 7,5% de glicerol e 22,5% de OEC; T5: 0% de glicerol e 30% de OEC.

Foi constatada diferença significativa entre os tratamentos ( $p \leq 0,05$ ) para o IC<sub>50</sub> obtidos para capacidade antioxidante pelo método DPPH. Nota-se que os tratamentos 1, 2, 3 e 4 são similares entre si e o ensaio 5 diferente dos demais. O ensaio com o mais alto teor de OEC, apresentou maior capacidade antioxidante IC<sub>50</sub> (4,173 mg/g). Fato justificado pela elevado potencial antioxidante do eugenol, composto majoritário presente no OEC (ITO e YOSHINO, 2005). Entretanto não foi observada diferença estatística entre os resultados para os valores em  $\mu$ M de trolox.

Os valores obtidos neste estudo para IC<sub>50</sub> foram inferiores ao encontrado por Ugaldea (2014) em filmes de amido de milho, quitosana, acetato de celulose e OEC (IC<sub>50</sub> de 49 µg/mL). Possivelmente essa maior ação antioxidante seja relacionada à quitosana utilizada no filme de Ugaldea, com atuação antioxidante reportada em diversos estudos (YEN et al., 2008; MORADI et al., 2012). Desta forma, conclui-se que o OE de cravo tem bom potencial para ser utilizado como antioxidante, quando comparado com antioxidantes utilizados como referência como o ácido ascórbico (IC<sub>50</sub> = 2,15 µg/mL) e o BHT (IC<sub>50</sub> = 5,37 µg/mL) (CANSIAN et al., 2010).

Dantas et al. (2015) observaram a ação antioxidante do azeite de dendê embalado com filmes ativos contendo polpa de manga, acerola e seriguela (ambos ricos em vitamina C), após 40 dias de armazenamento. Os autores evidenciaram menor percentual de aumento do índice de peróxido (IP) em comparação aos controles (sem as polpas, somente amido de mandioca com glicerol). As embalagens incorporadas com 20% das polpas resultaram em uma redução de 65 a 85% no IP do azeite de dendê, o que confirma o efeito antioxidante da vitamina C sobre o produto embalado, quando comparado o produto embalado filme de amido sem polpa de fruta. Além disso, foi constatado menor IP no azeite com o aumento das percentagens de polpas de frutas adicionadas aos filmes, demonstrando o aumento do efeito antioxidante dos filmes proporcional ao aumento do teor de polpa.

Em relação ao método ABTS, o IC<sub>50</sub> variou entre 4,138 e 9,332 mg e, em trolox, a variação foi de de 51,01 a 142,32 µM trolox (Tabela 27).

Foi constatado diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) nas médias dos resultados obtidos tanto para IC<sub>50</sub> (mg/g) quanto para µM trolox/g amostra pelo método ABTS entre os tratamentos. Comparando as médias, para IC<sub>50</sub> (mg/g) observa-se semelhança apenas entre os tratamentos 2, 3 e 4. Os demais tratamentos são diferentes entre si. Em comparação às médias de µM trolox/g amostra, nota-se semelhança entre os tratamentos 1, 2 e 3. Os tratamentos 4 e 5 são diferentes entre si e dos demais.

A presença e a elevação do teor de OEC favoreceu a inibição das reações de oxidação ao reagirem com radicais livres e peróxidos, protegendo os bioativos, aumentando a capacidade antioxidante (TOVAR et al. 2005, SHAHIDI, 1997).

Atualmente, a comparação de resultados com a literatura científica, relacionadas a capacidade antioxidante, é complexa, devido a utilização de diferentes diluições das amostras, diferentes tipos de solventes e métodos para a realização da análise, visto que cada amostra apresenta um poder antioxidante e comporta-se de forma diferente em cada tipo de análise. Além disso, em alimentos devido a diversidade quanto à composição e específica sensibilidade à determinados compostos, utiliza-se diferentes métodos de análise para identificação da capacidade antioxidante. Diante do exposto, diversos autores utilizam mais de um método para averiguação da capacidade antioxidante da amostra analisada.

Diferentes estudos já estudaram a ação antioxidante de filmes biodegradáveis aditivados com compostos ativos antioxidantes naturais como polpa de manga, acerola, dendê, erva-mate, urucum e  $\alpha$ -tocoferol (GRISI, 2008; MARINOVA et al., 2008; SOUZA et al., 2011; MACHADO et al., 2012; SANTANA et al., 2013).

Reis (2011) avaliou a capacidade antioxidante de filmes de amido com polpa de manga e erva-mate e constatou que sua adição resulta em menor aumento do IP do produto embalado (no caso azeite de dendê). O azeite de dendê embalado no filme com 10% de polpa de manga e 30% de extrato de erva-mate apresentou o menor valor para o IP (86,72 meqkg<sup>-1</sup>), enquanto que o embalado no controle apresentou um valor de 170,0 meqkg<sup>-1</sup>, após 45 dias.

Diversos trabalhos já relataram a capacidade antioxidante do óleo essencial de cravo. Gülçin et al. (2012) constataram a efetividade do OE de cravo frente aos radicais DPPH e ABTS. Teixeira et al. (2013) identificaram elevada e moderada capacidade antioxidante em

OEs comerciais de cravo e orégano, respectivamente. Valores similares aos encontrados em antioxidantes sintéticos como o BHT. Silvestri et al. (2010) avaliando OE de cravo em variadas concentrações, obtiveram 95,6 % de capacidade antioxidante na concentração de 10.000  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . Pérez-Rosés et al. (2007) obtiveram um  $\text{IC}_{50}$  de 13,2  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para o OE de cravo oriundo das folhas da planta.

Scherer et al. (2009), obtiveram um  $\text{IC}_{50}$  de 7,8  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para OE comercial de cravo, sendo o eugenol identificado como o composto majoritário. Similar ao observado neste estudo (ver Tabela 13, item 5.1.1). Segundo Ito e Yoshino (2005) e Affonso et al. (2012), o eugenol é um composto fenólico com potente ação antioxidante já comprovada *in vitro* e *in vivo*. De acordo com Ramalho e Jorge (2006), os antioxidantes fenólicos agem como sequestradores de radicais e, às vezes, como quelantes de metais, tanto na etapa de iniciação quanto na propagação do processo oxidativo.

Jukic et al. (2007) identificaram e avaliaram a capacidade antioxidante de 33 fito constituintes presentes na noz-moscada, pimenta preta, cravo-da-índia, gerânio e melissa. As maiores capacidades antioxidantes foram observadas para os constituintes eugenol, carvacrol e timol. Os resultados dos trabalhos relatados anteriormente reforçam os achados do presente estudo em relação à alta atividade antioxidante demonstrada nos filmes.

#### 5.4 Caracterização dos filmes obtidos por extrusão e termoprensagem

Diferentemente dos filmes obtidos por *casting* em que todos os filmes apresentaram coloração alaranjada, os filmes extrusados e prensados apresentaram visualmente uma coloração alaranjada levemente mais escurecida, apesar do aspecto homogêneo. Esse fato pode ser atribuído à temperatura e pressão mais elevada do que as usadas na técnica de *casting*, provocando uma mudança estrutural do amido, responsável pela alteração na cor.



**Figura 39.** Filme elaborado por extrusão termoplástica

Assim, com base no que já foi apresentado anteriormente, a condição T2 processada por *casting* foi a escolhida (função desejabilidade) para ser processada via extrusão. Esta

condição ideal processada por extrusão resultou em um filme com certa descontinuidade e/ou desorientação de sentido na matriz e também algumas bolhas na superfície (Figura 39), o que foi relacionado ao descolamento das folhas antiaderente utilizadas como suporte no processo de prensagem. A adição do OEC em substituição ao glicerol não comprometeu a transparência dos filmes visualmente

Conforme já discutido anteriormente (item 4.2.6.1), para a obtenção de um filme ideal e que pudesse ser escalonado (Planta piloto de produção), as variáveis respostas significativas dos filmes de *casting* foram consideradas para análise estatísticas. Assim, o filme ideal deveria possuir os maiores teores possíveis de vitamina C, carotenoides,  $\beta$ -caroteno, alta resistência e deformação na tração e perfuração, elevada capacidade antioxidante (TEAC) e os menores valores de atividade antioxidante (IC 50%) e módulo de elasticidade. Desta forma, foi selecionado o tratamento 2, como sendo o desejável (7,5% de OEC, 22,5% de glicerol). Este tratamento foi processado em escala piloto (extrusão termoplástica e termoprensagem) e avaliado.

Desta forma, foram seguidos alguns critérios, com base nas restrições citadas, para os valores mínimos, intermediários e máximos de cada resposta, com o objetivo de encontrar os valores operacionais ótimos das variáveis independentes, que satisfizessem simultaneamente os requisitos necessários às variáveis respostas (função desejabilidade). Esses critérios podem ser observados na Tabela 28.

**Tabela 28.** Condições de desejabilidade ( $d_i$ ) das variáveis respostas durante a otimização da produção dos filmes a base de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e OEC por *casting*.

Variável resposta		Mínimo	Médio	Máximo
Vitamina C	Valor (mg)	2747,5	4245,2	5742,9
	$d_i^a$	0,0	0,5	1,0
Carotenoides Totais	Valor ( $\mu\text{g}$ )	6385,0	9073,4	11762,0
	$d_i$	0,0	0,5	1,0
$\beta$ -caroteno	Valor ( $\mu\text{g}$ )	4815,5	6595,0	8374,5
	$d_i$	0,0	0,5	1,0
IC 50% DPPH	Valor ( $\mu\text{g}$ )	4,0595	4,6322	5,2049
	$d_i$	1,0	0,5	0,0
uM trolox ABTS	Valor ( $\mu\text{M}$ trolox)	24,574	90,042	155,51
	$d_i$	0,0	0,5	1,0
Força Tração	Valor (MPa)	-6,281	7,690	21,662
	$d_i$	0,0	0,5	1,0
Deformação Tração	Valor (%)	-3,787	7,158	18,103
	$d_i$	0,0	0,5	1,0
Módulo Young	Valor (MPa)	990,48	-130,9	429,81
	$d_i$	0,0	0,5	1,0
Força Perfuração	Valor (N)	-5,549	22,984	8,717
	$d_i$	0,0	0,5	1,0
Deformação Perfuração	Valor (%)	3,8769	4,8712	4,374
	$d_i$	0,0	0,5	1,0

<sup>a</sup>condições de desejabilidade

A otimização foi realizada a fim de se obter um filme com alta concentração de bioativos, boas propriedades mecânicas e elevada capacidade antioxidante.

Desta forma, o filme elaborado por extrusão tenderá à valores máximos de vitamina C (5742,9 mg), carotenoides totais (11762,0 µg), β-caroteno (8374,5 µg), resistência à tração e perfuração (21,662 e 8,713 MPa, respectivamente), deformação na tração e perfuração (18,103 e 4,374%) e médio módulo de elasticidade (429,81 MPa) e IC 50% DPPH (4,059 mg/g) e IC 50 ABTS (155,51mg/g).

#### 5.4.1 Espessura, umidade, teor de sólidos totais e atividade de água

A espessura do filme elaborado por extrusão termoplástica seguido de termo prensagem foi 0,187 mm (Tabela 29). Na mesma Tabela está apresentado o valor de espessura do filme processado por *casting* (condição 2). Não foi evidenciado diferença significativa entre o filme extrusado e o filme processado por *casting*. Isto é importante pois será possível comparar as duas condições desconsiderando o efeito espessura da amostra.

**Tabela 29.** Espessura, teor de umidade, teor de sólidos totais e atividade de água (Aa) dos filmes elaborados por *casting* e por extrusão.

Processo	Glicerol (%)	OEC (%)	Espessura (mm)	Umidade (%)	Sólidos Totais (%)	Aa
<i>Casting</i> *	22,5	7,5	0,185 ± 0,01 <sup>a</sup>	14,33±0,21 <sup>b</sup>	85,67±0,21 <sup>a</sup>	0,64±0,02 <sup>a</sup>
Extrusão	22,5	7,5	0,187± 0,003 <sup>a</sup>	15,63±0,32 <sup>a</sup>	84,37±0,32 <sup>b</sup>	0,63±0,01 <sup>a</sup>

\*Condição 2 / Média±desvio padrão / Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

O teor de umidade do filme extrusado seguido de termoprensagem foi de 15,63% (Tabela 28). Foi constatada diferença significativa entre os filmes elaborados por *casting* e por extrusão. Embora os filmes apresentem a mesma formulação, o processo de produção é diferente, o que pode justificar a diferença observada.

Os teores de sólidos totais obtidos para os filmes extrusado e processado por *casting* foram de 84,63 e 85,67%, respectivamente (Tabela 28). Os resultados apresentaram diferença significativa entre si (p ≤ 0,05). Provavelmente essa diferença se deva ao maior teor de umidade do filme extrusado com relação ao filme elaborado por *casting*, justificado pelo próprio processo de extrusão, ser um processo fechado por curto período, conferindo maior umidade e baixa evaporação ao sistema, efeito contrário à técnica *casting* (longo período de secagem por evaporação do solvente).

Com o objetivo em avaliar e justificar as possíveis diferenças encontradas relacionadas as propriedades mecânicas e de barreira em filmes deste trabalho, foi utilizada a análise de sólidos totais. Resultados semelhantes foram obtidos por Souza et al. (2012) com valores entre 80,24 e 84,97% em filmes com amido de mandioca e polpas de manga e acerola.

De acordo com os resultados experimentais da análise de atividade de água (Tabela 29), os valores obtidos para os filmes de amido de mandioca e polpa de acerola com as mesmas concentrações de glicerol e OEC, elaborados por extrusão seguido de termoprensagem e por *casting* foi de 0,63 e 0,64, respectivamente. Nota-se que não houve diferença significativa entre os resultados, evidenciando que a diferença de processos dos filmes elaborados por *casting* e por extrusão, não influenciaram na atividade de água dos filmes desse estudo.

#### 5.4.2 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Os valores de permeabilidade do filme extrusado e prensado está apresentado na Tabela 30. Para efeito de comparação de processo, na mesma Tabela, tem-se também o valor de PVA do filme processado por *casting*.

**Tabela 30.** Permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes elaborados por *casting* e por extrusão.

Processo	Glicerol (%)	OEC (%)	PVA (g.mm.h <sup>-1</sup> .m <sup>-2</sup> .kPa <sup>-1</sup> )
<i>Casting</i> *	22,5	7,5	0,39 ± 0,02 <sup>a</sup>
Extrusão	22,5	7,5	0,37± 0,01 <sup>a</sup>

\*Condição 2 / Média±desvio padrão / Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

O filme elaborado por extrusão apresentou valor similar ao filme elaborado por *casting*, mostrando que, para esta propriedade, não houve diferença entre os processos de produção (piloto e laboratorial). Uma vez que, principalmente pela disponibilidade de grandes volumes de matérias-primas para testes, a maior parte dos estudos de produção de biofilmes ocorre em escala de bancada (*casting*), este comportamento é muito importante pois mostra que o processo laboratorial cumpre sua função de estudo preliminar capaz de ser reproduzido em escala maior.

#### 5.4.3 Propriedades mecânicas

##### 5.4.3.1 Propriedades de tração

As propriedades mecânicas do filme de amido de mandioca e polpa de acerola plastificado com glicerol, aditivado com OEC e processado por extrusão e termoprensagem estão apresentadas na Tabela 31.

Não foi evidenciada diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os filmes produzidos por extrusão e por *casting* quanto aos testes de força na tração e módulo de elasticidade. No entanto, os filmes extrusados deformaram menos que os filmes produzidos por *casting*.

**Tabela 31.** Propriedades mecânicas (tração) dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e óleo essencial de cravo (OEC) processados por extrusão e por *casting*

Processo	Glicerol (%)	OEC (%)	Tensão na Tração (MPa)	Deformação na Tração (%)	Módulo de Elasticidade (MPa)
<i>Casting</i> *	22,5	7,5	5,399±0,61 <sup>a</sup>	11,318±0,67 <sup>b</sup>	375,34±91,63 <sup>a</sup>
Extrusão	22,5	7,5	5,740±0,02 <sup>a</sup>	10,408±1,03 <sup>a</sup>	448,05±37,89 <sup>a</sup>

\*Condição 2 / Média±desvio padrão / Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Os valores obtidos para os filmes de amido de mandioca e polpa de acerola elaborados por *casting* e por extrusão foram de 5,399 e 5,745 MPa, respectivamente. A deformação do filme elaborado por *casting* e do filme extrusado e prensado nas mesmas concentrações de óleo essencial de cravo e glicerol foi 11,318 a 10,408%, respectivamente. O módulo de elasticidade do material processado por *casting* e do material extrusado e prensado foi 375,34 e 448,05 MPa, respectivamente (Tabela 29).

A menor deformação do filme extrusado em relação ao filme com a mesma formulação, mas processado por *casting* deve-se provavelmente à descontinuidade da matriz amilácea, causada pela maior quantidade de fibras insolúveis presentes na polpa de acerola concentrada, dispersas no filme, conferindo assim menor alongamento em comparação ao filme com menor quantidade de fibras (filme *casting*-polpa não concentrada). Embora essa diferença seja pequena, isso demonstra impossibilidade de reprodução em escala industrial (extrusão).

O módulo de elasticidade ou de Young é um indicador da rigidez dos filmes (ANDRADE, 2013). Com relação à essa propriedade, evidencia-se através dos resultados obtidos, uma proporcionalidade entre formulação elaborada pela técnica *casting* e por extrusão mais uma vez enfatizando a provável reprodutibilidade do processo laboratorial.

Os resultados para força, alongação e módulo de Young deste estudo, tanto para os filmes produzidos por *casting* quanto para os filmes produzidos por extrusão e termoprensagem, mostraram-se superiores aos achados de Martelli, Barros e Assis (2014) estudando filmes a base de banana e glicerol para resistência à tração (3,2 MPa) e para módulo de Young (21 MPa) e inferior quanto à alongação no teste de tração (24%). Resultado superior em relação à resistência no teste de tração e alongação também foi encontrado por Azeredo et al. (2009) em filme de purê de manga reforçado com nanofibras de celulose (8,76 MPa e 43%) e semelhante em relação ao módulo de elasticidade (322 MPa). Rojas-Grau et al. (2006) em filme de purê de maçã contendo óleos essenciais, obtiveram resultado inferior para resistência na tração e para o módulo de elasticidade (0,640 MPa e 5,060 MPa) e superior para alongação (25,40%).

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 30, o processo laboratorial é adequado para dar respostas semelhantes em escala maior com relação as propriedades mecânicas de tração, pois a resistência e o módulo de elasticidade mostraram respostas semelhantes e a deformação, embora tenha apresentado resposta diferente entre os processos,

essa diferença pode ser interessante dependendo da utilização do filme (requisitos menos extensíveis).

#### 5.4.3.2 Força e deformação na perfuração

De acordo com os resultados experimentais da análise de força e deformação no teste de perfuração (Tabela 32), os valores obtidos para os filmes de amido de mandioca e polpa de acerola com glicerol e OEC elaborados no processo de extrusão seguido de prensagem. Na mesma Tabela estão apresentados os valores de perfuração para a mesma formulação, mas elaborada em processo laboratorial (*casting*). Os valores para força necessária para perfurar os filmes extrusados foram menores (8,409 N) comparada aos filmes feitos por *casting* (13,357 N). Isto pode ser devido ao fato do processo de extrusão possibilitar modificações estruturais (degradação parcial) da cadeia polimérica. Fato confirmado por Van Der Einde (2004), que observou nos resultados de extrusão, a redução da massa molar de amido devido à combinação de forças mecânica e térmica. Já, a deformação na perfuração não foi diferente entre os dois processamentos, confirmando, para esta propriedade, a capacidade de escalonamento do processo laboratorial.

**Tabela 32.** Força e deformação no teste de perfuração dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e óleo essencial de cravo (OEC) elaborados por extrusão e termoprensagem.

Processo	Glicerol (%)	OEC (%)	Força (N)	Deformação (%)
<i>Casting</i> *	75	25	13,357±0,52 <sup>b</sup>	4,538±0,09 <sup>a</sup>
Extrusado	75	25	8,409±1,36 <sup>a</sup>	4,818±0,35 <sup>a</sup>

\*Condição 2/ Média±desvio padrão/ Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Bukzem et al. (2012), avaliaram filmes de amido de mandioca com bagaço de cevada, utilizando glicerol como plastificante por extrusão seguida de termoprensagem. Os valores encontrados no filme extrusado, para tensão e deformação no teste de tração (1,9 a 2,5 e 55 a 60%, respectivamente) foram superiores aos obtidos neste trabalho (Tabela 31) para o filme extrusado e prensado, utilizando o mesmo equipamento e metodologia. Tal diferença pode ser devido a maior quantidade de fibras insolúveis presente no bagaço de cevada, conferindo menor alongamento (MALI et al., 2010) em comparação com a amostra contendo polpa de fruta concentrada deste estudo.

Comparando os dois processos de produção quanto as propriedades mecânicas, fica evidenciado uma menor deformação na tração e força na perfuração nos filmes extrusado quando comparados aos elaborados por *casting*. O processo de extrusão resulta em alterações estruturais na matriz polimérica, como a redução da massa molar de amido devido à combinação de forças mecânicas e térmicas (VAN DER EINDE et al., 2004), justificando a menor força necessária para perfuração. Galdeano et al. (2014), também notaram respostas diferenciadas entre os processos de extrusão e *casting* quanto à este parâmetro. Os autores

obtiveram laminados de amido de aveia mais resistentes à perfuração do que os produzidos por *casting*, concordando com os resultados obtido neste trabalho.

#### 5.4.4 Teores de vitamina C, carotenoides totais e de $\beta$ -caroteno

Os valores de vitamina C, carotenoides totais e  $\beta$ -caroteno obtidos para os filmes de amido de mandioca e polpa de acerola, plastificados com glicerol e adicionados de OEC estão apresentados na Tabela 33. Para efeito de comparação de processo, na mesma Tabela estão também os valores dos filmes, com a mesma formulação, mas elaborados por *casting*.

**Tabela 33.** Teor de vitamina C, carotenoides totais e  $\beta$ -caroteno dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo (OEC).

Processo	Glicerol (%)	OEC (%)	Vitamina C (mg/100g)	Carotenoides Totais ( $\mu$ g/100g)	$\beta$ -caroteno ( $\mu$ g/100g)
<i>Casting</i> *	22,5	7,5	3435,258 $\pm$ 56,80 <sup>b</sup>	8821,723 $\pm$ 222,77 <sup>b</sup>	6501,999 $\pm$ 222,04 <sup>b</sup>
Extrusado	22,5	7,5	1876,453 $\pm$ 32,51 <sup>a</sup>	7445,946 $\pm$ 216,91 <sup>a</sup>	5318,956 $\pm$ 168,90 <sup>a</sup>

\*Condição 2 / Média $\pm$ desvio padrão / Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

No filme extrusado e prensado o teor de vitamina C (3435, 258 mg) foi reduzido à metade comparada com a mesma formulação elaborada por *casting* (1876,453 mg). Provavelmente por ter sido submetido a três processos térmicos (concentração, extrusão e prensagem) com temperaturas mais elevadas que as obtidas pela técnica *casting*, favorecendo a oxidação da vitamina C, que é termo instável (UDDIN et al., 2002).

Quanto ao teor de carotenoides totais, o valor obtido para o filme extrusado foi 7445,946  $\mu$ g, inferior ao valor obtido para o filme processado via *casting* (8821,723  $\mu$ g), demonstrando diferença entre os processos. No entanto, no filme extrusado, foi preservado maior teor de carotenoides (34,26%) relacionado à mesma formulação elaborada por *casting* (25,18%), com uma pequena diferença entre os processos de 9,08%. Tendo em vista que o maior percentual preservado foi no filme extrusado, apesar dos três processamentos térmicos (concentração, extrusão e prensagem). Fato justificado segundo Krinsky e Johnson (2005); Silva et al., (2013), os tratamentos térmicos não são suficientes para promover a degradação total dos carotenoides e em alguns casos até melhoram a sua biodisponibilidade devido ao amolecimento dos tecidos e rompimento das células, principalmente em processamentos não muito prolongados. O mesmo se aplica ao  $\beta$ -caroteno. Portanto, quanto à esse parâmetro, sendo a extrusão um processo rápido que envolve calor, pressão, trabalho mecânico, pode-se concluir que o processo de extrusão é interessante quanto ao bioativo carotenoide.

No resultado da análise de determinação do teor  $\beta$ -caroteno para os filmes elaborados por *casting* e por extrusão com as mesmas concentrações de óleo essencial de cravo e glicerol foram de 6501,999 e 5318,956  $\mu$ g, respectivamente (Tabela 31). Foi constatada diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) nas médias de  $\beta$ -caroteno entre os tratamentos, demonstrando diferença entre os processos de *casting* e de extrusão e termoprensagem com referência ao teor de  $\beta$ -caroteno. O processo *casting* ocasionou numa redução maior do teor de  $\beta$ -caroteno em relação

ao processo de extrusão. Pode-se notar que o filme elaborado por *casting* ainda assim manteve 25,07% do teor de  $\beta$ -caroteno, enquanto filme elaborado por extrusão manteve 32,49%. Possivelmente essa diferença seja relacionada ao trabalho mecânico (cisalhamento) que ocorre no processo de extrusão, promovendo o rompimento das paredes de celulose e a liberação de maior concentração de carotenos (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

#### 5.4.5 Capacidade antioxidante dos filmes pelos métodos DPPH e ABTS

Nos resultados da análise de determinação da capacidade antioxidante pela captura do radical DPPH e do radical ABTS para os filmes processados via extrusão estão apresentados na Tabela 34. Na mesma Tabela estão também os resultados analíticos dos filmes elaborados por *casting*.

Para o DPPH, os IC<sub>50</sub> dos filmes por *casting* e dos filmes extrusados foram de 4,818 e 12,098 mg/g. Para o método ABTS, foram de 8,710 e 6,457 mg/g (IC<sub>50</sub>) e 73,570 e 57,910  $\mu$ M trolox/g amostra, respectivamente.

Foi constatada diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) para os valores de IC<sub>50</sub> obtidos para capacidade antioxidante pelo método DPPH entre os filmes elaborados por *casting* e por extrusão. O mesmo comportamento foi observado para o método ABTS tanto para os valores de IC<sub>50</sub> e quanto para TEAC. Como houve diferença entre os tratamentos, isso demonstra a impossibilidade de reprodução quanto à esse parâmetro.

**Tabela 34.** Resultados experimentais das análises de DPPH e ABTS dos filmes de amido de mandioca e polpa de acerola e óleo essencial de cravo.

Processo	Glicerol (%)	OEC (%)	DPPH IC <sub>50</sub> (mg/g)	ABTS IC <sub>50</sub> (mg/g)	TEAC $\mu$ M trolox/g amostra
<i>Casting</i> *	22,5	7,5	4,818 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	8,710 $\pm$ 0,48 <sup>b</sup>	73,57 $\pm$ 1,80 <sup>b</sup>
Extrusado	22,5	7,5	12,098 $\pm$ 0,35 <sup>b</sup>	6,457 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>	57,910 $\pm$ 0,99 <sup>a</sup>

\*Condição 2 / Média  $\pm$  desvio padrão / Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Os resultados expressos em IC<sub>50</sub> e em  $\mu$ M trolox indicaram maior redução da capacidade antioxidante perante o radical livre DPPH no processo de extrusão quando comparado ao processo *casting*. O efeito redutor da capacidade antioxidante de produtos extrusados também foi relatado por Sarawong et al. (2014), o que pode ser justificado pela destruição de parte dos compostos fenólicos presentes no óleo essencial de cravo e da degradação de carotenoides e vitamina C presentes na polpa de acerola, ocasionada pelo maior número de processos térmicos utilizados (extrusão e termoprensagem), como também e a elevada temperatura.

Dessa forma, foi possível concluir que o processo *casting* reteve 2,54 vezes da capacidade antioxidante nos resultados expressos em IC<sub>50</sub> no teste de DPPH a mais do que no processo de extrusão. Efeito contrário foi evidenciado quanto ao radical ABTS, apresentando no processo de extrusão, um aumento da capacidade antioxidante de 1,96 e 1,14 vezes em

relação ao processo *casting*, para os resultados expressos em IC<sub>50</sub> e em µM trolox, respectivamente.

## 5.5 Percentual de redução entre os processos

De acordo com análise estatística (Tabela 35), pode-se constatar que as matérias-primas diferem significativamente entre si (polpa *casting*, polpa pré-extrusão e polpa concentrada), devido a diferença nos lotes (diferentes tempos de aquisição), do teor avaliado dos bioativos, sendo assim as perdas durante os processos (*casting* e extrusão) foram discutidas separadamente.

### 5.5.1 Concentração

Como já mencionado no item 5.3.1 caracterizações da matéria prima (Tabela 15), a polpa utilizada no processo de concentração foi oriunda da polpa pré-extrusão *in natura*.

Comparando as médias em relação ao teor de vitamina C (mg/100g) para as matérias-primas utilizadas tanto no processo de *casting* quanto no de extrusão, observa-se que todas diferiram entre si. O mesmo foi observado com relação ao teor de carotenoides totais e de β-caroteno, onde as três polpas utilizadas diferiram significativamente entre si. Possivelmente, as diferenças entre as polpas *casting* e extrusada foram devido à fatores como diferença de lotes, tempo de congelamento, solo, grau de maturação da fruta. Já com relação a polpa concentrada, esta diferença foi devido ao próprio processo de concentração, concentrando os bioativos, quanto aos teores de vitamina C, carotenoides e β-caroteno. Entretanto, apesar de este ser um processo térmico à vácuo com perdas menores de bioativos, houve diferença significativa entre as mesmas quanto à capacidade antioxidante nos métodos DPPH e ABTS.

Souza et al. (2012) avaliando a eficácia da incorporação de polpas de manga e de acerola como aditivos antioxidantes em filmes de amido de mandioca plastificado com sacarose e açúcar invertido, observou pelo monitoramento das alterações químicas da embalagem e do produto durante o armazenamento, os valores de 2688,2 mg/100g (b.s.) para vitamina C e 6255,30 mg/100g (b.s.) carotenoides totais, respectivamente. Resultados concordantes aos obtidos neste estudo.

**Tabela 35.** Resultados experimentais das análises de IC 50% e µM trolox das matérias-primas no processo de *casting* e extrusão pelo método DPPH e ABTS.

Matéria-prima (B.U.)	IC <sub>50</sub> DPPH (mg/g)	ABTS IC <sub>50</sub> (mg/g)	ABTS µM trolox/g
Polpa <i>casting</i>	14,92±0,54 <sup>b</sup>	19,92±0,43 <sup>b</sup>	52,34±5,41 <sup>b</sup>
Polpa pré- extrusão	16,44±0,47 <sup>c</sup>	32,27±0,65 <sup>c</sup>	40,42±0,65 <sup>a</sup>
Polpa concentrada	9,87±0,25 <sup>a</sup>	16,43±0,44 <sup>a</sup>	78,42±5,62 <sup>c</sup>

Média±desvio padrão / Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

Com relação a capacidade antioxidante pelo método DPPH (Tabela 35), nota-se semelhança somente nos valores obtidos para  $\mu\text{M}$  trolox/g para as matérias-primas *in natura* utilizadas no processo *casting* e de extrusão (polpa pré-extrusão). As polpas concentrada, pré-extrusão e concentrada diferiram entre si nos demais parâmetros para  $\text{IC}_{50}$  DPPH.

Nas médias das amostras relacionadas a capacidade antioxidante pelo método ABTS, todas as polpas diferiram significativamente entre si nos valores obtidos para o  $\text{IC}_{50}$  (mg/g) e para os resultados expressos  $\mu\text{M}$  trolox (g amostra).

### 5.5.1.2 Perdas na etapa de concentração da polpa

Devido ao alto teor de umidade da polpa de acerola *in natura* (~94%), foi necessário a redução deste teor através do processo de concentração, afim de possibilitar a adição do ingrediente na mesma concentração de sólidos (oriundos da polpa) dos filmes elaborados por *casting*. O alto teor de umidade da massa a ser extrusada seria um obstáculo, dificultando ou até mesmo impossibilitando a processabilidade dentro do equipamento. Assim, conforme já explicado anteriormente, a polpa utilizada para a produção do filme extrusado (aqui chamada de polpa extrusada) foi oriunda de um lote diferente da polpa utilizada no processamento laboratorial (polpa *casting*). E foi a partir desta polpa para extrusão que originou-se a polpa concentrada.

Na Tabela 36, estão apresentados os teores de umidade e de compostos bioativos das polpas *in natura* (polpa pré-extrusão) e concentrada.

**Tabela 36.** Efeito da concentração nas polpa *in natura* (polpa pré-extrusão) no teor de umidade e bioativos.

Parâmetro	Polpa pré-extrusão	Polpa concentrada
Umidade (g/100g)	93,487 <sup>a</sup>	81,218 <sup>b</sup>
Vitamina C (mg/100g)	20738,599 <sup>a</sup>	23427,090 <sup>b</sup>
Carotenoides totais ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )	21733,129 <sup>a</sup>	32614,338 <sup>b</sup>
$\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )	16372,699 <sup>a</sup>	23475,721 <sup>b</sup>
$\text{IC}_{50}$ DPPH (mg/g)*	16,44 <sup>b</sup>	9,87 <sup>a</sup>
$\text{IC}_{50\%}$ ABTS (mg/g)*	32,27 <sup>b</sup>	16,43 <sup>a</sup>
TEAC $\mu\text{M}$ trolox/g *	40,42 <sup>a</sup>	78,42 <sup>b</sup>

\* b.u.: base úmida/ Médias com letras diferentes na mesma linha, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Observa-se que houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as polpas em todos os parâmetros. A concentração da polpa resultou em valores inferiores somente para umidade e superior para vitamina C, carotenoides totais,  $\beta$ -caroteno e capacidade antioxidante quanto

aos valores de IC<sub>50</sub> tanto para o método DPPH quanto para ABTS e  $\mu\text{M}$  trolox DPPH e ABTS. Valores inferiores eram esperados uma vez que o processamento de concentração ocorre em evaporadores sob temperaturas elevadas (80 °C) e períodos prolongados (6 horas). No entanto o maior teor de vitamina C, carotenoides e  $\beta$ -caroteno, observado na polpa concentrada em relação à polpa *in natura* deve-se ao próprio processo de concentração da polpa. Segundo, Maia, Sousa e Lima (2007) o uso do vácuo possibilita a concentração de alimentos termosensíveis.

A concentração da polpa *in natura* através de um processo de concentração a vácuo foi vantajosa com relação à alguns bioativos como vitamina C, carotenoides totais e  $\beta$ -caroteno, pois esses bioativos foram concentrados, obtendo um aumento no seu teor inicial de 12,96; 50; e 43,38%, respectivamente. O mesmo efeito foi evidenciado com relação à capacidade antioxidante tanto para o método DPPH, quanto para o ABTS, com reduções dos seus teores iniciais de 1,73 e 1,47 vezes para IC<sub>50</sub>, respectivamente.

Ainda assim, apesar das reduções dos teores de bioativos ocasionada pela concentração da polpa, sem esta etapa não seria possível produzir filmes por extrusão devido ao elevado teor de umidade da matéria-prima impedir a processabilidade da matéria-prima.

### 5.5.2 Redução no processo de *casting*

De acordo com a Tabela 37 pode-se observar a redução dos bioativos vitamina C, carotenoides totais,  $\beta$ -caroteno e da capacidade antioxidante durante as etapas de produção dos filmes por *casting*. Foi evidenciado diferença significativa entre os componentes utilizados na elaboração dos filmes pela técnica *casting* (polpa, solução filmogênica e filme (T2)). A solução filmogênica preservou ainda 86,44% do teor de vitamina C em relação à polpa *in natura*, reduzindo entre este processo (polpa e solução filmogênica) apenas 13,56%. Entretanto, após a secagem dos filmes (em estufa à 30 – 35°C, 46h), preservou-se apenas 15,50%, havendo uma redução considerável de 84,50% em relação à solução e 86,60% em relação à polpa *in natura*, preservando somente 13,40% do teor de vitamina C inicial.

As reduções dos teores dos bioativos analisados, possivelmente possam ter ocorrido ou pela degradação térmica dos bioativos ou devido à dificuldade de extração desses bioativos da matriz dos filmes e produtos.

**Tabela 37.** Resultados experimentais das análises de teor de bioativos e da capacidade antioxidante dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e (OEC) processados por *casting*.

Ensaio (b.s.)	Vitamina C (mg/ 100g)	Carotenoides Totais ( $\mu\text{g}/ 100\text{g}$ )	$\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g}/ 100\text{g}$ )	DPPH IC <sub>50</sub> (mg/g)	IC <sub>50</sub> ABTS (mg/g)	TEAC $\mu\text{M}$ trolox/g amostra
Polpa	25643,269 <sup>c</sup>	35034,341 <sup>b</sup>	25934,066 <sup>b</sup>	1,086 <sup>a</sup>	1,450 <sup>a</sup>	3,81 <sup>a</sup>
SF	22166,503 <sup>b</sup>	8778,689 <sup>a</sup>	6360,656 <sup>a</sup>	x	x	x
Filme*	3435,258 <sup>a</sup>	8821,723 <sup>a</sup>	6501,999 <sup>a</sup>	4,818 <sup>b</sup>	8,710 <sup>b</sup>	73,570 <sup>b</sup>

b.s: base seca/ SF: solução filmogênica / \*Condição 2 /x: não analisada/ Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Em relação aos carotenoides, foi evidenciada diferença significativa apenas entre a matéria-prima (polpa *in natura*) e as demais etapas (solução filmogênica e filme). Observa-se semelhança entre a solução filmogênica e os filmes prontos. Nota-se que em relação a técnica *casting*, a solução filmogênica preservou ainda 25,06% do teor de carotenoides em relação à polpa *in natura*, reduzindo entre este processo (polpa e solução filmogênica) 74,94%. Entretanto, após a secagem dos filmes (estufa à 30 – 35°C, 46h), não houve redução em relação à solução, mas ocorreu uma redução de 74,9% em relação à polpa *in natura*, preservando somente 25,18% do teor de carotenoides totais. As reduções destes teores possivelmente possam ter ocorrido não necessariamente pela degradação térmica dos bioativos, como também devido à dificuldade de extração desses bioativos da matriz dos filmes.

Foi evidenciada diferença significativa (Tabela 37) entre os componentes. A solução filmogênica e filme (T2) apresentaram semelhança entre si e diferença da polpa. Na Tabela 35 observa-se que a solução filmogênica preservou somente 24,53% do teor de  $\beta$ -caroteno presente na polpa *in natura*. Entretanto, após a secagem dos filmes (em estufa à 30 – 35°C, 46h), não houve redução do teor de  $\beta$ -caroteno. O filme seco preservou somente 24,6% do teor de  $\beta$ -caroteno presente na matéria-prima inicial.

Estatisticamente foi constatado diferença significativa entre os componentes utilizados na elaboração dos filmes pela técnica *casting* com relação a capacidade de captura do radical livre DPPH, tanto para os valores relatados em IC<sub>50</sub> (Tabela 37). Na comparação das médias, ficou enfatizado a diferença entre eles.

Através dos dados apresentados na Tabela 35, nota-se pelo valor obtido do IC<sub>50</sub>, que a polpa *in natura* com relação ao filme elaborado (T2) pela técnica *casting*, após a secagem dos filmes (em estufa à 30 – 35°C, 46h), reduziu sua capacidade antioxidante em 4,4 vezes.

Estatisticamente (Tabela 37), foi constatado diferença significativa entre os componentes utilizados na elaboração dos filmes pela técnica *casting* com relação a capacidade antioxidante pelo método ABTS, tanto para os resultados apresentados em IC<sub>50</sub> (mg/g) quanto para os resultados em  $\mu$ M trolox (g/amostra).

Através dos dados apresentados para os resultados expressos em IC<sub>50</sub> (Tabela 35), nota-se uma redução da capacidade de captação do radical livre ABTS em 6 vezes entre as etapas do processo *casting*, com relação à polpa *in natura* e o filme (ensaio T2) e uma redução de 19 vezes em relação aos resultados em  $\mu$ M trolox. Provavelmente esta perda acentuada seja devido as condições de processo (exposição à temperatura, luz e oxigênio, durante o processo de secagem em estufa com circulação de ar e a temperatura de 25 a 35 °C.

### 5.5.3 Redução durante o processo de extrusão termoplástica e termoprensagem

Na Tabela 38 pode ser observado o esquema de perdas de vitamina C, carotenoides totais e  $\beta$ -caroteno no processo de elaboração de filmes pela técnica de extrusão termoplástica seguida de termoprensagem.

Foi evidenciada diferença significativa no teor de vitamina C entre as diferentes etapas de produção de filmes por extrusão, com exceção apenas do *pellet* e do filme extrusado. Os componentes polpa, polpa concentrada e mistura diferiram significativamente entre si e dos demais. Pode-se observar, conforme já comentado anteriormente, que a polpa *in natura* em relação à polpa concentrada: através do processo de concentração aumentou seu teor de vitamina C em 12,96%. A polpa concentrada em relação à mistura preservou 51,17% dos compostos presentes. Já a mistura à ser extrusada em relação ao *pellet*, preservou-se apenas 22,11% do teor de vitamina C. Nota-se ainda que o filme extrusado em relação ao

*pellet*, reduziu 29,19% de vitamina C. Assim conclui-se que do início do processo (polpa pré-extrusão) até o final do mesmo (filme extrusado e prensado) foi preservado apenas 9,05%, ocorrendo uma redução de 90,95% de vitamina C. Essas diferenças, não necessariamente evidenciam perdas somente pela degradação do bioativo, mas talvez também o fato dos filmes e produtos apresentarem maior dificuldade de extração da matriz em relação a polpa durante o processo.

Em relação aos carotenoides, foi evidenciada diferença significativa entre as etapas de elaboração do filme por extrusão. Todos os componentes diferiram significativamente entre si e dos demais. Pode-se observar através do processo de concentração, o aumento do teor de carotenoides em 50%. Já a mistura à ser extrusada em relação ao *pellet*, preservou-se 36,53% com uma redução de 63,47% do teor de carotenoides totais presentes. Nota-se ainda que o filme extrusado em relação ao *pellet* reteve a totalidade (100%) dos carotenoides nesta etapa. Ainda assim, no *pellet* em relação à polpa concentrada, ocorreu uma redução de 79,11% dos carotenoides. Assim conclui-se que do início do processo (polpa pré-extrusão) até o final do mesmo (filme extrusado termoprensado) houve uma grande redução dos carotenoides totais presente de 65,74%. As diferenças, não necessariamente evidenciam perdas ou ganho, mas talvez o fato da presença do óleo essencial de cravo nos filmes e produtos, por lipofilicidade, possa ter facilitado o processo de extração dos carotenoides em relação a polpa durante o processo.

**Tabela 38.** Resultados experimentais das análises de determinação do teor dos bioativos dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e óleo essencial de cravo (OEC) processados por extrusão e termoprensagem.

Ensaio (b.s.)	Vitamina C (mg/ 100g)	Carotenoides Totais (µg/ 100g)	β-caroteno (µg/ 100g)	DPPH IC 50% (mg/g)	IC 50% ABTS (mg/ g)	TEAC µM trolox/g amostra
Polpa	20738,599 <sup>c</sup>	21733,129 <sup>d</sup>	16372,699 <sup>c</sup>	1,072 <sup>a</sup>	2,104 <sup>a</sup>	2,635 <sup>a</sup>
Polpa C.*	23427,090 <sup>d</sup>	32614,338 <sup>e</sup>	23475,721 <sup>d</sup>	1,854 <sup>b</sup>	3,086 <sup>b</sup>	14,728 <sup>b</sup>
Mistura	11987,393 <sup>b</sup>	18655,888 <sup>c</sup>	13334,025 <sup>b</sup>	2,822 <sup>c</sup>	1,916 <sup>a</sup>	38,71 <sup>c</sup>
<i>Pellet</i>	2649,945 <sup>a</sup>	6814,123 <sup>a</sup>	5028,152 <sup>a</sup>	10,458 <sup>d</sup>	5,639 <sup>c</sup>	37,64 <sup>c</sup>
Extrusado	1876,453 <sup>a</sup>	7445,946 <sup>b</sup>	5318,956 <sup>a</sup>	12,098 <sup>e</sup>	6,457 <sup>d</sup>	57,91 <sup>d</sup>

b.s.: base seca/ \*Polpa C.: polpa concentrada/ Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

Estatisticamente foi evidenciada diferença significativa entre as etapas de elaboração dos filmes por extrusão quanto ao teor de β-caroteno. Apenas o *pellet* e o filme extrusado não diferiram entre si. Observa-se que o processo de concentração aumentou o teor de β-caroteno da polpa *in natura* em 43,38%. Porém, houve uma perda de 43,20% entre a polpa concentrada e a mistura, fato justificado pela diluição da mesma com o glicerol e o OEC. Já a mistura à ser extrusada em relação ao *pellet*, preservou-se apenas 37,71% do teor original. Nota-se ainda

que o filme extrusado preservou 100% do  $\beta$ -caroteno em relação ao *pellet*. Entre a polpa concentrada e o *pellet* houve uma perda de 78,58% do teor de  $\beta$ -caroteno. Assim conclui-se que do início do processo (polpa extrusada) até o final do mesmo (filme extrusado e prensado) pode-se preservar 32,49% e uma perda de 67,51% de  $\beta$ -caroteno.

No processo de extrusão termoplástica também foi evidenciado diferença estatisticamente significativa entre os componentes utilizados na elaboração dos filmes quanto à capacidade de captação do radical livre DPPH e na comparação das médias nenhuma semelhança foi constatada para comparação dos valores obtidos em  $IC_{50}$ .

Relacionando o processo de extrusão termoplástica com as perdas ocorridas entre as etapas para os resultados expressos em  $IC_{50}$ , pode-se observar com relação a polpa *in natura* e a polpa concentrada, uma redução da capacidade antioxidante de 1,73 vezes, o mesmo fato foi constatado com relação à polpa e a mistura (1,52), com a mistura em relação ao *pellet* (3,71), do *pellet* com o filme extrusado (1,16) e uma redução da capacidade antioxidante de 11,29 vezes do início do processo (polpa extrusada) ao final (filme extrusado). Constatando que a perda entre o processo de extrusão foi superior ao de *casting* em 6,85%, relacionado aos resultados obtido em  $IC_{50}$ .

Quanto ao processo de extrusão, foi evidenciado estatisticamente diferença significativa entre os componentes utilizados na elaboração dos filmes quanto a capacidade antioxidante pelo método ABTS, para os resultados apresentados em  $IC_{50}$  (mg/g) e para os resultados em relatados  $\mu$ M trolox. Comparando as médias, foi evidenciado semelhança entre o componente polpa e mistura quanto aos resultados em  $IC_{50}$ . Quanto aos resultados encontrados em  $\mu$ M trolox, observa-se semelhança apenas entre os componentes mistura e *pellet*. Os demais componentes como polpa, polpa concentrada e filme extrusado diferiram entre si dos demais.

Relacionando o processo de extrusão termoplástica com a redução da capacidade antioxidante entre as etapas para os resultados em  $IC_{50}$ , pode-se observar que a polpa *in natura* (polpa extrusão) em relação à polpa concentrada: através do processo de concentração reduziu sua capacidade antioxidante em 1,47 vezes. Foi evidenciado um aumento da capacidade antioxidante da polpa concentrada em relação à mistura 0,62, possivelmente devido à adição de OEC, que com seu comprovado poder antioxidante, elevou a capacidade da mistura. Já a redução da mistura à ser extrusada em relação ao *pellet* foi de 2,94. Nota-se ainda que o filme extrusado em relação ao *pellet* reduziu em 1,15 da sua capacidade antioxidante, nesta etapa. Assim conclui-se que do início do processo (polpa concentrada) até o final (filme extrusado e prensado) ocorreu uma redução total de 3,07. Constatando que a perda entre os processos *casting* e extrusão foi praticamente igual (4,37 e 3,07, respectivamente), no processo *casting* ainda foi evidenciado uma perda superior à apenas 1,30 vezes.

Analisando os dois processos, constata-se que os filmes elaborados por *casting* perderam 86,40% e os filmes extrusado e prensados 90,95% do teor de vitamina C presente. Com relação ao teor de vitamina C houve uma perda maior de 4,55% no processo de extrusão, possivelmente devido à inclusão de mais um processo térmico à temperatura elevada (termoprensagem – 80 °C).

Comparando os dois processos, constata-se que os filmes elaborados por *casting* perderam 74,82% dos carotenoides presentes e os filmes extrusado e prensados 65,74%. Conclui-se que a perda no processo *casting* foi 9,08% superior ao processo de extrusão. Essa diferença, provavelmente se deva à extrusão ser um processo fechado com intenso trabalho mecânico, possibilitando menor perda por exposição à luz e ao oxigênio e promover maior rompimento das paredes celulósicas dos vegetais, liberando maior teor do bioativo carotenoide.

Os filmes elaborados por *casting* perderam 74,93% do teor de  $\beta$ -caroteno presente e o filme extrusado e prensado, 67,51%, indicando que a perda entre os processos foi superior no processo *casting* em 7,41%.

Foi constatado, na comparação dos processos *casting* e extrusão com relação à capacidade antioxidante expresso em IC<sub>50</sub> pelo método DPPH, uma redução da capacidade antioxidante 6,85 vezes superior do processo de extrusão em relação ao processo *casting*. Uma maior redução da capacidade antioxidante pelo processo de extrusão também foi evidenciada quanto aos resultados expressos em  $\mu$ M trolox.

No método ABTS, comparando os processos *casting* e extrusão, a capacidade antioxidante expressa em IC<sub>50</sub> (4,37 e 3,07, respectivamente), apresentou uma diferença na redução de 1,30 vezes superior para o processo de extrusão em relação ao processo *casting*. Uma maior capacidade antioxidante pelo processo de extrusão também foi evidenciada quanto aos resultados expressos em  $\mu$ M trolox.

## 5.6 Atividade antimicrobiana dos filmes

Dentre os microrganismos patogênicos de interesse na área alimentícia e médica, destacam-se *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enteritidis*, causando surtos de toxinfecções alimentares, gastroenterites e trazendo riscos à saúde pública (LEUSCHNER e ZAMPARINI, 2002; GOVARIS et al., 2010; MEIRA et al., 2012).

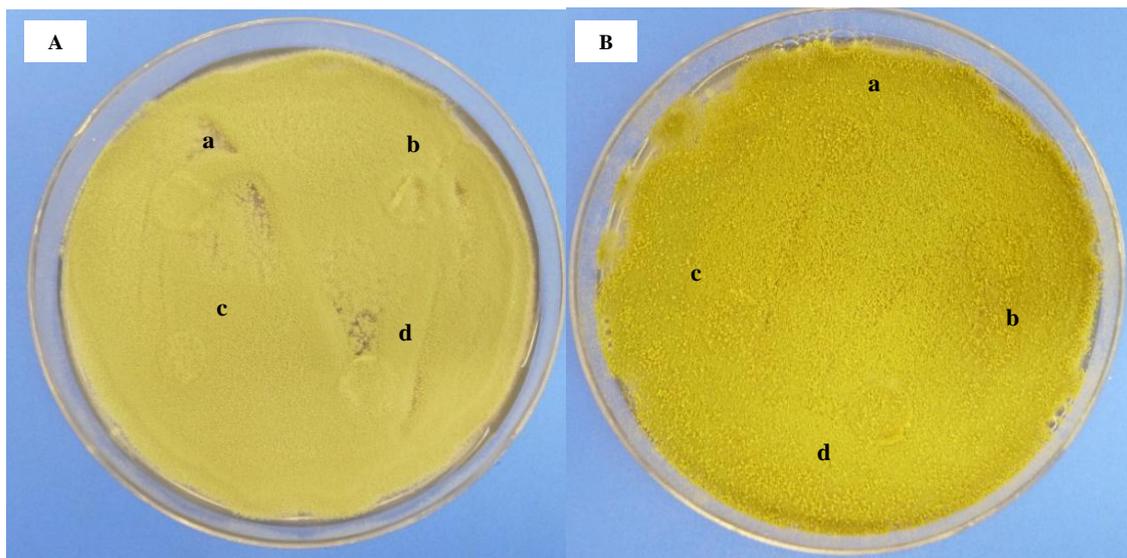
Os filmes elaborados com amido de mandioca, polpa de acerola e óleo essencial de cravo (botão) pela técnica *casting* e extrusão seguida de termoprensagem foram testados mediante sua capacidade inibitória, utilizando-se o método de difusão em ágar (teste de halo) com relação as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Salmonella tiphyrium* e os fungos *Penicillium sp.* e *Aspergillus flavus*. Foram também testados um filme controle (isto é, sem a presença de OEC) e o óleo essencial de cravo puro e em diferentes diluições. Os testes foram realizados em triplicata. Os diâmetros médios (mm) de inibição obtidos na difusão em ágar estão apresentados na Tabela 39.

**Tabela 39.** Medida dos halos de inibição para os filmes elaborados com o óleo essencial de cravo e controle.

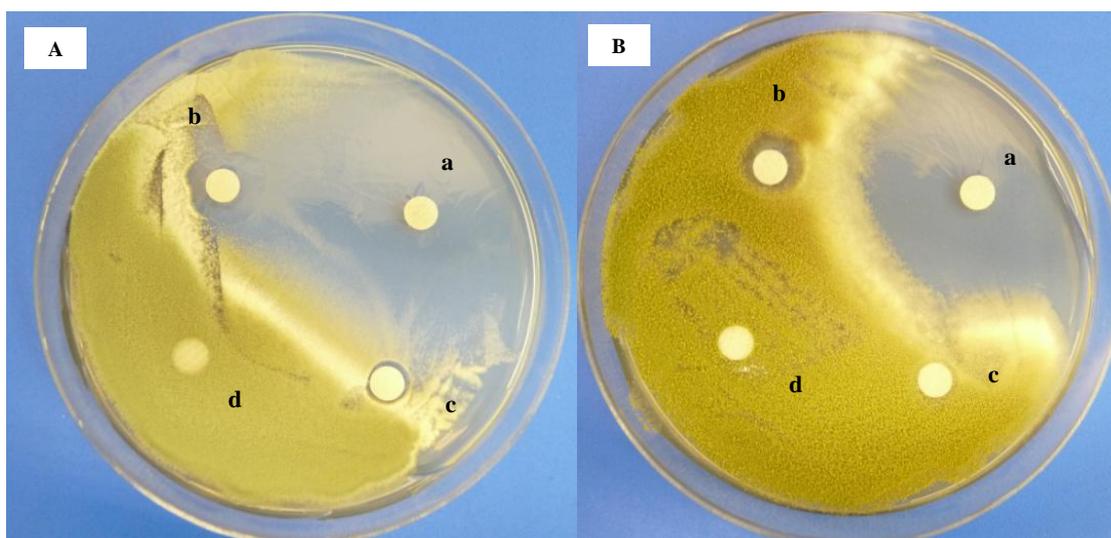
Ensaio	OEC* (%)	Halo de inibição (mm)			
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella tiphyurium</i>	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
Filme extrusado	7,5	0	0	0	0
Filme <i>casting</i>	7,5	28	0	0	0
Filme <i>casting</i>	15	na	na	0	0
Controle	0	0	0	0	0
OEC	100	40	38	36,66	40,5
OEC	7,5	na	na	9,75	8,6
OEC	15	na	na	7	6
Controle**	0	0	0	0	0

\*óleo essencial de cravo / \*\* papel de filtro sem OEC / na: não avaliado / Média±desvio-padrão / Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Os filmes elaborados por *casting* e extrusão nas concentrações de 7,5% e 15% de OEC não apresentaram halo de inibição para os fungos *Penicillium sp.*, *Aspergillus flavus* (Figura 40). Entretanto, o OEC puro, quando testado a 100% e nas mesmas concentrações em que foi adicionado na elaboração dos filmes (7,5 e 15%), apresentaram os halos de 36,66 mm, 9,75 mm e 7 mm, respectivamente para o fungo *Penicillium sp.* e 40,4 mm, 8,6 mm e 6 mm, respectivamente para o fungo *Aspergillus flavus*. Isso comprova a capacidade inibitória do OEC puro perante os fungos *Penicillium sp.* e *Aspergillus flavus* (Figura 41), ao mesmo tempo que indica que provavelmente outras razões como temperatura de processamento (secagem no *casting*, extrusão, prensagem), concentração, volatilização, pH e tempo de estocagem, tenham influenciado a capacidade inibitória dos filmes (BURT, 2004).



**Figura 40.** Resultado do método de difusão em ágar dos filmes elaborados com OEC por *casting* e extrusão. a) 7,5% OEC (extrusado); b) 7,5% OEC (*casting*), c) 15% OEC (*casting*), d) controle (filme sem OEC), perante os fungos: A) *Penicillium sp.*; B) *Aspergillus flavus*.



**Figura 41.** Resultado do método de difusão em ágar para o OEC a) 100%; b) 15%, c) 7,5%, d) controle (papel sem óleo), perante os fungos: A) *Penicillium sp.*; B) *Aspergillus flavus*.

Resultados similares de inibição do OEC no desenvolvimento de fungos também foram relatados em outros estudos. Ugaldea et al. (2014), evidenciaram o aumento na inibição do fungo *Penicillium sp.* (10,3 a 36,7 mm) proporcional ao aumento da concentração de OEC (5 a 1000 $\mu$ L/mL). Omidbeygi et al. (2007) testando a capacidade antifúngica dos óleos essenciais de timol e cravo no desenvolvimento de *Aspergillus* nas concentrações de 0, 50, 200, 350 e 500 ppm, observaram a efetividade de ambos para o fungo testado.

Apesar de haver diversos trabalhos mostrando a efetividade do óleo essencial de cravo contra fungos, o mecanismo de ação ainda não está explicado. Alguns estudos indicam que a

ação antifúngica se deve mudanças na membrana citoplasmática, ocasionando alterações na membrana proteica, inibindo a força motiva de próton, o fluxo de elétron, o transporte ativo e a coagulação dos conteúdos celulares. Outros estudos, indicam que esta ação esta relacionada às características hidrofóbicas dos óleos, auxiliando o rompimento da membrana celular, ocasionando alterações na estrutura, aumentando assim a permeabilidade, causando a saída de componentes celulares como ions (ULTEE et al. 2002; MITCHELL et al. 2010).

Com relação aos ensaios microbiológicos perante as bactérias pode-se concluir que os filmes elaborados por *casting* na concentração de 7,5% de OEC não apresentaram halo de inibição para a bactéria *Salmonella tiphymurium*. Entretanto apresentaram um halo de inibição de 27 mm perante a bactéria *Staphylococcus aureous* (Figura 42). Tal fato justificado, com exceções na literatura, mas em geral os OEs são mais efetivos à bactérias Gram-positivas do que Gram-negativas, o que se atribui à maior complexidade da dupla parede celular desta (BURT, 2004). Com as bactérias Gram-positivas há uma interação direta do óleo com a membrana celular, já com as Gram-negativas há um impedimento da entrada de substâncias hidrofóbicas, devido ao caráter hidrofílico da membrana celular externa (ARAÚJO, 2010). O que pôde ser observado nos filmes com OEC deste estudo, nas concentrações utilizadas, apresentando comportamento diferenciado frente às bactérias Gram-positivas e negativas.

Já os filmes extrusados com a mesma formulação e concentração de OEC (7,5%), não apresentaram halo de inibição para as bactérias estudadas *Salmonella tiphymurium* e *Staphylococcus aureous* (Figura 43). Possivelmente, devido a maior temperatura do processo de extrusão em relação ao processo *casting* e a volatilização do óleo no processo de prensagem (BURT, 2004).

No entanto, o OEC puro (100%) apresentou os halos de 40 e 38 mm para as bactérias *Staphylococcus aureous* e *Salmonella tiphymurium*, respectivamente, indicando a efetividade do OEC puro perante as bactérias testadas (Figura 44). De acordo com Burt (2004), OEC tem demonstrado excelente potencial antibacteriano, sendo sua efetividade associada ao eugenol, representando 82,1 % dos compostos majoritários do óleo utilizado neste estudo.

Resultado superior ao do presente estudo foi obtido por Ugaldea (2014), em filmes de amido de milho (3 %), quitosana (2 %), acetato de celulose, glicerol (30 %) e OEs (cravo, orégano e ambos) nas concentrações de 1,0 %; 2,5 % e 5,0 %, obtidos por *casting*. Foi observado halos maiores com o aumento da incorporação da concentração de OEs para as bactérias: *Staphylococcus a.*, *Micrococcus l.*, *Listeria m.*, *Escherichia c.*, *Salmonella c.* e *Pseudomonas a.* Talvez, essa diferença se deva à presença de quitosana, onde diversos estudos evidenciam a atividade antimicrobiana deste polímero (KONG et al., 2010; MEHDIZADEH et al., 2012), devido à formação de complexos polieletrólíticos, pois seus grupos amínicos protonados provavelmente se ligam seletivamente à superfície celular carregada negativamente dos microrganismos, alterando a atividade celular e a permeabilidade da membrana, com perda de componentes intracelulares e inibição microbiana (YADAV e BHISE, 2004) e/ou à adição dos OEs ao término do processo de elaboração do filme, na temperatura (40 °C), com menor perda volátil. Fato também evidenciado por Pelissari et al. (2009) em filmes compostos por amido de mandioca, quitosana e OE de orégano e por Mehdizadeh et al. (2012), em filmes a base de amido e quitosana com OE de tomilho.

Ugaldea (2014) também observou, nos filmes de acetato de celulose (10 %) e os OEs (1,0 %, 2,5 % e 5,0 %), a não formação de halo frente as bactérias testadas na concentração de 1 % e 2,5 % dos OEs de cravo, orégano e sua combinação. Somente na concentração 5,0 % houve formação de halos para todas as bactérias, nos OEs utilizados.

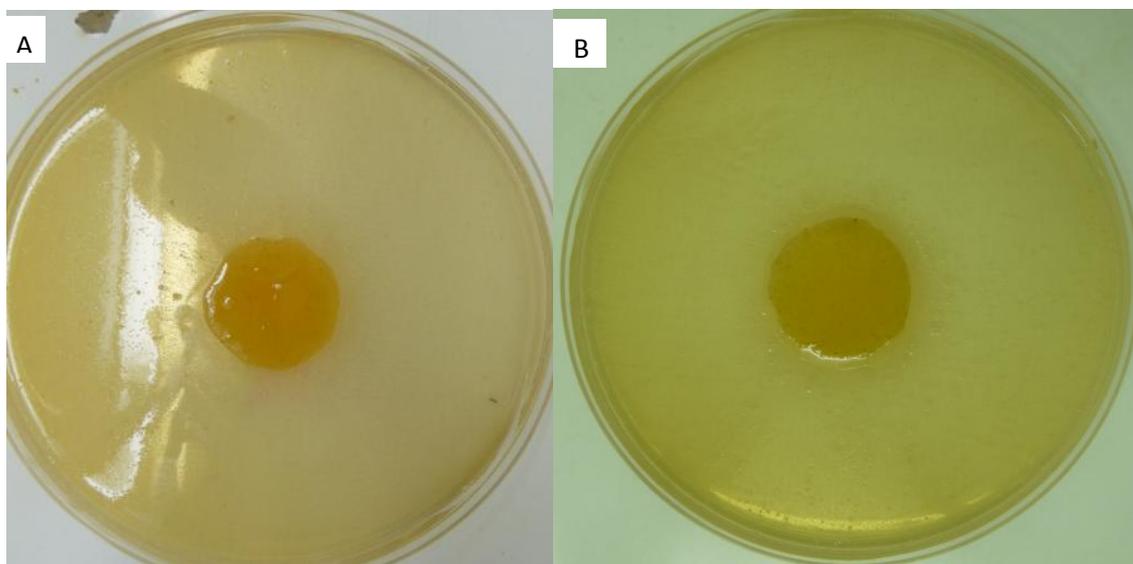
Silva et al. (2009), também constataram a atividade bacteriostática do óleo essencial de cravo com relação aos microrganismos *Staphylococcus aureus* e *E. coli*. Os autores observaram maior efetividade em inibir *Staphylococcus aureus* do que *E. coli*. E ainda ressaltaram que a atividade antibacteriana se deve aos terpenos, e a eficácia do óleo está associada ao eugenol presente em 90% na amostra do estudo.

Scherer et al. (2005), evidenciaram acentuada atividade antimicrobiana do óleo essencial de cravo, quando testado para os microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus epidermidis*.

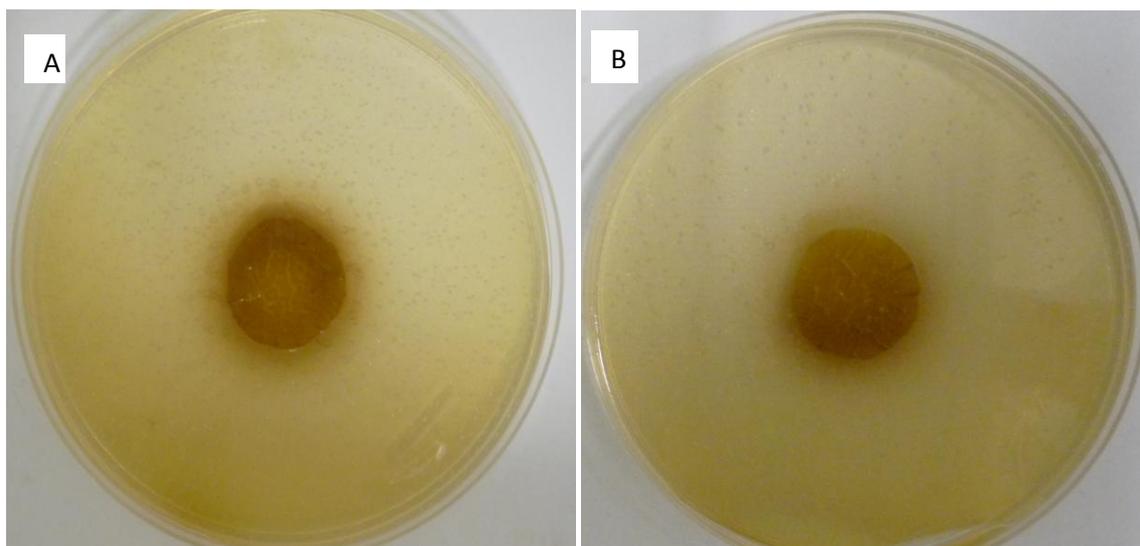
A atividade antimicrobiana de um OE pode depender de apenas um ou dois dos componentes majoritários que o formam. Entretanto, várias evidências indicam que a atividade inerente dos OEs, pode ser devido à interação entre seus constituintes minoritários. Atividades antimicrobianas sinérgicas foram relatadas para frações de OEs, utilizando-se combinações binárias ou ternárias (BURT, 2004).

Gómez-Estaca et al. (2010) observaram em película a base de gelatina, quitosana e OE de cravo aplicada na superfície de bacalhau durante armazenagem sob refrigeração, a redução drástica do crescimento de bactérias Gram-negativas, especialmente de enterobactérias.

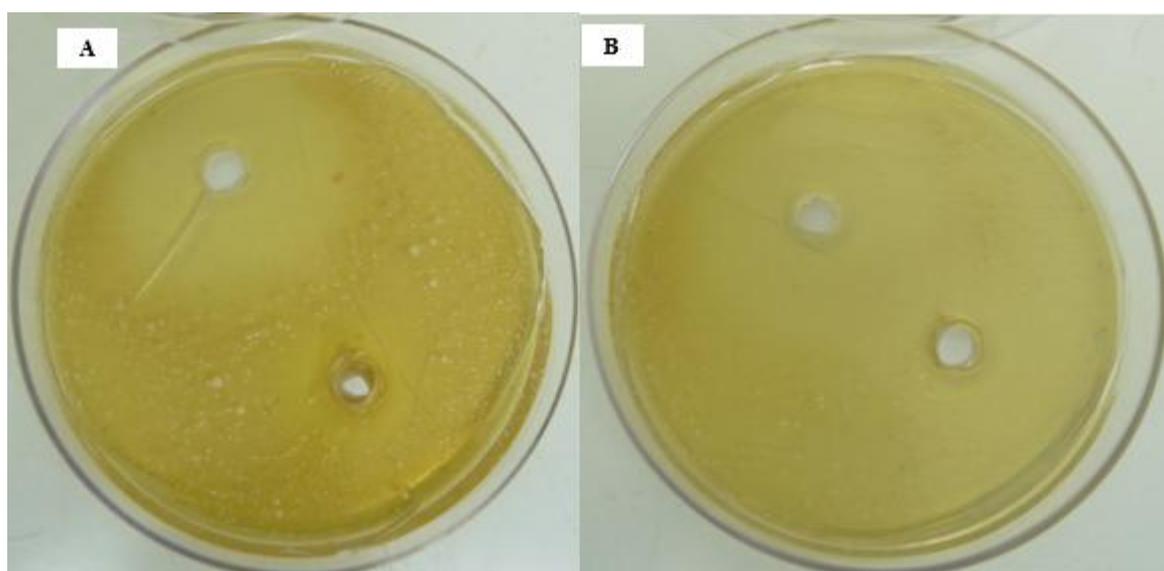
Tangerino (2006) mostrou que *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* apresentaram inibição do crescimento com a técnica de difusão em disco com eugenol. Segundo o autor, quanto ao mecanismo de destruição bacteriana, o eugenol, após ser difundido no ágar, inibe o crescimento bacteriano desnaturando as proteínas e rompendo as membranas dos microrganismos.



**Figura 42.** Resultado do método de difusão em ágar dos filmes elaborados com OEC (7,5%) por *casting*, perante as bactérias: A) *Salmonella tiphymurium* e B) *Staphylococcus aureus*.



**Figura 43.** Resultado do método de difusão em ágar dos filmes elaborados com OEC (7,5%) por *extrusão*, perante os as bactérias: A) *Salmonella tiphymurium* e B) *Staphylococcus aureus*.



**Figura 44.** Halo de inibição do OEC perante as bactérias A) *Staphylococcus aureus*; B) *Salmonella tiphymurium*.

Os filmes de amido de mandioca e polpa de acerola, plastificados com glicerol e aditivados com OEC foram armazenados por 21 dias em condições controladas. Na Figura 45 pode-se observar a sensibilidade de fungos perante ao óleo essencial de cravo, após os 21 dias de armazenamento. Em filmes processados por *casting* com alta concentração de OEC (T3, T4 e T5) não foram observados crescimentos de colônias. O mesmo comportamento foi observado no filme extrusado, contrariando os resultados da Tabela 39. Pois, possivelmente os fungos e as bactérias analisadas neste estudo (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Salmonella* e

*Staphylococcus*) não são as mesmas presentes nos filmes da Figura 51, estas provavelmente apresentam uma menor sensibilidade ao OEC.



**Figura 45.** Crescimento de *Penicillium sp.* em filmes com concentrações variadas de OEC. T1) sem OEC; T2) 7,5% de OEC; T3) 15% de OEC; T4) 22,5% de OEC; T5) 30% de OEC e Ext) extrusado com 7,5% de OEC.

5.7

gar  
util  
Art

der  
lite  
de



iscando  
sse, foi  
o, com  
vel por  
82). A  
icidade  
01).

ssencial

de cravo e do extrato do nime extrusado e prensado de amido de mandioca com polpa de acerola e óleo essencial de cravo sobre as *Artemias salinas* demonstraram que o percentual de mortalidade aumentou proporcionalmente com a concentração de óleo adicionado.

Os valores de DL-50 (dose letal mediana) para o OEC foi de  $291,2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  e para o extrato do filme foi de  $2.019,09 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Analisando os valores de DL50 do filme e do OEC pode-se verificar que o óleo apresenta maior toxicidade em relação ao filme.

Segundo Garcia-Rodriguez et al. (2009), a DL50 expressa o valor da concentração do extrato capaz de matar 50% dos náuplios de *Artemia salina* e quanto menor a concentração mais tóxica é a substância.

Diversos autores estabeleceram critérios de classificação quanto á toxicidade. Dessa forma, os critérios de classificação de Donabella (1997) estabelece com base nos valores das DL50 como:  $DL50 \leq 80 \mu\text{g}/\text{mL}$ , o produto é altamente tóxico;  $DL50$  entre 80 a  $250 \mu\text{g}/\text{mL}$ , o produto é moderadamente tóxico e  $DL50 \geq 250 \mu\text{g}/\text{mL}$ , o produto é levemente tóxico ou

atóxico. Entretanto Meyer et al. (1982) utilizam o critério de avaliação em que considera a amostra tóxica ou ativa as que apresentarem  $DL50 < 1000 \mu\text{g/mL}$  e amostras atóxicas ou inativas as que apresentarem  $DL50 > 1000 \mu\text{g/mL}$ . Segundo Nguta et al. (2011), tanto extratos orgânicos, quanto extratos aquosos com valores de  $DL50 < 100 \mu\text{g/ml}$  apresentam alta toxicidade,  $DL50$  entre 100 e 500  $\mu\text{g/ml}$  apresentam toxicidade moderada,  $DL50$  entre de 500 e 1000  $\mu\text{g/mL}$  apresentam fraca toxicidade e  $DL50 \geq 1000 \mu\text{g/mL}$  são considerados atóxicos. De acordo com Bussmann et al. (2011), tanto os extratos etanólicos, quanto aquosos com valores de  $CL50 < 249 \mu\text{g/mL}$  apresentam alta toxicidade,  $CL50$  entre 250 e 499  $\mu\text{g/mL}$  apresentam toxicidade moderada,  $CL50$  entre 500 e 1000  $\mu\text{g/mL}$  apresentam leve toxicidade, e  $CL50 \geq 1000 \mu\text{g/mL}$  são considerados atóxicos.

Portanto, de acordo com os critérios de avaliação dos autores citados, tanto o óleo essencial de cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus*) como o filme, não apresentam toxicidade frente à *Artemia salina*, sendo classificados como atóxico.

Neste estudo, foi encontrado um valor inferior, isto é, com menor capacidade tóxica ao obtido por Rabêlo (2010). O autor obteve uma DL 50 de 1  $\mu\text{g/mL}$  na avaliação da toxicidade do óleo essencial de cravo-da-índia frente à *Artemia salina*.

Apesar da classificação acima, teoricamente como cada 1g do filme do presente estudo contém  $6,9 \times 10^{-6}$  g de OEC, portanto uma pessoa de 70 kg teria que ingerir uma quantidade muito grande de filme (141,33 g) para ser considerado tóxico.

Amarante et al. (2011) também realizaram testes com *Artemia salina* para avaliar a toxicidade de plantas medicinais da Amazônia. Todos esses trabalhos e muitos outros com *Artemia salina* têm revelado a efetividade de testes com essa espécie em determinar a DL50 para compostos tóxicos.

Vanin et al. (2014), na avaliação da toxicidade óleo essencial de cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus*), encontraram uma  $DL50 = 0,5993 \mu\text{g/mL}$ .

Rajabi et.al. (2015), avaliaram a citotoxicidade de 16 nanopartículas utilizando dois métodos: o ensaio de letalidade com *Artemia salina* e o ensaio MTT em células L929. Os autores não evidenciaram diferença estatisticamente significativa entre os dois testes. Os resultados demonstram a capacidade do ensaio de letalidade com *Artemia salina* em quantificar com precisão a citotoxicidade de nanopartículas e substituir o teste MTT, que é caro e trabalhoso. Comprovando que o teste com *Artemia salina* pode agilizar experimentos de toxicidade e diminuir os custos, e portanto, pode ser considerado uma alternativa ao ensaio de cultura de células *in vitro*.

## 5.8 Sugestão de Aplicação

Esses filmes poderiam ser indicados para aplicação em frutos amarelos e/ou vermelhos na preservação dos bioativos presentes, além do efeito adicional como o retardo do amadurecimento e da senescência destes frutos, como isso favorecendo a melhoria das características nutricionais e o aumento da vida útil destes alimentos.

## CONCLUSÃO

Foi possível elaborar filmes de amido de mandioca adicionados de glicerol, polpa de acerola e óleo essencial de cravo pela técnica *casting*, como por extrusão termoplástica seguida de termoprensagem.

A substituição do glicerol pelo óleo essencial de cravo (OEC) proporcionalmente não influenciou significativamente as propriedades de espessura, atividade de água e a permeabilidade ao vapor de água dos filmes. No entanto, influenciou as demais propriedades.

Os resultados relevantes que permitem comparar os filmes produzidos pela técnica de *casting* e por extrusão termoplástica seguida por termoprensagem estão apresentados a seguir:

- ✓ Que os filmes produzidos por *casting* promoveram maiores valores de deformação na tração; resistência na perfuração; teor de vitamina C, carotenoides e  $\beta$ -caroteno e da capacidade antioxidante pelo método DPPH.
- ✓ Que o processo de extrusão termoplástica e termoprensagem, diante das condições operacionais estabelecidas neste estudo, é considerado viável para produção de filmes extrusados de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo, apesar da redução de vitamina C, carotenoides,  $\beta$ - caroteno e da capacidade antioxidante no teste de DPPH. Esta composição apresenta-se como uma alternativa interessante para elaboração de filmes.
- ✓ Semelhança entre os processos nas propriedades espessura, permeabilidade de água, atividade de água, tensão na perfuração e módulo de elasticidade (consideradas importantes para um bom filme), indicando potencial para reprodução em escala piloto.
- ✓ Os filmes elaborados com amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e o óleo essencial de cravo mostraram capacidade inibitória quanto as bactérias testadas. Porém, não apresentaram o mesmo efeito quanto aos fungos avaliados nas concentrações testadas.
- ✓ Não foi evidenciada toxicidade do óleo essencial de cravo e dos filmes com ele contido, quando submetidos ao teste toxicológico com *Artemia salina*

Tendo em conta os antioxidantes e antimicrobianos, propriedades importantes observadas no presente trabalho, consideramos que este óleo essencial pode ser útil na indústria de alimentos como conservador de alimentos.

Apesar dos filmes ativos à base de biopolímeros indicarem uma tendência bastante interessante devido à biodegradabilidade e como suporte de aditivos, ainda são necessários mais estudos visando à melhora das propriedades de barreira e mecânicas.

## **7 SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS**

Uma das alternativas seria a aplicação da embalagem em produtos alimentícios ou frutos ou vegetais vermelho, fonte potencias de bioativos, com o objetivo de avaliar a perda de massa, textura, bioativos.

Como também a biodegradabilidade do filme poderia ser avaliada em condições controladas em função do tempo, quanto a perda de massa dos frutos embalados.

Através da microscopia eletrônica de varredura, poderia ser avaliado a nível molecular, a interação do amido de mandioca com a polpa na formação dos filmes e das propriedades físicas do filme obtido, melhorando suas propriedades de barreira e mecânicas.

Seria interessante fazer um estudo com os outros óleos essenciais em função de outros microrganismos.

O estudo da validade comercial dos filmes poderia ser realizado em várias condições de umidade relativa do ar, por meio da análise dinâmico-mecânica e difração de raios X.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAM – Associação Brasileira dos Produtores de Amido de Mandioca. **Dados de produção (2013)**. Disponível em: <http://www.abam.com.br>. Acessado em: 5 jan. 2016.

ABRE – Associação brasileira de embalagem. **Apresentação do setor**, Disponível em: <http://www.abre.org.br/index.php>. Acessado em: 11 jan. 2016.

ADEGOKE, G.O. et al. Antioxidants and lipid oxidation in food - a critical appraisal. **Journal of Food Science & Technology**, v.35, n.4, p. 283-98, 1998.

AFONSO, R. S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B. C. A.; FRANÇA, T. C. C. Aspectos químicos e biológicos do óleo essencial de cravo da índia. **Revista Virtual Química**, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012.

AGOSTINI-COSTA, T. S.; ABREU, L. N. ROSSETTI, A. G. Efeito do congelamento e do tempo de estocagem da polpa de acerola sobre o teor de carotenóides. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n.1, 2003.

AGUIRRE, A.; BORNEO, R.; LEÓN, A. E. Antimicrobial, mechanical and barrier properties of triticale protein films incorporated with oregano essential oil. **Food Bioscience**, v. 1, p. 2-9, 2013.

ALMEIDA, D.M.; WOICIECHOWSKI, A.L.; WOSIACKI, G.; PRESTES, R.A.; PINHEIRO, L.A. Propriedades Físicas, Químicas e de Barreira em Filme Formados por Blenda de Celulose Bacteriana e Fécula de Batata. **Polímeros**, v.23, n.4, p. 538-546, 2013.

ALMEIDA, M. M. B., SOUSA, P. H. M., ARRIAGA, A. M. C., PRADO, G. M., MAGALHAES, C. E. C., MAIA, G. A. Bioactives compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 2155-2159, 2011.

ALTAY, F.; GUNASEKARAN, S. Influence of drying temperature, water content and heating rate on gelatinization of corn starches. **Journal of Agricultural and Chemistry**, v. 7, n.54, p. 4235-4245, 2006.

ALVES, V. D., MALI, S., BELÉIA, A., GROSSMANN, M. V. E., Effect of glycerol and amylose enrichment on cassava starch film properties. **Journal of Food Engineering**, v. 78, p. 941-946, 2007.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n.10, p. 2202-2210, 2010.

ALMALAIKA, S., ASHLEY, H., e ISSENHUTH, S. The antioxidant role of alpha tocopherol in polymers. The nature of transformation products of alpha-tocopherol formed during melt processing of LDPE. **Journal of Polymer Science**, v. 32, p. 3099-3113, 1994.

AMARAL, M.F.Z.J.; BARA, M.T.F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.2, n.2, p.5-8, 2005.

AMARANTE, C.B., MÜLLER, A.H., PÓVOA, M.M., FÂNI, M. Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*). **Acta Amazonica**, v. 41, n.3, p. 431–434, 2011.

AMANTE, E. R. **Caracterização de Amidos de Variedades de Mandioca (*Maninot esculenta*, Crantz) e de Batata-doce (*Ipomoea batatas*)**. 1986. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1986. 109p.

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists**. Official Methods of Analysis of AOAC International, 17a. ed. Arlington, Virginia. USA. 2010.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). Method D 882-83: Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. **In: Annual Book of ASTM Standards**. Conshohocken, PA, 1995.

ANDRADE, R.M.S; FERREIRA, M.S.L.; GONÇALVES, E.C.B.A.G.. Functional capacity of flour obtained from residues of fruit and vegetables. **International Food Research Journal**, v. 21, p. 1675-1681, 2014.

APU A. S. A.; MUHIT, S. M.; TAREQ, A. H.; PATHAN, A. T. M.; JAMALUDDIN, A. M. Antimicrobial activity and brine shrimp lethality bioassay of the leaves extract of (*Dillenia indica linn.*). **Journal of Young Pharmacists**, v. 2, n. 1, p. 50-53, 2010.

ARAÚJO, P.S.R de; MINAMI, K. **Acerola**. Campinas: Fundação Cargill, 1994, 81p.

ARAÚJO, P.G.L. et al.  $\beta$ -Caroteno, ácido ascórbico e antocianinas totais em polpa de frutos de aceroleira conservada por congelamento durante 12 meses. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p.104-107, 2007.

ARAUJO, R.C.Z. **Embalagens ativas com ervas aromáticas e condimentares na conservação de pães artesanais**. 2005. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

ARENAS, D.R. M.; AZEVEDO, A.M.; MÉNDEZ, L.Y.V.; KOUZNETSOV, V.V. Scavenger activity evaluation of the clove bud essential oil (*Eugenia caryophyllus*) and eugenol derivatives employing ABTS decolorization. **Scientia Pharmaceutica**, v.79, n. 4, p.779-791, 2011.

ARUOMA, O.I. Methodological characterizations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. **Mutation Research**, v.9, p.523-524, 2003.

ASENJO, C. F. Acerola. In: NAGY, S.; SHAW, P. E. **Tropical and subtropical fruits: composition, properties and uses**. Wesport: AVI, 1980. p. 341-374.

ASTM –AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. Standard test methods for water transmission of material-E-96-00. **In: Annual Book of ASTM Standards.** Philadelphia: ASTM, 2000.

ASCHERI, D. P. R. et al. Efeito da extrusão sobre a adsorção de água de farinhas mistas pré-gelatinizadas de arroz e bagaço de jabuticaba. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 325-335, 2006.

AVÉROUS, L. Biodegradable Multiphase Systems Based on Plasticized Starch: A Review. **Journal of Macromolecular Science**, v. 44, n. 3, p. 231-274, 2003.

AZEREDO, H. M. C.; MATTOSO, L. H. C.; WOOD, D.; WILLIAMS, T. G.; AVENABUSTILLOS, R. J.; MCHUGH, T. H. Nanocomposite edible films from mango puree reinforced with cellulose nanofibers. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 5, p. 31-35, 2009.

AZEREDO, H. M. C.; MIRANDA, K. W. E.; ROSA, M. F.; NASCIMENTO, D. M.; MORA, M. R. Edible films from alginate-acerola puree reinforced with cellulose whiskers. **LWT - Food Science and Technology**, v.46, p. 294-297, 2012.

BANKER, G.S.; GORE, A.Y.; SWARBRICK, J. Water vapor transmission properties of free polymer films. **Journal pharmaceutical sciences**, v.18, p.457-466, 1996.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolics compounds in plants and agri-industrial by products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191-203, 2006.

BASTOS, D. D. S., ARAÚJO, K. G. D. L., LEÃO, M. H. M. D. R. Ascorbic acid retaining using a new calcium alginate-Capsul based edible film. **Journal Microencapsulation**, v. 26, n. 2, p. 97–103, 2009.

BAYER, E. A.; LAMED, R. The cellulose paradox: pollutant par excellence and/or a reclaimable natural resource. **Biodegradation**, v. 3, n. 2-3, p. 171-188, 1992.

BEDNARCZUK, V. O. Testes *in vitro* e *in vivo* utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.11, n. 2, p.44, 2010.

BEMILLER, J. N. Pasting, paste, and gel properties of starch-hydrocolloid combinations. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, p. 386-423, 2011.

BENGTSSON, M.; KOCH, K.; GATENHOLM, P. Surface octanoylation of high-amylose potato starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 54, p. 1-11, 2003.

BERRIOS, J. J.; ASCHERI, J. L. R.; LOSSO, J. N. Extrusion Processing of Dry Beans and pulses. In: Muhammad Siddiq and Mark A. Uebersax. (Org.). *Dry Beans and Pulses*. 1ed. Arnes: Iowa State University, v. 1, p. 185-203, 2013.

BILIADERIS, C.G. The structure and interactions of starch with food. **Journal Physiology and Pharmacology**, v.69, p.60-78, 1991.

BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. **Introdução à Química dos Alimentos**. 2ed. São Paulo: Varela, 1995.

BULÉON, A. et al. Starch granules: Structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.23, p. 85-112, 1998.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30. 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 23 de setembro de 2005.

BRASIL, Instrução normativa nº 136. Estabelece o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para suco de frutas. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2000.

BRAGA, R. L.; PERES, L. Novas tendências em embalagens para alimentos: revisão. **Boletim Ceppa**, v. 28, n. 1, p. 69-84, 2010.

BRAVIN, B.; PERESSINI, D.; SENSIDONI, A. Development and application of polysaccharide-lipid edible coating to extend shelf-life of dry bakery products. **Journal of Food Engineering**, v. 76, p.280–290, 2006.

BRODY AL, Strupinsky ER, Kline, LR. 2001. **Active packaging for food applications**. Lancaster: Technomic Publishing Co., Inc. 218 p.

BRÜMMER, T.; MEUSER, F.; LENGERICH, B.; NIEMANN, C. Expansion and functional properties of corn starch extrudates related to their molecular degradation, product temperature and water content. **Starch/Stärke**, v.54, p.9-15, 2002.

BUENO, J. M., SAEZ-PLAZA, P., RAMOS-ESCUADERO, F., JIMENEZ, A. M., FETT, R., & ASUERO, A.G. Analysis and antioxidant capacity of anthocyanin pigments. Part II: Chemical structure, color, and intake of anthocyanins. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 42, p. 126–151, 2012.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. **International Journal Food Microbiology**, v. 94, p. 223–53, 2004.

BUKZEM, A. de L., DOS SANTOS, D. M.; ASCHERI, D. P. R. Filmes biodegradáveis a base de fécula de mandioca e bagaço de cevada obtidos por extrusão termoplástica. **Revista Agrotecnologia**, v. 3, n. 2, p. 89-107, 2012.

BUSSMANN, R. W. Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru. **Journal of ethno pharmacology**, v. 137, p. 121-140, 2011.

CAMPOS, C.A., GERSCHENSON, L.N., FLORES, S.K. Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. **Food Bioprocess Technology**, v. 4, p. 849–875, 2011.

CAGRI, A.; RYSER, E. T. Antimicrobial Edible Films and Coatings. **Journal of Food Protection**, v. 67, p. 83-844, 2004.

CAO, N., FU, Y., HE, J. Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 1153-1162, 2007.

CARULO, M.F. **Desenvolvimento e caracterização de biofilmes ativos, contendo sorbato de potássio, feitos com alginato de cálcio e ácidos graxos**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de engenharia Química. Campinas: 2005.

CARVALHO, L. M. J. ; BORCHETTA, R.; SILVA, E.M.M; CARVALHO, C.W. P. ; MIRANDA, R. M. ; SILVA, C. A.B. Effect of Enzymatic Hydrolysis on Particle Size Reduction in Lemon Juice (Citrus limon, L.), cv. Tahiti. **Brazilian Journal of Food Technololy**, v. 9, n. 4, p. 277-282, 2006.

CANSIAN, R.L.; MOSSI, A.; OLIVEIRA, D.; TONIAZZO, G.; TREICHEL, H.; PAROUL, N.; ASTOLFI, V.; SERAFINI, L.A. Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de ho-sho (Cinnamomum camphora Ness e Eberm Var. Linalo oriferafujita). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, n.2, p. 378-384, 2010.

CEREDA, M. P. **Resíduos da industrialização da mandioca** 1° ed, São Paulo: Paulocéia, 1994.

CEREDA, M.P. CHUZEL, C.G.; VILPOUX, O.; NUNES, O.L.G. DA S. Modificação de fécula por fermentação. In: LIMA, u. de A. **Biotecnologia Industrial**. v. 3 cap.20. São Paulo: Edgar Blucher Ltda, 2001. p. 414-417.

CHANG, Y. P.; KARIM, A. A.; SEOW, C. C. Interactive plasticizing-antiplasticizing effects of water and glycerol on the tensile properties on tapioca starch films. **Food Hydrocolloids**, v. 20, n. 1, p.1-8, 2006.

CHENG, Z.; MOORE, J.; YU, L. High-Throughput Relative DPPH Radical Scavenging Capacity Assay. *Journal Agricultural Food Chemistry*, v. 54, n.20, p. 7429-7436, 2006.

CHEN, C., KUO,W., & LAI, L. Rheological and physical characterization of film forming solutions and edible films from tapioca starch/decolorized hsian-tsoa leaf gum. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 2132-2140, 2010.

CHEETHAN, N. W. H.; TAO, L. Variation in cristalline type with amilose content in maize starch granules: a X-ray powder diffraction study. **Carbohydrate Polymers**, v. 36, n.4, p. 277-284, 1998.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças:fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA.2005.

CHIVRAC F, GUEGUEN O, POLLET E, AHZI S, MAKRADI A E AVEROUS L Micromechanical modeling and characterization of the effective properties in starch-based nano-biocomposites. *Acta Biomateriali*, v. 4, n.15, p. 1707–1714, 2008.

CIACCO, C. F.; CRUZ, R. Fabricação de amido e sua utilização. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia, (**Série Tecnológica Agroindustrial**), 152 p., 1982.

COELHO, Y. S.; RITZINGER, R.; OLIVEIRA, J. R. P.; soares filho, W. S.; PEREIRA, M. R. Pro acerola: Programa de Desenvolvimento da Cultura da Acerola no Estado da Bahia. **In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE INTERAMERICANA DE HORTALICULTURA TROPICAL**. Horticultura Tropical em Regiões Semi-Áridas. 2003, Fortaleza: Sociedade Interamericana de Horticultura Tropical, n. 49, p. 303.

COLONNA, P.; DOBLIER, J.L.; MELCION, J.P., MONREDON, F.; MERCIER, C. Extrusion cooking and drum drying of wheat starch. Physical and macromolecular modifications. **Cereal Chemistry**, v. 61, n. 6, p. 538-543, 1984.

CORTÉS-ROJAS, D. F.; SOUZA, C. R. F.; OLIVEIRA, W. P. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. Asian Pac. **Journal Tropical Biomedicy**, v. 4, p. 90-96, 2014.

COSTA JGM, RODRIGUES FFG, ANGÉLICO EC, SILVA MR, MOTA ML, SANTOS NKA, CARDOSO ALH, LEMOS TLG. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzygium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira Farmacogn**, v. 15, p. 304-309, 2005.

COSTA, L. C. do B; CORRÊA, R. M; CARDOSO, J. C. W; PINTO, J. E. B. P; BERTOLUCCI, S. K. V; FERRI, P. H. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. **Horticultura Brasileira**, v.23, n.4, p.956-959, 2005.

COSTA, F. J. O. G. **Emprego de técnicas termo analíticas na análise de amidos nativos e modificados de mandioca**. 83f. 2010, Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Ponta Grossa.

COSTA, A. R. T.; AMARAL, M. F. Z. J.; MARTINS, P. M.; PAULA, J. A. M.; FIUZA, T. S.; TRESVENZOL, L. M. F.; PAULA, J. R.; BARA, M.T. F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira PI. Medica**, v. 13, n. 2, p. 240-245, 2011.

COSTA, D.L.M.G. **Produção por extrusão de filmes de alto teor de amido termoplástico de mandioca com poli(butileno adipato co-tereftalato) (PBAT)**. Londrina, 2008. Dissertação de mestrado (Mestrado em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Londrina.

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

CRIPPA, A. **Estudo do desempenho de filmes multicamadas em embalagens termoformadas**. Curitiba, 2006. 136p. Dissertação (Pós-Graduação em Engenharia). Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Paraná, 2006.

CURVELO, A.A.S.; CARVALHO, A.J.F.; AGNELLI, J.A.M. Thermoplastic starch cellulosic fibers composites: preliminary results. **Carbohydrate Polymers**, v.45, n. 2, p. 183-188, 2001.

CUQ, B., GONTARD, N., GUILBERT, S. Thermoplastic properties of fish myofibrillar proteins: application to biopackaging fabrication. **Polymer**, v. 38, p. 4071- 4078, 1997.

DANTAS, E. A.; COSTA, S. S.; CRUZ, L. S.; BRAMONT, W. B.; COSTA, A. S.; PADILHA, F. F.; DRUZIAN, J. I.; MACHADO, A. S. Caracterização e avaliação das propriedades antioxidantes de filmes biodegradáveis incorporados com polpas de frutas tropicais, **Ciência Rural**, v. 45, n. 1, p.142-148, 2015.

DAVANÇO, T.; TANADA-PALMU, P.; GROSSO, C. Filmes compostos de gelatina, triacetina, ácido esteárico ou caprótico: efeito do pH e da adição de surfactantes sobre a funcionalidade dos filmes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 408-416, 2007.

DAVIDSON, P.M.; PARISH, M.E. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. **Food Technology**, v. 43, p. 148-155, 1998.

DE BEER, D.; JOUBERT, E.; GELDERBLUM, W.C.A.; MANLEY, M. Antioxidant activity of south African red and white cultivar wines: free radical scavenger. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.90, p.569-577, 2003.

DEFLOOR, I; DEHING, I; DELCOUR, J.A. Physico-chemical properties of cassava starch. **Starch/Sarke**, v.50, n.2-3, p.58-64, 1998.

DZAMIC, A.; SOKOVIC, M.; RISTIC, M. S.; GRIJIC-JOVANOVIC, S.; VUKOJEVIC, J;MARIN, P. D. Chemical composition and antifungal activity of illicium verum and Eugenia caryophyllata essential oils. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 45, n.2, p. 259-260, 2009.

DENAVI, G.; TAPIA-BLÁCIDO, D.R.; ANON, M.C.; SOBRA, P.J.A; MAURI, A.N.; MENEGALLI, F.C. Effects of drying conditions on some physical properties of soy protein films. **Journal of Food Engineering**, v .90, p.341-349, 2009.

DENG, O.H.; YU, A.N.; CAO, X.F. The effect of heating time on antioxidant activity of Maillard reaction products derived from a L-ascorbic acid and L-methionine model system. Hubei, China: School of Chemistry and Environmental Engineering Hubei University for Nationalities Enshi; 2011.

DEVLEIGHERE F.;VERMEIREN L.;DEBEVERE J.,“New preservation technologies: possibilities and limitations”,**International Dairy Journal**, v. 14, p. 273, 2004.

DIAS, M. G., CAMOES, M. F. G. F. C., & OLIVEIRA, L. Carotenoids in traditional Portuguese fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 113, p. 808–815, 2010.

DINIZ, M. D. M. S. **Caracterização do comportamento reológico e determinação de propriedades termofísicas de polpa de manga Ubá**. 2009. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa.

DOI, Y.; FUKUDA, K. Biodegradable plastics and polymers. Amsterdam: **Elsevier**, v.12, p.479-497, 1994.

DONABELLA, M.F. **Triagem in vitro paraa atividade antitumoral e anti-T.cruzi de extratos vegetais, produtosnaturais e substâncias sintéticas.**Belo Horizonte. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, 1997. 128p.

DOLE, P.; JOLY, C.; ESPUCHE, E.; ALRIC, I.; GONTARD, N. Gas transport properties of starch based films. **Carbohydrate Polymers**, v.3, p.1-9, 2004.

DONHOWE, I. G; FENNEMA, O. Edible films and coatings: characteristic, formation, definitions and testing methods. **In: KROCHTA, J. M.; BALDWIN, E. A. e NISPEROS-CARRIEDO, M. O.** Edible coating and films to improve food quality, Lancaster: Technomic Publishing Company, Inc., p 1-24, 1992.

DOPICO-GARCIA, M. S., CASTRO-LOPEZ, M. M., LOPEZ-VILARINO, J. M., GONZALEZ-RODRIGUEZ, M. V., VALENTAO, P., ANDRADE, P. B. Natural extracts as potential source of antioxidants to stabilize polyolefins. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 119, p. 3553-3559, 2011.

DU, W.X.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; HUA, S.S.T.; McHUGH, T.H. Antimicrobial volatile essential oils in edible films for food safety. In **Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances**, v. 4, p. 1124-1134, 2011.

ELFSTRAND, L. FRIGARD, T.; ANDERSSON, R.; ELISSON, ANN-CHARLOTTE.; JONSSON, M.; RESLOW, M.; WAHLGREN, M. Recrystallisation behavior of native and processed waxy maize starch in relation to the molecular characteristics. **Carbohydrate Polymers**, v. 2, n.57, p. 389-400, 2004.

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

FAKHOURY, F.M.; COSTA,D.; YAMASHITA, F.; MARTELLI,S.M.; JESUS, R.C.; ALGANER, K.; COLLARES-QUEIROZ, F.P.; INNOCENTINI-MEI, L.H. Comparative study of processing methods for starch/gelatin films. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, p. 681–689, 2013.

FAMÁ, L., ROJAS, A. M., GOYANES, S., & GERSCHENSON, L. Mechanical properties of tapioca-starch edible films containing sorbates. **LWT e Food Science and Technology**, v. 38, p. 631-639, 2005.

FAO (2009). Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT. <http://faostat.fao.org/site/609/DesktopDefault.aspx?PageID=609#ancor> acesso em: 07/09/2015.

FARIA, T.J.; FERREIRA, R.S.; YASSUMOTO, L.; SOUZA, J.R.P.; ISHIKAWA, N.K.; BARBOSA, A.M. Antifungal activity of essential oil isolated from *Ocimum gratissimum* L.

(eugenol chemotype) against phytopathogenic fungi. **Brazilian arch. Biology technology**, v.49, p. 867-871, 2006.

FARIAS, M. G., FAKHOURI, F. M., CARVALHO, C. W. P. Y ASCHERI, J. L. R. Caracterização físico-química de filmes comestíveis de amido adicionado de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). **Química Nova**, v.35, p.546-552, 2012.

FARROS, P. C. A. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis a partir de derivados do grão de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willdenow) da variedade “Real”**. 2008. 320 f. Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2008.

FRAIFE-FILHO, G. A. & BAHIA, J. J. S. Mandioca. CEPLAC, - Comissão executiva do plano da lavoura cacaueteira. Disponível em: <http://www.ceplac.gov.br/radar/mandioca.htm>. Acessado em: 10 jan. 2015.

FAUBION, J. M.; HOSENEY, R. C. High temperature and short time. Extrusion-cooking of wheat starch and flour. Effect of moisture and flour type on extrudate properties. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v.59, n.6, p. 529-533, 1982.

FELLOWS, P. Extrusion. In: FELLOWS, P **Food processing technology: principles and practice**. Cambridge. Woodhead Publishing, 2002. Cap 14, p.294-308.

FISHMAN, M. L.; COFFIN, D. R.; KONSTANCE, R.P.; ONWULATA, C.I. Extrusion of pectin/starch blends plastized with glycerol. **Carbohydrate Polymers**, v. 41, p. 317-325, 2000.

FERRINI, L. M. K. et al. Effect of acid-methanol treatment on the physicochemical and structural characteristics of cassava and maize starches. **Starch/Stärke**, v. 60, n. 8, p. 417-425, 2008.

FOLEGATTI, M.I.S., MATSUURA, F.C.U., 2003. PRODUTOS. IN: RITZINGER, R., KOBAYASHI, A.K., OLIVEIRA, J.R.P. (Eds.), **A Cultura da Aceroleira**. Embrapa Mandioca e Fruticultura Cruz das Almas, BA, p. 198.

FLORES, S., HAEDO, A. S., CAMPOS, C., e GERSCHENSON, L. Antimicrobial performance of potassium sorbate supported in tapioca starch edible films. **European Food Research and Technology**, v.225, p.375-384, 2007.

FRANKEL, E.N.; MEYER, A.S. The problem of using onedimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1925-1941, 2000

FREITAS, C.A.S. et al. Storage stability of acerola tropical fruit juice obtained by hot fill method. **International Journal Food Science Technology**, v. 41, p.1216-1221, 2006.

GALDEANO, M. C.; GROSSMANN, M.V.E.; MALI, S.; BELLO-PEREZ, L.A.; GARCIA, M.A.; ZAMUDIO-FLORES, P.B. Effects of production process and plasticizers on stability of films and sheets of oat starch. **Materials Science and Engineering**, v. 29, p. 492-498, 2009.

GALDEANO, M. C; WILHELM, A. E. Efeito do Processamento e das Condições Ambientais nas Propriedades de Materiais Biodegradáveis de Amido de Aveia. **Polímeros**, v. 24, n. 1, p. 80-87, 2014.

GALGANO, F.; CONDELLI, N.; FAVATI, F.; DI BIANCO, V.; PERRETI, G.; CARUSO, M. C. Biodegradable packaging and edible coating for fresh-cut fruits and vegetables. **Italian Journal Food Science**, v.27, p. 1-20, 2015.

GALLIARD, T.; BOWLER, P. Morphology and composition of starch. In: GALLIARD, T. (Ed.). *Starch: properties and potential*. Chichester: J. Wiley, 1987. p. 55-78.

GARCIA, V.; COLONNA, P.; BOUCHET, B.; GALLANT, D. J. Structural changes of cassava starch granules after heating at intermediate water contents. **Starch/Starke**, Weinheim, v. 49, n. 5, p. 171-179, 1997.

GARCIA, M. A; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coating. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 6, p. 941-947, 1999.

GARCIA, M. A; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coating. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 6, p. 941-947, 2000.

GARCIA-RODRIGUEZ, A.; TEIXEIRA, O. M.; SALLES, F. G.; VITAL, J. P.; PEIXOTO, D. S. Bioensaio com *Artemia salina* para detecção de toxinas em alimentos vegetais. **Estudos**, v. 36, n. 4, p. 795-808, 2009.

GARDNER, P. T. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. **Food Chemistry**, v. 68, n. 4, p. 471-474, 2000.

GAUDIN, S.; LOURDIN, D.; LE BOTLAN, D.; ILARI, J. L.; COLLONA, P. Plasticisation and mobility in starch-sorbitol films. **Journal of Cereal Science**, v. 29, p. 273-284, 1999.

GAUDIN, S.; LOURDIN, D.; FORSSEL, P. M.; COLONNA, P. Antiplasticisation and oxygen permeability of starch-sorbitol films. **Carbohydrate Polymers**, v. 43, n. 1, p. 33-37, 2000.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. L.; TESTIN, R. F. Property modification of edible wheat, glúten-based films. **Transactions of American Society of Agriculture Engineers**, v. 36, p. 465-470, 1992.

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

GENEMA, A.K. **Extração e caracterização do extrato de alecrim (*rosmarinus officinalis* L.): Estudo de sua ação antioxidante**. 2002. 145p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC.

GENKINA, N.K.; KOZLOV, S.S.; MARTIROSYAN, V.V.; KISELEVA, V.I. Thermal behavior of maize starches with different amylose/amylopectin ratio studied by DSC analysis. **Starch/Stärke**, v. 66, p. 1-7, 2014.

GIRONI, F & PIEMONTE, V. Bioplastics Disposal: How To Manage It. **WIT Transactions on Ecology and the Environment**, v. 140, p. 261-271, 2010.

GÓMEZ-ESTACA, J.; LÓPEZ DE LACEY, A.; LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; GÓMEZ-GUILLÉN, M.C.; MONTERO, P. Biodegradable gelatin chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. **Food Microbiology**, v.27, p. 889-896, 2010.

GOMEZ-ESTACA, J.G.; DICASTILLO, C.L.; MUNOZ, P.H.A.; GAVARA, R.C.R. Advances in antioxidant active food packaging. **Trends in Food Science e Technology**, v.35, p. 42-51, 2014.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.L. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water-vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 1, p. 206-211, 1993.

GONTARD, N., GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 1, p. 206–211, 1996.

GOVARIS, A.; SOLOMAKOS, N.; PEXARA, A.; CHATZOPOULOU, P.S. The antimicrobial effect of oregano essential oil, nisin and their combination against Salmonella enteritidis in minced sheep meat during refrigerated storage. **International of Food Microbiology**, v.137, p.175-180, 2010.

GRISI, C. V. B.; SILVA, L. T.; CABRAL-ALBUQUERQUE, E. C.; DRUZIAN, J. I. Evaluation of the viability of incorporating natural antioxidants in bio-based packagings. **Food Chemistry Research**, v. 3, p. 105-112, 2006.

GUY, R.C.E., HORNE, A.W. Extrusion and co-extrusion of cereals. In: **Food Structure-its creation and evaluation**. Ed. Blanshard, J.M.V. e Mitchel, J.R., Butter-worths p. 1-349, 1988.

GÜLÇİN, I.; ELMASTAS, M.; ABOUL-ENEIN, H.Y. Antioxidant activity of clove oil - A powerful antioxidant source. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 5, p. 489–499, 2012.

GUTIÉRREZ, R. M. P.; MITCHELL, S.; SOLIS, R. V. *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v.117, p.1-27, 2008.

GUERRERO, P. Mechanical and thermal properties of soy protein films processed by casting and compression. **Journal of Food Engineering**, v.100, p.145-151, 2010.

GUILBERT, S.; CUQ, B.; GONTARD, N. Recent innovations in edible and/or biodegradable packaging materials. **Food Additives and Contaminants**, v. 14, p. 741-751, 1997.

GUILBOT, A.; MERCIER, C. Starch. In: ASPINALL, G. O. (Ed.). **The Polysaccharides**. Orlando: Academic, 1985. v.3, p. 209-282.

HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review of Nutrition**, v.16, p. 33-50, 1996.

HAN, J. H., & FLOROS, J. D. Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. **Journal of Plastic Film and Sheet**, v.13, p. 287- 298, 1997.

HAN, J. H. Antimicrobial Food Packaging. **Food Technology**, v. 54, n.3, p. 56–65, 2000.

HARRIS, L.J., DAESCHEL, M.A., STILES, M.E. e KLAENNHAMMER, T.R. antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes*. **Journal of Food Protection**, v.53, p.384-387, 1989.

HARPER, J.M. Extrusion processing of food. **Food Technology**, v.32, n.7, p.67-72, 1992.

HAUGAARD, V.K; UDSEN, A.M.; MORTENSEN, G.; HØEGH, L.; PETERSEN, K. E MONAHAN, F. Potential Food Applications of Biobased Materials. An EU-Concerted Action Project. **Starch/Stärke**, Weinheim, v.53, p.189-200, 2001.

HENRIQUE, C.M.; CEREDA, M.P.; SARMENTO, S.B.S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.1, p. 231-240, 2008.

HEMPEL, A.W.; O’SULLIVAN, M.G.O.; PAPKOVSKY, D.B.; KERRY, J.P. Use of smart packaging technologies for monitoring and extending the shelf-life quality of modified atmosphere packaged (MAP) bread: application of intelligent oxygen. **European Food Research and Technology**, v. 237, p. 117–124, 2013.

HERNANDE-IZQUIERDO, V.M.; KROCHTA, J.M. Thermoplastic processing of proteins for film formation -A review. **Journal of Food Science**, v.73, n. 2, p. 30-39, 2008.

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R.L. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, n.12, 2012.

HOFFMANN, F.L.; SOUZA, S.J.F.; GARCIA-CRUZ, C.H.; VINTURIM, T.M.; DUTRA, A.L. Determinação da atividade antimicrobiana “in vitro” de quatro óleos essenciais de condimentos e especiarias. **Boletim do centro de pesquisa e processamento de alimentos**, Curitiba, v. 17, p. 11-20, 1999.

HUANG, J. **Function-Structure Relationships of Acetylated Pea Starches**. The Netherlands, 2006. 152p. Ph.D. thesis. Wageningen University. 2006.

HUANG, J.; SCHOLS, H. A.; VAN SOEST, J. J. G.; JIN, Z.; SULMANN, E.; VORAGEN, A. G. J. **Food Chemistry**, v. 101, p.1338, 2007.

IMBERTY, A.; BULEON, A.; TRAN, V.; PERES, S. Recent advances in knowledge of starch structure. **Starch/ Starke**, v. 43, n.10, p.375-84, 1991.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. 4ª ed. São Paulo, 1º Ed. digital, 1002 p., 2008.

IONASHIRO, M. **Fundamentos de Termo gravimetria e Analise Térmica Diferencial/Calorimetria Exploratória Diferencial**. 1. Ed. São Paulo: Giz, 205, 80p.

ITO M, MURAKAMI K, YOSHINO M. Antioxidant action of eugenol compounds: role of 2005metal ion in the inhibition of lipid peroxidation. **Food Chemistry Toxicology**, v. 43, p. 461-466, 2005.

JANGCHUD, A. e CHINNAN, M. S. Properties of peanut protein film: sorption isotherm and plasticizer effect. **Lebensm. Wiss. U. Technolo**, v.32, p. 89-94, 1999.

JAYAPRAKASHA, G. K.; PATIL, B. S. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 410-418, 2007.

JAYAKODY, J. A. L. P. **The effect of acid hydrolysis on granular morphology and physicochemical properties of native cereal starch granules**. Newfoundland, Canada, 2001. 141p. Thesis (Master of Science). Department of Biochemistry. Memorial University of New found land.

JAYAKODY, L.; HOOVER, R. The effect of lintnerization on cereal starch granules. **Food Research International**, v. 8, n.35, p. 665-680, 2002.

JANE, J., KASEMSUWAM, T., LEAS, S., ZOBEL, H., IL, D., ROBYT, F. Anthology of starch granule morphology by scanning electron microsocopy. **Starch/Stärke**, v.46, n. 4, p.121-129, 1994.

JANJARASSKUL, T., KROCHTA, J.M. Edible packaging materials. **The Annual Review of Food Science and Technology**, v. 1, p. 415-448, 2010.

JENSEN, S. **Emulsificantes com diferentes EHL (equilíbrio hidrofílico/lipofílico) em filmes de amido de mandioca**. Dissertação de mestrado - Universidade Estadual de Londrina, 2007.

JIMÉNEZ, A.; FABRA, M. J.; TALENS, P., CHIRALT, A. Effect of sodium caseinate on properties and ageing behaviour of corn starch based films. **Food Hydrocolloids**, v. 29, p. 265-271, 2012.

JIN, J., LI, Z. AND ZHANG, F. Scavenging function of mulberry vinegar extractives for 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). **Journal of Northwest SciTech University of Agriculture and Forestry**, v. 34, n.3, p. 135–137, 2006.

JIPA, S., ZAHARESCU, T., SETNESCU, R., GORGHIU, L. M., DUMITRESCU, C., SANTOS, C. Kinetic approach on stabilization of LDPE in the presence of carnosic acid and

related compounds. I. Thermal investigation. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 95, p.1571-1577, 2005.

JUKIC, M.; POLITEO, O.; MILO, M. Chemical composition and antioxidant effect of free volatile aglycones from nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) compared to its essential oil. **Croatica Chemica Acta**, v.79, n.2, p. 209-214, 2007.

KECHICHIAN, V., DITCHFIELD, C., VEIGA-SANTOS, P., TADINI, C.C. Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch. **Food Science and Technology**, v. 43, p.1088-1094, 2010.

KESTER, J. J., FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**, v. 40, p. 47-59, 1986.

KIM D.O, JEONG W., LEE C.Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry**, v.81, p. 321-326, 2003.

KONG, M.; GUANG, C.X.; XING, K.; JIN, P.H. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. **International Journal of Food Microbiology**, vol. 144, n. 1, p. 51-63, 2010.

KRISHNA, M., NINDO, C.I., MIN, S.C. Development of fish gelatin edible films using extrusion and compression molding. **Journal of Food Engineering**, v.108, p. 337–344, 2012.

KRINSKY, N.I. The biological properties of carotenoids. **Pure and Applied Chemistry**, v. 66, p. 1003-1010, 1994.

KRINSKY, N. I.; JOHNSON, E. J. Carotenoid actions and their relation to health and disease. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, p. 459-516, 2005.

KROCHTA, J.M.; MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. **Food Technology**, v. 51, n. 2, p. 61-73, 1997.

KROCHTA, J. M.; MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**, v.51, p. 61, 2002.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n.4, p. 726-732, 2005.

LACERDA, L.G. **Uso de técnicas termoanalíticas na caracterização da hidrólise enzimática parcial de amidos de matérias primas tropicais**. 2006. 81p. Dissertação (mestrado) Universidade Estadual de Ponta Grossa, Parana.

LAGUERRE M, LECOMTE J & VILLENEUVE P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: existing methods, new trends and challenges. **Progress in Lipid Research**, v. 46, p. 244-282, 2007.

LAOHAKUNJIT, N.; NOOMHORM, A. Effect of Plasticizers on Mechanical and Barrier Properties of Rice Starch Film. **Starch/Stärke**, v. 56, p. 348-356, 2004.

LAROTONDA, F. D. S.; MATSUI, K. N.; SOLDI, V.; LAURINDO, J. B. Biodegradable films made from raw and acetylated cassava starch. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 3, p. 477-484, 2004.

LEE DS Packaging containing natural antimicrobial or antioxidant agents. In: Han JH (Ed.) Innovations in food packaging. Baltimore, **Elsevier Science and Technology Books**. p. 108-123, 2005.

LEUSCHNER, R.G.K.; ZAMPARINE, J. Effect of spices on growth and survival of Escherichia coli O 157 and Salmonella enterica serovar Enteritidis in broth model systems and mayonnaise. **Food Control**, v.13, p.399-404, 2002.

LEONEL, M. Análise da forma e tamanho de grânulos de amidos de diferentes fontes botânicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, p.579-588, 2007.

LEONEL, M.; CEREDA, M.P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, p.65-69, 2002.

LIMA, V.L.A.G., MELO, E.A., MACIEL, M.I.S., PRAZERES, F.G., MUSSER, R.S., LIMA, D.E.S. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. **Food Chemistry**, v. 90, p. 565–568, 2005.

LIMA, A. M. F.; ANDREANI, L.; SOLDI, V. Influência da adição de plastificante e do processo de reticulação na morfologia, Absorção de água e propriedades mecânicas de filmes de alginato de sódio. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 832-837, 2007.

LIMA, V. L. A. G.; MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, D. E. S. Avaliação do teor de antocianinas em polpa de acerola congelada proveniente de frutos de 12 diferentes aceroleira (*Malpighia emarginata* DC.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 101-103, 2003.

LIU, L., KERRY, J. F., KERRY, J.P. Effect of food ingredients and selected lipids on the physical properties of extruded edible films/casings. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, p. 295-302, 2006.

LODHA P, NETRAVALI A. Effect of soy protein isolate resin modifications on their biodegradation in a compost médium. **Polymers Degrad Stab**, v.87, n.3, p. 465-477, 2005.

LOPEZ, P.; SANCHEZ, C.; BATLLE, R.; NERIN, C. Solid and vapor phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of select foodborne bacterial and fungal strains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 6939-6946, 2005.

LOPES, A. S. **Pitanga e acerola: estudo de processamento, estabilidade e formulação de néctar misto**. 2005. p. 193. Tese (Doutorado em Ciencia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas - SP.

LOURDIN, D.; DELLA-VALLE, G.; COLONNA, P. Influence of amylose content on starch films and foams. **Carbohydrate Polymer**, v. 27, p. 261-270, 1995.

LUCKACHAN, G. e PILLAI, C.K.S. Biodegradable Polymers- A Review on Recent Trends and Emerging Perspectives. **Journal of polymers and the environment**, v.19, p.637-676, 2011.

MACHADO, B.A.S et al. Desenvolvimento e avaliação da eficácia de filmes biodegradáveis de amido de mandioca com nanocelulose como reforço e com extrato de erva-mate como aditivo antioxidante. **Ciência Rural**, v.42, n.11, p. 2085-2091, 2012.

MA, X.; YU, J. **The plasticizers containing amide groups for thermoplastic starch. Carbohydrate Polymers**, v.57, p.197-203, 2004.

MAHAN, L.K.; STUMP, S.E. KRAUSE. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. São Paulo: Rocca, 2010.

MAIA, L.H.; PORTE, A.; SOUZA, V.F. Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira a umidade e oxigênio. **Boletim do CEPPA**, v.18, n.1, 2000.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Effects of yam starch films on storability and quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.34, p. 7055-7011, 2003.

MALI, S., GROSSMANN, M.V.E., GARCÍA, M.A., MARTINO, M.M., ZARITZKY, N.E. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, v.56, p. 129-135, 2004.

MALI, S., SAKANAKA, L.S., YAMASHITA, F., GROSSMANN, M.V.E. Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. **Carbohydrate Polymers**, 60, 283-289, 2005.

MALI, S., GROSSMANN, M. V. E., GARCÍA, M. A., MARTINO, M. M.; ZARITZKY, N. E. Mechanical and thermal properties of yam starch films. **Food Hydrocolloids**, v. 19, n. 1, p. 157-164, 2005.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCÍA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.

MAMADOU, S. Etude du procédé de fabrication de barquettes a base de produits amylopectines expanses, application au manioc. 1994. 53p. Thèse (Diplôme D'Études Approfondies) - L'Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires, Massy, 1994.

MARTINS, L.O.; FIALHO, A.M.; Rodrigues, P.L.; Sá-Correia, I. Gellan gum production and activity of biosynthetic enzymes in *Sphingomonas paucimobilis* mucoid and non-mucoid variants. **Biotechnol. Appl. Biochem.**, v. 24, p. 47-54, 1998.

MCHUGH, T.H.; KROCHTA, J.M. Sorbitol- vs. glycerol-plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.42, n.4, p.841-845, 1994.

MCHUGH, T.H., OLSEN, C.W. Tensile properties of fruit and vegetable edible films. **Cooper Program Nature Research**, v. 7, p. 104-108, 2004.

MANGAVEL, C.; BARBOT, J.; GUÉGUEN, J.; POPINEAU, Y. Molecular determinants of the influence of hydrophilic plasticizers on the mechanical properties of cast wheat gluten films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.1447-14452, 2003.

MARCON et al. expansion properties of sour cassava starch: variables related to its practical application in bakery. **Starch/ Starke**, v.61, n.2, p.716-726, 2009.

MARENGO V.A.; VERCELHEZE, A. E. S.; MALI, S. Compósitos biodegradáveis de amido de mandioca e resíduos da agroindústria **Química Nova**, v. 36, n. 5, p. 680-685, 2013.

MARQUES, L. G.; FERREIRA, M. C.; FREIRE, J. T. Freeze-drying of acerola (*Malpighia glabra* L.). **Chemical Engineering and Processing**, v. 46, n. 5, p. 451-457, 2007.

MARINOVA, E. Synergistic antioxidant effect of  $\alpha$ -tocopherol and myricetin on the autoxidation of triacylglycerols of sunflower oil. **Food Chemistry**, v. 106, n.2, p.628-633, 2008.

MARZINOS, P.; TSERKI, V.; GIANIKOURIS, C.; PAVLIDOU, E.; PANAYIOTOU, C. Processing and characterization of LDPE/starch/PCL blends. **European Polymer Journal**, v.38, p.1713-1720, 2002.

MARTELLI, M. R.; BARROS, T. T.; MOURA, M. R.; MATTOSO, L. H. C.; ASSIS, O. B.G. Effect of chitosan nanoparticles and pectin content on mechanical properties and watervapor permeability of banana puree films. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 1, p. 98-104, 2013.

MARTELLI, M.R.; BARROS, T.T.; ASSIS, O.B.G. Filmes de polpa de banana produzidos por batelada: propriedades mecânicas e coloração. **Polímeros**, v. 24, n. 1, p. 137-142, 2014.

MARTIN-POLO, M.; VOILLEY, A.; BLOND, G.; COLAS, B.; MESNIER, M.; FLOQUET, N. Hydrophobic Films and their efficiency against moisture transfer. 2. Influence of the physical state. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.40, n.3, p. 413-418, 1992.

MATSUURA, F.C.A. **Processamento e caracterização de suco integral e concentrado congelado de acerola**. Campinas, 1994, 141p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

MEHDIZADEH, T.; TAJIK, H.; ROHANI, S.M.R.; OROMIEHIE, A.R. Antibacterial, antioxidant and optical properties of edible starch-chitosan composite film containing *Thymus kotschyianus* essential oil. **Veterinary Research Forum**, v. 3, n. 3, p. 167 –173, 2012.

MEI, Y. AND ZHAO, Y.Y. Barrier and mechanical properties of milk protein-based edible films containing nutraceuticals. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 51, n. 7, p. 1914-1918, 2003.

MELO, P.B.C.; GROSSMANNV.E.M.; YAMASHITA, F.; YOUSSEFY.E.;DALL` ANTÔNIA, H.E.; MALI, S. Effect of manufacturing process and xantan gum addition on properties of cassava starch films. **Journal of Polymers and Environment**, v.19, p. 739-749, 2011.

MENDES, L. M. F.; SILVA, E. F.; MONÇÃO, E. C.; SOUSA, P. B.; SILVA, M. J. M. **II Simpósio de Produtividade em Pesquisa**. Avaliação da qualidade química das polpas de cajá (*Spondias mombi l.*), e da manga (*Mangifera indica l.*), congeladas consumidas em Teresina. 2009, 6 p.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 45, p. 31-34, 1982.

MERCALI, G. D.; SARKIS J. R.; JAESCHKE, D. P.; TESSARO, I. C.; MARCZAK, L. D. F. Physical properties of acerola and blueberry pulps. **Journal of Food Engineering**, v. 106, p. 283–289, 2011.

MERCIER, C.; LINKO, P.; HARPER, J.M. **Extrusion Cooking**, AACC, St Paul, 1989.

MEZADRI, T., PEREZ-GALVEZ, A., HORNERO-MENDEZ, D. Carotenoid pigments in acerola fruits (*Malpighia emarginata* DC.) and derived products. **European Food Research Technology**, v. 220, p. 63-69, 2005.

MIN, S. & KROCHTA, J.M. Ascorbic acid-containing whey protein film coatings for control of oxidation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 2964-2969, 2007.

MILTZ, J. **Food Packing**. In: HELDMAN, D.R; LUND, D.B. (Ed.), Handbook of food engineering. New York: Marcel Dekker INC.; 1992. p.667-718.

MITCHELL TC, STAMFORD TLM, SOUZA EL, LIMA EO, CARMO ES. Origanum vulgare L. essential oil as inhibitor of potentially toxigenic *Aspergilli*. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.30, p.755, 2010.

MONTERREY-QUINTERO, E. S., SOBRAL, P. J. A. Preparo e caracterização de proteínas miofibrilares de tilapia-do-nilo para elaboração de biofilmes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 1, p. 179-189, 2000.

MORADI, M.; TAJIK, H.; RAZAVI ROHANI, S. M.; OROMIEHIE, A. R.; MALEKINEJAD, H.; ALIAK BARLU, J.; HADIAN, M. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with Zataria multiflora Boiss essential oil and grape seed extract. **LWT -Food Science Technology**, v. 46, n. 2, p. 477-484, 2012.

MOREIRA, M. R., PONCE, A. G., DEL VALLE, C. E., & ROURA, S. I. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. **LWT- Food Science and Technology**, v. 38, p. 565-570, 2005.

MORRISON, I. M., PRENTICE R. D. M., SWANSTON, J. S. S, TILLER, S. A. Starch production and industrial use. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 77, p. 289-311, 1998.

MOŚCICK et al. Application of extrusion-cooking for processing of thermoplastic starch (TPS) **Food Research International**, v. 47, p. 291-299, 2012.

MÜLLER, C.M.O; YAMASHITA, F. & LAURINDO, J. B. Evaluation of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. **Carbohydrate and Polymers**, v.72, n.1, p.82-87, 2008.

MÜLLER, C. M., LAURINDO, J. B., YAMASHITA, F. Composites of thermoplastic starch and nanoclays produced by extrusion and thermopressing. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n. 2, p. 504-510, 2012.

MURPHY R.Y., MARKS B.P., MARCY J.A. Apparent specific heat of chicken breast patties and their constituent proteins by differential scanning calorimetry. **Journal of Food Science**, v. 63, p. 88-91, 1998.

NGUTA, J. M. Biological screening of kenya medicinal plants using *Artemia salina* L. (Artemiidae). **Pharmacology online**, v. 2, p. 458-78, 2011  
NERÍN, C.; TOVAR, L.; DJENANE, D.; CAMO, J.; SALAFRANCA, J.; BELTRÁN JA e RONCÁLEZ P. Stabilization of beef meat by a new active packaging containing natural antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p.7840-7846, 2006.

NETO, R. B. **Raio-X**. In. CANEVAROLO JR., S. V., ed. Técnicas de caracterização de polímeros. São Paulo: Artliber Editora, p. 41-60. 2003.

NEVES, L. C. Frutos - O remédio do futuro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n.4. p. i, 2012.

NAZAN TURHAN, K.; SAHBAZ, F. Water vapor permeability, tensile properties and solubility of methylcellulose-based edible films. **Journal of Food Engineering**, v. 61, n. 3, p. 459-466, 2004.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V.; BURITY, H. A. Efeito do estágio de maturação dos frutos nas características físico-químicas de acerola. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 4, p. 463-470, 2002.

OBON, J. M., DIAZ-GARCIA, M. C., & CASTELLAR, M. R. Red fruit juice quality and authenticity control by HPLC. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 6, p. 760-771, 2011.

OMIDBEYGI M, BARZEGAR M, HAMIDI Z, NAGHDIBADI H. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. **Food Control**, v.18, p.1518, 2007.

OLIVEIRA, L. M.; ALVES, R.M.V.; SARANTÓPOULIS, C.I.G.L.; PADULA, M.; GARCIA, E.E.C.; COLTRO, L. **Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis**. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem/ITAL, 216 p, 1996.

OLIVEIRA, J.R.P.; SOARES FILHO, W.S.; RITZINGER, R.; KOBAYASHI, A.K. **Práticas culturais**. In: RITZINGER, R.; KOBAYASHI, A.K.; OLIVEIRA, J.R.P. (Eds.) A cultura da aceroleira. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2003. p. 94-101.

OLIVEIRA, T. M.; SOARES, N. F. F.; DE PAULA C. D.; VIANA, G. A. Uso de embalagem ativa na inibição do escurecimento enzimático de maçãs. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 1, p. 117-128, 2008.

OLIVEIRA, R. A.; REIS, T. V.; SACRAMENTO, C. K.; DUARTE, L. P.; OLIVEIRA, F. F. Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 3, p. 771-775, 2009.

OLIVEIRA, T. L. C. et al. Antimicrobial activity of *Satureja montana* L. essential oil against *Clostridium perfringens* type A inoculated in mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. **International Journal of Food Microbiology**, v.144, n.3, 2011.

OLIVEIRA, R. C.; DOCÊ, R. C.; BARROS, S. T. D. Clarification of passion fruit juice by microfiltration: Analyses of operating parameters, study of membrane fouling and juice quality. **Journal of Food Engineering**, v. 111, p. 432-439, 2012.

OLIVEIRA, B. F. **Película de amido de mandioca, associada ou não, a óleos essenciais no controle pós-colheita da antracnose do mamão**. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) –Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

ONWULATA, C. I.; SMITH, P. W.; KONSTANCE, R. P.; HOLSINGER, V.H. Incorporation of whey products in extruded corn, potato or rice snacks. **Food research International**, v. 34, p. 679, 2001.

OUSSALAH M.; CAILLET S.; SALMIÉRE S.; SAUCIER L. e LACROIX M. Antimicrobial and antioxidant effects of milk-protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 5598-5605, 2004.

OUSSALAH, M. et al. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v.18, n.5, p.414-20, 2007.

PACHECO, S. **Preparo de padrões analíticos, estudo de estabilidade e parâmetros de validação para ensaio de carotenóides por cromatografia líquida**. Seropédica: UFRRJ, 2009. 106p. (Dissertação, Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Ciência dos Alimentos).

PASCHOALICK, T.M.; GARCIA, F.T.; SOBRAL, P.J. do A.; HABITANTE, A.M.Q.B.Characterization of some functional properties of edible films based on muscle proteins of Nile Tilapia. **Food Hydrocolloids**, v. 17, p. 419-427, 2003.

PARRA, A.; YHEBRA, R. S.; SARDIÑAS, I. G.; BUELA, L. I. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine**, v. 8, p. 395-400, 2001.

PATIL, R. T.; BERRIOS, J. J.; TANG, J.; PAN, J.; SWANSON, B. **Physical Characteristics of Food Extrudates - A Review**. Written for presentation at the 2005 ASAE Annual International Meeting Sponsored by ASAE Tampa Convention Center Tampa, Florida, p. 17-20, July 2005.

PARK, J. W., TESTIN, R. F., PARK, H. J., VERGANO, P. J., WELLER, C. L. Fatty acid concentration effect on tensile strength, elongation, and water vapor permeability of laminated edible films. **Journal of Food Science**, v. 59, p. 916-919, 1993.

PARK, H. J., CHINNAN, M. S. Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. **Journal of Food Engineering**, 25, p. 497-507, 1995.

PARK, W.P.; WHITESITE, W.S.; CHO, S.Y. Mechanical and water vapor barrier properties of extruded and heat-pressed gelatin films. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 41, p. 692-700, 2008.

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

PEREIRA, C. G. **Propriedades termo físicas e comportamento reológico de polpa de acerola em diferentes concentrações e temperaturas**. 135p. 2013. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Lavras.

PEREIRA, M.C.; VILELA, G.R. COSTA, L.M.A.S.; SILVA, R.F.; FERNANDES, A.F.; FONSECA, E.W.N.; PICOLLI, R.H. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciências e Agrotecnologia**, v. 30, n. 4, p. 731-738, 2006.

PERESSINI, D; BRAVIN, B; LAPASIN, R. RIZZOTTI, C; SENSIDONI, A. Starch-methylcellulose based edible films: rheological properties of film-forming dispersions. **Journal of Food Engineering**, v. 59, p. 25-32, 2003.

PEREZ-GAGO, M.B. AND KROCHTA, J.M.. Denaturation time and temperature effects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films. **Journal Food Science**, v. 66, p. 705-710, 2001.

PEREZ-GAGO, M. B.; SERRA, M.; DEL-RÍO, M. Color change of fresh-cut apples coated with whey protein concentrate-based edible coatings. **Postharvest Biology and Technology**, v. 39, n. 1, p. 84-92, 2006.

PERONI, F. H. G. **Características estruturais físico-químicas de amidos obtidos de diferentes espécies tropicais**. 2003. 118 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto, 2003.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v.39, p.791-800, 2006.

PEREZ, S.; BALDWIN, P.M.; GALLANT, D.J. structure feature of starch granules I. In: BEMILLER, J. e WHISTLER, R. (ed). **Starch: Chemistry and Technology**. New York: Elsevier, 2009. 149-192p.

PETERSSON, M.; STADING, M. Water vapor permeability and mechanical properties of mixed starch-monoglyceride and effect of film forming conditions. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p.123-132, 2005.

PIMENTEL, M. L.; MAIA, G. A.; OLIVEIRA, G. S. F.; SILVA JÚNIOR, A. Influência do processamento sobre a vitamina C do suco da acerola (*Malpighia glabra* L.). **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 23, p. 143-146, 2001.

QUEIROZ, A.U.B. & COLLARES-QUEIROZ, F.P. Innovation and industrial trends in bioplastics. **Polymer Reviews**, in press, 2009.

QIU, J.; ZHANG, X.; LUO, M.; LI, H.; DONG, J.; WANG, J.; LENG, B.; WANG, X.; FENG, H.; REN, W.; DENG, X. Subinhibitory Concentrations of Perilla Oil Affect the Expression of Secreted Virulence Factor Genes in *Staphylococcus aureus*. **Plos One**, v. 6, n. 1, 2011.

RABÊLO, W.F. **Caracterização química, Toxicidade e avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial do cravo da índia (*Syzygium aromaticum*)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Maranhão, 2010.

RAJABI, S., RAMAZANI, A., HAMID, M. E NAJI, T. Artemia salina as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 2, p.155-172, 2015.

RAMALHO, R. A.; ANJOS L. A.; FLORES H. Valores séricos de vitamina A e teste terapêutico em pré-escolares atendidos em uma unidade de saúde do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Nutrição**, v. 14, n. 1, p. 5-12, 2001.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RAMOS, Ó. L.; REINAS, I.; SILVA, S. I.; FERNANDES, J. C.; CERQUEIRA, M. A.; PEREIRA, R. N.; VICENTE, A. A.; POÇAS, M. F.; PINTADO, M. E.; MALCATA, F.X. Effect of whey protein purity and glycerol content upon physical properties of edible films manufactured therefrom. **Food Hydrocolloids**, v. 30, p. 110-122, 2013.

RE, R. PELLEGRINI, N. PROTEGGENTE, A. PANNALA, A. YANG, M. RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v.26, n.9, p.1231-1237, 1999.

RETO, M.; FIGUEIRA, M.E.; FILIPE, H.M.;ALMEIDA, C.M.M. Teor de fluoreto em infusos de chá verde (*Camellia sinensis*). **Química Nova**, São Paulo, v.31, n.2, 2008.

REIS, L. C. B.; DE SOUZA, C. O.; DA SILVA, J. B. A.; MARTINS, A. C.; NUNES, I.; DRUZIAN, J. I. Active biocomposites of cassava starch: The effect of yerba mate extract and mango pulp as antioxidant additives on the properties and the stability of apackaged product. **Food Bioprod Process**, 2014.

RENAUD, S.C., GUEGUEN, R., SHENKER, J., D HOUTAUD, A. Alcohol and mortality in middle-aged men from eastern France. **Epidemiology**, v.9, p.184-188, 1998.

REZENDE, J.Á.M. & FANCELLI, M.I. **Doenças do mamoeiro (*Carica papaya* L.)**. In: Kimati, H, Amorim, L., Bergamin Filho, A., Camargo, L.E.A. & Rezende, J.A.M. (Eds.) Manual de fitopatologia – doenças das plantas cultivadas. São Paulo. Agronômica Ceres. 1997. p.486-496.

RHIM, J.W., PARK, H.M., e HA, C.S. Bio-nanocomposites for food packaging applications. **Progress in Polymer Science**, v.38, n.10-11, p. 1629-1652, 2013.

RINDLAV-WESTLING, A; STADING, M.; HERMANSSON, A.M.; GATENHOLM, P. Structure, mechanical and barrier properties of amilose and amilopectina films. **Carboidrate Polymers**, v. 36, 217-224, 1998.

RINDLAV-WESTLING, A.; STADING, M.; GATENHOLM, P. Crystallinity and Morphology in Films of Starch, Amylose and Amylopectin Blends, **Biomacromolecules**, 3, 84-91, 2002.

RITZINGER, R.; RITZINGER, C.H.S.P. **Acerola**: aspectos gerais da cultura. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2004. 2p. (Boletim Técnico)

RITZINGER, R.; RITZINGER, C. H. S. P. Acerola. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 32, n. 264, p. 17-25, 2011.

ROCHA, G. O.; FARIAS, M. G.; CARVALHO, C. W. P.; ASCHERI, J. L. R.; GALDEANO, M. C. Filmes Compostos Biodegradáveis a Base de Amido de Mandioca e Proteína de Soja, **Polímeros**, v. 24, n. 5, p. 587-595, 2014.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Nature and distribution of carotenoids in foods. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed.). **Shelf-life Studies of Foods and Beverages: Chemical, Biological, Physical and Nutritional Aspects**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1993. p. 547-589.

RODRÍGUEZ, M.; OSÉS, J.; ZIANI, K.; MATÉ, J. I. Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films. **Food Research International**, v.39, p. 840–846, 2006.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A Guide to Carotenoid Analysis in Foods**, 2001. 64p.

RODRÍGUEZ-BERNALDO, A. Q.; COSTA, H. S. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: A review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 97-111, 2006.

ROJAS-GRAU, M. A.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; FRIEDMAN, M.; HENIKA, P. R.; MARTIN-BELLOSO, O. MCHUGH, T.H. Mechanical, barrier, and antimicrobial properties of apple puree edible films containing plant essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n.24, p. 9262-9267, 2006.

ROJAS-GRAU, M.A., AVENA-BUSTILLOS, R.J., OLSEN, C., FRIEDMAN, M., HENIKA, P.R., MARTIN-BELLOSO, O., PAN, Z.L. AND MCHUGH, T.H. Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate–apple puree edible films. **Journal of Food Engineering**, v. 81, p. 634-641, 2007.

ROMERO-BASTIDA, C.A., BELLO-PEREZ, L.A., GARCIA, M.A., MARTINO, M.N., SOLORZA-FERIA, J., ZARITZKY, N.E., Physicochemical and microstructural characterization of films prepared by thermal and cold gelatinization from non-conventional sources of starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 27, p. 235–244, 2005.

ROSA, J. S. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 837-846, 2007.

ROSSO, V. V. **Composição de carotenóides e antocianinas em acerola. Estabilidade e atividade antioxidante em sistemas-modelo de extratos antociânicos de acerola e de açaí.** 2006. 154 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP.

RUBERTO G, BARATTA M.T. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. **Food Chemistry**, v.69, p. 167-174, 2000.

RUFINO, M. S. M., ALVES, R. E., DE BRITO, E. S., PEREZ-JIMENEZ, J., SAURA-CALIXTO, F., & MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996-1002, 2010.

RUSSEL, J.B. **Química Geral**. v. 1, 2 ed. São Paulo: Makron Books do Brasil, 1994. p. 409-416.

SACCHETTI G, MAIETTI S, MUZZOLI M, SCAGLIANTI M, MANFREDINI S, RADICE M, BRUNI R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chemistry**, v.91, p. 621-632, 2005.

SALGADO, S.M.; GUERRA, N.B.; MELO FILHO, A.B. Polpa de fruta congelada: efeito do processamento sobre o conteúdo de fibra alimentar. **Revista de Nutrição**, v.12, n.3, p. 303-308, 1999.

SALMIERI, S.; LACROIX, M. Physicochemical properties of alginate/ polycaprolactone-based films containing essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p.10205-10214, 2006.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, v.8, p.121-137, 2002.

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

SANTOS, A; PADUAN, R.H; GAZIN, Z.C; JACOMASSI, E; D' OLIVEIRA, P.S; CORTEZ, D.A.G; CORTEZ, L.E.R. Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função de sazonalidade e consorciamento. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n.2, p.436-441, 2009.

SANTOS, F. S.; NOVALES, M. G. M. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, p. 1-6, 2011.

SANTANA, M.C.C.B.; MACHADO, B. A. S.; SILVA, T. N.; NUNES, I. L.; DRUZIAN, J. I. The incorporation of annatto as antioxidant additive based biodegradable packaging chitosan. **Ciência Rural**, v. 43, n.3, p. 544-550, 2013.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; PADULA, M.; COLTRO, L., ALVES, R. M. V.; GARCIA, E. E. C. **Embalagens Plásticas Flexíveis. Principais Polímeros e Avaliação de Propriedades**, v. 267, p. 102-108, 2002.

SARMENTO, A. L. S. C. **Elaboração e caracterização de biofilmes a partir de gelatina reticulada**. 1999, 145 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, FEA, Campinas-SP.

SARAWONG C, SCHOENLECHNER R, SEKIGUCHI K, BERGHOFER E. NG PKW. Effect of extrusion cooking on the physicochemical properties, resistant starch, phenolic content and antioxidant capacities of green banana flour. **Food Chemistry**, v. 143, p. 33-39, 2014.

SCHERER, R.; WAGNER, R.; DUARTE, M. C. T.; GODOY, H. T. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 4, p. 442-449, 2009.

SEBIO, L. **Efeito de alguns Parâmetros Operacionais de Extrusão nas Propriedades Físico-químicas da farinha de inhame (*Dioscorea rotundata*)**. Dissertação (Mestrado) Campinas, SP. 106p.– Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1996.

SEGANTINI, D. M., LEONEL, S., LIMA, G. P. P., COSTA, S. M., & RAMOS, A. R. P. Characterization of peach pulp produced in Sao Manuel-SP. **Ciência Rural**, v. 42, p. 52-57, 2012.

SKANDAMIS, P., KOUTSOUMANIS, K., FASSEAS, K., & NYCHAS, G. J. E. Inhibition of oregano essential oil and EDTA on E. coli O157:H7. **Italian Journal of Food Science**. v.13, p. 55-65, 2001.

SHAHIDI, F. **Natural Antioxidants -Chemistry, Health Effects and Applications.** Champaign, Illinois: AOCS Press, 1997.

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

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

SHIN et al. Effect of hydrothermal treatment on formation and structural characteristics of slowly digestible non-pasted granular sweet potato starch. **Starch/Stärke**, v. 57, n. 9, p. 421-430, 2005.

SHIRAI, M. A.; MULLER, C.M.O.; GROSSMANN, M.V. E.; YAMASHITA, F. Adipate and Citrate Esters as Plasticizers for Poly(Lactic Acid)/ Thermoplastic Starch Sheets. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 22, n. 2, 1-10, 2014.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N.S.; GILL, B.S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. Review. **Food Chemistry**, v.81, p. 219-231, 2003.

SINGH, J.; BAGHOTIA, A.; GOEL, S. P. *Eugenia caryophyllata* Thunberg (Family Myrtaceae): A Review. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 3, n. 4, p.1469-1475, 2012.

SILVA, F. C. **Reologia do Suco de Acerola: Efeito da Concentração e da Temperatura.** UNICAMP, Campinas, SP: 2000.

SILVA, F. I.; CABELLO, C. Caracterização das estruturas moleculares de amido de mandioca utilizando metodologia de permeação em gel. **Energia e Agricultura**, v. 21, n. 1, p. 50-68, 2006.

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

SILVA, J. P. L.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; PEREZ, D. V.; FRANCO, B. D. G. M. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella enteridis*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n.1, 2010.

SILVESTRI JDF, PAROUL N, CZYEWski E, LERIN L, ROTAVA I, CANSIAN RL, et al. Chemical composition and antioxidant and antibacterial activities of clove essential oil (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Revista Ceres**, v. 57, p. 589–94, 2010.

SIRACUSA,V.; BLANCO,I.; ROMANI, S.; TYLEWICZ, U.; ROCCULI, P.; ROSA, M.D. Poly(lactic acid)-Modified Films for Food Packaging Application: Physical, Mechanical, and Barrier Behavior. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 125, p. 90-401, 2012.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: UFRGS, 1999. Cap.18, p.387-416.

SRICHUWONG, et al. Starches from different botanical sources I: Contribution of amylopectin fine structure to thermal properties and enzyme digestibility. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, n. 4, p. 529-538, 2005.

SNYDER, S. M., REBER, J. D., FREEMAN, B. L., ORGAD, K., EGGETT, D. L., & PARKER, T. L. Controlling for sugar and ascorbic acid, a mixture of flavonoids matching navel oranges significantly increases human postprandial serum antioxidant capacity. **Nutrition Research**, v. 31, p. 519-526, 2011.

SOARES, E.C.; OLIVEIRA, G.S.F.; MAIA, G.A.; MONTEIRO, J.C.S.; SILVA, A.J.; FILHO, M.S.S. Desidratação da polpa de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 21, p. 164- 170, 2001.

SOARES NFF, SILVA WA, SILVEIRA MFA, PIRES ACS, MEDEIROS EAA. Conservação de maçã minimamente processada através de revestimento comestível incorporado com ácido ascórbico. In: V Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças, Anais...Lavras. V Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças, v. 1, p. 119, 2008.

SOARES, N.F.F.; SILVA, W.A.; PIRES, A.C.S.; CAMILLOTO, G.P.; SILVA, P.S. Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. **Revista Ceres**, v. 56, p. 370-378, 2009.

SOBRAL, P.J.A.; OCUNO, D.; SAVASTANO JUNIOR, H. Preparo de proteínas miofibrilares de carne e elaboração de biofilmes com dois tipos de ácidos: propriedades mecânicas. **Brazilian Journal Food Technology**, v.1, n.1-2, p.44-52, 1998.

SOBRAL, P. J. A.; GARCÍA, F. T.; HABITANTE, A. M. Q. B. & MONTERREYQUINTERO, E. S. Propriedades de filmes comestíveis produzidos com diferentes concentrações de plastificantes e de proteínas do músculo de tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.3, p. 255-262, 2004.

SOROUDI, A.; JAKUBOWICZ, I. Recycling of bioplastics, their blends and biocomposites: A review. **European Polymer Journal**, v. 49, p. 2839-2858, 2013.

SOTHORNVIT R., RODSAMRAN P. Effect of a mango film on quality of whole and minimally processed mangoes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 47, p. 407-415, 2008.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. Plasticizer effect on oxygen permeability of lactoglobulina films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n.12, p.:6298-6302, 2000.

SOTHORNVIT, R; PITAK, N. Oxygen permeability and mechanical properties of banana films. **Food Research International**, v. 40, p. 365-370, 2007.

SOUZA, C. O.; SILVA, L.T.; SIIVA, J.R.; LOPEZ, J.A.; VEIGA-SANTOS, P.; DRUZIAN, J.I. Mango and acerola pulps as antioxidant additives in cassava starch bio-based film. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 2248–2254, 2011.

SOUZA, A. C., DITCHFIELD, C., TADINI, C. C., 2010. Biodegradable films based on biopolymers for food industries. In M. L. Passos, & C. P. Ribeiro (Eds.), **Innovation in Food Engineering: New techniques and products** (p. 511-537). Boca Raton, FL: CRC Press.

SOUZA, C. E.; SILVA, L. T.; DRUZIAN, J. I. Estudo comparativo da caracterização de filmes biodegradáveis de amido de mandioca contendo polpas de manga e de acerola. **Química Nova**, v. 35, p. 262-267, 2012.

SOUZA, C. O; SILVA, L. T.; SILVA, J. R.; LOPEZ, J. A.; VEIGA-SANTOS, P.; DRUZIAN, J. I. Mango and Acerola Pulps as Antioxidant Additives in Cassava Starch Bio-based Film. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 1, p. 538-543, 2011.

SOUZA, A.C.; GOTO, G.E.O.; MAINARDI, J.A.; COELHO, A.C.V.; TADINI, C.C. Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil: Antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties. **LWT-Food Science and Technology**, v. 54, p. 346-352, 2013.

STEVENS, M. Polymer additives. Part I. Mechanical property modifiers. **Journal of Chemical Education**, v. 70, n.6, p.444-447, 1993.

SUPPAKUL, P., MILTZ, J., SONNEVELD, K., & BIGGER, S. W. Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications. **Journal of Food Science**, v. 68, p. 408 e 420, 2003.

SUPPAKUL, P.; MILTZ, J.; SONNEVELD, K.; BIGGER, S. W. Loss of additives from antimicrobial films during storage. **Journal of Food Engineering**, v. 105, p. 270-276, 2011.

TACO-**Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. Campinas: NEPA–Núcleo de Estudos e Pesquisa em Alimentação / UNICAMP. 2 ed. 2006. 42 p.

TAJKARIMI, M. M. Antimicrobial herb and spice compounds in food. **Food Control**, v. 21, p.1199-1218, 2010.

TAKO, M.; HIZUKURI, S. Gelatinization mechanism of potato starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 48, p. 397-401, 2002.

TAGHIZADEH, A.; SARAZIN, P.; FAVIS, B,D. High molecular weight plasticizers in thermoplastic starch/polyethylene blends. **Journal of Materials Science**, v.48, p. 1799-1811, 2013.

TAN, I.; TORLEY, P. J., HALLEY, P. J.,. Combined rheological and optical investigation of maize, barley and wheat starch gelatinisation. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, p. 272-286, 2008.

TANAKA, T., SHNIMIZU, M., & MORIWAKI, H. Cancer chemoprevention by carotenoids. **Molecules**, v. 17, p. 3202–3242, 2012.

TANG, H.; MITSUNAGA, T.; KAWAMURA, Y. Molecular arrangement in blocklets and starch granule architecture. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, n° 4, p. 555-560, 2006.

TANGERINO, L. M. B. **Estudo das propriedades antimicrobianas de copolímeros derivados do eugenol**. Universidade Federal de Itajubá, 2006 Dissertação (Mestrado) Pós-Graduação em Materiais para Engenharia, Universidade Federal de Itajubá, 2006.

TEMÓTEO, JAILMA L. M.; GOMES, ELENICE M. S.; SILVA, EVERTON V. L.; CORREIA, ANGELA DE G. S.; SOUSA, JONAS DOS S. **Avaliação de vitamina C, acidez e pH em polpas de acerola, cajá e goiaba de uma marca comercializada em Maceió-Alagoas**. In: Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação, 2012, Palmas. Anais.

TEIXEIRA E. M. **Utilização de amido de mandioca na preparação de novos materiais termoplásticos**. (Tese de doutorado). Instituto de Química de São Carlos. Universidade de São Paulo. São Carlos, 2007.

TEIXEIRA Cassava bagasse cellulose nanofibrils reinforced thermoplastic cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, n.78, p. 422-431, 2009.

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

THERMO ARL-CH PUBLICATION. Basics of X-ray diffraction, USA, 1999.

THOMAS, D. J.; ATWELL, W.A. **Starches**. St. Paul: Eagan Press. 1999. 91p.

TOMÁS-BARBERÁN, F.A. et. al. Analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.4748-4760, 2001.

TOVAR, L.; SALAFRANCA, J.; SÁNCHEZ, C.; NERÍN, C. Migration studies to assess the safety in use of a new antioxidant active packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 5270-5275, 2005.

THUNWAL, M., KUTHANOVÁ, V., BOLDIZAR, RIGDAHL, M. Film blowing of thermoplastic starch. **Carbohydrate Polymers**, 71, 4, 583-590, 2008.

THURNHAM, D. I. Bioequivalence of b-carotene and retinol. **Journal Science of Food and Agriculture**, v. 87, p. 13-39, 2007.

TORLEY, P.J. & VAN DER MOLEN, F. Gelatinization of starch in mixed sugar systems. **LWT- Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v. 38, p. 762-771, 2005.

TRAJANO, V.N.; LIMA, E.O.; SOUZA, E.L.; TRAVASSOS, A.E.R. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.3, p.542-545, 2009.

UDDIN, M. S., HAWLADER, M. N. A., LUO DING & MUJUMDAR, A. S. Degradation of ascorbic acid in dried guava during storage. **Journal of Food Engineering**, v.51, p.21-26, 2002

ULTEE A, BENNINK MHJ, MOEZELAAR R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the foodborne pathogen *Bacillus cereus*. **Applied Environment Microbiology**, v. 68, p.1561, 2002.

VAN DER EINDE, R.M.; AKKERMANS, C.; VAN DER GOOT, A.J.; BOOM, R.M. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, p. 415, 2004.

VANIN, A. B.; ORLANDO, T.; PIAZZA, S.P.; PUTON, B.M.; CANSIAN, R.L.; OLIVEIRA, D.; PAROUL, N. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Clove Essential Oil and Eugenyl Acetate Produced by Enzymatic Esterification. **Applied Biochemical Biotechnology**, v. 174, n. 4, p. 1286-1298, 2014.

VAN DE BRAAK, S.A.A.J., LEIJTEN, G.C.J.J., 1999. **Essential Oils and Oleoresins: A Survey in the Netherlands and other Major Markets in the European Union**. CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries, Rotterdam, p. 116.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Phenolic compounds in acerola fruit (*Malpighia puniceifolia*, L.). **Journal Brazilian Chemistry**, v. 15, n. 5, p. 664-668, 2004.

VERMEIREN, L.; DEVLIEGHERE, F.; BEEST, M. VAN; KRUIJF, N. DE & DEBEVERE, J. Developments in the active packaging of foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, p.77-86, 1999.

VIANA, A. D. **Propriedades termofísicas e comportamento reológico da polpa de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) em diferentes concentrações e temperaturas**. 2010. 99 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2010.

VICENTINI, N.M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita** (Tese de Doutorado) Faculdade de Ciências Agrônomicas – UNESP, Botucatu – SP, 2003.

VIEIRA, F. C. **Efeito do tratamento com calor e baixa umidade sobre características físicas e funcionais dos amidos de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*), de batata-doce (*Ipomoea batatas*) e de gengibre (*Zingiber officinale*)**. 2004. 122 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Universidade de São Paulo.

VIEIRA, L. M.; SOUSA, M. S. B.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de polpas de frutos tropicais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.3, p.888-897, 2011.

VILPOUX, O.; AVEROUS, L. **Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas**: In: CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas. São Paulo: Cargill, v. 3, p.500-530, 2003.

VON LINTIG, J. Colors with functions: Elucidating the biochemical and molecular basis of carotenoid metabolism. **Annual Review of Nutrition**, v. 30, p. 35-56, 2010.

XIE, L.; HETTIARACHCHY, N. S.; JU, Z. Y.; MEULLENET, J.; WANG, H.; LAVIK, M.F.; JANES, M. E. Edible film coating to minimize eggshell breakage and reduce post-wash bacterial contamination measured by dye penetration in eggs. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 1, p. 280-284, 2002.

WANG, X.; YANG, K.; WANG, Y. Properties of starch blends with biodegradable polymers, **Journal Macromolecular Science**, Polymers Reviews v. 43, p. 385-409, 2003.

WANG, X.; SUN, X.; LIU, H.; LI, M.; MA, Z. Barrier and mechanical properties of carrot puree films. **Food and Bioproducts Processing**, 2010.

WANNES, W.A.; MHAMDI, B.; SRITI, J.; JEMIA, M.B.; OUCHIKH, O.; HAMD AOUI, G.; KCHOUK, M.E.; ARZOUK, B. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n.5, p. 1362-1370, 2010.

WARD, I.M.; HARDLEY, D.W. **An introduction to the mechanical properties of solid polymers**. Ed. John Wiley & Sons, Great Britain, 1998.

WALSH, S.E.; MAILLARD J.-Y.; RUSSELL, A.D.; CATRENICH, C.E.; CHARBONNEAU, D.L., BARTOLO, R.G. Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents o Gram-positive and negative bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 94, p.240-247, 2003.

WOJDYŁO, A., OSZMIA\_NSKI, J., & CZEMERYYS, R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. **Food Chemistry**, v. 105, p. 940 -949, 2007.

WU, Y.; CHEN, Z.; LI, X.; WANG, Z. Retrogradation properties of high amylose rice flour and rice starch by physical modification. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 3, p. 492-497, 2010.

WENDLANDT, W.W. **Thermal analysis**. 3.ed. New York: John Wiley & Sons, 1986. p.1.  
WURZBURG, O. B. Cross-linked starches. In: WURZBURG, O. B. (ed.) **Modified starches: properties and uses**. Boca Raton: CRC Press, Cap. 3, p.41-53, 1986.

YADAV, A.V.; BHISE, S.B. Chitosan: a potential biomaterial effective against typhoid. **Current Science**, v. 87, n. 9, p.1176-1178, 2004.

YANISHLIEVA-MASLAROVA NV. **Inhibiting oxidation**. In: Pokomy J, Yanishlieva N & Gordon M (Eds.) **Antioxidants in food: Practical applications**. Cambridge, Woodhead Publishing, p. 23-70, 2001.

YEN, M.; YANG. J.; MAU, J. Antioxidant properties of chitosan from crab shells. **Carbohydrate Polymers**, v.74, p. 840-844. 2008.

YONEMOTO, P.G.; CALORI-DOMINGUES, M.A.; FRANCO, C.L.M. Efeito do tamanho dos grânulos nas características estruturais e físico-químicas do amido de trigo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.4, p.761-771, 2008.

YOO, S.H.; JANE, J.I. Structural and physical characteristics of waxy and other wheat starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, p. 297-305, 2002.

YU, L.; CRISTIE, G. J. Microstructure and mechanical properties of orientated thermoplastic starches. **Journal of Materials Mater Science**, v. 40, p. 111, 2006.

ZAGO, J.A. A; USHIMARU, P.I; BARBOSA, L.N; JUNIOR, A.F; Sinergismo entre óleos essenciais e drogas antimicrobianas sobre linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n.4, p. 828-833, 2009.

ZHAI, M.; YOSHII, F.; KUME, T. Radiation modification of starch-based plastic sheets. **Carbohydrate Polymers**, v.52, p.311-317, 2003.

ZIANI, K.; OSES, J.; COMA,V.; MATE, J. I. Effect of the presence of glycerol and Tween 20 on the chemical and physical properties of films based on chitosan with different degree of deacetylation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, p. 2159-2165, 2008.

ZIVANOVIC, S.; CHI, S.; DRAUGHON, A. F. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 1, p. 45-51, 2005.

ZOBEL, W. Potato starch. In: WHISTLER R. L. **Methods in carbohydrate chemistry**. New York, USA: Academic Press, 1964. v. 4.

ZOBEL, H. F. Starch crystal transformations and their industrial importance. **Starch/Stärke**, v. 40, n.1, p. 1-7. 1998.

## APÊNDICE

- A Análise de variância (ANOVA) dos resultados de umidade, sólidos totais, espessura, atividade de água, permeabilidade ao vapor de água, resistência na tração, deformação na tração, módulo de elasticidade, força na ruptura, deformação na ruptura, teor de vitamina C, teor de carotenoides totais, teor de beta-caroteno, capacidade antioxidante por DPPH e ABTS dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo elaborados por *casting*. 156
- B Análise de variância (ANOVA) dos resultados de umidade, sólidos totais, espessura, atividade de água, permeabilidade ao vapor de água, resistência na tração, deformação na tração, módulo de elasticidade, força na ruptura, deformação na ruptura, teor de vitamina C, teor de carotenoides totais, teor de beta-caroteno, capacidade antioxidante por DPPH e ABTS dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo elaborados por *casting* (ensaio 2) e do filme extrusado e prensado. 160
- C Análise de variância (ANOVA) dos resultados de redução do teor de vitamina C, carotenoides totais, beta-caroteno e da capacidade antioxidante por DPPH e ABTS dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo elaborados por *casting*. 164
- D Análise de variância (ANOVA) dos resultados para perdas de teor de vitamina C, teor de carotenoides totais, teor de beta-caroteno, capacidade antioxidante por DPPH e ABTS dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo e componentes elaborados por extrusão e termoprensagem. 166
- E Análise de variância (ANOVA) dos resultados das análises de espessura e opacidade dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e dos ensaios preliminares. 168
- F Análise de variância (ANOVA) dos resultados de umidade, vitamina C, carotenoides totais, beta-caroteno, capacidade antioxidante por DPPH e ABTS das polpas *casting*, pré-extrusão e concentrada. 169

## APÊNDICE A

**Tabela A1** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para umidade dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	34,33	5	6,866	47,82	0,0000
Resíduo	1,72301	12	0,143584		
Total	36,053	17			

**Tabela A2** Análise de variância (ANOVA) resultado obtido para sólidos totais dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	34,33	5	6,866	47,82	0,0000
Resíduo	1,72301	12	0,143584		
Total	36,053	17			

**Tabela A3** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para espessura dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>F tab</b>
Regressão	0,000739167	5	0,000147833	0,99	0,4649
Resíduo	0,00179733	12	0,000149778		
Total	0,0025365	17			

**Tabela A4** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para atividade de água dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	0,0010444	5	0,000208889	0,65	0,6684
Resíduo	0,00386667	12	0,000322222		
Total	0,00491111	17			

**Tabela A5** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para permeabilidade ao vapor de água dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	0,00326667	5	0,00065333	0,92	0,5014
Resíduo	0,00853333	12	0,000711111		
Total	0,0118	17			

**Tabela A6** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para resistência na tração dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	112,625	5	22,525	116,37	0,0000
Resíduo	2,32279	12	0,193566		
Total	114,948	17			

**Tabela A7** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para deformação na tração dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>S Q</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	436,197	5	87,2395	24,85	0,0000
Resíduo	42,1321	12	3,51101		
Total	478,329	17			

**Tabela A8** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para o módulo de elasticidade dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	834839,	5	166968,	18,36	0,0000
Resíduo	109100,	12	9091,64		
Total	943938,	17			

**Tabela A9** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para força na ruptura dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	693,003	5	138,601	78,42	0,0000
Resíduo	21,2093	12	1,76744		
Total	714,213	17			

**Tabela A10** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para deformação na ruptura dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	0,891743	5	0,178349	5,34	0,0082
Resíduo	0,400795	12	0,0333996		
Total	1,29254	17			

**Tabela A11** Análise de variância (ANOVA) resultado obtido para determinação do teor vitamina C dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	7,27703E6	4	1,81926E6	31,70	0,0000
Resíduo	573913	10	57391,3		
Total	7,85095E6	14			

**Tabela A12** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para carotenoides totais dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	2,4942E7	4	6,2355E6	175,98	0,0000
Resíduo	354340,	10	35434,0		
Total	2,52964E7	14			

**Tabela A13** Análise de variância (ANOVA) do ajuste do modelo obtido para  $\beta$ -caroteno dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	1,08745E7	4	2,71864E6	130,00	0,0000
Resíduo	209124,	10	20912,4		
Total	1,10837E7	14			

**Tabela A14** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para capacidade antioxidante por DPPH em IC<sub>50</sub> dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	0,982978	4	0,245744	14,85	0,00034
Resíduo	0,165473	10	0,0165473		
Total	1,14845	14			

**Tabela A15** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para capacidade antioxidante por ABTS em IC<sub>50</sub> dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	36,3454	4	9,08635	64,70	0,0000
Resíduo	1,40435	10	0,140435		
Total	37,7497	14			

**Tabela A16** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para capacidade antioxidante por ABTS em uM trolox dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola, glicerol e óleo essencial de cravo.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	16512,3	4	4128,08	73,33	0,0000
Resíduo	562,921	10	56,2921		
Total	17075,2	14			

## APÊNDICE B

**Tabela B1** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para atividade de água dos filmes elaborados por *casting* e por extrusão.

FONTE DE VARIÇÃO	SQ	GL	QM	<i>Razão-F</i>	<i>Valor-p</i>
Regressão	0,0006	1	0,0006	1,80	0,2508
Resíduo	0,00133333	4	0,000333333		
Total	0,00193333	5			

**Tabela B2** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para permeabilidade ao vapor de água dos filmes elaborados por *casting* e por extrusão.

FONTE DE VARIÇÃO	SQ	GL	QM	<i>Razão-F</i>	<i>Valor-p</i>
Regressão	0,0000666667	1	0,0000666667	0,15	0,7149
Resíduo	0,00173333	4	0,000433333		
Total	0,0018	5			

**Tabela B3** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para espessura dos filmes elaborados por *casting* e por extrusão.

FONTE DE VARIÇÃO	SQ	GL	QM	<i>Razão-F</i>	<i>Valor-p</i>
Regressão	0,00000816667	1	0,00000816667	0,10	0,7656
Resíduo	0,000320667	4	0,0000801667		
Total	0,000328833	5			

**Tabela B4** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para resistência na tração dos filmes elaborados por *casting* e por extrusão.

FONTE DE VARIÇÃO	SQ	GL	QM	<i>Razão-F</i>	<i>Valor-p</i>
Regressão	309825,	1	309825	1871,53	0,0000
Resíduo	662,188	4	165,547		
Total	310488	5			

**Tabela B5** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para deformação na tração dos filmes elaborados por *casting* e por extrusão.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	90,8315	1	90,8315	298,35	0,0001
Resíduo	1,21778	4	0,304445		
Total	92,0493	5			

**Tabela B6** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para módulo de elasticidade dos filmes elaborados por *casting* e por extrusão.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	10113,5	1	10113,5	4,47	0,1021
Resíduo	9057,77	4	2264,44		
Total	19171,3	5			

**Tabela B7** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para resistência na perfuração dos filmes elaborados por *casting* e por extrusão.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	41,6752	1	41,6752	118,84	0,0004
Resíduo	1,40278	4	0,350695		
Total	43,0779	5			

**Tabela B8** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para deformação na perfuração dos filmes elaborados por *casting* e por extrusão.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	0,0895482	1	0,0895482	0,94	0,3864
Resíduo	0,379617	4	0,0949042		
Total	0,469165	5			

**Tabela B9** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para vitamina C dos filmes elaborados por *casting* e por extrusão.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	3,64481E6	1	3,64481E6	1702,05	0,0000
Resíduo	8565,72	4	2141,43		
Total	3,65338E6	5			

**Tabela B10** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para carotenoides totais dos filmes elaborados por *casting* e por extrusão.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	2,83915E6	1	2,83915E6	58,74	0,0016
Resíduo	193347,	4	48,336,7		
Total	3,03249E6	5			

**Tabela B11** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para  $\beta$ -caroteno dos filmes elaborados por *casting* e por extrusão.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	2,09939E6	1	2,09939E6	53,95	0,0018
Resíduo	155660,	4	38915,0		
Total	2,25505E6	5			

**Tabela B12** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para capacidade antioxidante em IC<sub>50</sub> por DPPH dos filmes elaborados por *casting* e por extrusão.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	7,61401	1	7,61401	61,41	0,0014
Resíduo	0,49,598	4	0,123995		
Total	8,10999	5			

**Tabela B13** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para capacidade antioxidante em IC<sub>50</sub> por ABTS dos filmes elaborados por *casting* e por extrusão.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	7,61401	1	7,61401	61,41	0,0014
Resíduo	0,49,598	4	0,123995		
Total	8,10999	5			

**Tabela B14** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para capacidade antioxidante em  $\mu$ M trolox por ABTS dos filmes elaborados por *casting* e por extrusão

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	368,041	1	368,041	174,59	0,0002
Resíduo	8,43195	4	2,10799		
Total	376,473	5			

## APÊNDICE C

**Tabela C1** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para perda de vitamina C no processo *casting*: polpa, solução filmogênica, filme.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	8,56143E8	2	4,28072E8	3508,97	0,0000
Resíduo	731961,	6	121993,		
Total	8,56875E8	8			

**Tabela C2** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para perda de carotenoides totais no processo *casting*: polpa, solução filmogênica, filme.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	1,37646E9	2	6,88231E8	1206,43	0,0000
Resíduo	3,42282E6	6	570471,		
Total	1,37989E9	8			

**Tabela C3** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para perda de  $\beta$ -caroteno no processo *casting*: polpa, solução filmogênica, filme.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	7,60744E8	2	3,80372E8	5852,20	0,0000
Resíduo	389978,	6	64996,4		
Total	7,61134E8	8			

**Tabela C4** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para perda da capacidade antioxidante no processo *casting* por DPPH em IC<sub>50</sub>: polpa e filme.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	20,8843	1	20,8843	6316,45	0,0000
Resíduo	0,0132253	4	0,00330633		
Total	20,8975	5			

**Tabela C5** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para perda da capacidade antioxidante no processo *casting* por ABTS em IC<sub>50</sub>: polpa e filme.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	79,0541	1	79,0541	688,95	0,0000
Resíduo	0,458985	4	0,114746		
Total	79,5131	5			

**Tabela C6** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para perda da capacidade antioxidante no processo *casting* por ABTS em  $\mu$ M trolox: polpa e filme.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	7300,45	1	7300,45	4300,76	0,0000
Resíduo	6,78991	4	1,69748		
Total	7307,24	5			

## APÊNDICE D

**Tabela D1** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para perda de vitamina C dos componentes: polpa, polpa concentrada, mistura, pellet e filme extrusado.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	1,19028E9	4	2,97569E8	1065,01	0,0000
Resíduo	2,79405E6	10	279405		
Total	1,19307E9	14			

**Tabela D2** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para perda de carotenoides totais dos componentes: polpa, polpa concentrada, mistura, pellet e filme extrusado.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	1,38888E9	4	3,4722E8	7174,97	0,0000
Resíduo	483932,	10	48393,2		
Total	1,38936E9	14			

**Tabela D3** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para perda de  $\beta$ -caroteno dos componentes: polpa, polpa concentrada, mistura, pellet e filme extrusado.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	7,30031E8	4	1,82508E8	3211,57	0,0000
Resíduo	568282,	10	56828,2		
Total	7,306E8	14			

**Tabela D4** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para perda da capacidade antioxidante por DPPH em IC<sub>50</sub> dos componentes: polpa, polpa concentrada, mistura, pellete filme extrusado.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	324,205	4	81,0512	2374,22	0,0000
Resíduo	0,341381	10	0,0341381		
Total	324,546	14			

**Tabela D5** Análise de variância (ANOVA) para perda da capacidade antioxidante por ABTS em IC<sub>50</sub> dos componentes: polpa, polpa concentrada, mistura, *pellet* e filme extrusado.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	52,1036	4	13,0259	734,44	0,0000
Resíduo	0,177359	10	0,0177359		
Total	52,281	14			

**Tabela D6** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para perda da capacidade antioxidante por ABTS em  $\mu\text{M}$  trolox dos componentes: polpa, polpa concentrada, mistura, *pellet* e filme extrusado.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	5684,1	4	1421,03	992,96	0,0000
Resíduo	14,311	10	1,4311		
Total	5698,41	14			

## APÊNDICE E

**Tabela E1** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para espessura dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e glicerol.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	0,0012615	1	0,0012615	12,83	0,0231
Resíduo	0,000393333	4	0,0000983333		
Total	0,00165483	5			

**Tabela E2** Análise de variância (ANOVA) resultado obtido para opacidade dos filmes de amido de mandioca, polpa de acerola e glicerol.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	0,15328	1	0,15328	20,62	0,0105
Resíduo	0,0297387	4	0,00743467		
Total	0,183019	5			

## APÊNDICE F

**Tabela F1** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para umidade das polpas *casting*, polpa pré-extrusão e polpa concentrada.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	293,914	2	146,957	189052,51	0,0000
Resíduo	0,004664	6	0,000777333		
Total	293,918	8			

**Tabela F2** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para vitamina C (b.u) das polpas *casting*, polpa pré-extrusão e polpa concentrada.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	1,59697E7	2	7,98485E6	601,93	0,0000
Resíduo	79592,9	6	13265,5		
Total	1,60493E7	8			

**Tabela F3** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para carotenoides totais (b.u) das polpas *casting*, polpa pré-extrusão e polpa concentrada.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	3,62327E	2	1,81163E7	6656,68	0,0000
Resíduo	16329,2	6	2721,53		
Total	3,6249E7	8			

**Tabela F4** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para  $\beta$ -caroteno (b.u) das polpas *casting*, polpa pré-extrusão e polpa concentrada.

<b>FONTE DE VARIACÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	1,81943E7	2	9,09714E6	4358,09	0,0000
Resíduo	12524,5	6	2087,42		
Total	1,82068E7	8			

**Tabela F5** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para perda da capacidade antioxidante por DPPH em IC<sub>50</sub> das polpa *casting*, polpa pré-extrusão e polpa concentrada.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	1,19948	2	0,599739	390,96	0,0000
Resíduo	0,009204	6	0,001534		
Total	1,20868	8			

**Tabela F6** Análise de variância (ANOVA) para perda da capacidade antioxidante por ABTS em IC<sub>50</sub> das polpas *casting*, polpa extrusão e polpa concentrada.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	4,06701	2	2,0335	643,02	0,0000
Resíduo	0,0189747	6	0,00316244		
Total	4,08598	8			

**Tabela F7** Análise de variância (ANOVA) do resultado obtido para perda da capacidade antioxidante por ABTS em µM trolox das polpas *casting*, polpa extrusão e polpa concentrada.

<b>FONTE DE VARIÇÃO</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>Razão-F</b>	<b>Valor-p</b>
Regressão	266,833	2	133,416	314,56	0,0000
Resíduo	2,54483	6	0,424138		
Total	269,378	8			